Berichtsblatt

1. ISBN oder ISSN: - *2. Berichtsart:* Abschlußbericht

3a Titel des Berichts: Mikrohydraulisches Selbstreinigungsmodul

3b Titel der Publikation:

1. Antifouling durch Ultraschall	Workshop	Koblenz 09/ 99
	Intern. wissensch. Kolloquium	Ilmenau 10/ 99
2. Mikrohydraulisches Selbstreinigungsmodul	Fachzeitschrift electronica	voraussichtlich 12/ 99

4a. Autoren des Berichts (Name, Vorname):
Dipl.-Ing. Oberthür, Siegfried
Dipl.-Chem. Friedl, Karin

5. Abschlußdatum des Vorhabens: 31. 05. 2000
6. Veröffentlichungsdatum: 12/ 2000
7. Form der Publikation: Fachartikel

4b. Autoren der Publikation (Name, Vorname):
Prof. Dr.-Ing. habil Helmut Wurmus
Dr.- Ing. Siegmar Hecht
Dr. rer. Nat Cornelius Schilling
Dipl.-Ing. Oberthür, Siegfried
Dipl.-Chem. Friedl, Karin

8. Durchführende Institution (Name, Adresse).
--
Technische Universität Ilmenau
Fakultät Maschinenbau
Fachgebiet Mikrosystemtechnik
PF 100565
98684 Ilmenau

9. *Durchführende Institution:* --

10.Förderkennzeichen: O3FO232A

11a. Seitenzahl Bericht: 70

11b. Seitenzahl Publikation: 10

13. Fördernde Institution (Name,Adresse)

Bundesministerium für
Bildung und Forschung (BMBF)

53170 Bonn

12. Literatuangaben: 27 Literatur, 11 Patente

14. Tabellen: 4 Tabellen, 24 Diagramme

15. Abbildungen: 41

16. Zusätzliche Angaben: keine

17. vorgelegt bei : --

18. Kurzfassung

Die Standzeit und die Meßgenauigkeit von Mikrosensoren sind in biologisch aktiven Medien begrenzt. Mikrobiologische Filme bedecken die Sensoroberfläche innerhalb kurzer Zeit. Es ist notwendig, die Sensoroberfläche zu reinigen, um exakte Meßergebnisse zu erhalten. Das Selbstreinigungsmodul ist planar, besitzt geringe geometrische Abmessungen und ist damit kompatibel zu mikrotechnisch hergestellten Sensoren.
Die Ansteuerung erlaubt einen automatischen Ablauf von Reinigung, Pause und Messung. Parameter wie Reinigungsdauer, Pausenzeit und Reinigungsfrequenz sind in weiten Bereichen einstellbar. Preiswerte Reinigungsmodule, kleine Abmessungen, hoher Wirkungsgrad sind möglich

19. Schlagwörter: Ultraschall, Antifouling, Mikrotechnik

20. Verlag: electronica *21. Preis:* --

Berichtsblatt

1. ISBN or ISSN: - *2. Type of Reportt:* End- Report

3a:Report Title Microhydraulic self- cleaning modul

3b: Title of Publikation

1. Antifoulingwith with ultrasound	Workshop	Koblenz 09/ 99
	Intern.Scientific Colloquy	Ilmenau 10/ 99
2. Microhydraulic self- cleaning modul	electronica	12/00

4a. Authors of the Report (Family Name, First Name):
Dipl.-Ing. Oberthür, Siegfried
Dipl.-Chem. Friedl, Karin

5. End of Projekt : 31. 05. 2000
6.Publicationdate: 12/ 2000
7.Form of Publication: article

4b.Authors of the Publikation (Family Name, First Name):
Prof. Dr.-Ing. habil Helmut Wurmus
Dr.- Ing. Siegmar Hecht
Dr. rer. Nat Cornelius Schilling
Dipl.-Ing. Oberthür, Siegfried
Dipl.-Chem. Friedl, Karin

8. Performing Organization (Name, Adress) --
Technical University of Ilmenau
Faculty of Mechanicle Engineering
Dept. Of Microsystem Technologie
P.O. Box 100565
98684 Ilmenau Germany

9.*Originators Report No.:* --
10.Reference No.: O3FO232A
11a. No. of Pages Report: 70
11b.No. of Pages Publication: 10

13. Sponsering Agency (Name, Adress)
Bundesministerium für
Bildung und Forschung (BMBF)

53170 Bonn

12. No. of References: 38
14.No. of Tables: 4 tables, 24 diagrams
15.No. of Figures: 41

16.Supplementary Notes: --

17.Presented at (Titlle, Place, Date): --

18. Abstract:

The lifetime and the measuring precision of microsensors are restricted in biological active media. Microbiological films cover the open surfaces after a short time. It is necessary to clean the surface of the sensor structure to achieve always accurate signals. The self- cleaning module is planary disigned with small dimensions. Therefore it is compatible to microtechnicaly produced sensors. The controller allows an automatic cleaning, cleaning break and measurments. All parameters, such as cleaning time, break time and cleaning frequenz are adjustable in a wide range. Low cost cleaning- moduls, small dimensions, high effency are possible.

19.Keywords:Ultrasound, Antifouling, Microtechnic

20.Publisher: electronica *21. Price:* --

Erfolgskontrollbericht

Forschungsvorhaben: 03F0232A

Mikrohydraulisches Selbstreinigungsmodul für Parametersonden in biologischen Medien

Projektträger: Biologie, Energie, Umwelt
des Bundesministeriums für Bildung und Forschung und des Bundesministeriums für Wirtschaft und Technologie

Ausführende Stelle: Technische Universität Ilmenau
Fakultät Maschinenbau
Fachgebiet Mikrosystemtechnik
Postfach 10 05 65
98684 Ilmenau

Die Möglichkeit, verschmutzte Oberflächen in einer Flüssigkeit mit Ultraschall zu reinigen , ist allgemein bekannt.
Die Reinigung von Sensoren unter optimierten Bedingungen war Ziel und Ergebnis dieser Arbeit. Sensoren und Schallwandler wurden mikrotechnisch planar aus Silizium hergestellt.

Aufgaben, Ziele, Erfolge des Vorhabens

1. Grundlage für Experimente

- Technologie für Schallwandler und Sensorstrukturen
- Aufbau Schallwandler und Teststrukturen für Versuchsanordnungen
- Entwicklung und Aufbau einer elektronischen Ansteuerung

Um Tests duchzuführen, wurden zunächst Schallwandler und eine Ansteuerung erstellt, die Versuche mit in weiten Grenzen frei wählbaren Parametern ermöglichen.

2. Untersuchungen Schallerzeugung, Schallabstrahlung

- Schallabstrahlung
- Abstand Sender - Empfänger
- Amplitude und Frequenz des Schallsenders

Der Ultraschall soll den Sensor einerseits gut reinigen, aber andererseits die Oberfläche des Sensors nicht schädigen.
Dazu waren zunächst physikalische Untersuchungen und Berechnungen des Schallfeldes notwendig, um die Schallerzeugung und –abstrahlunge zu optimieren.

3. Material und Oberfläche von Sensoren, Bewuchsverlauf

- zeitliche Abhängigkeit der Besiedlung
- Art der Besiedlung

Es wurden unterschiedliche Besiedlungen in Abhängigkeit von der Zeit, vom Material und der Oberfläche des Sensors untersucht. Der zeitliche Abstand zwischen 2 Reinigungen konnte damit optimiert werden.
Ein Zusammenhang zwischen Bewuchs und Sensormaterial und –oberfläche konnte ermittelt werden

4. Reinigung

- Optimierung aus physikalischer Sicht
- Optimierung aus biologischer Sicht

Die Ergebnisse aus biologischer und physikalischer Sicht wurden zusammengeführt und die Reinigung unter unterschiedlichen Bedingungen durchgeführt.

5. Ergebnisse, Erfahrungen

- Die Reinigung mit Ultraschall ist erfolgreich.
- Der Bewuchsverlauf ergibt Zeitoptimum zwischen 2 Reinigungen
- Leistung und Zeit bei der Reinigung können optimiert werden.
- 100% ige Reinigung ist nicht erstrebenswert (evtl. Schädigung des Sensors, Leistungsumsatz).

6. Probleme

- Planare Reinigungsmodule sind besonders im Zusammenwirken mit planaren Sensoren geeignet. Die meisten vorhandenen Sensoren sind jedoch rund, aus Glas und haben unterschiedliche Abmessungen. Eine Anpassung ist möglich, aber individuelle Konstruktionen sind notwendig.

- Die Entwicklung von planaren, mikrotechnisch hergestellten Sensoren ist deshalb und natürlich aus technologischen und preislichen Gründen notwendig.

- Die Reinigung in einem abgestimmten System ist gut, jedoch sind große statistische Unterschiede in der Bedeckung des Sensors normal. Ein Sensor sollte deshalb geringfügigen Bewuchs aktzeptieren.

7. Finanzierungs- und Zeitplan

- Der Zeitplan wurde vollständig eingehalten.
- Der Finanzierungsrahmen wurde nicht überschritten

8. Verwertbarkeit, Lizenzen, Patente

- Die Ergebnisse wurden im Abschlußbericht dokumentiert.
- Eine Veröffentlichung in einer Fachzeitschrift ist vorbereitet.
- Es erfolgten Vorträge auf einem Workshop und einem internationalen Kolloquium.
- Antrag auf Erteilung eines Patentes.
- Fremde Patente oder Lizenzen wurden nicht in Anspruch genommen.

Abschlußbericht

Mikrohydraulisches Selbstreinigungsmodul für Parametersonden in biologischen Medien

Projektträger: Biologie, Energie, Umwelt
Bundesministerium für Bildung und Forschung

Fördernummer: 03F0232A

Laufzeit: 01. 06. 1998 – 31. 05. 2000

Projektleiter: Prof. Dr.- Ing. habil. H. Wurmus

Technische Universität Ilmenau
Fakultät Maschinenbau
Fachgebiet Mikrosystemtechnik

Bearbeiter: Dipl.- Ing. S. Oberthür
Dipl.. Chem. K. Friedel

1. Aufgabenstellung

2. Stand der Technik

2.1 Schlußfolgerungen aus Recherchen
2.1.1 Reinigungsprinzip
2.1.2 recherchierte Kennwerte

3. Grundsatzuntersuchungen zum Reinigungsschall

3.1 Ankopplung der Schallquelle
3.2 Oberflächen - Resonanzstrukturen
3.3 Mikrorganismen in Eigenresonanz

4. Silizium- Strukturen

4.1 Untersuchungen einer piezoelektrischen bimorphen Membran
4.1.1 Abhängigkeit der Membranabmessungen von der Resonanzfrequenz
4.1.2 Schwingungsformen der bimorphen Membran

4.2 Technologischer Durchlauf der Silizium- Strukturen
4.2.1 Maskenentwurf
4.2.2 Technologische Arbeitsschritte
4.3 Siliziumchip mit Piezo

5. Experimentielle elektronische Ansteuerung

5.1 Berechnung elektronische Ansteuerung (cleaning- controller)
5.2 Hauptkennwerte der Ansteuerschaltung
5.3 Funktionsschaltbild elektronische Ansteuerung
5.4 Stromlaufplan elektronische Ansteuerung
5.5 Übersichtsbild verschiedene Schallsender und Ansteuerung
5.6 Bedienungsübersicht cleaning- controller

6. Experimentielle Messungen mit Leitfähigkeitssensoren

7. Mikrobiologische Bewuchsversuche auf Materialien in Meerwasser- Mesokosmen

7.1 Besiedlungsstrategien
7.1.1 Induktions- oder Initialphase
7.1.2 Logarithmische Phase oder Wachstumsphase
7.1.3 Plateauphase

7.2 Exposition im limnischen Milieu, Versuchsaufbau
7.2.1 Ergebnisse limnisches Milieu
7.2.2 Reinigung vom Biofilm limnisches Milieu

7.3 Exposition im maritimen Milieu, Versuchsaufbau, Materialien, Strukturen

7.3.1 Besiedlung im maritimen Milieu unter Einwirkung von Licht
7.3.1.1 Ergebnisse der Besiedlung mit Licht

7.3.2 Besiedlung im maritimen Milieu ohne Licht
7.3.2.1 Ergebnisse der Besiedlung ohne Licht

7.3.3 Besiedlung im maritimen Milieu ohne Licht für Reinigungstest
7.3.3.1 Ergebnisse der Besiedlung, Bildschirmanalyse
7.3.3.2 Reinigung vom Biofilm maritimes Milieu

7.4 Aufwuchsdynamik und optimale Reinigung

8. Modellierung Schallfeld

8.1 Schallfeldmodelle
8.1.1 Kugelquelle, Monopol
8.1.2 Kugelquelle, Dipol
8.1.3 Membranstrahler

8.2 Beispielrechnung
8.2.1 Ansteuerung 60V
8.2.2 Ansteuerung 120V

9. Messungen zur Charakterisierung des Schallfeldes

9.1 Versuchsanordnung
9.2 Resonanzfrequenzen
9.3 Strahlungscharakteristik
9.3.1 Kugelstrahler
9.3.2 Kolbenstrahler, Membranstrahler

10. Zusammenfassung

11. Patente und Literatur

1. Aufgabenstellung

Biofilme sind ein wichtiger Bestandteil vieler Ökosysteme, aber auch unserer technisierten Umwelt. Ohne sie wäre die Selbstreinigung von Fließgewässem und die Abwasserreinigung kaum vorstellbar. Die Beeinflussung von technischen Systemen durch unerwünschte Biofilme nennt man „fouling“. Greift ein Biofilm seine Unterlage an, z. B . durch Mikrokorrosion, spricht man von „Biodeterioration“.

Durch Bewuchs von Sensoren wird die Genauigkeit und Funktionsfähigkeit von Meßgeräten nach sehr kurzer Zeit stark beeinflußt. Durch die Verblockung eines Sensors mit Biofilmen wird der unmittelbare Kontakt zum Medium unterbrochen und die Meßwerte durch die Vorgänge in der Filmmatrix (Sauerstoffverbrauch, pH-Wert-Änderungen, Erwärmung) verfälscht. Die Erhöhung der Langzeitstabilität ist im Hinblick auf Wartungsaufwand und Energie- und Materialeinsparung eine der vordringlichsten Aufgaben in der Meßtechnik aquatischer Umweltbedingungen.

Gesucht werden

- geeignete Reinigungsprinzipien für die Anwendung in der Mikrosensorik
  (Reinigungsmodule, Ansteuerung)

- geeignete Oberflächenmaterialien mit geringer Besiedlungsattraktivität

- Optimierte Reinigungsintervalle in Abhängigkeit von Wachstum und Zusammensetzung der Biofilme

2. Stand der Technik

Die aufgeführten Literatur und Patentanmeldungen wurden ausgewertet

2.1 Schlußfolgerungen aus Recherchen

2.1.1 Reinigungsprinzip

Gegenüber der Bewuchsverhinderung durch z.B.

- mechanische Reinigung
- Erwärmung
- Bestrahlung durch UV
- Bestrahlung durch harte Strahlung
- Anwendung von toxischen Stoffen

hat die Reinigung durch Schall- bzw. Ultraschall vor allem folgende Vorteile:

- schonende Reinigung
- keine Veränderung des zu messenden Mediums
- nicht toxisch
- ungefährliche Handhabung

2.1.2 recherchierte Kennwerte

Quelle	Antifouling-frequenz	Schalldruck Ablösung	Dauer	Schalldruck Prevention	Ankopplung
16	18 kHz	100 N/m²	30s	2N/m²	
2	25..40 kHz		0,1..10s		direkt
1	20..1000 kHz				indirekt
11	40 kHz				
8	10 kHz				
13	18 kHz	50 N/m²	30s		
14	11 kHz				indirekt

Tabelle 2.1.2.1 Kennwerterahmen

3. Grundsatzuntersuchungen zum Reinigungsschall

3.1 Ankopplung der Schallquelle

Zur Ablösung müssen die Mikroorganismen relativ zu ihrer Haftungsoberfläche bewegt werden. Die dazu notwendigen Kräfte müssen größer als die Haftkräfte der Mikroorganismen sein. Bei der vorbeugenden Bewuchsverhinderung sind naturgemäß deutlich kleinere Kräfte nötig. Folgende Verfahren zeichnen sich ab:

Ankopplung des Ultraschallsenders an das zu reinigende Substrat über das fluidische Medium

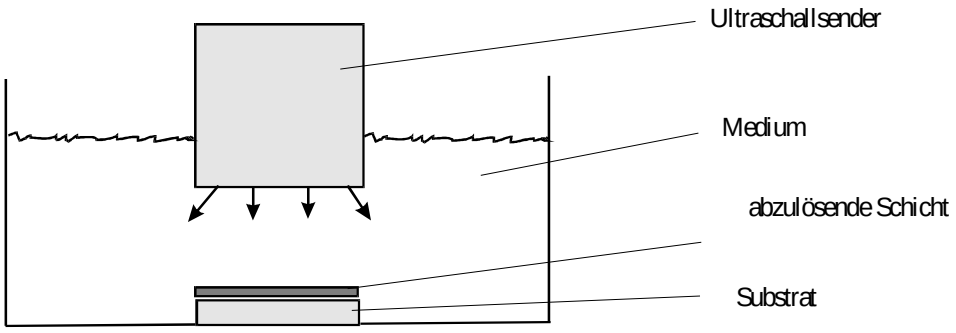


Bild 3.1.1 Schalleinkopplung über Medium

Nachteile:
Abhängig von der akustischen Anpassung an den Grenzflächen Ultraschallsender - Medium, Medium - Objekt werden Schallwellen reflektiert und gehen deshalb für den Reinigungseffekt verloren.
Die Strahlungscharakteristik der Schallquelle sollte so beschaffen sein, daß aus Leistungsgründen möglichst nur das zu reinigende Objekt bestrahlt wird. Schwer berechenbare Reflektionen von den Gefäßwänden können in ähnlicher Größenordnung wie die direkt auftreffenden Schallwellen liegen. Durch Interferenzen bilden sich Zonen der verstärkten und Zonen der abgeschwächten Reinigungsintensität auf der Oberfläche des Reinigungsobjektes.
Insgesamt ist der akustische Wirkungsgrad gering.
Vorteile:
Ultraschallsender und Sensor sind konstruktiv voneinander getrennte Einheiten und damit auch einzeln austauschbar.

Direkte Ankopplung des Ultraschallsenders an das zu reinigende Substrat

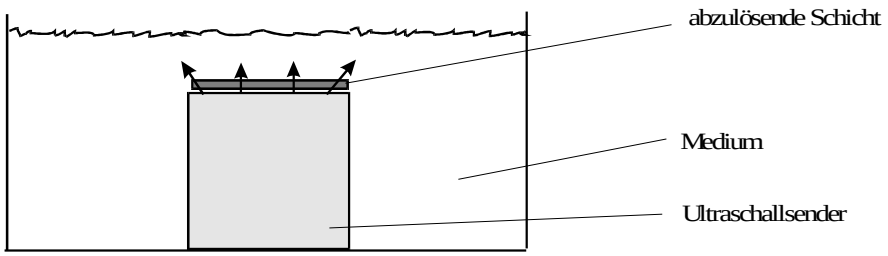


Bild 3.1.2 direkte Schalleinkopplung

Vorteil:
Die Schalleistung wird in das Reinigungsobjekt eingekoppelt, der dämpfende Durchlauf durch das fluide Medium entfällt ebenso wie die Reflektion an deren Grenzschichten. Der akustische Wirkungsgrad wird dadurch günstiger.
Die Schwingungsmoden sind bekannt (z.B. bei einer schwingenden Membran) und damit die ortsabhängige Schwingamplitude auf dem zu reinigenden Objekt.

Nachteil:
Sensor und Ultraschallsender bilden eine konstruktive Einheit.

3.2 Oberflächen- Resonanzstrukturen

Beispiel: Schalleinkopplung direkt in das Substrat

Bild 3.2.1 Bimorphe Anordnung Glas und Piezo

Wellenstrukturen an der Oberfläche

Bei der Einkopplung von Ultraschallwellen in ein Objekt entstehen durch Einfach- und Mehrfachreflektionen an den Grenzflächen stehende Wellen mit Wellenbäuchen und -knoten. Es bilden sich also Orte mit minimaler und solche mit maximaler Bewegungsgeschwindigkeit. Diese Strukturen sind von der Objektgeometrie, der Schallgeschwindigkeit im Objekt und der eingekoppelten Frequenz abhängig und auch als Chladnische Klangfiguren bekannt .

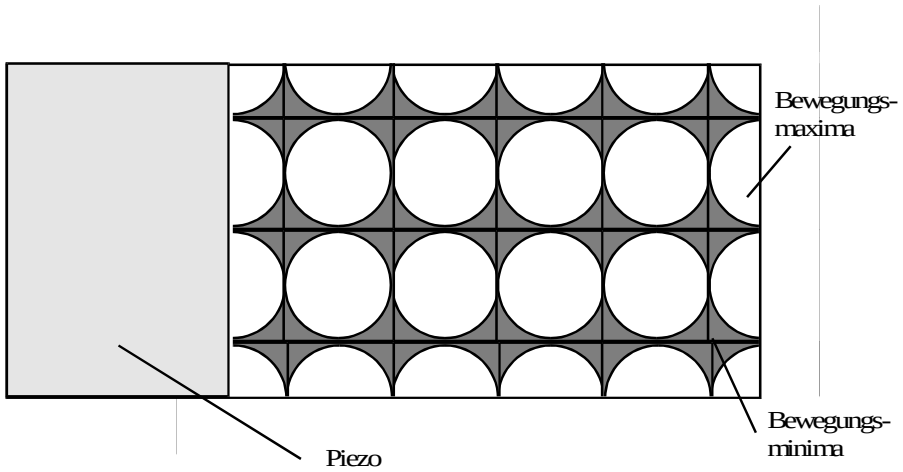


Bild 3.2.2 Schematische Darstellung Chladnische Klangfiguren

Das bedeutet, daß es Zonen auf der Oberfläche eines von einer Schallquelle bewegten Objektes geben kann, an denen keine bzw. nur geringe Bewegung stattfindet.
Der Reinigungseffekt an der Oberfläche eines Objektes ist damit orts- und frequenzabhängig.

Lösungsmöglichkeiten:
In der zu reinigenden Fläche befinden sich keine Bewegungsknoten
Die Schwingungsmoden der zu reinigenden Fläche sind bekannt und es gibt dort bei Ansteuerung keinen Ort völliger Bewegungslosigkeit. Das ist der Fall,wenn z.B.eine an den Rändern fest eingespannte, resonant schwingende Membran mittels Piezo (bimorphe Anordnung) angetrieben wird.
Pumpen bzw. Strömungsleitbleche können die Reinigung unterstützen.

3.3 Mikroorganismen in Eigenresonanz

Die anhaftenden Mikroorganismen werden in Eigenresonanz versetzt und bewegen sich deshalb maximal gegenüber Medium und Oberfläche.
Vorteil: Nur die Mikroorganismen werden sehr effektiv bewegt.

Nachteil: Die Resonanzfrequenzen sind von den Größen der Organismen abhängig und sehr hoch. Die technische Realisierung ist deshalb schwierig.

4. Silizium- Strukturen

4.1 Untersuchungen einer piezoelektrischen bimorphen Membran

In ein Siliziumchip wird eine quadratische Grube geätzt, so daß deren Boden eine an den Rändern fest eingespannte Membran bildet. Bei Ansteuerung eines darauf aufgeklebten Piezos (bimorphe Anordnung) verändert sich die Wölbung der Membran.

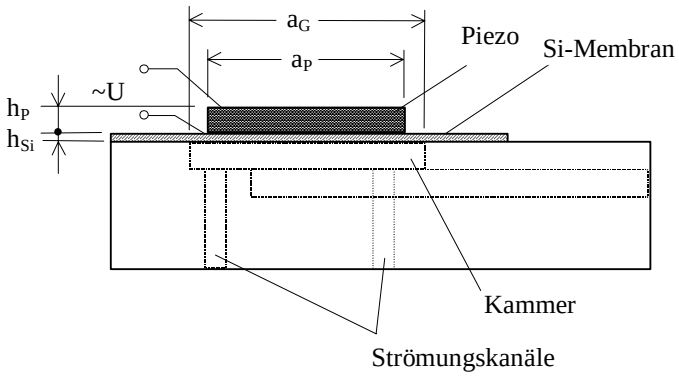


Bild 4.1.1 Schematische Darstellung des Ultraschallreinigungssensors

4.1.1 Abhängigkeit der Membranabmessungen von der Resonanzfrequenz

Die Abmessungen von Membran und Piezo und deren Materialkennwerte bestimmen die Resonanzfrequenz der Anordnung. Bei einer vorgegebenen Piezodicke von 200µm wurde bei optimaler Leistungsanpassung eine Membrandicke von 130µm errechnet.
Die optimale Piezoabmessung wurde bei dieser Anordnung mit 86% der Membranabmessung errechnet.
Die Resonanzfrequenz der Anordnung ist mit den obigen Festlegungen damit nur noch von der Membrangröße abhängig.

