Schlussbericht

Mikrobiologische und Technische Charakterisierung von UV-LED-Desinfektionsmodulen

(MikTeCh)

im Verbundprojekt	Grundlagenuntersuchungen und Entwicklung eines für den Einsatz im Wasser geeigneten UVC-LED-Desinfektionsmoduls (GEntLED UV)
Förderkennzeichen	03ZZ0117C
Zuwendungsempfänger	TZW: DVGW-Technologiezentrum Wasser Karlsruhe
Laufzeit des Vorhabens	01.11.2015 – 31.12.2018

Ansprechpartner	Dr. Jutta Eggers
Telefon	+49 721 9678 130
Fax	+49 721 9678 109
E-Mail	jutta.eggers@tzw.de

GEFÖRDERT VOM

Bundesministerium für Bildung und Forschung

Die Verantwortung für den Inhalt dieser Veröffentlichung liegt beim Autor.

Inhaltsverzeichnis

I. Kurzdarstellung 1

1. Aufgabenstellung 1

2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde 1

3. Planung und Ablauf des Vorhabens 2

4. Stand der Wissenschaft und Technik vor Projektbeginn 2

5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen 4

II. Eingehende Darstellung 5

1. Verwendung der Zuwendung und erzielte Ergebnisse 5

1.1. Grundlagen der Desinfektion 5

1.2. Experimentelle Methoden 8

1.2.1. Biodosimetrie 8

1.2.2. Mikrobiologische Verfahren 12

1.3. Apparaturen und LED-Module 15

1.3.1. Collimated Beam-Apparatur mit Hg-Niederdruckstrahler (ND-CB) 15

1.3.2. PearlBeam-Collimated Beam Apparatur 17

1.3.3. Im Projekt hergestellte LED-Arrays für Laborbestrahlungen 20

1.3.3.1. Simulation und Bau der LED-Module 20

1.3.3.2. Charakterisierung der LED-Module 23

1.3.3.2.1. Zusammenfassung 23

1.3.3.2.2. Temperatur- und Einschaltverhalten bei verschiedenen Vorwärtsströmen 23

1.3.3.2.3. Spektrale Untersuchungen 24

1.3.3.2.4. Petri Faktoren 26

1.3.4. Einzel-LED Module zur Charakterisierung im Labor 26

1.3.4.1. Ergebnisse der Charakterisierung 28

1.3.4.1.1. Alterungsverhalten 28

1.3.4.1.2. Verhalten bei unterschiedlichen Temperaturen 29

1.3.4.1.3. Abstrahlcharakteristik der LEDs 31

1.3.4.1.4. Berechnung des UV-Outputs mittels der Abstrahlcharakteristik 36

1.3.5. LED-Reaktor 38

1.3.5.1. Durchführung der Reaktorprüfung 38

1.3.5.1.1. Prüfaufbau 38

1.3.5.1.2. Biodosimetrischer Prüfumfang 39

1.3.5.1.3. Biodosimetrische Prüfergebnisse 40
1.3.5.1.4. Technische Prüfungen und Untersuchungen 44
1.4. Inaktivierungsversuche mit verschiedenen Wellenlängen und Mikroorganismen 47
2. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit 55
3. Voraussichtlicher Nutzen 55
4. Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen 55
5. Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen der Ergebnisse 56
6. Literatur 57