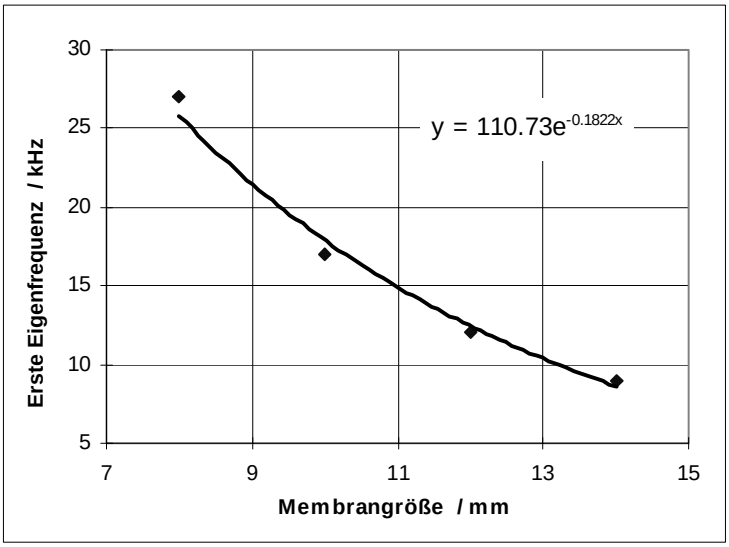
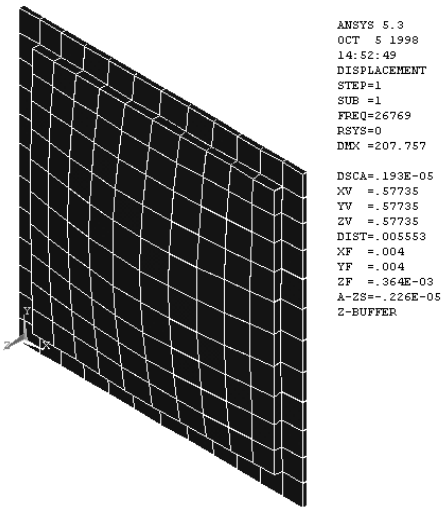


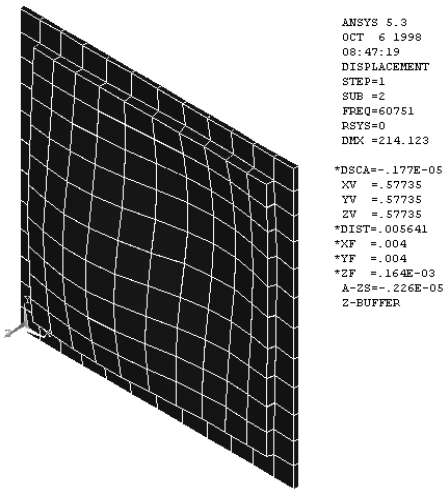
Bild4.1.1.1 Abhängigkeit der ersten Eigenfrequenz von der Membrangröße

4.1.2 Schwingungsformen der bimorphen Membran

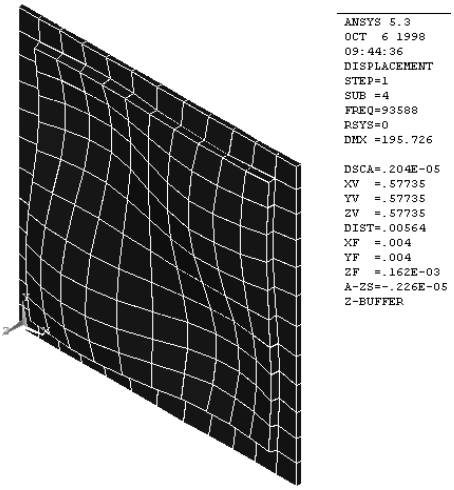
In Abhängigkeit von den Eigenfrequenzen ergeben sich folgende Schwingungsformen:



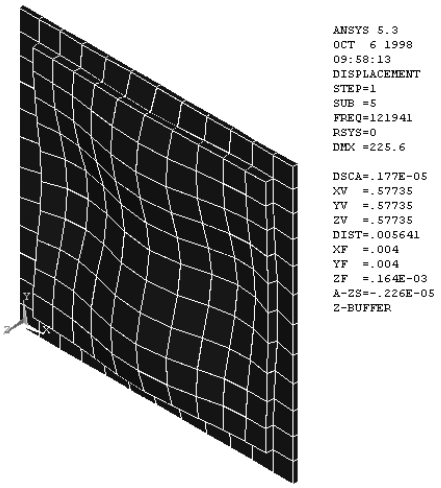
f_1 =12,3 kHz



f_2 =f_3 =27,9 kHz



f_4 =44,7 kHz



f_5 =57,0 kHz

Bild 4.1.2.1 Schwingungsformen der Membran

4.2 Technologischer Durchlauf Siliziumstrukturen

4.2.1 Maskenentwurf

In die Oberseite der Siliziumchips werden Gruben zur Aufnahme des Piezos geätzt, wobei der Boden die Schwingungsmembran bildet. Zur Kontaktierung des Piezos wird diese Seite vollständig vergoldet. Unterschiedliche Membrangrößen und damit unterschiedliche Resonanzfrequenzen dienen zur späteren Ermittlung der optimalen Reinigungsfrequenz.

Die Unterseite erhält einen Leitfähigkeitssensor mit Temperaturmeßwiderstand. Auch hier wird vor allem wegen der Beständigkeit im Meerwasser Gold als Leitermaterial verwendet.

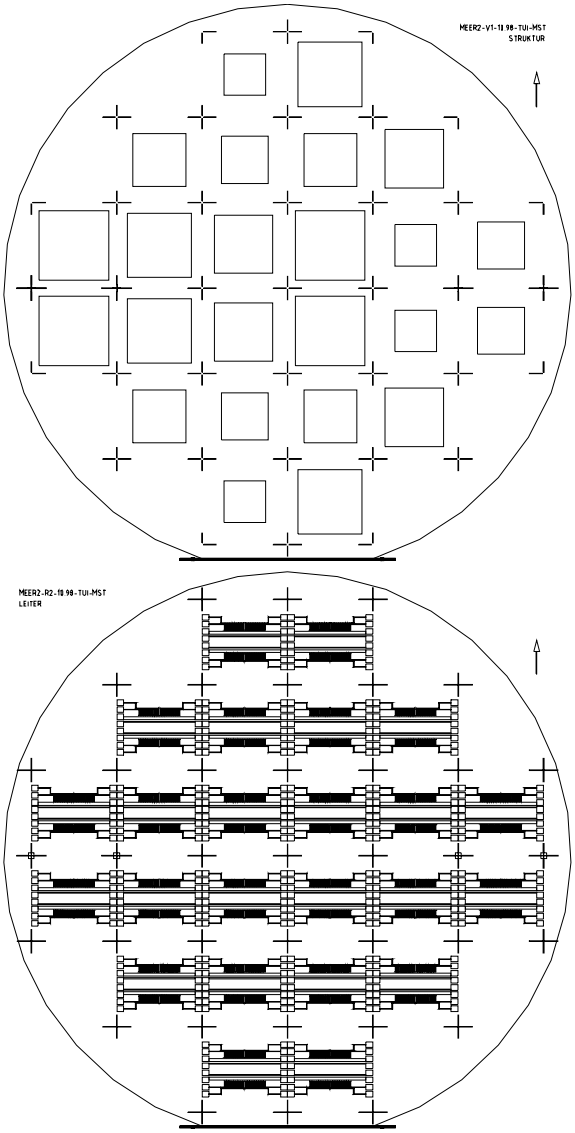


Bild 4.2.1.1: Maske für Unter- und Oberseite Siliziumwafer

4.2.2 Technologische Arbeitsschritte

Projekt:	342.61.740 Bewuchs an Meeressensoren
Substratmaterial:	2 * 100-Silizium- Wafer geringe Dickentoleranz, 1* beidseitig poliert , 1* einseitig poliert
Durchmesser:	4 Zoll
Dicke :	350µm
Maskengröße:	5 Zoll

Arbeitsschritte:

1. Erstreinigung Wafer 1
2. Oxidation Wafer1 ,Oxiddicke $^{>}_{=}$ 1,5 µm
3. Belackung beidseitig Wafer 1
4. Lithografie beidseitig Wafer 1
5. SiO_2-ätzen Wafer 1
6. Lack strippen Wafer 1
7. KOH-ätzen Wafer, auf Membrandicke von 130 µm
8. SiO_2-ätzen Wafer 1
9. Erstreinigung Wafer 1 und 2
10. Oxidation Wafer 1 Oxiddicke: ca. 500nm
11. Bedampfung Wafer 1 ,Chromt = 20nm Gold = 150nm
12. Belackung einseitig Wafer 2
13. Tragwafer aufbringen Wafer 1 und 2
14. Ausheizen Wafer 1 und 2
15. Belackung einseitig Wafer 1 und 2
16. Lithografie Wafer 1 und 2
17. Au-ätzen Wafer 1 und 2
18. Cr-ätzen Wafer 1 und 2
19. Tragwafer entfernen, Lack strippen, Wafer 1 und 2
20. Cr/Au-Bedampfen Wafer 1
21. Trennen Wafer 1

4.3 Siliziumchip mit Piezo

In die geätzte Grube wird der Piezo eingeklebt und kontaktiert. Die andere Seite der Membran trägt den Leitfähigkeitssensor in Vierleitertechnik und Temperaturmeßwiderstände.

Leitfähigkeitssensor an Unterseite

Piezo in geätzte Grube auf Oberseite eingeklebt

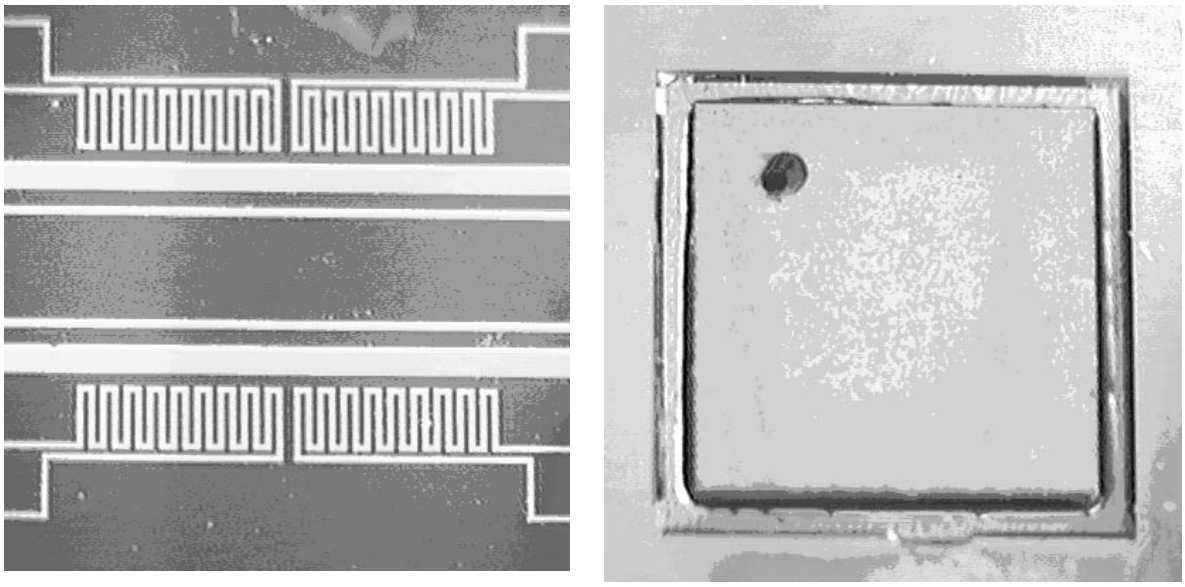


Bild 4.3.1 Leitfähigkeitssensor mit Piezo-Schallwandler

5. Experimentielle elektronische Ansteuerung

5.1 Berechnung elektronische Ansteuerung

Piezo- Kapazität :

Materialkennwerte:

Material: PK 51
Abmessungen: A = 11 mm x 11 mm
Dicke: d = 200 µm
Dielektrizitätskonstante: $\frac{\varepsilon_{33}}{\varepsilon_0} = 2200$ $\frac{\varepsilon_{11}}{\varepsilon_0} = 1980$

$$\varepsilon_0 = 8.85 \cdot 10^{-12}\, As/Vm$$

$$C = \varepsilon_{33} \cdot \varepsilon_0 \cdot \frac{A}{d}$$

$$C = \left(2200 \cdot 8{,}85 \cdot 10^{-12}\, As/Vm\right) \cdot \left(11^2 \cdot 10^{-6} \cdot m^2\right) / 200 \cdot 10^{-6}\, m$$

C = 11,7 nF
=========

Kapazitiver Widerstand :

Spannungsform: Sinus
Frequenz: f = 40 kHz

$$R_c = \frac{1}{2 \cdot \pi \cdot f \cdot C}$$

$$R_c = \frac{1}{2 \cdot \pi \cdot 40 \cdot 10^3 \cdot 11{,}7 \cdot 10^{-9}} \cdot \frac{Vs}{As}$$

R_c = 340 Ohm
==========

Umladung der Piezokapazität bei Rechteckansteuerung :

Spannungsversorgung Piezo ohne integrierenden Ladeelko
Spannungsform: Rechteck

mittlerer Wandlerstrom I_{DC} = 100 mA
maximaler Piezoladestrom: Imax = 100 mA ; keine Mittelung des Ladestromes durch Elko

maximale Ladespannung: Umax = 120V
minimaler Ladewiderstand Rmin = 1,2 kOhm

Aufladezeit Kondensator auf 70 % von Umax

$$0{,}7 \cdot U_{\max} = U_{\max}\left(1 - e^{-t/R_{\min} \cdot C}\right)$$

$$\ln 0{,}3 = -t / R\min \cdot C$$

t = 17 µs
========

Periodendauer T:

$T_{\min} = 2t$; Aufladen nur während positiver Halbwelle

$f_{\max} = 1/T_{\min}$

f max = 28 kHz
==========

Spannungsversorgung Piezo mit integrierendem Ladeelko:

Spannungsform: Rechteck

mittlerer Wandlerstrom I_{DC} = 100 mA
Piezoladestrom Ipiezo = (Umax - Uc) / Rmin
= Imax * $e^{-t / Rmin\ C}$

mittlerer Piezostrom

$$I_{mittel} = \frac{1}{T}\int_0^{3T} I_{Piezo}\,dt$$

$$= \frac{I_{\max}}{3 \cdot R_{\min} \cdot C} \cdot \int_0^{3T} e^{-t/R_{\min}C}\,dt$$

maximaler Piezoladestrom: Imax = 200 mA ; I_{DC} = ca. 0,5 Imax , integrierender Elko
maximale Ladespannung: Umax = 120V
minimaler Ladewiderstand Rmin = 0,6 kOhm

Aufladezeit Kondensator auf 70 % von Umax

damit wird (analog zu oben):

fmax = 56 kHz
==========

5.2 Hauptkennwerte der Ansteuerschaltung

Aus den Funktionsanforderungen und der technischen Realisierbarkeit aus den Berechnungen ergeben sich folgende technisch sinnvollen Kennwerte:

Voraussetzung: Cpiezo = 3..12 nF

Sytemspannung: 12V/1A (Schaltregler)
DC- DC- Wandler: 60V/ 100mA (sekundär)
Leistungstreiber: 60V /3A 0,6 Ohm, Spannungsverdopplung

Piezospannung: 60 .. 120V Rechteck, positiv, 100Hz..50kHz

5.3 Elektronische Ansteuerung

Die Hauptkennwerte als Grundlage führten zu folgender Ansteuerung:

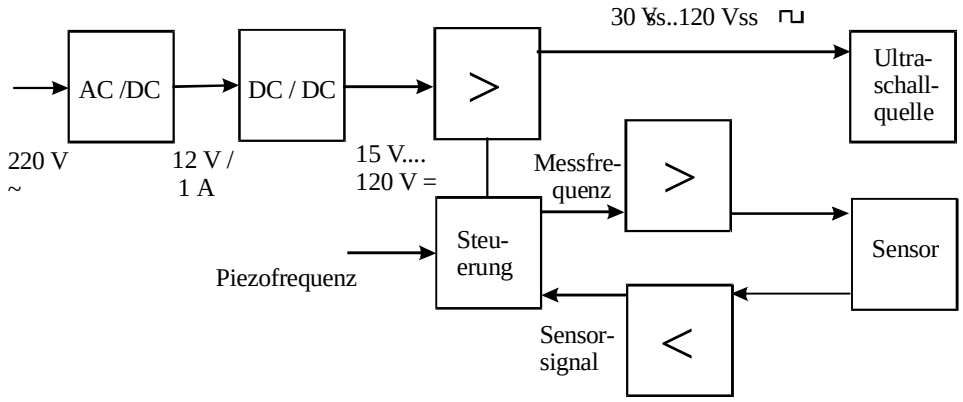


Bild 5.3.1: Funktionsschaltbild Ansteuerung

Schaltungsbeschreibung:

Die Systemspannung von 12V=/1A stellt die Logikspannung für den Prozessor und den Piezo-Leistungstreiber zur Verfügung.
Durch einen Gleichspannungswandler und Spannungsverdopplung wird nach dem Leistungstreiber eine positive Rechteckspannung von maximal 120V bereitgesellt.

Ein Prozessor steuert
- Dauer, Amplitude und Frequenz der Ultraschallreinigung
- Pausenzeiten
- Meßregime abgestimmt auf den Sensor (z.B. Meßfrequenz, Meßströme, Meßzeit)

Zwischen Prozessor und Sensor sind noch Verstärkerstufen notwendig.

5.4 Stromlaufplan elektronische Ansteuerung

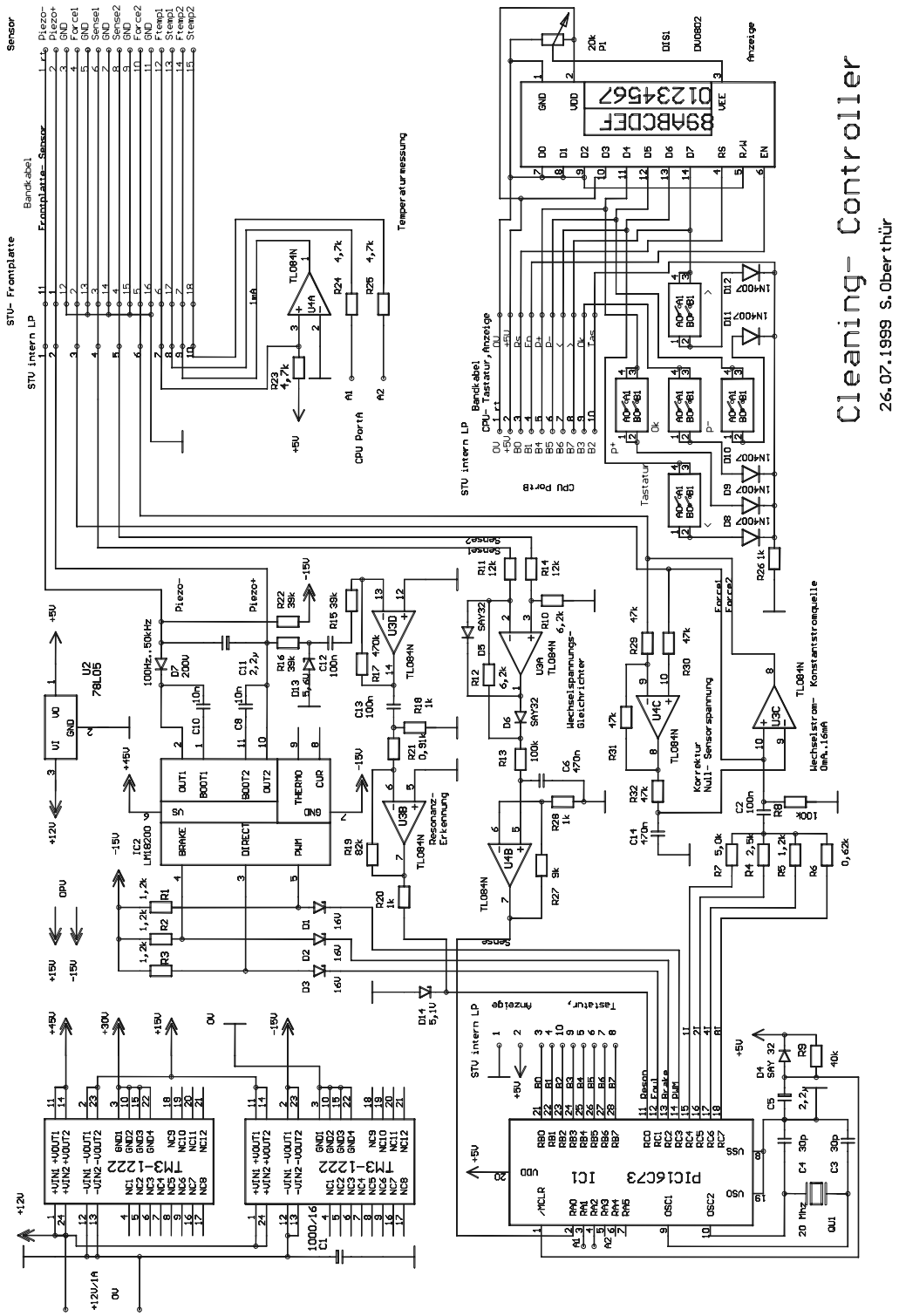


Bild 5.4.1 cleaning- controller

5.5 Übersichtsbild verschiedene Schallsender und Ansteuerung

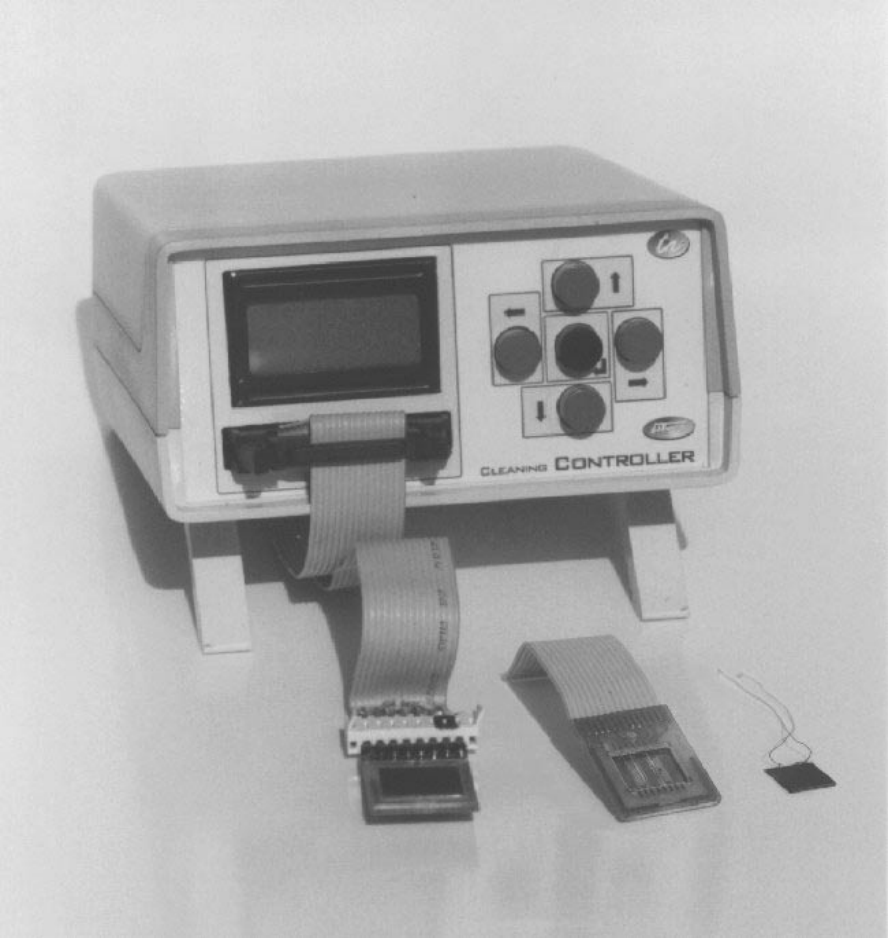


Bild 5.5.1 Schallsender mit cleaning controller

5.6 Bedienungsübersicht Cleaning Controller

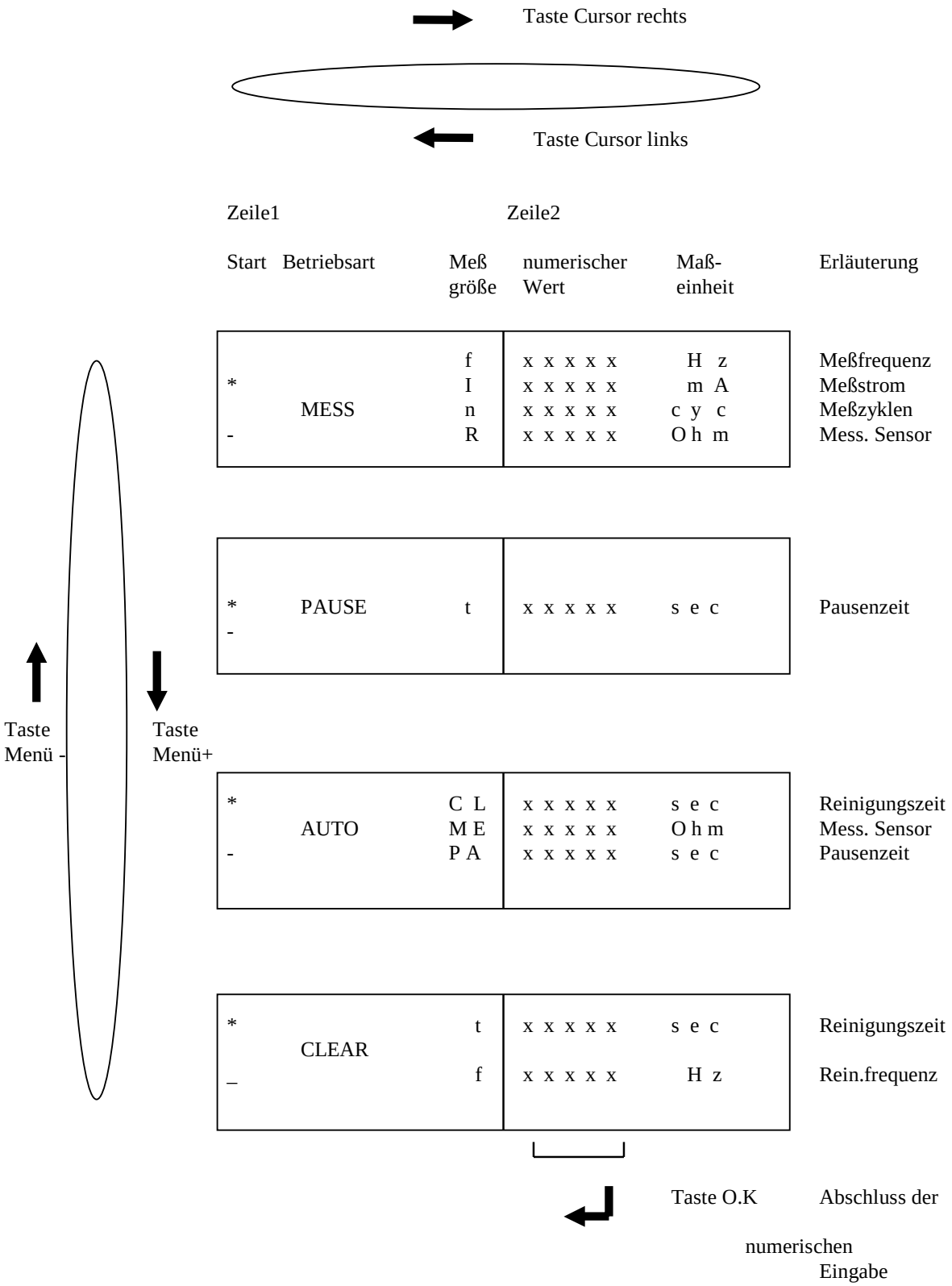


Bild 5.6.1: Menüsteuerung

Erläuterungen:

Die Bedienung ist an eine Fernsehfernbedienung angelehnt.

MESS	Meßfrequenz:	Frequenz des Meßstromes eines Feuchtesensors	100Hz..50kHz
	Meßstrom	Wechselstrom durch den Feuchtesensor	0..12 mA
	Meßzyklen	Anzahl der Aufeinanderfolgenden Messungen	1...65000
PAUSE	Pausenzeit	Zeit ohne Reinigung, ohne Messung	1... 65000 sec
CLEAR	Reinigungszeit	Zeit mit aktiver Schallquelle	1...65000 sec
	Reinigungsfrequenz	Frequenz des Rteinigungsschalles	100Hz...50kHz
AUTO		automatischer Ablauf von CLEAR, MESS, PAUSE	nacheinander

Die Tasten Menü + und Menü - sind immer für die Displaystelle aktuell, auf der der Cursor steht Der Cursor bewegt sich nur auf sinnvolle Stellen .(z.B. nur auf „M“ von MESS, nicht aber auf „E“ von MESS.
Eingabe von Zahlenwerten (2. Zeile) muß mit O.K. abgeschlossen werden.

6. Messungen mit Leitfähigkeitssensoren

Messungen der Leitfähigkeit von Salzlösungen wurden in der Literatur umfangreich behandelt.Die durchgeführten Versuchsreihen dienten im vorliegenden Fall dem Funktionsnachweis von

- verschiedenen Sensoren (integrierter Sensor eigene Entwicklung, diskreter Sensor HL-Planar, Sensor, jena engeniering)
- der Ansteuerelektronik (Meßfrequenz, Meßstrom)
- der Auswerteelektronik

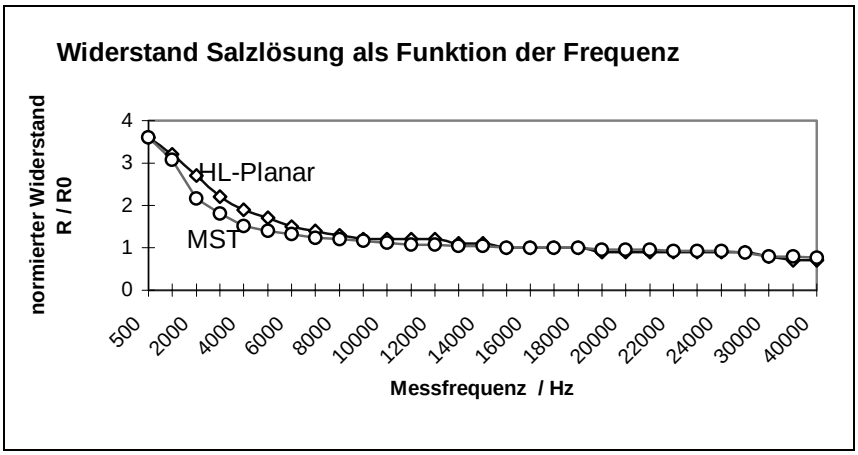


Bild 6.1: Widerstand der Salzlösung als Funktion der Frequenz

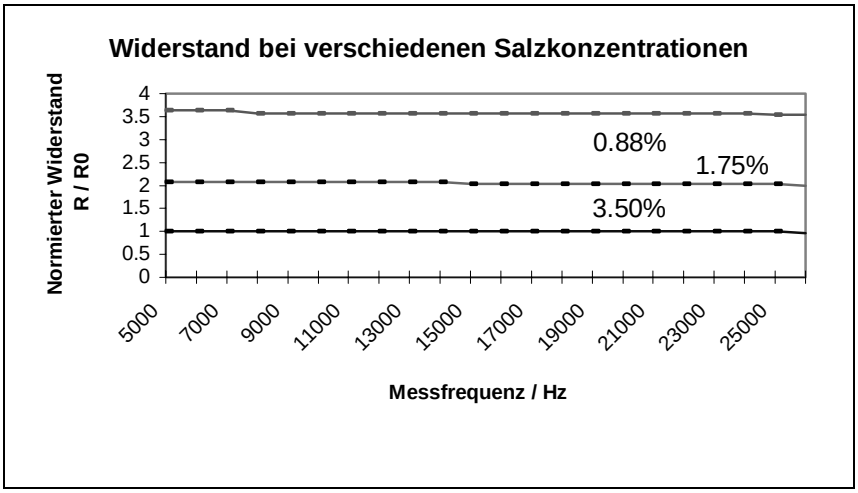


Bild 6.2: Widerstand bei verschiedenen Salzkonzentrationen

Langzeitstabilität der Sensoren , der Ansteuerung und der Auswertung:

Die Langzeitstabilität im Salzwasser war nur bei den Sensoren von HF-Planar sehr gut.
Die anderen Sensoren zeigten nach 2 Tagen Korrosion durch Bildung von galvanischen Elementen.
Die Ansteuerung und Auswertung war durch den Mikroprozessoreinsatz zeitunabhängig stabil.

Schlußfolgerung:
Die Entwicklung von salzwasserbeständigen, langzeitstabilen Sensoren stellt eine eigenständige Problematik außerhalb dieses Projektes dar

7. Mikrobiologische Bewuchsversuche auf Materialien in Meerwasser- Mesokosmen

Bringt man Objekte mit einer festen, abgegrenzten Oberfläche in eine aquatische Umgebung, so kommt es, abhängig von den herrschenden Umgebungsbedingungen, innerhalb einer bestimmten Zeit zur Anheftung von Organismen. Dies geschieht sowohl in limnischen und marinen Ökosystemen als auch in technischen Anlagen, wie z. B. Kläranlagen, Trinkwasserleitungen, Reinstwasseranlagen. Die Besiedlung von Oberflächen mit Mikroorganismen (Bakterien, Pilze, Mikroalgen, Protozoen), und deren Anheftung und Einbettung in eine selbstproduzierte Schleimmatrix führt zur Bildung eines Biofilms. Bei einer starken Besiedlung ist dieser als bräunlicher, schleimiger Belag erkennbar. Erst später heften sich auch Makroorganismen an die bereits mit Mikroorganismen besiedelten Oberflächen. Beispielsweise besiedeln Seepocken-Larven im Meer bevorzugt Flächen, die bereits mit Biofilmen bewachsen sind. Teilweise reagieren diese Larven sogar spezifisch auf bestimmte Bakteriengruppen positiv. Der Biofilm an sich ist als eine spezielle ökologische Nische anzusehen.

7.1 Besiedlungsstrategien

Die Anheftung von Organismen an eine Oberfläche vollzieht sich in drei Phasen, die mehr oder weniger deutlich voneinander abgrenzbar sind.

7.1.1 Induktions- oder Initialphase

Auf einer festen Oberfläche bildet sich innerhalb von Sekunden bis Stunden nach dem Einbringen ein sogenannter „conditioningfilm“. Es handelt sich dabei um die Anheftung mehrerer Schichten hydrophober Polymere, welche in jedem wässrigen Mileu vorhanden sind. Dadurch ändern sich die Oberflächenladung, die Oberflächenenergie, also ganz allgemein die Oberflächen-eigenschaften. Dies scheint oft eine mikrobielle Besiedlung zu attraktieren. Unter Umständen dient dieser Film aus Makromolekülen auch als Nährstoffquelle. Er determiniert jedoch nicht das spätere Biofilmwachstum.

Jetzt erst erfolgt die Primäradhäsion von Erstbesiedlungs-Mikroorganismen, Bakterien oder auch Mikroalgen (Diatomeen). Bei letzteren muß Licht nicht unbedingt eine Rolle spielen. Bei Diatomeen in mariner Umgebung ist die Anheftung Ca^{2+} -abhängig und unabhängig vomLicht. Für diese Kieselalgen ist es nicht ungewöhnlich, eine Weile ohne Licht auskommen zu müssen. Einen späteren logarithmischen Zuwachs von Zellen gibt es jedoch nur im Licht .

Sehr gut erforscht ist der Vorgang bei Bakterien. Die Anheftung ist zunächst reversibel und die Organismen zeigen noch Brownsche Molekularbewegungen. In dieser Phase erfolgt vermutlich ein extrazelluläres Signal zur irreversiblen Befestigung am Untergrund. Diese Anheftung ist mit einer Beendigung der Bewegung und mit der Produktion von extrazellulärem Schleim verbunden. Dabei kommt die Zelloberfläche aber nicht direkt mit der Oberfläche des Körpers in Berührung, sondern die Verbindung erfolgt über Pili, Flagellen, oder Schleim. Allerdings heften sich nur 0,01 bis 1 % der Organismen, die mit der Oberfläche in Berührung kommen, auch wirklich irreversibel an. Diese Erstbesiedler können den Oberflächencharakter verändern. Bei Bakterien in mariner Umgebung ist die Anheftung Na^{+} -abhängig.

Die größte Rolle bei der Anheftung scheinen die Extrazelluläre PolySaccharide (EPS) zu spielen. Dieser Schleim kann eine mehr oder weniger feste, gelartige Matrix um die Zelle bilden, die Übergänge zu einer festen Kapsel sind fließend. Vor allem bilden die angehefteten Bakterien eine Kapsel, die doppelt so groß wie der Zellkörper sein kann. Auf unterschiedlichen Bewuchsmaterialien kann sowohl die Menge als auch die Zusammensetzung der EPS variieren. Sie können gelartig sein oder ein filamentöses Netzwerk bilden. Diese Matrix ist hydrophil und schützt den Biofilm vor Austrocknung . Durch die Anheftung mittels EPS können die Mikroorganismen auch starken Scherkräften widerstehen. Die EPS mariner und limnischer Organismen unterscheiden sich voneinander.

Im mariner Umgebung sind die Erstbesiedler häufig kleine stäbchenfbrmige Bakterien, die sich besonders erfolgreich unter den meist vorherrschenden oligotrophen Bedingungen anheften, bzw. deren Anheftung durch oligotrophe Verhältnisse stimuliert wird.

Die erste Phase kann Stunden bis Tage dauern.

7.1.2 Logarithmische Phase oder Wachstumsphase

Der Beginn der EPS Produktion zeigt den Übergang von der Initialphase zur logarithmischen Phase an.
In dieser Phase beginnt das verstärkte Wachstum der Erstbesiedler und es kommen neue Organismen hinzu. Die meist oligotrophen Pioniersiedler werden nun von eupiotrophen oder copiotrophen Mikroorganismen verdrängt . Als Sekundärbesiedler treten Kokken, filamentöse Bakterien, Diatomeen, andere Mikroalgen und Protozoenauf. Die Zusammensetzung der EPS ändert sich mit dem Alter des Biofilms. Die Oberflächeneigenschaften haben auf diese Phase kaum noch Einfluß, da der nun zunehmende Biofilm völlig andere Eigenschaften als die ursprüngliche Oberfläche aufweisen kann. Aus kleineren Mikrokolonien enstehen Mikrokonsortien (organische Mischkolonien), die aus miteinander vergesellschafteten Mikroorganismen bestehen können. Diese sind eine charakteristische Komponente von Biofilmen. Die EPS Produktion steigt weiter an. Diese Phase kann Tage bis Wochen dauern.

7.1.3 Plateau-Phase

In dieser Phase erreicht der Biofilm eine bestimmte Dicke, die von der Nährstoffsituation des umgebenden Wassers, den herrschenden Scherkräften und anderen Faktoren abhängt. Die Dicke kann wenige µm bis 1 cm betragen. Der Biofilm besteht nun aus Organismen, die in eine Matrix eingebettet sind, partikulärem Material, gelösten Stoffen, anorganischen Bestandteilen und zu 50-95% aus Wasser. Die EPS können jetzt 60-90 % der organischen Trockenmasse ausmachen. Bei hohen Scherkräften und / oder oligotrophen Verhältnissen bilden sich dichte, aber dünne Biofilme, während es bei nährstoffreicher Umgebung und niedrigen Scherkräften dicke, aber sehr poröse Filme sind. Innerhalb des heterogenen, meist hydrophilen Biofilmes können verschiedene Mikrohabitate enstehen, die oft anaerob sind. Vielfältige Stoffwechsel- und Diffusionsprozesse bewirken den Stofftransport durch die Matrix. Durch die Anwesenheit von bakterien- und

algenfressenden Protozoen (z. B. Ciliaten) können die Bakterien und Algen in einem physiologisch aktiven Wachstumszustand gehalten werden.
Mit zunehmender Dicke lösen sich immer wieder größere oder kleinere Stücke aus dem Biofilm und driften ab.
Die Wachstumsrate eines Biofilms scheint in erster Linie von der herrschenden Temperatur abhängig zu sein, ist jedoch allgemein ein systemspezifischer Vorgang.

7.2 Exposition im limnisches Milieu, Versuchsaufbau

10 Wafer mit unterschiedlichen Oberflächenstrukturen wurden in in Süßwasseraquarien exponiert. Die Kontrolle erfolgte mit Auflichtmikroskop und Fluoreszenz-Auflichtmikroskop, mit dem auch die Ergebnisdokumentation erstellt wurde.

7.2.1 Ergebnisse limnisches Milieu

Alle bereitgestellten Testwafer wurden besiedelt. Besiedlungspräferenzen konnten mit dem Auflichtmikroskop nicht festgestellt werden. Der Besiedlungszeitraum betrug eine Woche. Innerhalb dieser Zeit hatte sich bereits ein deutlicher Biofilmm entwickelt. Typische Besiedler eines limnischen Biofilms konnten beobachtet werden: Bakterien, Blaualgen, grüne Mikroalgen (Ulothrix sp., Microthamnion sp.), Augenfiagellaten (Anisonema ovale) Diatomeen (Gattungen Navicula, Synedra, Tabellaria), Ciliaten (Chilodonella uncinata, Cinetochilium sp., Loxophyllum meleagris, Euplotes sp.), Thekamöben (Arcella sp.) Rotatorien (Cephalodella sp.) und Nematoden.
Die Untersuchung mit dem Fluoreszenz-Auflicht-Mikroskop ergab, daß sich die sichtbaren Organismen bevorzugt in den Tälern der Strukturen angesiedelt hatten.

7.2.2 Reinigung vom Biofilm limnisches Milieu

Die Reinigung erfolgte mit Ultraschall unter folgenden Bedingungen

-Reinigungsdauer 30 min
-Abstand zur Probe 1mm
-Intensität 60V Rechteck
-Ultraschallfrequenz 28,5 kHz

Silizium, glatte Oberfläche

vor der Reinigung nach der Reinigung

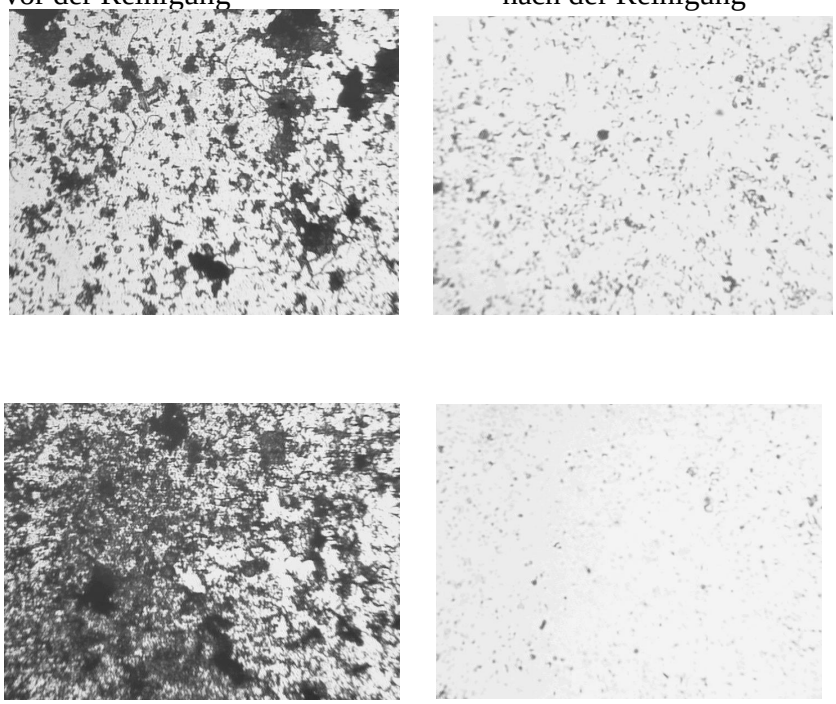


Bild 7.2.2.1: Silizium unstrukturiert

Glas, glatte Oberfläche

vor der Reinigung nach der Reinigung

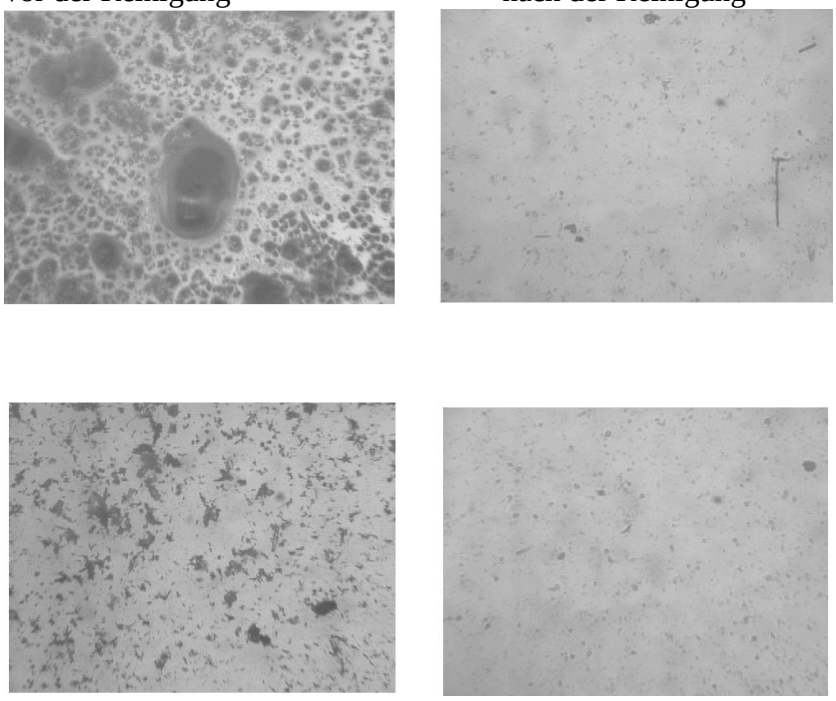


Bild 7.2.2.2: Glas unstrukturiert

Silizium, V-Gräben

vor der Reinigung nach der Reinigung

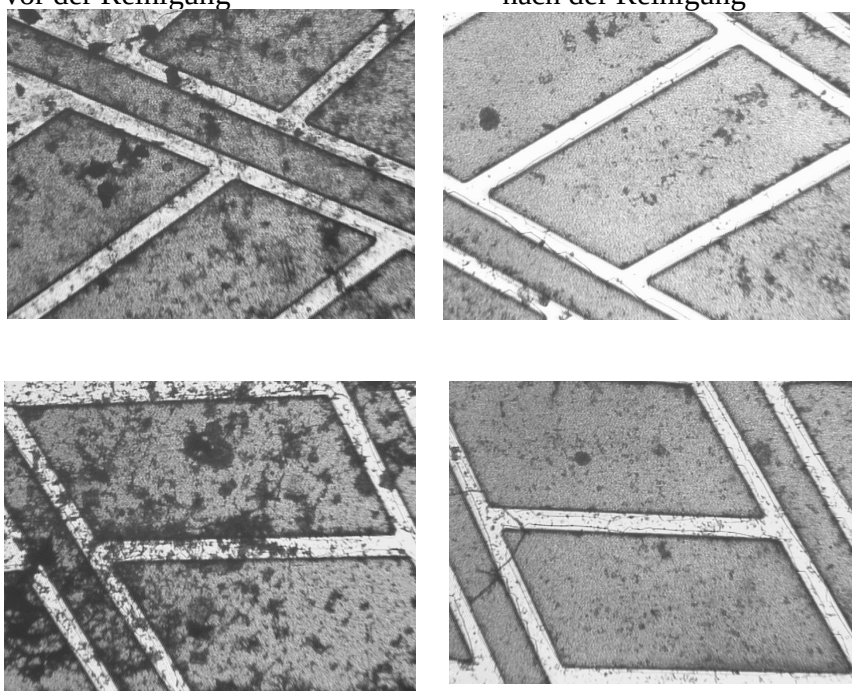


Bild 7.2.2.3 Silizium mit V- Gräben strukturiert

7.3 Exposition im maritimen Milieu, Versuchsaufbau, Materialien, Strukturen

Versuchsaufbau, Mesokosmen:

Leitungswasser wurde mit Hilfe von Kationen- und Anionenaustauschem vollentsalzt. Nach einer mehrtägigen Wartezeit wurde ein hochwertiges Sikkumsalz zugegeben.
Von Anbeginn der Beckenbefüllung erfolgte eine Belüftung und Umwälzung über kiesbefüllte Filter, die per Luftheberprinzip betrieben wurden. Hierfür wurde ein Plastikrohr senkrecht in ein einfaches Glasgefäß eingebracht und letzteres mit grobem Kies rund um das Rohr befüllt. Ein PVC-Schlauch mündete unten im Plastikrohr. Eine Membranluftpumpe förderte Luft über den Schlauch unten in das Plastikrohr, welche dann beim Aufstieg Wasser hinter sich herzog bzw. vor sich herschob. Mit diesem Luftheberprinzip wurde das Aquarienwasser durch den Kiesfilter gesogen. Überschüssiges CO_2 des entsalzten Wassers wurde dadurch ausgetrieben und eine komplette Auflösung des künstlichen Meersalzes gewährleistet. Nach einer weiteren Einlaufphase von 14 Tagen wurden der Leitwert, pH-Wert, Sauerstoffgehalt und die Karbonathärte überprüft, um festzustellen, ob das Wasser eine geeignete und stabile Qualität für den Besatz mit Nordseeorganismen aufwies.