Abbildung 1: Beispiele für großtechnische LED-Reaktoren; Quellen: Typhon und Metawater 3
Abbildung 2: Point of Use-Geräte der Firmen (links nach rechts) Acuva, Aquisense und Hytecon Products. Quellen: Hersteller Homepage 4
Abbildung 3: Mechanismus der DNA- bzw. RNA-Schädigung 5
Abbildung 4: Spektralbereiche sowie spektrale Empfindlichkeit 6
Abbildung 5: Prüfung von UV-Desinfektionsgeräten gemäß DVGW W-294 7
Abbildung 6: Prinzip der Biodosimetrie 9
Abbildung 7: Aufbau der Hg-ND-CB-Anlage 16
Abbildung 8: Probentisch mit Monitorsensor der Hg-ND-CB-Anlage 17
Abbildung 9: Aquisense LED-Collimated Beam 18
Abbildung 10: Petri Faktoren des PearlBeam-CBs für die unterschiedlichen Wellenlängen . 19
Abbildung 11: Alterungsverhalten der PearlBeam LEDs mit 285 und 365 nm Emissionspeak über die Projektlaufzeit 19
Abbildung 12: Mögliche simulierte Modul-Layouts für die Laborbestrahlung. Von oben links nach unten rechts: Projekt 1, 2, 5 und 6. 20
Abbildung 13: Simulierte Bestrahlungsstärke der verschiedenen LED-Layouts in Abständen von 3 cm bis 6 cm 21
Abbildung 14: Simulierte Petri Faktoren der verschiedenen LED-Layouts in Abständen von 3 cm bis 6 cm 21
Abbildung 15: 260 nm LED-Array von unten (links) mit 260 nm LEDs in Position K1 bis K4 und 365 nm auf K5, sowie installiert über einer Petrischale (rechts) 22
Abbildung 16: Verlauf der Bestrahlungsstärke des 265 nm Labor-Moduls für unterschiedliche Vorwärtsströme 23
Abbildung 17: Verlauf der Bestrahlungsstärke und Temperatur am 280 nm Modul für 150 und 100 mA Vorwärtsstrom 24
Abbildung 18: 260 und 265 nm LEDs der Labormodule. Vorwärtsstrom 125 mA und 100 mA 25
Abbildung 19: 275 und 280 nm LEDs der Labormodule. Vorwärtsstrom 75 mA 25
Abbildung 20: Gemessene Strahlungsverteilung über eine Petrischale und resultierender Petri Faktor für die LED-Module. 26
Abbildung 21: Einzel-LED-Module zur Charakterisierung im Labor. 27
Abbildung 22: Alterungsverhalten der Einzel-LED-Module von 0 bis 1050 Stunden. 28
Abbildung 23: Alterungsverhalten der LG Module im Vergleich. 29
Abbildung 24: Messaufbau im Inkubator für das Temperaturverhalten 30
Abbildung 25: Temperaturverhalten der N260 A LED im Inkubator 30
Abbildung 26: Temperaturverhalten der D278 LED im Inkubator 31
Abbildung 27: Methode A zur Messung des absoluten LED-Outputs: Feste Position des Sensors rechts und Drehung der LED in der Drehachse bei gleichem Abstand 32
Abbildung 28: Methode B zur Messung des absoluten LED Outputs: LED rechts in fester Position; Sensor wird auf einer Achse bewegt 32
Abbildung 29: Abstrahlcharakteristik der LED D278 gemessen mittels Methode A und B 32
Abbildung 30: Abstrahlcharakteristik der LED N265 A gemessen mittels Methode A und B. 33
Abbildung 31: Messaufbau für die Abstrahlcharakteristik von Einzel-LEDs und Modulen. 34
Abbildung 32: Konstruierter LED-Messstand als Goniometer Aufbau. 34
Abbildung 33: Abstrahlcharakteristik der LED LG 100h mit dem Goniometer. 35
Abbildung 34: Räumliche Messung der LED LG 100h in Vorwärtsrichtung. 35

Abbildung 35: Beispielhafte Berechnung der LED Leistung über geometrische Verfahren... 36
Abbildung 36: Inneres LED-Modul und Reaktorgehäuse 38
Abbildung 37: Prüfaufbau für kleine UV-Reaktoren 39
Abbildung 38: Inaktivierungskurven der *Bacillus subtilis* Chargen 1-3 sowie T1UV zur Berechnung der RED für die durchgeführten Prüfpunkte 41
Abbildung 39: Ermittelte RED in Abhängigkeit von Durchfluss und Mikroorganismus bei UVT10 von 98 % 42
Abbildung 40: Ermittelte Dosis in Abhängigkeit von der UV-Sensitivität (DL) bei UVT10 von 98 % und den Durchflüssen 4 l/min und 6 l/min 43
Abbildung 41: Ermittelte RED in Abhängigkeit von Durchfluss und Mikroorganismus bei UVT10 von 95 % 43
Abbildung 42: Ermittelte Dosis in Abhängigkeit von der UV-Sensitivität (DL) bei UVT10 von 95 % und den Durchflüssen 4 l/min und 6 l/min 44
Abbildung 43: Relative (Punkte) und absolute (Dreiecke) Bestrahlungsstärkewerte bei unterschiedlichen Wassertransmissionen 45
Abbildung 44: Verhalten der Temperatur der LED-Streifen bei konstanter Wassertemperatur und verschiedenen Vorwärtsströmen. Start bei 500 mA, Reduktion um 50 mA bis minimal 50 mA 46
Abbildung 45: Relative Bestrahlungsstärken der Sensoren beim Dimmen 46
Abbildung 46: *Enterococcus faecalis* Inaktivierungen 48
Abbildung 47: *Enterococcus faecalis* Inaktivierungen zur Untersuchung von Wellenlängenkombinationen 48
Abbildung 48: *Bacillus subtilis* Sporen Inaktivierungen mit Einzelwellenlängen 49
Abbildung 49: *Bacillus subtilis* Sporen Inaktivierungen mit Wellenlängenkombinationen 50
Abbildung 50: *Pseudomonas aeruginosa* Inaktivierungen 51
Abbildung 51: *Escherichia coli* Inaktivierungen 51
Abbildung 52: *Legionella pneumophila* Inaktivierungen 52
Abbildung 53: MS2 Inaktivierungen 52
Abbildung 54: phiX 174 Inaktivierungen 53
Abbildung 55: *Enterococcus casseliflavus* Inaktivierungen 53
Abbildung 56: UV-Empfindlichkeit von ausgesuchten Mikroorganismen, normiert auf 254 nm 54