Sauerstoff	Sättigung 102%	Gehalt 8,2mg/l
Leitfähigkeit	(25^{0}C) 54,9 mS cm^{-1}	
pH-Wert	8,20	
Temperatur	14,3 ^{0}C	
Salinität	32,7	
NH_4^+	0 mg/l	
NO_3^-	0 mg /l	
PO_4^-	0,25 mg/1	
Karbonathärte	8,10	

Tabelle 7.3.1 Parameter für Nordseewasser

Es wurden Makroinvertebraten aus der Gruppe der Crustaceen, Makroalgen und Mikroorganismen auf bewachsenen Steinen und in Nordseesedimenten eingesetzt.

Um ein optimales Aufwuchsgeschehen und Wassermilieu zu gewährleisten, erfolgten wöchentliche Spurenelement- und Vitaminzugaben zusammen mit 5 %igen Wasserwechseln mit technisch eingestelltem Meerwasser. Für einen mäßigen Nährstoffeintrag sorgte die Fütterung der Makroinvertebraten mit handelsüblichem Flockenfutter. Das Labor wurde mittels Klimaanlage auf ca. 14 ^{0}C temperiert. Exakte Temperaturerfassung im Labor und in den Mesokosmen erfolgte mit Dataloggern zur computergestützten Auswertung, um die korrekte Funktion des Klimagerätes und mögliche Temperaturabweichungen zu erfassen.

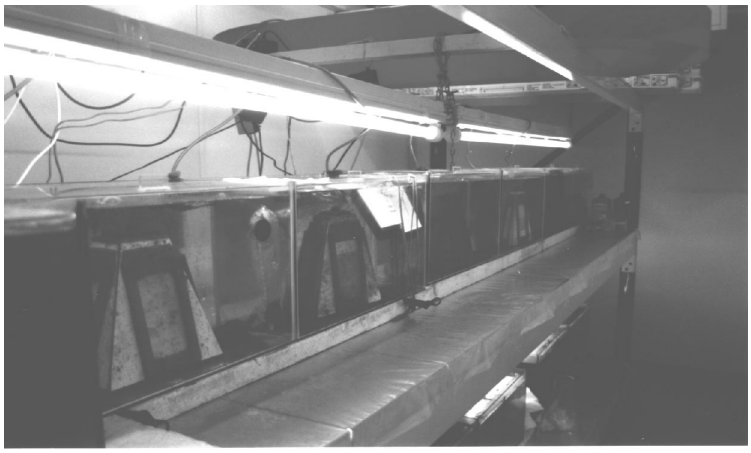


Bild 7.3.1 Meerwasser- Mesokosmen

Materialien und Strukturen:

Auf 15 Siliziumwafer befanden sich 7 verschiedene Strukturen, die auf jeweils einem l x 1 cm^2 großen Quadrat , angeordnet in einer Reihe, plaziert waren. Pro Wafer gab es zwei gleichartige Reihen von Strukturquadraten.

Wafer-Bezeich-nung	**Ätzprozeß**	**Ober-fläche**	**Struktur, Bemerkungen Tiefe x Breite**
A/ B	naßchemisch geätzte V-Gräben	Si	2µm x 2µm 4µm x 4µm
C/ D	naßchemisch geätzte V-Gräben	Cr / Au	8µm x 8µm 13µm x 13µm
E/ F	naßchemisch geätzte V-Gräben	$SiNO_3$	25µm x 25µm 50µm x 50µm
G/ H	naßchemisch geätzte V-Gräben	SiO	100µm x 100µm
I	naßchemisch geätzte Pyramiden	Si	gekreuzte V-Gräben Grabenabmessungen s.o.
K	naßchemisch geätzte Pyramiden	Si	
L	naßchemisch geätzte Pyramiden	Si	
M/ N	trockenchemisch geätzte Gräben	Si	Grabenabmessungen s.o. Aber senkrechte Wände !
O/ P	trockenchemisch geätzte Quader	Si	

Tabelle 7.3.2: Material und Strukturen der Testwafer

Ätzmasken:

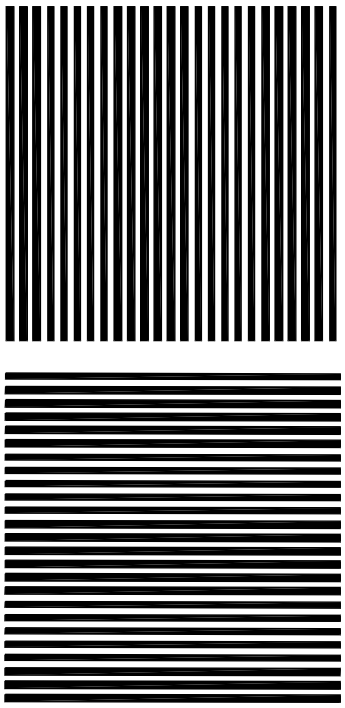


Bild 7.3.2:Ätzmasken für Gräben
2, 4, 8, 13, 25, 50, 100 µm

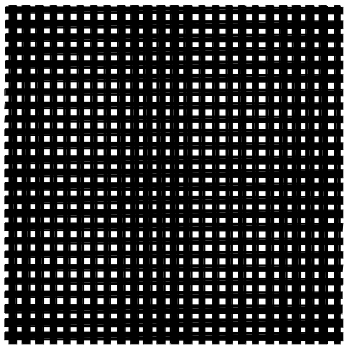


Bild 7.3.3: Ätzmaske Quader, Spitzen
2, 4, 8, 13, 25, 50, 100 µm

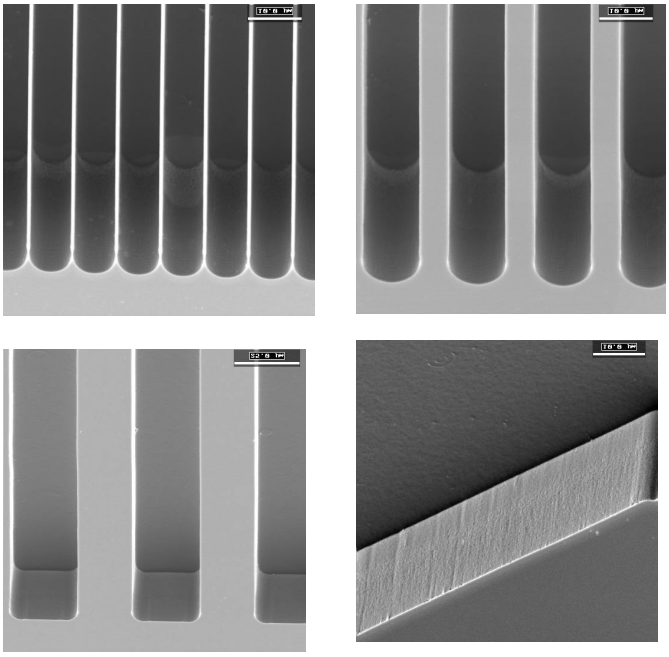


Bild 7.3.4 trockenchemisch geätzte Gräben

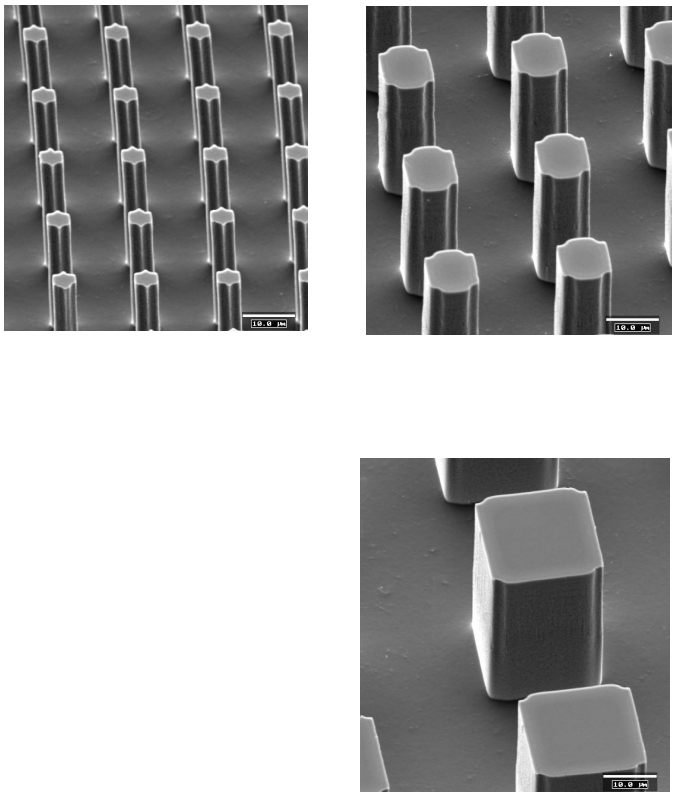


Bild 7.3.5 quaderförmige Erhöhungen in der Oberfläche

7.3.1 Besiedlung im maritimen Milieu unter Einwirkung von Licht

Zwei Wafersätze mit je sieben Wafern und eine ausreichende Anzahl an herkömmlichen Glasobjektträgern wurden in den Meerwasser-Mesokosmen exponiert.

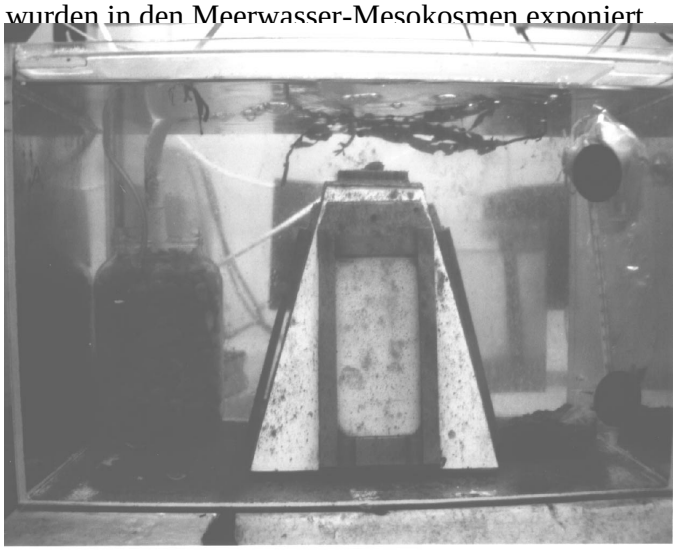


Bild 7.3.1.1 Exposition von Wafer- und Objektträger im Mesokosmos , Lichteinwirkung

Dabei waren die Oberflächen dem Licht ausgesetzt. Alle zwei Tage wurde der Aufwuchs makro- und mikroskopisch begutachtet. Dazu wurden jeweils zwei Glasobjektträger mit Kristallviolett angefärbt und bei 1000 -facher Vergrößerung unter dem Lichtmikroskop betrachtet. Die Dokumentation erfolgte fotografisch.
Ebenfalls alle zwei Tage wurde einer der Wafersätze entnommen und der Bewuchszustand unter dem Binokular beurteilt. Jede Struktur der jeweiligen Wafer wurde getrennt fotografisch dokumentiert. Zusätzlich wurde zu drei verschiedenen Zeitpunkten eine Begutachtung mit dem Auflicht-Floureszenz-Mikroskop vorgenommen. Da die Wafer vorerst keiner Färbung unterzogen wurden, um die Organismen nicht abzutöten, konnten nur Objekte mit Eigenfloureszenz (z. B. Diatomeen mit Chlorophyll) sichtbar gemacht werden. Auch diese Untersuchungen wurden fotografisch dokumentiert.

7.3.1.1 Ergebnisse der Besiedlung mit Licht

Bereits nach einem Tag waren die Glasobjektträger von einer Anzahl Bakterien und kleiner Diatomeen besiedelt. Besonders letztere und die Ciliaten steigerten ab dem dritten Tag ihre Abundanzen. Die Besiedlung nahm innerhalb des 14 -tägigen Untersuchungszeitraumes stark zu, erreichte aber gegen Ende eine stationäre Phase, in der kaum noch ein sichtbarer Zuwachs an Organismen oder Bakterienfilmen erfolgte.
Folgende Organismen wurden nachgewiesen: Bakterien (Stäbchen und Kokken), Blaualgen (Oscillatoria sp., Anabaena sp.), Diatomeen (Gattungen Amphora, Synedra, Gomphonema, Gyrosigma) heterotrophe Flagellaten, Amöben, Ciliaten (Aspidisca sp. , Oxytrichiden), Rotatorien (Colurella sp.) und Nematoden.

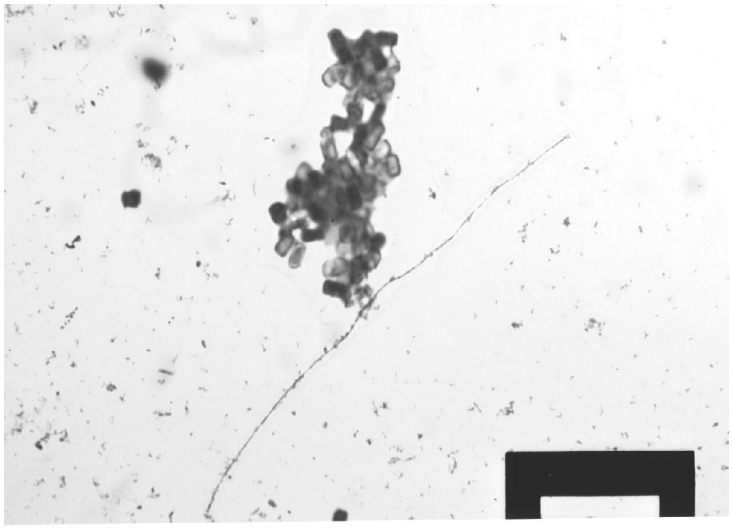


Bild 7.3.1.1.1 Objekträger, glatt, Glas, 24- stündige Exposition im Meerwasser

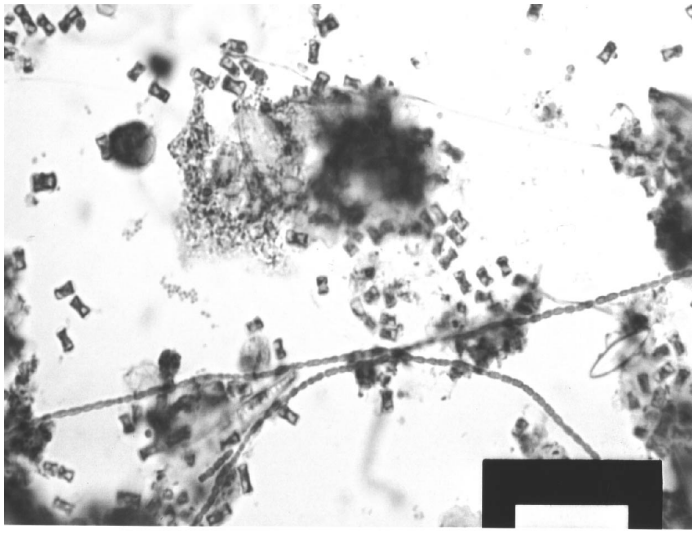


Bild 7.3.1.1.2 Objektträger, glatt Glas, 14- tägige Exposition im Meerwasser

Der Bewuchs auf den Wafern verhielt sich äquivalent zu dem der Objektträger. Erste Trends über eine unterschiedliche Besiedlung der Strukturen und Oberflächen ergab: Unabhängig von der jeweiligen Struktur wurden die Wafer mit einer Cr/Au- und einer Siliziumnitrat-Oberfläche besonders stark besiedelt. Den geringsten Bewuchs wiesen dagegen die Wafer mit Silizium-Oberfläche und trockenchemisch geätzten Strukturen auf. Dies wurde besonders deutlich bei der Betrachtung unter dem Binokular . Ein Unterschied in der Besiedlung der verschieden dimensionierten Strukturen war kaum festzustellen. Es schienen sowohl die breiteren als auch die engeren Strukturen stärker bewachsen zu sein als solche mittlerer Breite.

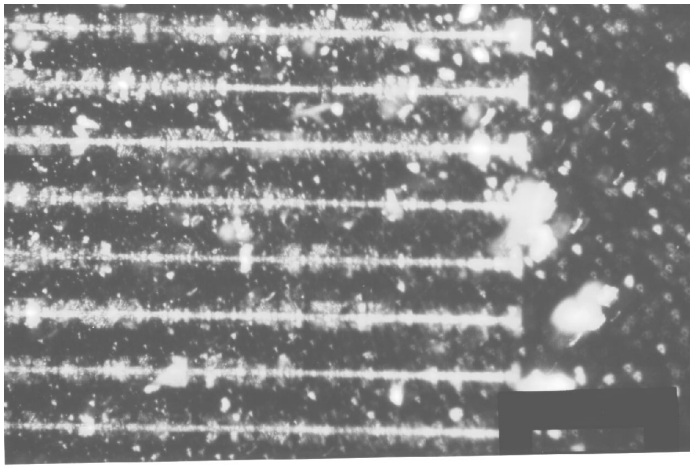


Bild 7.3.1.1.3 Siliziumwafer(C/ D), Cr/Au , 100µm V-Gräben
9- tägige Exposition im Meerwasser

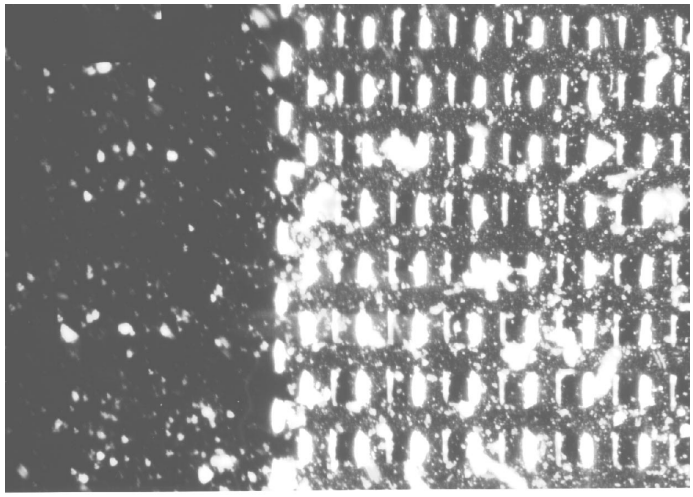


Bild 7.3.1.1.4 Siliziumwafer (O/ P), Si, 100µm Quader
9 - tägige Exposition im Meerwasser

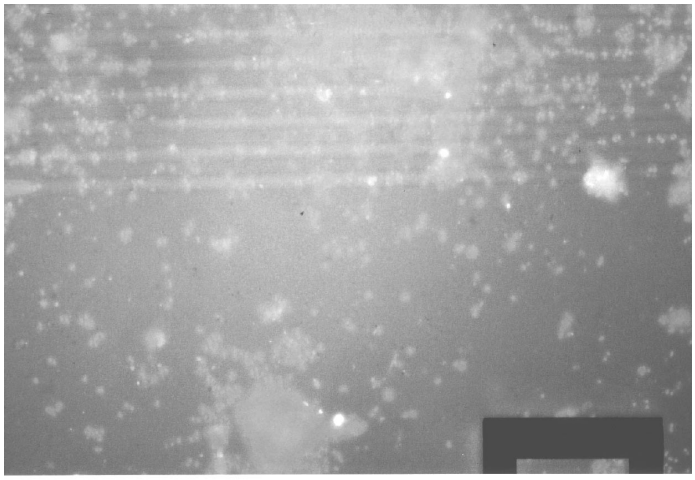


Bild 7.3.1.1.5 Siliziumwafer (E/ F), $SiNO_3$, 100 µm V- Gräben
13 -tägige Exposition im Meerwasser

7.3.2 Besiedlung im maritimen Milieu ohne Licht

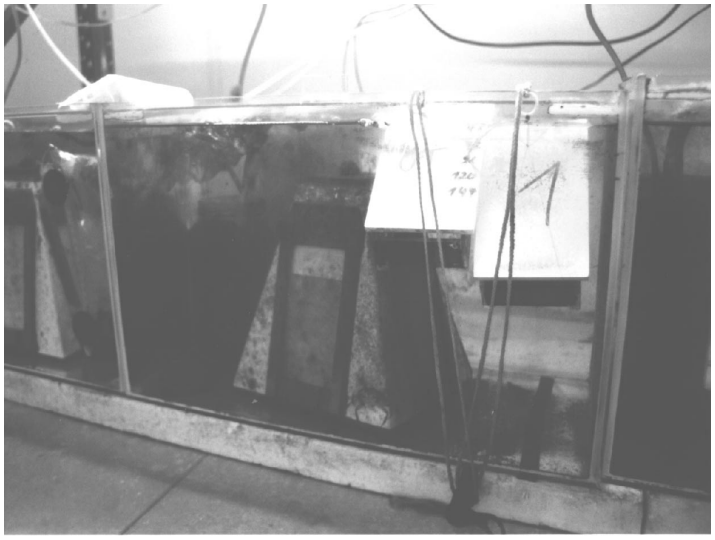


Bild 7.3.2.1 Exposition von Wafer- und Objektträger im Mesokosmos , abgedunkelt:

Zur genaueren Untersuchung wurden wiederum synchron Objektträger und Wafersätze exponiert. Die Exposition erfolgte unter abgedunkelten Verhältnissen, um mögliche Sekundäreffekte (bevorzugte Besiedlung hellerer Flächen) auszuschließen.
Außerdem sollen später die zu entwickelnden Sensoren unter Lichtausschluß zum Einsatz kommen. Nach einer Expositionsdauer von 25, 72, bzw. 144 Stunden wurde je ein Wafersatz entnommen und in ein Fluoreszenz-Medium eingebracht, das dem schnellen Ausbleichen der Färbung entgegen wirkt. Durch hochspezifische DNA -Einfärbung konnten Bakterien sichtbar gemacht werden. Die Bearbeitung erfolgte mittels Auflicht-Floureszenz-Mikroskop und Bildschirmanalyse. Dafür wurden von jeder Waferstruktur und auch von der glatten Oberfläche 20 Felder (bzw. mindestens 300 Zellen oder Objekte) bildschirmanalytisch ausgewertet. Dies erfolgte mit l000facher Vergrößerung. Mit den so gewonnenen Daten wurde die prozentuale Bedeckung jeder Fläche ermittelt. Als zusätzliche Untersuchung wurden nach einer Expositionsdauer von 72 h mit 200 -facher Vergrößerung von jeweils 10 Feldern die Anzahl der sichtbaren Mikrokolonien ermittelt. Ziel war die Bestimmung der quantitativen Bedeckung der Oberflächen mit Mikroorganismen in einem bestimmten Zeitrahmen. Die Dokumentation erfolgte durch die Angabe von Daten der Bedeckungsgraden, gespeicherten Bildern und Fotos.

Die notwendige Reinigung der Wafer nach der Färbung zur weiteren Exposition erfolgte mit Hilfe von Schwefelsäure, 96 %igem Ethanol und anschließender 30 -minütiger Behandlung im Ultraschallbad mit maximaler Leistung.

7.3.2.1 Ergebnisse der Besiedlung ohne Licht

Beim Exponieren der Wafer im Licht wurde schon nach 3 Tagen eine starke Biofilmbildung festgestellt. Da die Besiedlung ohne Licht langsamer voranschreiten würde als bei den Besiedlungstests unter Lichteinwirkung, wurde die Untersuchungsphase auf 6 Tage festgelegt. Es war einzuschätzen, daß sich in dieser Zeit ein Biofilm entwickeln würde, der in der Meßtechnik Probleme verursacht. Nach 25 Stunden konnte auch hier schon eine beträchtliche Anzahl an Organismen festgestellt werden. Dies waren hauptsächlich Bakterien, vorwiegend stäbchenförmige, die als Erstbesiedler im marinen Mileu gelten. Die Bedeckung der Oberfläche der Wafer erreichte 0,14 % auf der Struktur 13 µm der Wafers O/P und bis zu 2,87 % auf der glatten Oberfläche des Wafers E/F.

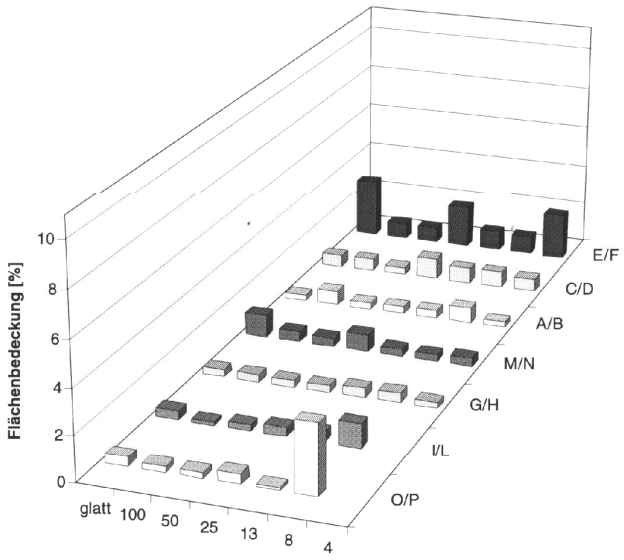


Bild 7.3.2.1.1: Prozentuale Bedeckung der Wafer nach 25-stündiger Exposition Meerwasser

Die Bildung von Mikrokolonien, welche mit starker Schleimbildung verbunden ist, befand sich noch im Anfangsstadium. Eine massive EPS-Produktion war noch nicht zu verzeichnen, jedoch bildeten s

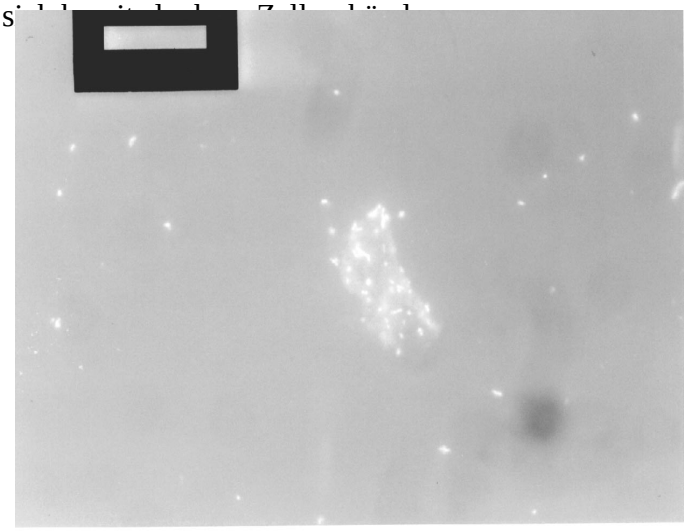


Bild 7.3.2.1.2: Lockere Zellverbände (Wafer A/B, glatte Oberfläche) nach 25-stündiger Exposition, 1000fache Vergrößerung.

Nach 72-stündiger Exposition hatten sich die Anteile der Bedeckung auf 0,34 % (Wafer O/P, Struktur 25µm) bis 6,26 % (Wafer I/L, Struktur 25µm) gesteigert.

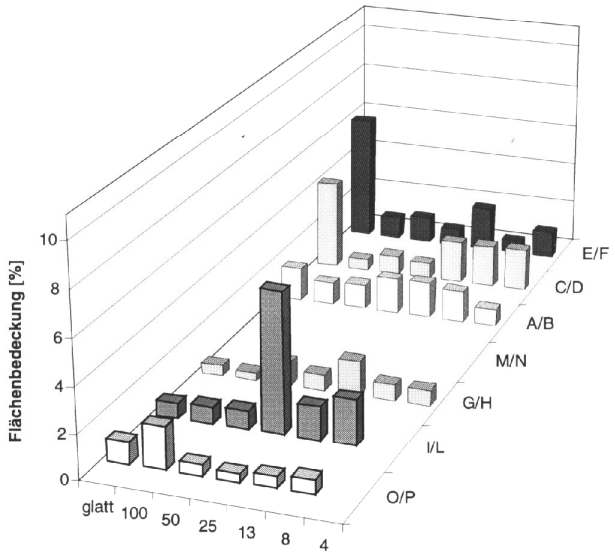


Bild 7.3.2.1.3 Prozentuale Bedeckung der Wafer nach 72-stündiger Exposition im Meerwasser

Die EPS produzierenden Mikrokolonien waren im Wachstum begriffen. Es begann eine deutliche ,,Klumpenbildung", z. T. in beträchtlichem Ausmaß (z. B. Wafer I/L). Auffällig war jedoch, daß die Entwicklung des Bewuchses, speziell jedoch der Mikrokolonien, mit unterschiedlicher Geschwindigkeit voranschritt. Auf Wafer G/H befanden sich die Konsortien noch in einem ähnlichen Stadium wie nach 25 Stunden, auf Wafer I/L hingegen zeigten dieselben schon eine kompakte Morphologie und waren auch zahlreicher anzutreffen. Auch andere Organismen wie Pilze und Ciliaten sowie einige Diatomeen konnten nachgewiesen werden.

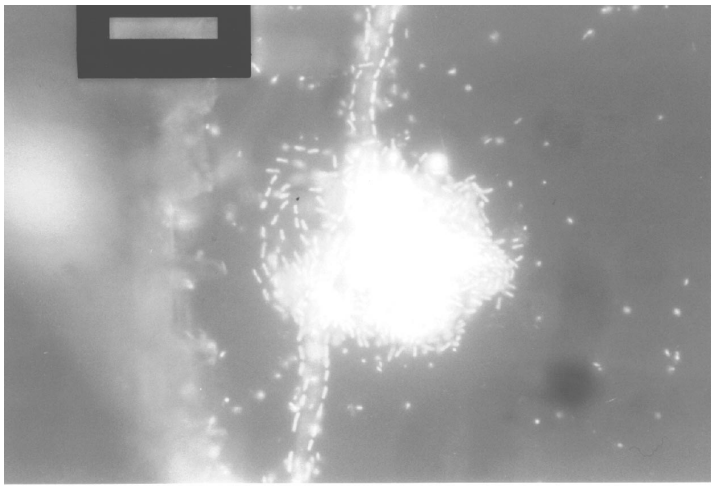


Bild 7.3.2.1.4: kompakte Mikrokonsortien auf Wafer I/L (Struktur 8 µm), 72-stündige Exposition. Zu sehen ist auch eine Pilzhyphe, an die sich stäbchenfärmige Bakterien angelagert haben. 1000fache Vergrößerung.

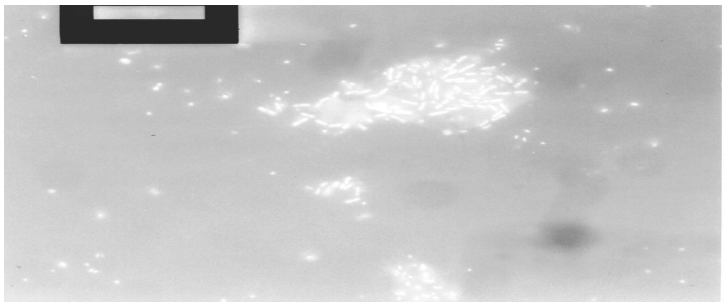


Bild 7.3.2.1.5: Lockere Mikrokolonie auf Wafer G/H (glatte Oberfläche), 72-stündige Exposition im Meerwasser, 1000fache Vergrößerung.

Nach einer Exposition von 144 Stunden betrug die Flächenbedeckung 0,48% (Wafer O/P, 25µm) bis 10,14% (Wafer E/F, 4 µm).

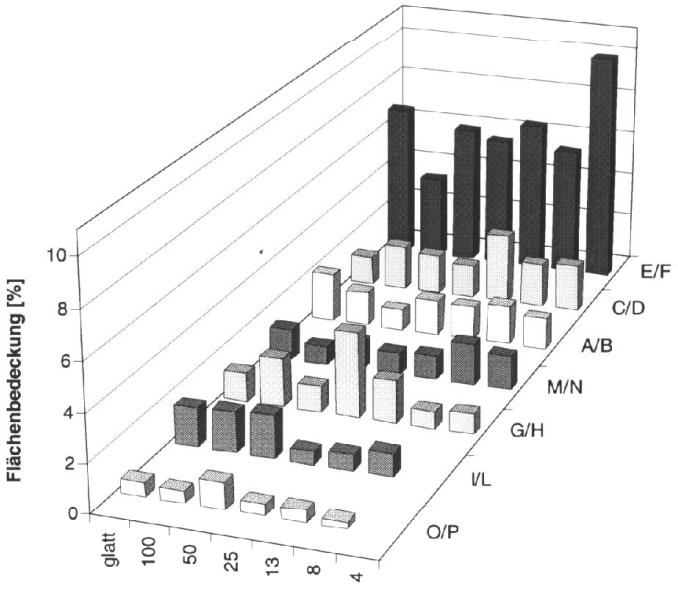


Bild 7.3.2.1.5: Prozentuale Bedeckung der Wafer, Exposition 144 Stunden im Meerwasser

Besonders der Wafer E/F zeigte auf allen Strukturen eine hohes Maß an Bedeckung, wohingegen die Besiedlung des Wafers O/P sich kaum von den vorhergehenden Untersuchungszeitpunkten unterschied. Die Biofilmbildung befand sich in einem fortgeschrittenen Stadium, was auch am Ausmaß der Bildung von Mikrokolonien, deren kompakten Ausprägung und der damit verbundenen zunehmenden EPS-Produktion ablesbar war.

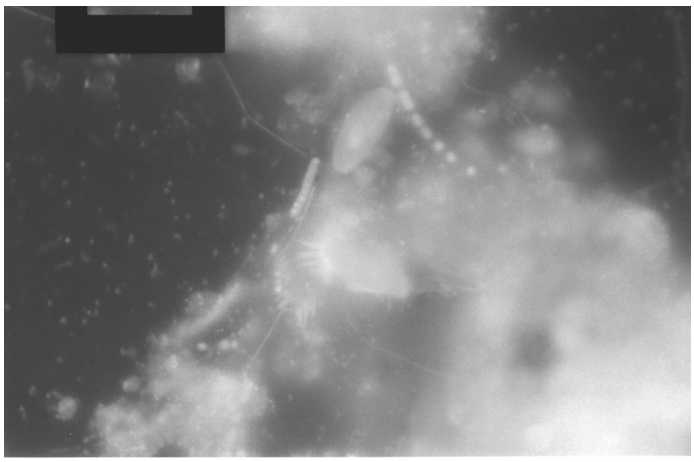


Bild 7.3.2.1.6: Ausgedehnte Bedeckung auf Wafer E/F (glatte Oberfläche), Exposition 144 Stunden im Meerwasser, 1000fache Vergrößerung.

Bildet man für jeden Wafer die Mittelwerte aus der Bedeckung der einzelnen Strukturen, werden unterschiedliche Bewuchspräferenzen für die verschiedenen Oberflächenmaterialen sichtbar.

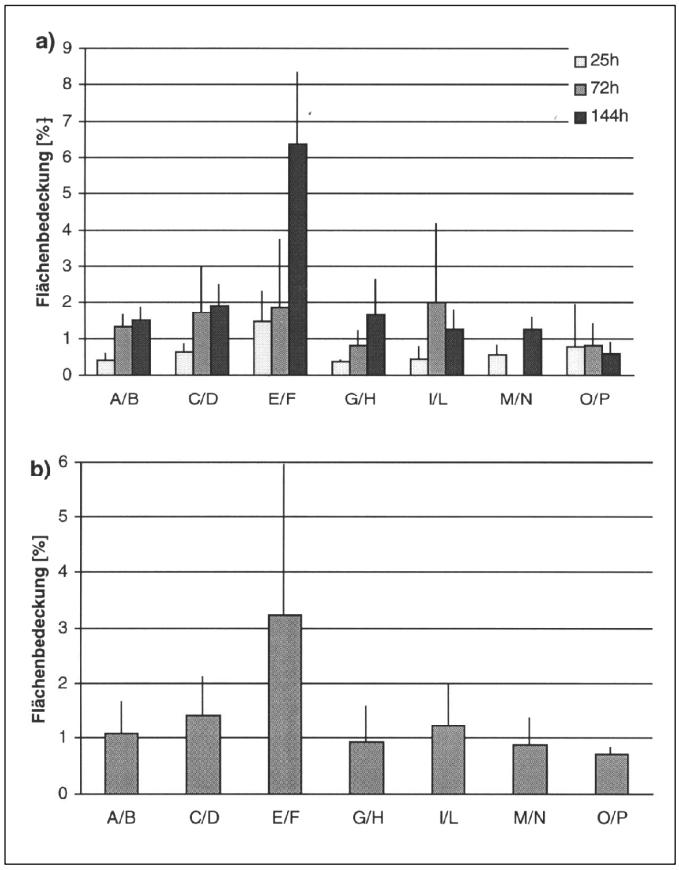


Bild 7.3.2.1.7: strukturunabhängiger Vergleich der Bedeckung der Wafer

a) Gesamtmittelwerte aller Strukturen für jeweiligen Zeitpunkt (+/-Standardabweichung)
b) Gesamtmittelwerte aller Strukturen über gesamten Zeitraum (+/- Standardabweichung)

Besonders stark bewachsen war Wafer E/F, der auch die höchste Besiedlungsgeschwindigkeit aufwies. Die geringste Bedeckung zeigte Wafer O/P.

Beim Vergleich der Gesamtmittelwerte, die für jede Struktur aus allen Wafern gebildet wurden, fiel auf, daß die glatte Oberfläche und die engsten Strukturen am stärksten besiedelt waren. Der Unterschied war jedoch nicht so deutlich wie beim Vergleich der Wafermaterialien. Der geringste Bewuchs wurde auf den relativ großen Strukturen festgestellt. Die höchste Besiedlungsgeschwindigkeit wies die Struktur 4µm auf.

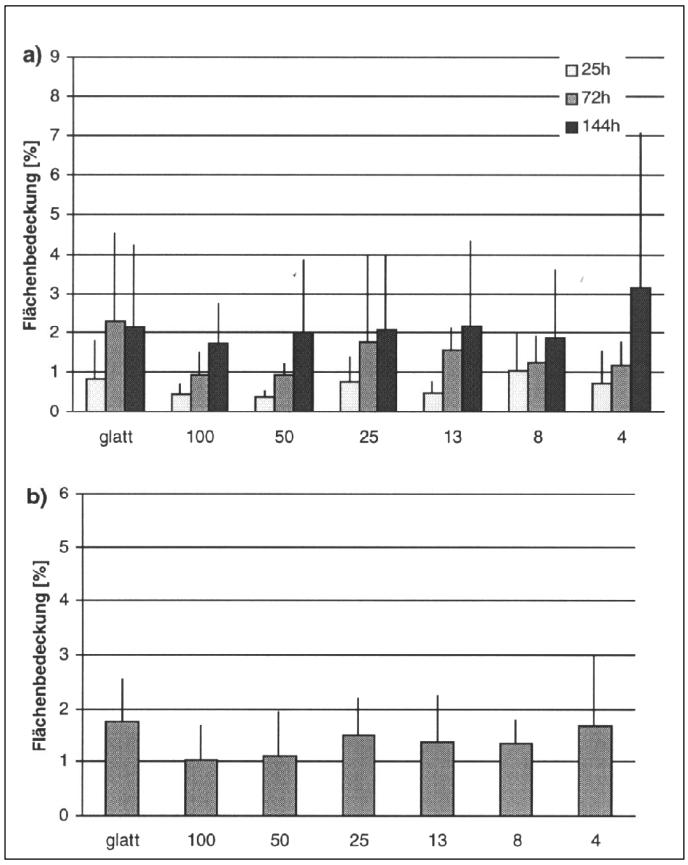


Bild 7.3.2.1.8: strukturabhängiger Vergleich der Bedeckung

a) Gesamtmittelwerte aller Wafer für jeden Zeitpunkt (+/- Standardabweichung)
b) Gesamtmittelwerte aller Wafer über gesamten Zeitraum (+/- Standardabweichung)

Als Referenz wurden handelsübliche Glasobjektträger gefärbt und bildschirmanalytisch ausgewertet. Sie besaßen eine ähnliche Flächenbedeckung wie die glatten Oberflächen der Wafer.

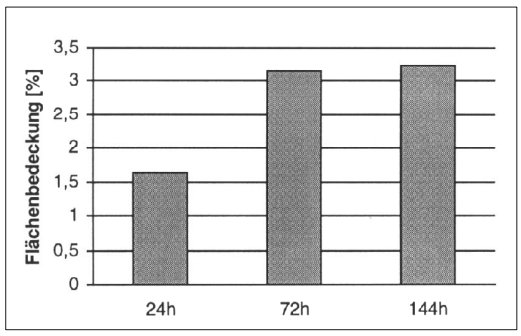


Bild 7.3.2.1.9: Prozentuale Bedeckung von Glasobjektträgern als Referenz

Eine bevorzugte Besiedlung der Täler war vor allem bei den engen Strukturen festzustellen (etwa ab Struktur 25 µm). Die Bakterien besiedelten selektiv die Rillen der linienförmigen Strukturen .

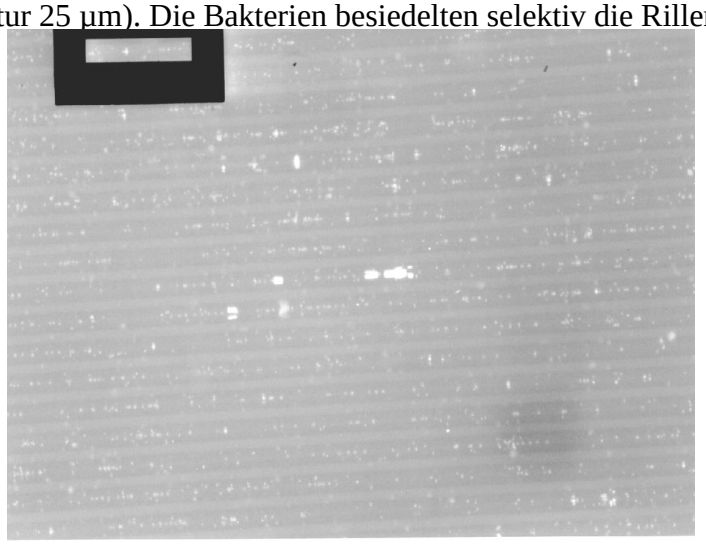


Bild 7.3.2.1.10: Bevorzugte Besiedlung der Täler, Wafer A/B , Struktur 13µm, 25-stündiger Exposition im Meerwasser, 200- fache Vergrößerung

Selten zeigte sich jedoch folgendes Bild:

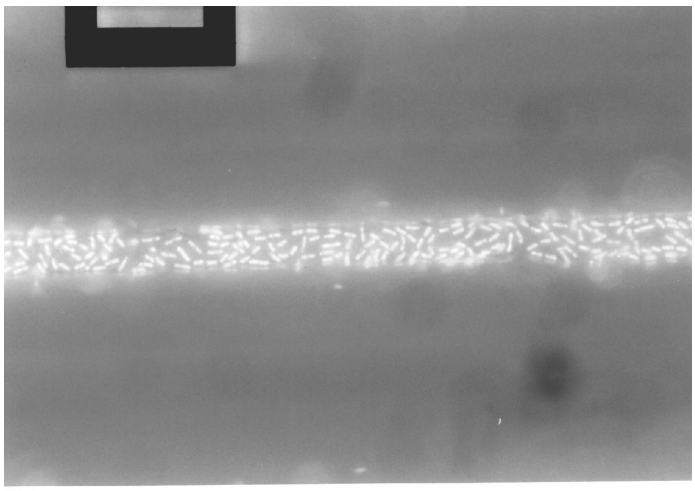


Bild 7.3.2.1.11: Stark selektive Besiedlung eines Tales, Wafer A/B, Struktur 25µm, 72-stündiger Exposition im Meerwasser, 1000 -fache Vergrößerung.

Bei pyramiden- oderquaderförmigen Strukturen war dieser Effekt nicht vorhanden.

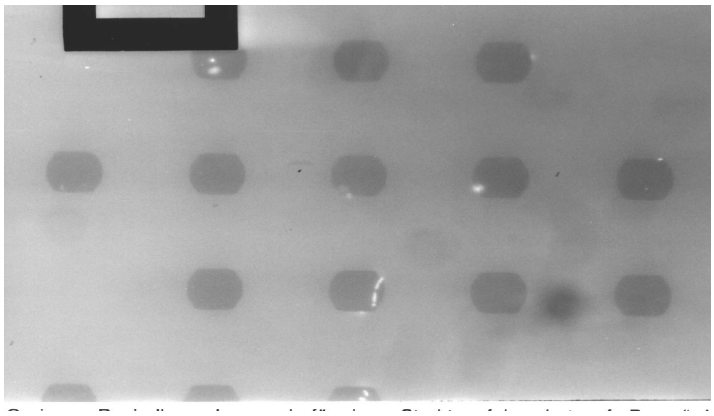


Bild 7.3.2.1.11: GeringeBesiedlung, Quaderstruktur, fokussiert auf Berge, Wafer O/P, Struktur 13µm, 72 -stündige Exposition, 1000 -fache Vergrößerung

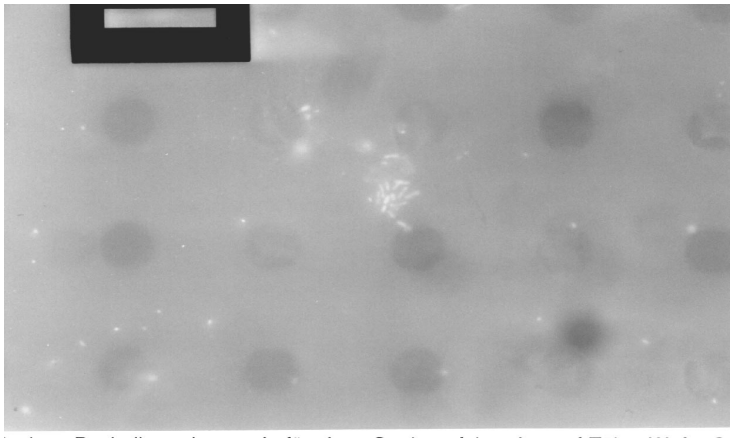


Bild 7.3.2.1.12: Geringe Besiedlung, Quaderstruktur, fokussiert auf Täler, Wafer O/P, Struktur 13µm, 72 -stündige Exposition, 1000fache Vergrößerung

Mikrokolonien siedelten sich besonders auf den glatten Oberflächen an. Auf den Strukturen waren nach 72-stündiger Expositionsdauer deutlich weniger EPS-produzierende Mikrokonsortien vorhanden. Linienförmige Strukturen waren dabei in noch geringerem Ausmaß von Mikrokolonien besiedelt als quader- und pyramidenförmige Strukturen.