Tabelle 1: Zeitliche Änderungen gegenüber vorgesehenen Arbeitsplan 2
Tabelle 2: Zusammenfassung der Charakterisierung der LED-Module für Laborbestrahlungen mit ND-CB Daten zum Vergleich 23
Tabelle 3: Übersicht der Einzel-LEDs zur Labor-Charakterisierung 27
Tabelle 4: Vorwärtsstrom und Leistung aus LED Datenblättern und berechnet mit oben beschriebenen Methode A 36
Tabelle 5: Prüfpunkte des LED-Moduls aus dem GEntLED UV Projekt 39
Tabelle 6: Prüfpunkte mit logI und dazugehöriger RED 40
Tabelle 7: Regressionsparameter für Inaktivierungskurven von *Bacillus subtilis* und T1UV . 42
Tabelle 8: Übersicht der durchgeführten Inaktivierungen 47

I. Kurzdarstellung

1. Aufgabenstellung

Das GEntLED UV Verbundvorhaben zielte auf die Entwicklung eines UVC-LED-Desinfektionsmoduls, welches den besonderen Anforderungen für die Wasserdesinfektion und damit dem direkten Einsatz im Medium Wasser genügt. Die Etablierung der UV-LED-Technologie zur Desinfektion von Trinkwasser, insbesondere unter Ausnutzung der Vorteile die LEDs bieten, ist eines der Hauptziele im Arbeitsfeld Desinfektion. Das beantragte Projekt ist ein Teilprojekt auf dem Weg zur Erreichung des Zieles.

Das zu entwickelnde Modul sollte auf mehreren HL-UVC-LED-Modulen aus dem Arbeitsfeld Messtechnik & Module (M&M) des Advanced UV For Life Konsortiums basieren. Für den späteren Einsatz wurden insbesondere Aspekte möglicher Materialien für Kapselung, den Modulaufbau und die Desinfektionsleistung untersucht. Das Funktionsmuster bildete zunächst die Basis für die Entwicklung eines „Point Of Use“ - Wasserdesinfektionsgerätes und kann im laufenden Folgeprojekt „Entwicklung UVC-LED-basierter Desinfektionstechnologien für die Wasserdesinfektion – ELEDWa“ als Ausgangspunkt für einen großtechnischen Reaktor genutzt werden.

2. Voraussetzungen, unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Das DVGW-Technologiezentrum Wasser (TZW) ist als Einrichtung des DVGW (Deutscher Verein des Gas- und Wasserfaches e.V.) gemeinnützig und unabhängig. Hervorgegangen ist das TZW aus der DVGW-Forschungsstelle am Engler-Bunte-Institut der Universität Karlsruhe. Mehr als 170 Mitarbeiter arbeiten in der anwendungsnahen Forschung und der wissenschaftlichen Beratung. Dabei kooperiert das TZW mit Wasserversorgern, Unternehmen, Fachbehörden und Hochschulen. Das TZW entwickelt auf der Basis seiner umfangreichen Forschungsaktivitäten und Praxiserfahrungen Lösungen und Konzepte für alle Bereiche der nationalen und internationalen Wasserbranche vom Ressourcenschutz über die Gewinnung und Aufbereitung bis hin zur Entnahmearmatur. Hierzu stehen flexible Teams aus den Bereichen Umweltbiotechnologie und Altlasten, Grundwasser und Boden, Analytik und Stoffbewertung, Technologie und Wirtschaftlichkeit, Mikrobiologie und Molekularbiologie, Prüfstelle Wasser und Korrosion sowie Verteilungsnetze und Hausinstallation zur Verfügung. Damit umfassen die Arbeitsgebiete des TZW den gesamten Wasserkreislauf und insbesondere die Trinkwasserversorgung.