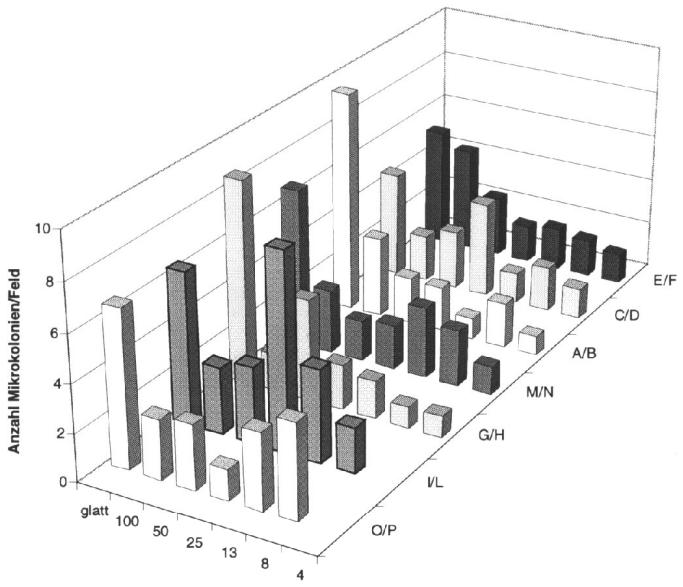


Bild 7.3.2.1.13 Anzahl der Mikrokonsortien pro mikroskopischem Feld,
72-stündige Exposition, Zählung unter 200 -facher Vergrößerung

7.3.3 Besiedlung im maritimen Milieu ohne Licht für Reinigungstests

Silizium-Testsensoren mit Siliziumoxidoberfläche und aufgedampften Gold-Leiterbahnen (Schichtdicke 400 nm) wurden 6 Tage unter Lichtausschluß exponiert. Anschließend wurden sie mit Ultraschall (cleaning- controller) unter Variation der Frequenzen und Reinigungszeiten behandelt. Danach erfolgte die Auswertung mit Auflicht-Floureszenz-Mikroskop. Da die Ultraschallmembran die größte Reinigungswirkung in der Mitte der Sensorfläche entwickelt, wurde für die analytische Auswertung am Bildschirm ein Transekt mittig über die Sensorfläche gelegt. Auf ihm wurden wiederum 20 Felder mit 100 -facher Vergrößerung ausgewertet Die Dokumentation erfolgte mittels quantitativer Daten und Fotografien. Als Referenz wurden nicht gereinigte Sensoren und solche, die schon ca. 6 Wochen exponiert waren, herangezogen.

7.3.3.1 Ergebnisse der Besiedlung, Bildschirmanalyse:

Der Bewuchs der Sensoren unterschied sich nicht von denen der Wafer.Lediglich der 6 Wochen lang exponierte Sensor zeigte eine andere Organismen-Zusammensetzung. Hier dominierten nicht mehr die stäbchenförmigen Bakterien. Der Biofilm bestand hauptsächlich aus Kokken.

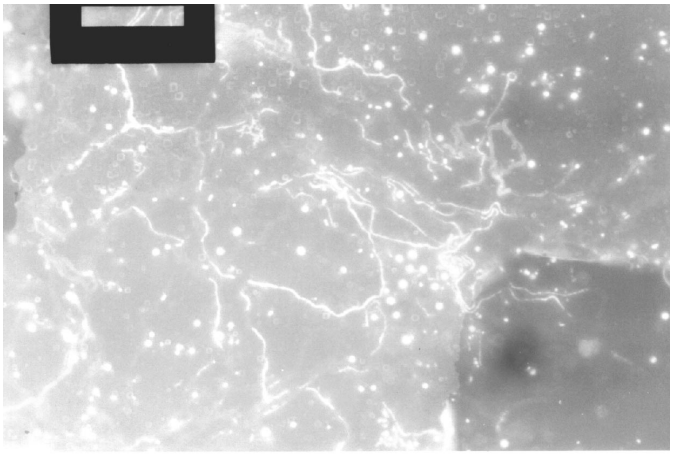


Bild 7.3.3.1.1: Sensoroberfläche 6 wöchiger Exposition im Meerwasser unter Lichtauschluß, Pilzhyphen und Kokken dominieren, 1000fache Vergrößerung.

Die prozentuale Bedeckung dieses Sensors unterschied sich jedoch nicht erheblich von den 6-tägig exponierten, so daß davon ausgegangen werden kann, daß die Plataeu-Phase unter Lichtausschluß auf dem Material der Sensoren keine übermäßig hohe Bedeckung erreicht.

7.3.3.2 Reinigung vom Biofilm maritimes Milieu

Die Reinigung erfolgte mit Ultraschall unter folgenden Bedingungen:

- Reinigungsdauer 15..60 min
- Abstand zur Probe 1mm
- Intensität 60V Rechteck
- Ultraschallfreqenz 5,5..23 kHz

Reinigung bei hohem Bedeckungsgrad, Expositionszeit 6 Tage:

Die Reinigung der Sensorstrukturen zeigte statistisch mit unterschiedliche Ergebnisse, da naturgemäß starke Unterschiede in der

- Art des Bewuchses
- örtlichen Verteilung
- Intensität des Bewuchses

vor und nach der Reinigung zugrunde liegen. Mit dieser statistischen Unsicherheit läßt sich dann auch erklären, daß u.U. nach längerer Reinigung scheinbar mehr Bewuchsreste vorhanden sind, als nach kürzere Reinigungszeit.
Auffallend war, daß sich die Mikrokolonien nur sehr schlecht ablösen ließen. Auf allen Sensoren, auch in der Zone der größtmöglichen Reinigungswirkung waren noch Kolonien zu finden.

Die besten Ergebnisse wurden mit in Resonanz betriebenen Schallsendern erzielt. Auch erzielte eine Schallfrequenz von 23 kHz aufgrund des höheren Leistungseintrages eine gute Reinigungswirkung.

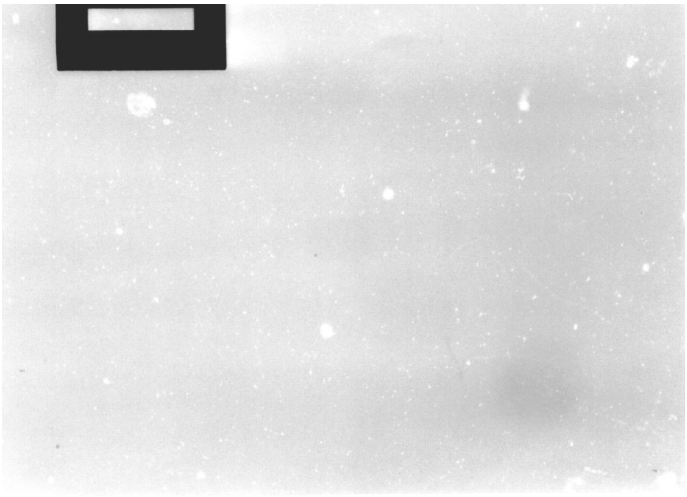


Bild 7.3.3.2.1: Gute Reinigungsergebnisse 7kHz /15 min, mittlere Region,
200 -fache Vergrößerung.

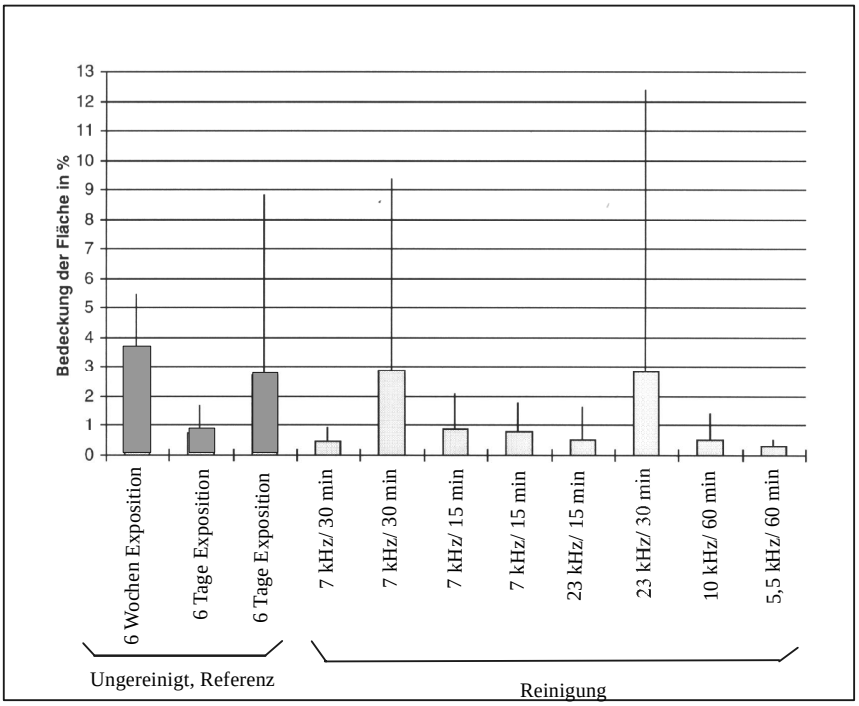


Bild 7.3.3.2.2: Prozentuale Bedeckung der Sensoren vor und nach verschiedenen Reinigungstests mit Ultraschall (+/-Standardabweichung)

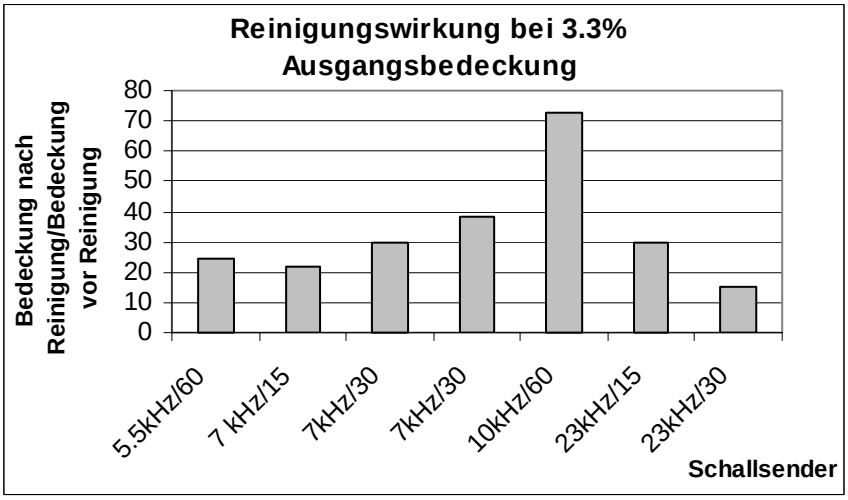


Bild 7.3.3.2.3 : Reinigung bei großer Bedeckung (6 Tage im Meerwasser)

Reinigung bei niedrigem Bedeckungsgrad, Expositionszeit 24 Stunden:

Die obengenannten Probleme bei der statistischen Bewertung der Bewuchsverteilung und -beseitigung sind für die wesentlich geringere Bewuchsdichte noch deutlicher zu sehen. Besonders die Bewuchswerte über 100% nach der Reinigung sind Ausdruck dafür.

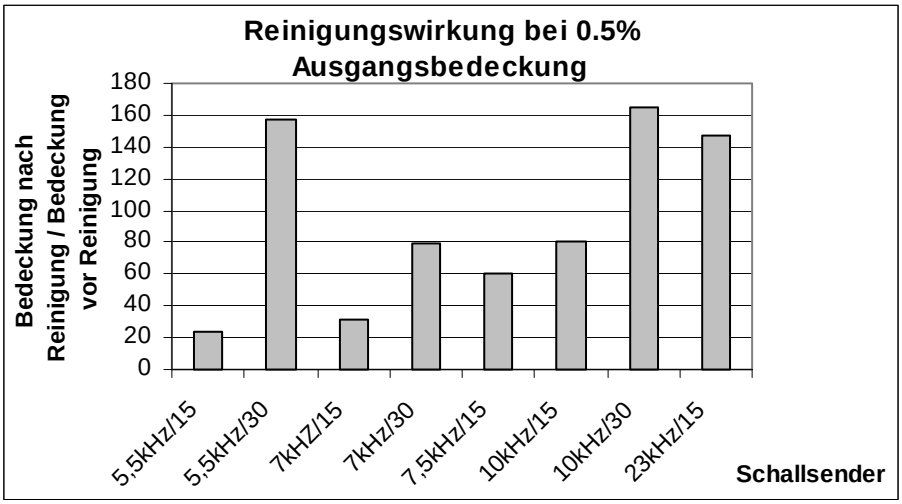


Bild 7.3.3.2.4: Reinigung bei geringer Bedeckung (24 Stunden im Meerwasser)

Schlußfolgerungen aus Reinigungstests:

1. Die Reinigungsfrequenz sollte 20...30 kHz betragen.
2. Die Pausenzeit zwischen 2 Reinigungen sollte deutlich unter 24 Stunden liegen. 100%-ige Reinigung ist mit langen und intensiven Reinigungen verbunden, die allerdings auch die Sensoren angreifen.
3. Bedeckungsgrade von <1% sind mit Reinigungszeiten von 15...30 min erreichbar.

Die Frequenz und einem bestimmten
Rahmen bewegen, en

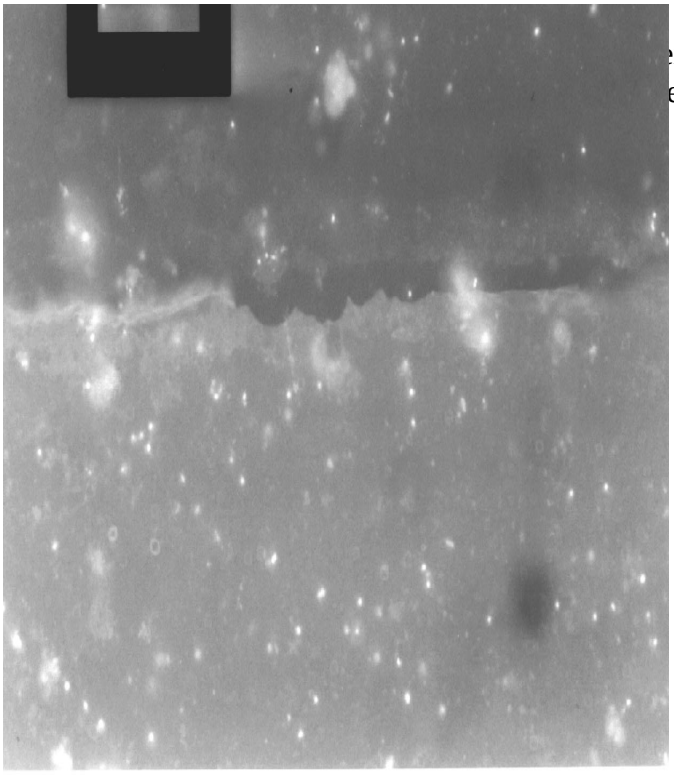


Bild 7.3.3.2.5: Beschädigung des Randes der Leiterbahnen, 1000 -fache Vergrößerung.

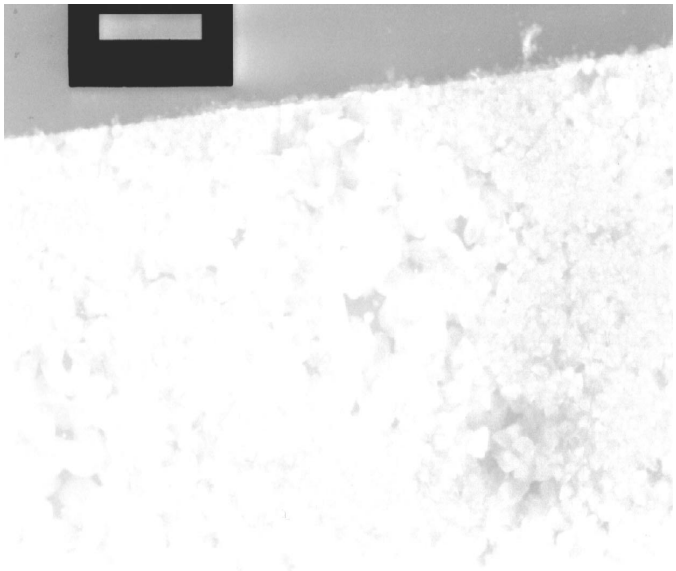


Bild 7.3.3.2.6: Beschädigung der Oberfläche der Leiterbahnen, 200 -fache Vergrößerung.

7.4 Aufwuchsdynamik und optimale Reinigung

Die Untersuchung der Biofilmbildung auf in Meerwasseraquarien exponierten Oberflächen zeigte, daß alle angebotenen Flächen besiedelt wurden. Bei Voruntersuchungen im limnischen Mileu wurde ebenfalls ein starker Bewuchs festgestellt.

Der Ablauf der Biofilmbildung entsprach den in der Literatur beschriebenen Prozessen. Die Erstbesiedler waren stäbchenförrnige Bakterien und auch für den weiteren Sukzessionsverlauf erwiesen sich vorwiegend heterotrophe Bakterien als charakteristisch.

Unter Lichteinfluß waren vor allem Diatomeen für das schnelle Wachstum des Biofilms verantwortlich, während diese bei der Exposition im Dunkeln eine geringere Rolle spielten und somit die Zunahme der Bedeckung etwas langsamer verlief. Nach 6 Tagen war jedoch auch hier die logarithmische Phase erreicht. Da eine Reinigung von Oberflächen in der Initialphase erfolgen sollte, ist dieser Untersuchungszeitraum als Bewertungsgrundlage geeignet.

Die prozentuale Bedeckung einer Fläche betrug nach 144 h (6 Tage) maximal 10 % Jedoch können DAPI-Zählungen jedoch unter Umständen unterschätzt werden, da besonders unter oligotrophen Bedingungen einige Bakterien nicht genügend DNA enthalten, um angefärbt zu werden. In natürlichem Meerwasser (dort in der Freiwasserzone) wurde für Zellen, die Nudeotide enthalten, ein Anteil von 4 % ermittelt. Es ist also davon auszugehen, daß die tatsächliche prozentuale Bedeckung mit Bakterien und anderen Zellen auch in den vorliegenden Untersuchungen noch etwas höher liegt als dargestellt.

In der Literatur wird angegeben, daß es für Organismen schwieriger ist, negativ geladene Oberflächen zu besiedeln, die Geschwindigkeit der Biofilmbildung wird mit der Oberflächenenergie in Zusammenhang gebracht. Nach anderen Untersuchungen gibt es jedoch keine lineare Beziehung zwischen der Oberflächenenergie und der Anzahl der auf der Oberfläche siedelnden Zellen. Allerdings sollen hydrophobe Oberflächen schneller besiedelt werden als hydrophile.

In den vorliegenden Untersuchungen wurden Wafer mit $SiNO_3$ - Oberfläche stärker besiedelt als mit Si- Oberfläche. Dieser Sachverhalt deutet darauf hin, daß es sich hier um einen Effekt unterschiedlicher Oberflächenenergien, die auch vom Material der Fläche beeinflußt werden, handelt.
Die starke Besiedlung der glatten Flächen widerspricht den in der Literatur aufgeführten Angaben. Danach werden Höhlungen und Vertiefungen sowie aufgerauhte Flächen stärker bewachsen als glatte Flächen. Dies wird auf die Strömungsschatten derartiger Strukturen zurückgeführt. Sobald eine Struktur etwas größere Dimensionen als ein potentieller Besiedlungsorganismus aufweist, wird diese Strömungsnische vermutlich besonders bei hohen Strömungsgeschwindigkeiten des umgebenden Mediums bevorzugt von ihm besiedelt. Dem entspricht die hohe Bedeckung und die bevorzugte Besiedlung der Täler auf den feinen und mittleren Strukturen die mindestens die Größe einer Bakterienzelle haben. Der starke Bewuchs auf den glatten Oberflächen könnte daraus resultieren, daß die Wafer keiner Strömung ausgesetzt waren.

Der Grund für die Ermittlung der etwas geringeren Besiedlungsdichte von größeren Strukturen könnte darauf zurückzuführen sein, daß beim Durchfokussieren der Präparate einige Organismen nicht erfaßt wurden. Zudem ist davon auszugehen, daß durch die in den tiefen Strukturen stark reduzierte Strömungsgeschwindigkeit weniger Nährstoffe an die Oberfläche transportiert wurden und sich die angesiedelten Organismen dadurch langsamer vermehrten. Bemerkenswert ist, daß sich auf den Strukturen weniger Mikrokolonien ansiedelten als auf den glatten Oberflächen. Möglicherweise stellen die Strukturen für die Ausbreitung und Vergrößerung der Mikrokonsortien ein räumliches Hindernis dar. Die hohen Werte für die Bedeckung der glatten Oberflächen kommt deshalb vermutlich durch die gesteigerte Zahl an Mikrokolonien zustande. Demgegenüber werden die teilweise hohen Bedeckungsgrade auf Strukturen überwiegend durch eine gesteigerte Zahl von Einzelzellen hervorgerufen.

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß Oberflächen aus Siliziumnitrat und mit besonders glatter Struktur nicht für die Konstruktion von Meßsensoren geeignet sind, da diese besonders schnell und auch von besonders vielen EPS-produzierenden Mikrokonsortien besiedelt werden. Letztere stellen ein beträchtliches Hindernis für die Ultraschallreinigung dar. Schlecht haftende Goldoberflächen sind problematisch, da sie bei der Ultraschallreinigung Materialermüdung zeigen. In den vorliegenden Untersuchungen wurden die trockenchemisch geätzten Quaderstrukturen einer Siliziumoberfläche am schwächsten besiedelt. Es ist zu prüfen, inwieweit sich diese Strukturen effektiv reinigen lassen.

Die Bekämpfung des Biofilms sollte schon vor der Phase der verstärkten EPS-Produktion (logarithmische Phase) erfolgen. Der vorhergehende Zeitraum umfaßt die Initialphase, in der sich ein Biofilm noch nicht technisch auswirkt.
Die Einstellung der Parameter in den Mesokosmen orientierte sich weitgehend an den abiotischen Bedingungen der Nordsee. Besonders die Temperatur hat einen sehr großen Einfluß auf die Geschwindigkeit der Biofilmbildung.
Die Initialphase unter den gewählten Bedingungen ist nach 1 -2 Tagen abgeschlossen. Eine Reinigung der Sensoroberfläche ist demnach spätestens alle 1-2 Tage, je nach den herrschenden Umweltbedingungen notwendig. Ein Problem der häufigen Reinigungen könnte die Selektion von Organismen sein, die gegenüber der angewendeten Reinigungstechnik resistent sind. Untersuchungen in der Literatur stellten nach dreimaliger Reinigung von Aluminium-Titan-Oberflächen mit einer Bürste fest, daß eine Bakterienpopulation selektiert wurde, die dreimal mehr EPS produzierte. Diesem Umstand könnte durch eine Veränderung der Ultraschallfrequenz bei der Reinigung begegnet werden. Möglicherweise ist eine Variation mehrerer Frequenzen während eines Reinigungsintervalles am wirkungsvollsten. Die vorliegenden Untersuchungen zeigen, daß die Biofilmbildung durch die gezielte Auswahl eines entsprechend strukturierten Oberflächenmaterials durchaus verzögert werden kann. Das Material muß sich jedoch gleichzeitig hinreichend stabil gegenüber der Belastung mit Ultraschall verhalten.

8. Modellierung Schallfeld

Allgemeine Wellengleichung, Abhängigkeit des Schalldruckes von Zeit und Raum

Vereinbarungen:
c = Schallgeschwindigkeit im beschallten Medium
t = Zeit
p = Wechseldruck im Schallfeld
v = Wechselgeschwindigkeit der Teilchen im Schallfeld v << c
ρ = Dichte des Mediums im Schallfeld
f = Frequenz des Schalls
$\omega = 2\pi f$ = Kreisfrequenz

Allgemeine Wellengleichung : $\delta^2 p / \delta x^2 + \delta^2 p / \delta y^2 + \delta^2 p / \delta z^2 = 1 / c^2 \cdot \delta^2 p / \delta t^2$

Die eindimensionale Variante dieser Wellengleichung ist mit der Wellengleichung für elektrische Leitungen verwandt.

ungestörtes Schallfeld	≡	unendlich lange Leitung Abschluß mit Wellenwiderstand
gestörtes Schallfeld	≡	Reflektion mit oder ohne Phasenverschiebung Zusätzliche Quellen

8.1 Schallfeldmodelle

8.1.1 Kugelquelle, Monopol:

Geltungsbereich:

ideal:
der Schallsender ist eine im Verhältnis zur Wellenlänge kleine, kugelförmige Schallquelle. Diese Kugel ändert periodisch ihren Durchmesser („atmet“) mit kleinen sinusförmigen Auslenkungen (Amplitudenmodulation des Durchmessers). Das Schallfeld umgibt die Schallquelle kugelförmig und die Geschwindigkeitsvektoren stehen senkrecht auf den Kugelschalen (Longitudinalwellen).

näherungsweise:
Der Schallsender ist eine gegenüber der Wellenlänge kleine Membran. Die Rückseite der Membran trägt keine Schallleistung in das Schallfeld ein, d. h. die Rückseite der Membran zeigt in ein kleines schallgedämpftes Gehäuse.

Wellengleichung in Kugelkoordinaten:
Durch den Übergang auf Kugelkoordinaten (nur Abstand r zur Strahlungsquelle als Variable) und Abstrahlung harmonischer Schwingungen vereinfacht sich die allgemeine Wellengleichung zur speziellen Wellengleichung für Kugelwellen.
Die Lösung lautet dann:

$$p(r,t) = p_{\max} \cdot \frac{r_a}{r} \cdot e^{j(\omega t - kr)}$$

mit r_a = Bezugsradius r = beliebiger Radius

p_{max} = Schalldruck auf Kugelschale mit Radius r_a

$$k = \frac{\omega}{c}$$

Mit der Eulerschen Bewegungsgleichung (Zusammenhang zwischen Wechseldruck und Wechselgeschwindigkeit) ergibt sich für Kugelwellen.

$$v(r,t) = p(r,t) \cdot (\frac{1}{\rho c} + \frac{1}{j\omega\rho r})$$

Mit diesen beiden Gleichungen ergibt sich für die Schallfeldimpedanz für Kugelwellen:

$$Z_{kugel} = \frac{p(r,t)}{v(r,t)} = \frac{1}{(\frac{1}{\rho c} + \frac{1}{j\omega\rho r})}$$

oder

$$Z_{kugel} = \frac{Z_0}{1 - j(\frac{1}{kr})}$$

$Z_0 = \rho \cdot c$ Wellenwiderstand für kr >>1

(großer Abstand)

D.h. Die Impedanz des Schallfeldes ist komplex und vom Radius des Schallerzeuger (r), der Frequenz (f) und der Schallgeschwindigkeit (c) abhängig.

Für f = 29 kHz c = 1450 m/s (Wasser)
ρ =1000 kg/m³

ergibt sich :

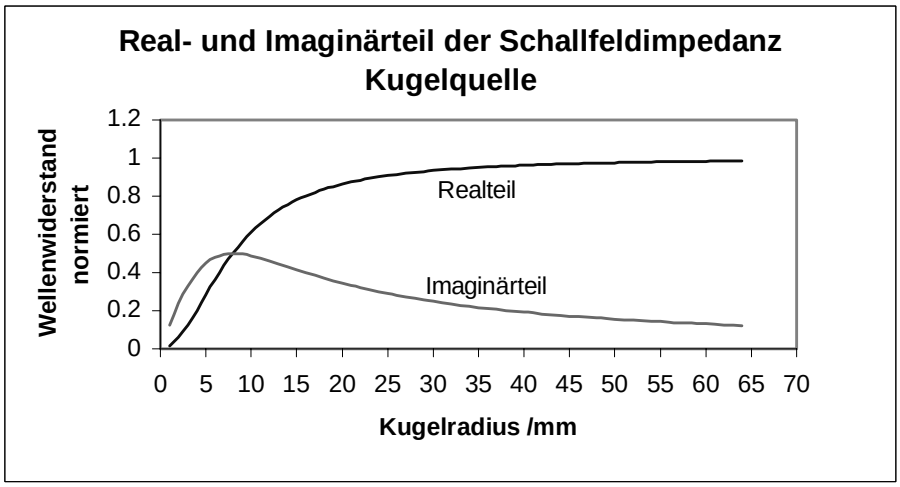


Bild 8.1.1.1: Komplexe Schallfeldimpedanz des Kugelstrahlers

Strahlungsintensität auf einer Kugelschale im Schallfeldmedium:

Die durch jede Kugelschale durchtretende Leistung muß gleich sein, wen man von der in Wasser vernachlässigbaren Dämpfung absieht.

I = Schallintensität
P = Schallleistung

$$I_{Kugel} = \frac{P_{Kugel}}{4\pi r^2{}_{kugel}} \qquad I(r) = \frac{P_{Kugel}}{4\pi r^2}$$

Damit wird für die normierte Schallintensität gefunden:

$$I(r)_{norm} = \frac{1}{r^2}$$

D.h. die Schallintensität nimmt quadratisch mit dem Abstand zur Schallquelle ab.

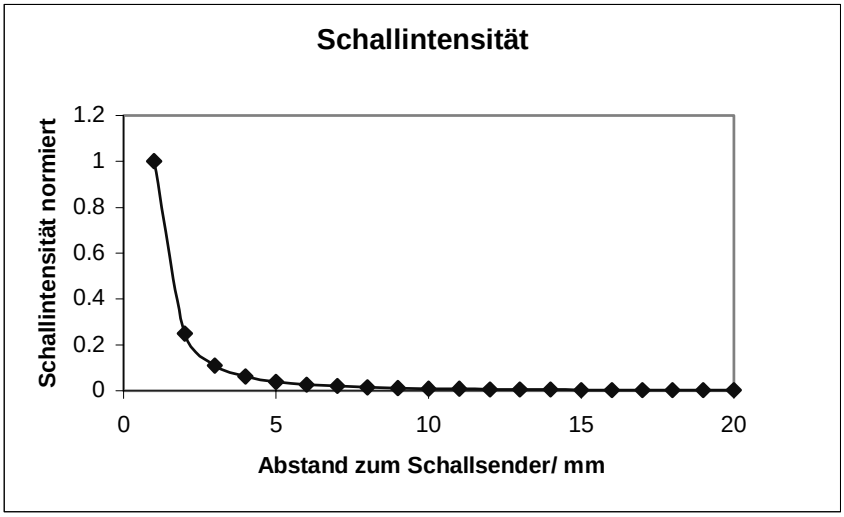


Bild 8.1.1.2: entfernungsabhängige Schallintensität

8.1.2 Kugelquelle, Dipol:

Geltungsbereich:

ideal:
Zwei Kugelquellen in dichtem Abstand strahlen gegenphasig Schall mit gleicher Amplitude ab.

näherungsweise:
Eine schwingende Membran trägt auf ihrer Vorderseite und gleichzeitig gegenphasig auf ihrer Rückseite Schallleistung in das Medium ein.

f<< fg

Sind die Membranabmessungen klein gegenüber der Wellenlänge, so durchdringen sich die beiden gegenphasigen Schallfelder und es kommt zu einer völligen Schallauslöschung in der Ebene, in der die Membran liegt. Das Richtdiagramm des Schalldruckes hat die form einer Acht mit der Membran im Schnittpunkt der beiden Kreise der Acht.

f>>fg

Sind die Membranabmessungen groß gegenüber der Wellenlänge, so beeinflussen sich die Schallfelder von der Vorder- und Rückseite der Membran nicht mehr.

Grenzfrequenz: $f_g = \frac{c}{l \cdot \pi}$ l = Kantenlänge der Membran

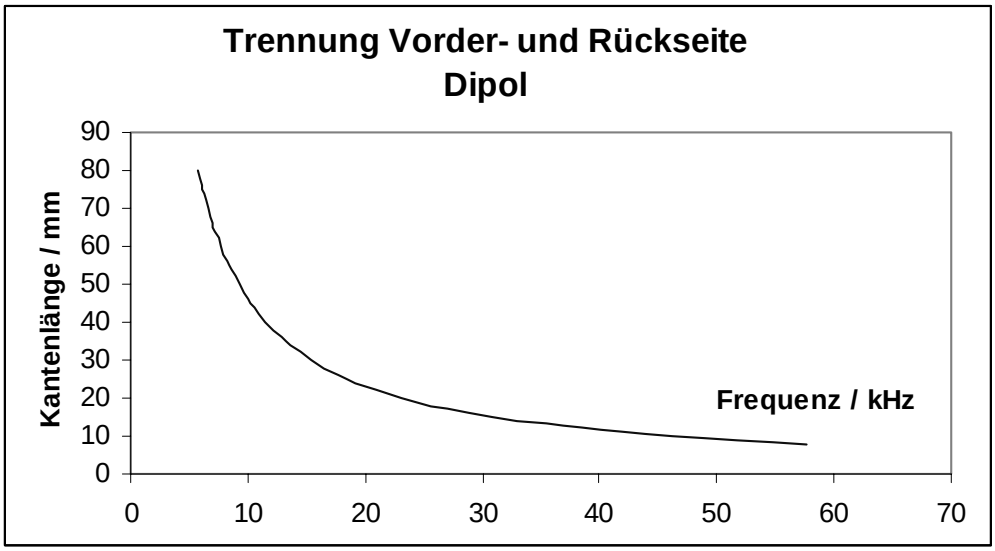


Bild 8.1.2.1: Mindestkantenlänge zur Trennung Vorder- und Rückseite

D.h. die Membran sollte in eine Schallwand von mindestens 16 mm Kantenlänge eingebaut werden (Wasser , 29 kHz)

Bei tiefen Frequenzen strahlt ein Dipol eine wesentlich geringere Wirkleistung als ein vergleichbarer Monopol ab.

$\frac{P_{Dipol}}{P_{Kugel}} = \frac{4}{3}(ka)^2$ für ka <<1 mit a = halbe Kantenlänge der Schallwand

ka << 1 bedeutet eine wesentliche Unterschreitung der Mindestkantenlänge, etwa bei der Mindestkantenlänge ist ka = 1.

8.1.3 Membranstrahler

Sind die Abmessungen der schwingenden Membran nicht mehr verschwindend gegenüber der Wellenlänge, so sind die Näherungen für Kugelschallquellen nur noch bedingt gültig.
Es ist dann angebracht, die schwingende Membran durch einen Zylinder zu modellieren, dessen Grundfläche sich auf- und abbewegt und damit Schallwellen an das Medium abgibt..

Beispiel:

f = 29 kHz Schallfrequenz a = 3,5 mm Membranradius

$\lambda = \frac{c}{f} = 50\,\text{mm}$ Wellenlänge in Wasser $k \cdot a = 2\pi \cdot \frac{f}{c} \cdot a = 0{,}44$

Die Membranoberfläche kann in viele Punktquellen zerlegt werden, die sich gegenseitig durchdringen.

Danach berechnet sich die Schallfeldimpedanz zu:

$$Z_{Membran} = Z_0 \cdot \left[\frac{(2ka)^2}{(2ka)^2 + 8} \cdot \frac{(2ka)^2 - 7{,}25 \cdot 2 \cdot ka + 16}{(2ka)^2 - 7{,}54 \cdot 2 \cdot ka + 16} + 8j \cdot \frac{ka}{3\pi} \right] \quad \text{mit} \quad Z_0 = \rho \cdot c$$

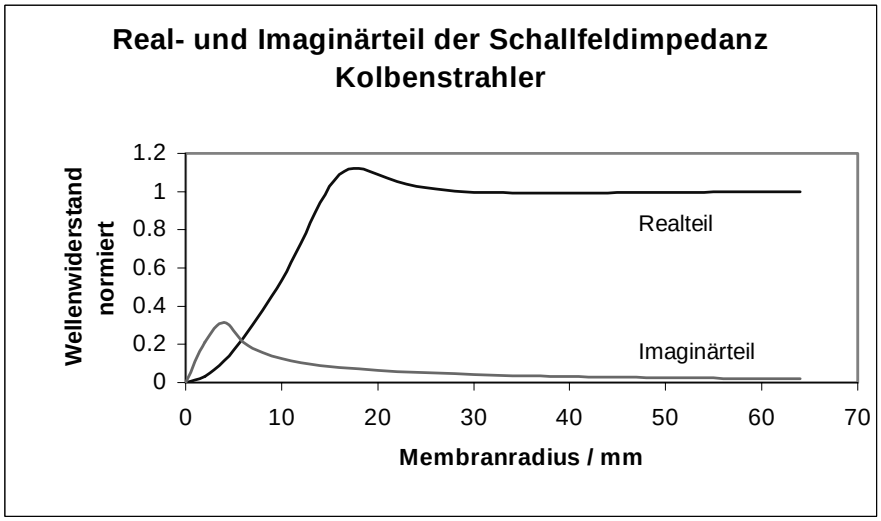


Bild 8.1.3.1: Komplexe Schallfeldimpedanz des Membranstrahlers

Der Membranstrahler ist dem Kugelstrahler für eine Halbkugel verwandt. Allerdings wird die Halbkugelwelle frequenzabhängig zu einer Keule mit Nebenkeulen deformiert. D.h. der Membranstrahlerstrahlt den Schall richtungsabhängig (gebündelt) ab.
Für k*a >> 1 (hohe Frquenzen) erfolgt eine stark gebündelte Abstrahlung mit Nebenkeulen; für k*a << 1 (tiefe Frequenzen)erfolgt die Abstrahlung fast kugelförmig.

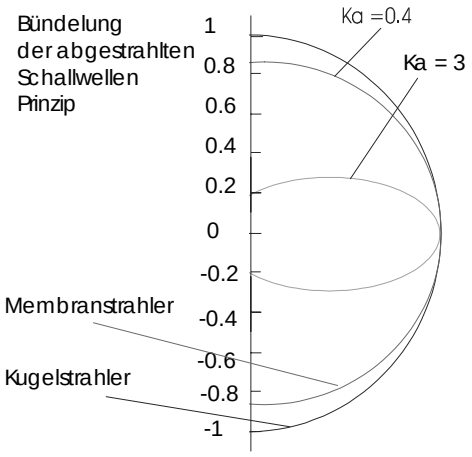


Bild 8.1.3.2 Gebündelte Abstrahlung der Schallwellen

Im vorliegenden Fall ist k*a = 0.38, dh. es ist eine nur leicht gebündelte Abstrahlung zu erwarten, was auch durch die Messung bestätigt wurde.
Auf der Abstrahlrichtung senkrecht zur Membran können sich theoretisch Nullstellen des Schalldruckes bilden (Einschnitte zwischen Haupt- und Nebenkeulen).

$$r_{null} = \frac{n \cdot \lambda}{2}\left[\left(\frac{a}{n \cdot \lambda}\right)^2 - 1\right]$$

λ =Wellenlänge hier 50mm

a = Membranradius hier 3mm
n = 1,2,3,...
r_{null} = Abstand Membran- Nullstelle

Da im vorliegenden Fall λ > a ist , existieren strahlungscharakteristische Nullstellen in der Abstrahlungsrichtung.

8.2 Beispielrechnung

Seitenlänge der Membran : 7 mm davon aktiv ausgelenkt: 86% d.h. 6mm

wirksamer Membranradius: a = 3mm
k = 125,7
f = 29 kHz
Wasser: c = 1450 m/s
ρ = 1000 kg/m³

8.2.1 Ansteuerung 60 V

gemessene Werte:
Auslenkung: x = 1,76 µm
Geschwindigkeit v = 0,285 m/s

Proberechnung Zusammenhang Auslenkung – Geschwindigkeit

$\omega = \frac{v}{x}$ d.h. $v = 2\pi f \cdot x$ $v = 0{,}321$ m/s

Berechnung :
Abgestrahlte Wirkleistung

Realteil Wellenwiderstand:

$$Z_{Membran} = Z_0 \cdot \left[\frac{(2ka)^2}{(2ka)^2 + 8} \cdot \frac{(2ka)^2 - 7{,}25 \cdot 2 \cdot ka + 16}{(2ka)^2 - 7{,}54 \cdot 2 \cdot ka + 16} + 8j \cdot \frac{ka}{3\pi} \right] \text{ mit } Z_0 = \rho \cdot c$$

= 98041 Ns/m³

strahlende Fläche:

$$A_{Membran} = \pi \cdot a^2$$

$$P_{Wirk} = v^2 \cdot Z_{Membran} \cdot A_{Membran}$$

P_{Wirk} = 289 mW von der Membran in das Schallfeld abgegebene Wirkleistung
==========

Schalldruck

$p = v \cdot Z_{Membran}$ = 31500 N/m² = 0,315 bar auf der Membran

=========

8.2.2 Ansteuerung 120 V

gemessene Werte:
Auslenkung: x = 3,4 µm

Die Auslenkung und die Geschwindigkeit am Piezo ist proportional der angelegten Spannung .
Da die Geschwindigkeit quadratisch in die Leistungsberechnung eingeht, vervierfacht sich die abgegebene Wirkleistung.
Der Schalldruck verdoppelt sich.

9. Messungen zur Charakterisierung des Schallfeldes

9.1 Versuchsanordnung

Der Ultraschallwandler wurde in den Boden eines zylindrischen Gefäßes mit 30 mm Durchmesser mit der Membran nach oben eingeklebt. Die Membran kann damit mit verschiedenen Medien (Luft, Wasser) belastet werden, die Wasserhöhe ist variierbar. Die Auslenkung der Membran wird an der Gegenseite (auf dem Piezo) mit dem Laserinterferometer gemessen.

Versuchsanordnung:

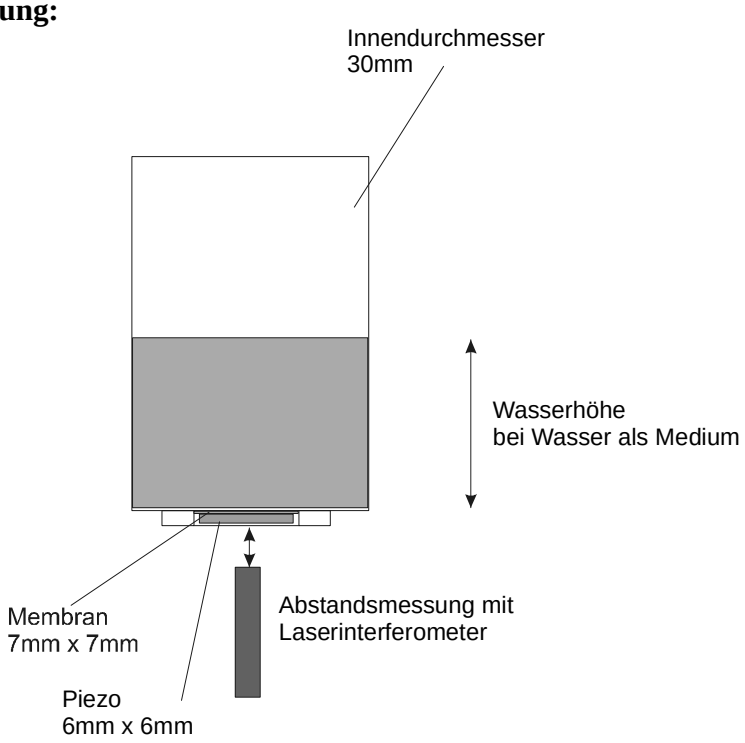


Bild 9.1.1: Versuchsanordnung zur Charakterisierung der Schallquelle

9.2 Resonanzfrequenzen

Die Resonanzfrequenz für die obige Anordnung wurde berechnet (4.1.1 Abhängigkeit der Membranabmessungen von der Resonanzfrequenz) und durch die folgenden Messergebnisse bestätig**.**

Die Resonanzfrequenz in Luft liegt bei 35 kHz , in Wasser bei 29 kHz , die Schallfeldimpedanz von Luft unterscheidet sich natürlich erheblich von der des Wassers. (siehe auch Berechnung Schallfeld).
Die Auslenkung in Luft und in Wasser unterscheidet sich fast nicht, was eine nur wenig lastabhängige Kraftquelle im Piezo - Membransystem bestätigt.

Vor allem unterhalb von 10 kHz traten Resonanzen des Gefäß- und Befestigungssystems auf, die in den folgenden Diagrammen ausgeblendet wurden.

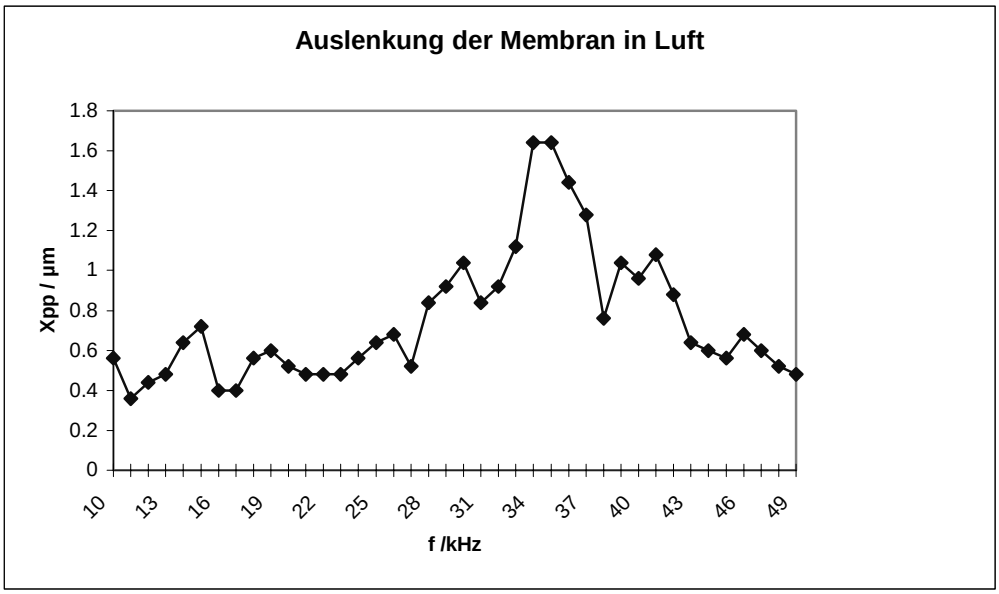


Bild 9.2.1: Auslenkung in Luft

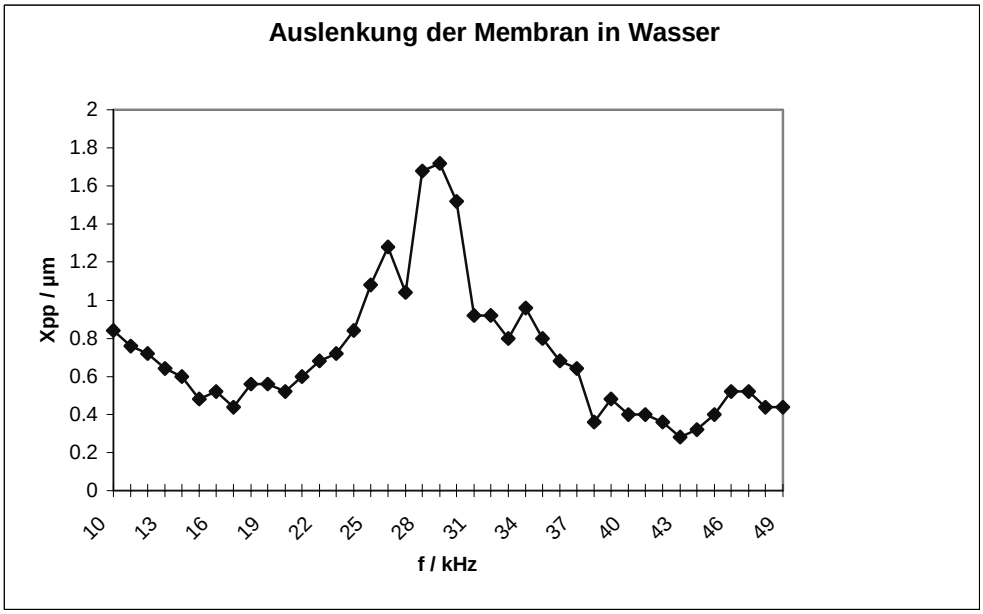


Bild 9.2.2: Auslenkung in Wasser

Die zusätzliche Variation der Membranbelastung ergab eine weiter Bestätigung der schon gemachten Feststellungen.
- Die Resonanzfrequenz erweist sich als unabhängig von der Höhe der die Membran belastenden
Wassersäule.
- Aus der Ortskurve für die Schallfeldimpedanz ergibt sich durch k*a << 1 ein Blindanteil bei der Ankopplung der schwingenden Membran an das Wasser, der von der Schallgeschwindigkeit, den Wandlerabmessungen und der Frequenz abhängt, nicht aber (wesentlich) von der Membranbelastung
Bildlich kann man sich das so vorstellen, daß auf der Membran eine dünne Wasserschicht existiert, die nur mit Blindleistung vor allem seitlich hin- und herbewegt wird. Oberhalb dieser Schicht wird vor allem Wirkleistung in das Schallfeld eingekoppelt.

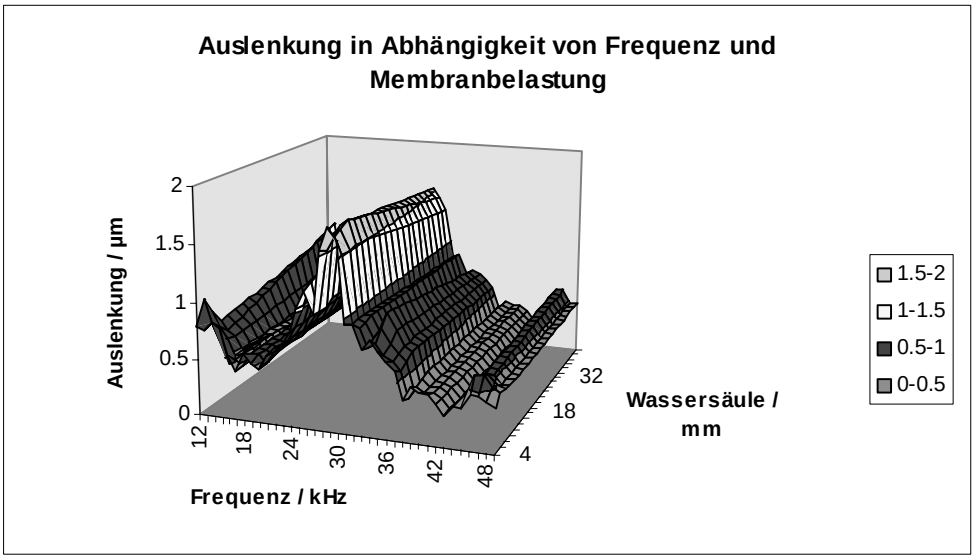


Bild 9.2.3 Auslenkung bei unterschiedlicher Membranbelastung

9.3 Strahlungscharakteristik

Voraussetzung:
Die von der Membran abgegebene Leistung durchdringt gedachte, schalenförmige Ebenen im Medium. Da sich die Schallwelle mit wachsendem Abstand zur Membran auffächert, verringert sich gleichzeitig die Schallintensität .
Die Schallleistung in der durchströmten Fläche ist bei einem verlustfreien System in jeder Ebene konstant.

9.3.1 Kugelstrahler

Dieses Modell setzt eine sehr kleine „atmenden“ Kugel als Schallsender voraus.
Die Membranabmessungen (6mm Durchmesser) und die nicht kugelförmige Abstrahlung der Schallwellen von der Membran lassen dieses Modell ungeeignet erscheinen.

9.3.2 Kolbenstrahler, Membranstrahler

Beim Modell des Kolbenstrahlers erfolgt die Abstrahlung des Schalls durch einen oszillierenden Kolben, was der Membrananordnung nahe kommt. Messungen bestätigten diese Annahme.

Versuchsanordnung:

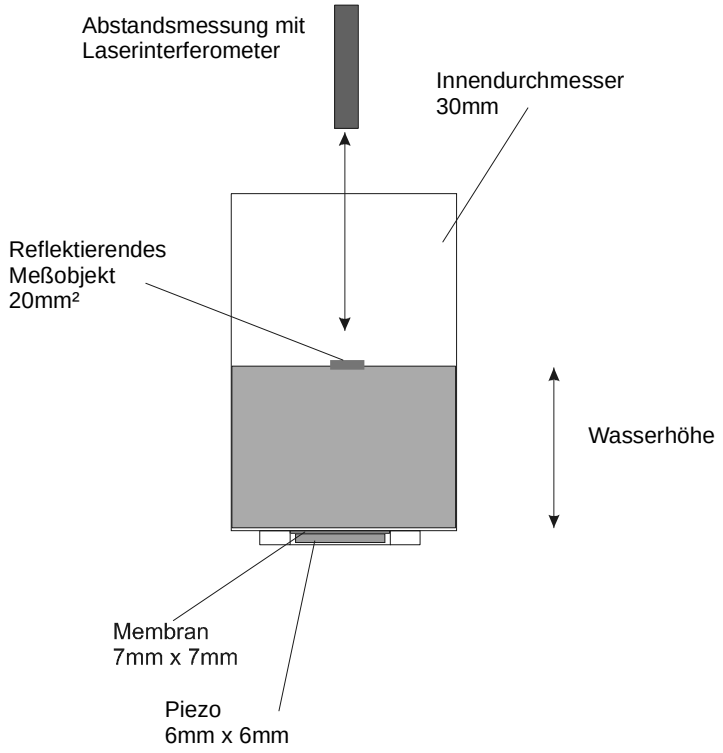


Bild 9.3.2.1: Messen der Schallleistung

Die Schallleistung bzw. die Schallintensität wurde über die Auslenkung einer Messprobe mit einem Laserinterferometer gemessen (statt Messmikrofon).

Die bei der Modellierung des Schallfeldes durch den Membranstrahler gemachten Berechnungen stimmen gut mit den Messungen überein.

Die Schallintensität auf der Membran wurde z.B. mit 1.1 W/cm² berechnet, gemessen wurde 1.3 W/cm².

Max. Membranauslenkung: 1.76µm
Frequenz: 29 kHz

Die von der Membran an das Schallfeld abgegebene beträgt damit 290 mW (siehe8.2 Beispielrechnung).

Vom Messobjekt in Abhängigkeit vom Strahlerabstand aufgenommene Schallleistung wurde gemessen und im Diagramm dargestellt.

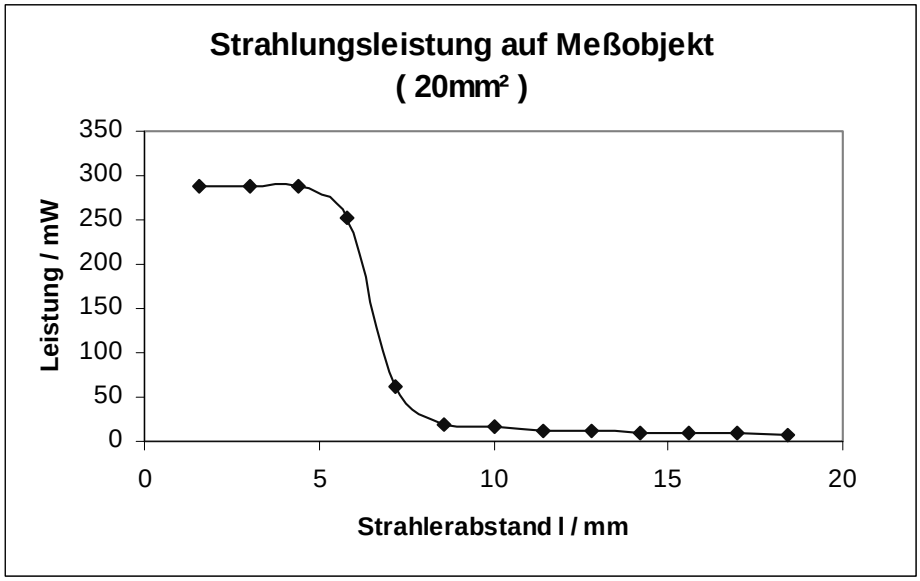


Bild 9.3.2.2: Schallleistung auf Meßobjekt

Bis zu einem Abstand von etwa 5mm ist die vom Meßobjekt aufgenommene Leistung konstant, d.h. der Schallstrahl ist kleiner als das Meßobjekt, es strömt kein Schall vorbei.

Von dieser Messung abgeleitet ist das Darstellung der Schallintensität in Abhängigkeit vom Abstand zur Schallquelle.

Bei einer Kugelquelle würde die Schallintensität quadratisch mit der Strahlerentfernung abnehmen.

Da das hier nicht der Fall ist, haben wir es nicht mit einer Kugelquelle zu tun.

Bei einem Abstand < 5mm trifft die gesamte Strahlungsleistung auf das Messobjekt, das in der Größenordnung der Membran liegt.

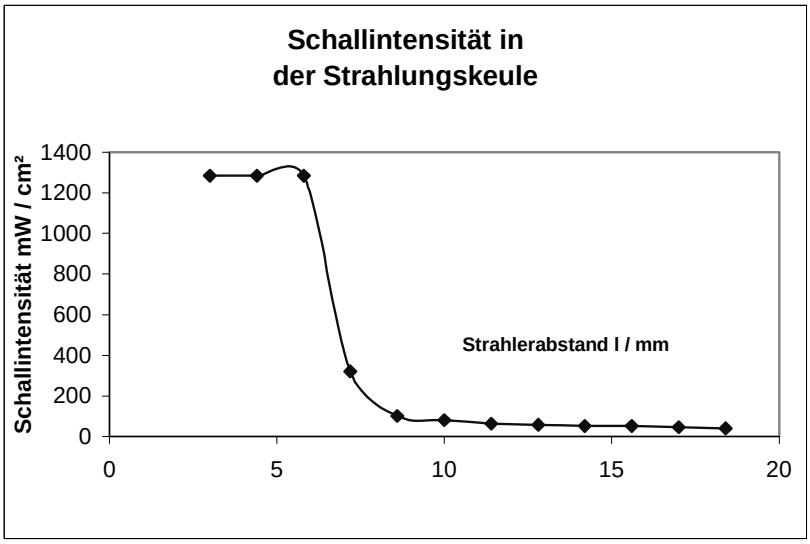


Bild 9.3.2.3: Schallintensität in der Strahlungskeule

Es gilt folgender Zusammenhang

$$\frac{I}{I_0} = \left(\frac{p}{p_0}\right)^2$$ mit I = Intensität, p = Druck

und damit ergibt sich die folgende Darstellung.

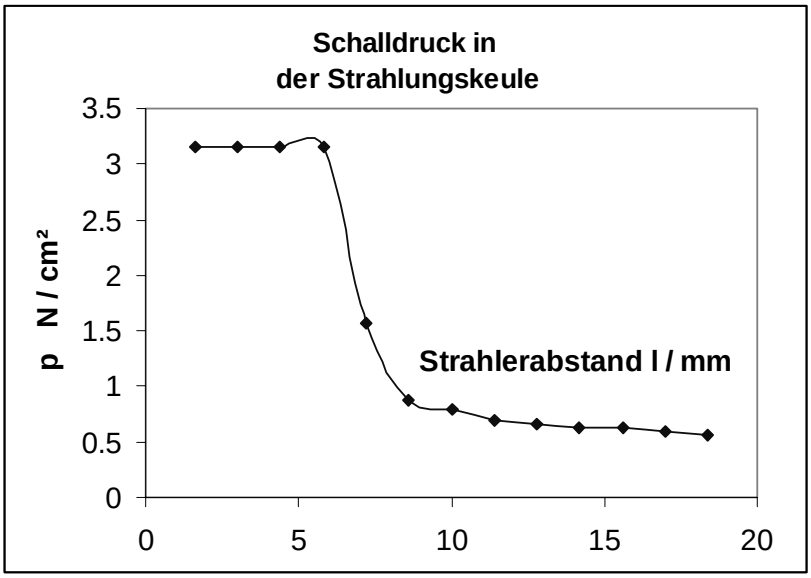


Bild 9.3.2.4: Schalldruck in der Strahlungskeule

Bei der Messung der Schallintensität wurde bereits festgestellt, dass es sich nicht um ein kugelförmiges Schallfeld handeln kann.
Bei diesen kleinen Entfernungen ist die Schalldämpfung im Wasser vernachlässigbar.
Damit gilt:
Die durch die gedachten, nicht unbedingt kugelförmigen Schalen des Schallfeldes gehende Schallleistung ist konstant. Es läßt sich daraus die Strahlungscharakteristik näherungsweise berechnen.

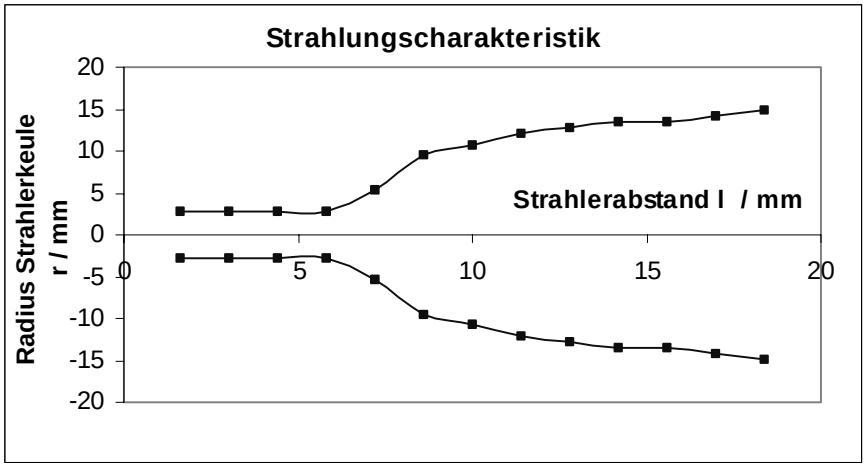


Bild 9.3.2.5: Schallstrahlungscharakteristik

Die in dem Modell des Membranstrahlers gemachte Aussage, das es sich um eine leicht gebündelte Abstrahlung handelt, ist damit bestätigt

10. Zusammenfassung

- Einfluß der Oberflächenstruktur auf die Besiedlung

Mikrokolonien siedeln bevorzugt auf glatten Oberflächen. Durch ihre Schleimproduktion sind sie sehr gut mit der Oberfläche verbunden und widerstehen auch starken Scherkräften. Enge Täler (<25 µm) werden nur sehr wenig von diesen gut haftenden Mikrokonsortien besiedelt, pyramidenförmige Strukturen dieser Größenordnung etwas mehr.
Enge Täler (4 µm) wurden vor allem von Bakterien besiedelt, die von ihren Abmessungen gut in diese Strukturen passen und dort vor Strömungen gesichert sind.
Die Sensoroberfläche sollte deshalb strukturiert sein (< 25 µm), was zwar die Anlagerung und Vermehrung von Einzelzellen nicht behindert, aber die Ausbreitung der zähen Mikrokolonien einschränkt.

- Einfluß des Materials

Der stärkste Bewuchs wurde bei $SiNO_3$ –Oberflächen festgestellt. Oberflächen aus Silizium, Siliziumoxid oder Gold wurden wesentlich weniger bewachsen. Die Ursache dafür sind die unterschiedlichen Oberflächenenergien, die auf die siedelnden Mikroorganismen einwirken. Silizium, Siliziumoxid oder Glas sind gleichermaßen gut als Sensormaterialien geeignet, $SiNO_3$ –Oberflächen nicht.

- Zeitabhängigkeit des Bewuchses

In der Initialphase (Stunden bis 1..2 Tage) lagern sich Mikroorganismen (beginnend mit Bakterien) zunehmend fester an die Oberfläche an. Zum Ende dieser Phase wird ein Schleim produziert, der die Mikroorganismen fest mit der Oberfläche verbindet.
Ab diesem Zeitpunkt steigert sich das Wachstum (Logarithmische Phase) stark, die Schleimbildung verstärkt sich. Aus kleinen Mikrokolonien entstehen größere Mikrokonsortien. Die Schicht festigt sich.
In der Plateauphase halten sich nur noch geringes Wachstum, Absterben von Organismen und mechanisches Ablösen von Schichten etwa im Gleichgewicht.

Daraus muß man ableiten, daß die Reinigungen der Oberfläche innerhalb der Initialphase erfolgen müssen, d.h. in Abständen von deutlich kleiner als 24 Stunden.
Die Bildung von Schleim wird dadurch unterbunden, die Mikroorganismen können damit nicht gut haften.

- Intensität und Dauer der Schalleinwirkung

Die abgestrahlte Leistung wird über die Frequenz und die Auslenkung bestimmt. Eine Vergrößerung der Ansteuerspannung für den Piezo vergrößert linear die Auslenkung und geht quadratisch in die Leistung ein.
Prozentual geringer Bewuchs (0,55 bis 3 %), Bewuchsverteilung, erneutes Absetzen von Schwebeteilchen nach der Reinigung u.ä. ergeben statistische Unsicherheiten.
Eine fast 100% -ige Reinigung ist nur mit langer Reinigungsdauer und großer Schallintensität möglich. Damit wird zwar eine gute Reinigung erzielt, allerding besteht dann auch die Gefahr der Beschädigung der Sensorstrukturen.
Als Kompromiß werden Reinigungszeiten von weniger als 30 Minuten bei einem zeitlichen Abstand von 8 Stunden vorgeschlagen, die Bedeckung kann dann um ca. 70 % reduziert werden.

- Ultraschallerzeugung und Abstrahlung

Die Ultraschallfrequenz sollte möglichst im nicht hörbaren Bereich liegen. Außerdem geht die Frequenz quadratisch in die abgestrahlte Leistung ein, so daß auch von der Leistungsbilanz höhere Frequenzen gefordert werden. Allerdings verschlechtert sich bei hohen Frequenzen der Wirkungsgrad des Piezo- Schallwandlers.
Die Ultraschallfrequenz sollte deshalb im Wasser 20 bis 30 kHz betragen.
Die Ultraschallfrequenz bestimmt die Abmessungen der Membran des Schallwandlers. Damit sind deren Abmessungen mit etwa 7 mm x 7 mm bestimmt.
Nicht die gesamte Membranoberfläche strahlt gleichmäßig ab, das Zentrum stärker, in Randnähe schwächer. Die zu reinigende Sensoroberfläche ist dadurch auf 5 mm x 5 mm festgelegt.

Die Strahlungscharakteristik des Schallwandlers zeigt, daß der optimale Abstand des Schallsenders zum zu reinigenden Sensor bei 2 mm bis 3 mm liegt, da hier der Schall noch gut gebündelt ist.

11. Patente und Literatur

Patente:

Eine eigene Patentanmeldung zu dieser Thematik ist z.Z. in patentrechtlicher Bearbeitung.

1. WO 97/27005 Device for generating ultrasonic waves
Inhalt: Aufbau eines Ultraschallgenerators

2. G01N 21/15 Verfahren und Vorrichtung zur Entfernung von Gasblasen und anderen Ablagerungen aus Küvetten
Inhalt: Ultraschall 25..40 kHz , Dauer 10ms..10min, Pausen 10s..10min
Resonanzfrequenz, Schwingungsbäuche, Schwingungsknoten

3. B 03 D 1/00 Faseroptischer Detektor zur Flotationszellenaufbereitung
Inhalt: Ultraschallreinigung eines faseroptischen Sensors

4. C 12M 1/34 Verhinderung des Bewuchses von Sensoren in biotechnischen Anlagen
Inhalt: Entfernung von Organismen durch toxische Chemikalien

5. H 04 R1/02 Haltevorrichtung für Ultraschallwandler
Inhalt: Abdichtung der Piezoelektroden

6 A 61 L2/02 Ultraschallvorrichtung zum Entkeimen von Flüssigkeiten
Inhalt: Flüssigkeiten keimfrei machen

7. G 01 N 21/31 Spektroskopische Analyse nach dem Prinzip der abgeschwächten Totalreflektion
Inhalt: Ultraschallreinigung eines Lichtleiters, Schallfokussierung durch Zylinderspiegel

8. 4,092,858 Oceanographic sensor with in-situ cleaning and bio-fouling prevention system
Inhalt: Zylinderförmiger Piezo mit Sensoren auf Außenmantel, Reinigung periodisch durch hohe Amplituden, Prevention durch Ultraschall unterhalb der Ablöseenergie

9. C12M 1/40 Biosensoren zur foulingresistenten Serum- und Hämoanalytik
Inhalt: Glutardialdehyd als Hemmstoff für mikrobiologisches Wachstum

10. B 01 J 19/10 Vorrichtung zur Ultraschallbehandlung strömender Medien
Inhalt: stehende Wellen in Flüssigkeiten, Leitbleche verursachen Strömungen, um Wirkungen von Schwingungsbäuchen und Knoten zu minimieren

11. 1 604 691 Methods and Apparatus for preventing the accumulation of deposits on surfaces
Inhalt: Ultraschall parallel zur Sensoroberfläche, 1..100kHz, verwendet 80W/40kHz

Literatur:

ALLISON, D. G.; SUTHERLAND, 1. W. (1984): A staining technique for attached bacteria and its correlation to extracellular carbohydrate production. J. Microbiol. Method. 2, 93-99.

APILANEZ, 1.; GUTIERREZ, A.; DIAZ, M. (1998): Effect of surface materials on initial biofilm development. - Bioressource Techn. 66 (3), 225-230.

BIANCHI, A.; GIULIANO, L. (1996): Enumeration of Viable Bacteria in the Marine Pelagic Environment. - Appl. Environ. Microbiol. 62 (19), 174 - 177.

BRILL, H (1995) Mikrobielle Materialzerstörung und Materialschutz

CHARACKLIS, W. G. (1990): Microbial Biofouling Control. -in: CHARACKLIS, W. G.; MARSHALL, K. C. [Hrsg.]: Biofilms, *585-613.*

CHARACKLIS, W. G.; MCFETERS, G. A.; MARSHALL, K.C. (1990): Physiological Ecology in Biofilm Systems. - in: CHARACKLIS, W. G.; MARSHALL, K. C. [Hrsg.]: Biofilms, 341-381.

CHRISTENSEN, B. E.; CHARACKLIS, W. G. (1990): Physical and chemical properties of biofilms. - in: CHARACKLIS, W. G.; MARHALL, K. C. [Hrsg.]: Biofilms, 93-130.

COOKSEY, K. E.; WIGGLESWORTH-COOKSEY, B. (1995): Adhesion of bacteria and diatoms to surfaces in the sea: a review. - Aquat. Microbiol. Ecol. 9, 87-96.

FLEMMING, H. C. (1991): Biofilme und Wassertechnologie. Teil 1: Entstehung, Aufbau, Zusammensetzung und Eigenschaften von Biofilmen. - gwf-Wasser/ Abwasser 132, 197-207.

FLEMMING, H. C. (1992a): Biofilme und Wassertechnologie. Teil 2: Unerwünschte Biofilme - Phänomene und Mechanismen. - gwf-Wasser/ Abwasser 133 (3), 119-130.

FLEMMING, H. C. (1992b): Biofilme und Wassertechnologie. Teil3: Bekämpfung unerwünschter Biofilme. – gwf-Wasser/ Abwasser 133 (6), 198-310.

GEESEY, G. *G.;* COSTERTON,J. W. (1979): Bacterial biomass determination in a silt-laden river: Comparison of direct count epifluorescence microscopy and extractable adenosine triphosphate techniques. - in: COSTERTON J. W.; COLWELL, R. R. [Hrsg.] Native Aquatic Bacteria: Enumeration, Activity, and Ecology, 117-127, American society for Testing and Materials, Philadelphia.

HEISSENBERGER, A.; LEPPARD, G.G.; HERNDL, G. J. (1996): Relationship between the Intracellular Integrity and the Morphology of the Capsular Envelope in Attached and Free-Living Marine Bacteria. - Appl. Environm. Microbiol. 62 (12), 4521-4528.

KNUTZ, T. (1990):Untersuchungen zu Mehr- Parameter- Bestimmungen mit speziellen Elektrodensystemen 2. Art

LITTLE, B. J.; DEPALMA, J. R. (1988): Marine biofouling. - Treat. Mat. Sci. Technol. 28, 89-119.

LÜNSDORF, H.; BRÜMMER, I.; TIMMIs, K. N.; WAGNER-DÖBLER, I. (1997): Metal Selectivity of In Situ Microcolonies in Biofilms of the Elbe River. - Journal of Bacteriology, 179 (1),31-40.

MARSHALL, K. C.; STOUT, R.; MITCHELL; R. (1971): Mechanism of the Initial Events in the Sorption of Marine Bacteria to Surfaces. - J. Gen. Microbiol. 68, 337-348.

MILLNER, J: Wissensspeicher Ultraschalltechnik

SIEGESMUND, M.; SCHMALZ,W.; KORZUCH,S..(1999): Mikrobiologische Bewuchsversuche auf Sensormaterialien in Meerwasser-Mesokosmen, FSU Jena, Biologisch-Pharmazeutische Fakultät, Institut für Ökologie

NICKELS, J. S.; BOBBIE, R. J.; LOTT, D. F.; MARTZ, R. F.; BENSON, P. H.; WHITE, D. C. (1981); Effect of Manual Brush Cleaning on Biomass and Community Structure of Microfouling Film Formed on Aluminium and Titanium Surfaces Exposed to Rapidly Flowing Seawater. - Appl. Environm. Microbiol. 41 (6), 1442-1453.

O'CONNOR, N. J.; RICHARDSON, D. L. (1996): Effects of bacterial films on attachment of barnacle (Balanus improvisus Darwin) larvae: laboratory and field Studies. - Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 206, 69-8 1.

PORTER, K. G.; FEIG, Y. S. (1980): The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. - Limnol. Oceanogr. *25*, 943-948.

SANTEGOEDS, C. M.; FERDELMAN, T. G.; MUYZER, G.; DEBEER, D. (1998): Structural and Functional Dynamics of Sulfate-Reducing Populations in Bacterial Biofilms. - Appl. Environm. Microbiol. 64 (10), 3731-3739.

SCHILLING, C. (1999): Welche objektiven Probleme sind beim Einsatz von mikrostrukturierten Sensorkomponenten in der Umweltanalytik zu erwarten? - Vortrag auf dem Expertenforum ,,Umweltanalytik und Mikrotechnik", 24.2.99, Ilmenau.

SHAMS EL DIN, A. M.; SABER, T. M. H.; HAMMOND, A. A. (1996): Biofilm formation on stainless steels in Arabian GuIf water. - Desalination 107 (3), 251-264.

ZOLLNER, ZWICKER Elektroakustik

ZWEIFEL, U. 1.; HAGSIRÖM, A. *(1995):* Total Counts of Marine Bacteria Indude a Large Fraction of Non-Nucleotid-Containing Bacteria (Ghosts). - Appl. Environm. Microbiol. 61 (6), 2180-2185.