Darüber hinaus führt die Prüfstelle Wasser des TZW alle Prüfungen durch, die sich aus den Anforderungen der DVGW Arbeitsblätter W 294 (Teil 1-3) für den Zertifizierungsprozess von UV-Desinfektionsgeräten ergeben.

Durch zahlreiche Beiträge auf internationalen UV-Fachtagungen und UV-Kongressen, insbesondere zur Umsetzung des technischen Regelwerks, ist das TZW auch international sehr gut vernetzt. Die am TZW vorliegenden Erfahrungen aus der Prüf- und Anwendungspraxis sind in die im Jahr 2019 abgeschlossene Überarbeitung des technischen Regelwerks (DVGW Arbeitsblatt W 294, 2006 zu DIN 19294-1 und -3) eingeflossen. In diesem Zuge wurde auch an der Harmonisierung mit der Österreichischen Prüfnorm (ÖNORM M 5873-1&2, 2001) mitgearbeitet.

Auch im Bereich Dimensionierung, Betrieb und Überwachung von UV-Desinfektionsgeräten verfügt das TZW über eine ausgeprägte Kompetenz. Diese Expertise kann vor allem bei der Spezifizierung der praktischen Anforderungen für den Einsatz im Trinkwasser sowie bei der Wirksamkeitsprüfung eingebracht werden.

3. Planung und Ablauf des Vorhabens

Das Forschungsvorhaben GEntLED UV ist ein Verbundprojekt der Projektpartner Fraunhofer IOSB-AST, Xylem Services GmbH, Purion GmbH und TZW mit einer Aufgabenverteilung in 3 Arbeitspaketen. Das TZW war dabei in folgenden Arbeitsbereichen tätig:

Erarbeitung von Messmethoden und LED-Geometrien für Laborbestrahlungen von Mikroorganismen, Charakterisierung der LED-Module für Laborbestrahlungen nach der Herstellung, Bestimmung der Desinfektionswirksamkeit von unterschiedlichen LED-Emissionswellenlängen in Bezug auf verschiedene Mikroorganismen.

Erarbeitung von Materialanforderungen, Parametern und eines Überwachungskonzeptes für LED-Module im Einsatz.

Bestimmung der Desinfektionsleistung des im Projekt entwickelten Modulfunktionsmusters für unterschiedliche Wasserbeschaffenheiten, Volumenströme und Mikroorganismen in Verbindung mit parallel dazu durchgeführten Laborbestrahlungen.

Aufgrund verzögerter Entwicklung und Lieferung der LED-Arrays sowie des LED-Reaktors ergaben sich zeitliche Änderungen gegenüber dem ursprünglich vorgesehenen Arbeitsplan:

Tabelle 1: Zeitliche Änderungen gegenüber vorgesehenen Arbeitsplan

Meilensteine	Geplant: Projektstart +	Realisiert: Projektstart +
M1: Präsentation Arbeitsfortschritt und Entscheidung über weiteres Vorgehen	+ 10 Monate	+ 12 Monate
M2: Grundlagenuntersuchungen abgeschlossen	+ 18 Monate	+ 38 Monate
M3: Fertigstellung eines ersten Funktionsmusters und Beginn der Tests	+ 24 Monate	+ 31 Monate
M4: Einsatzfähiges Funktionsmuster	+ 36 Monate	+ 38 Monate

Bis zum Projektende konnten alle geplanten Arbeiten abgeschlossen werden.

4. Stand der Wissenschaft und Technik vor Projektbeginn

Der Einsatz von UV-Strahlung zur Desinfektion von Wässern verschiedener Herkunft (Trinkwasser, Abwasser) sowie Oberflächen ist seit Jahren bewährt und ist im Gegensatz zu anderen Verfahren (z.B. Chlorung) durch Verzicht auf chemische Stoffe, die sich neben der Bildung von Desinfektionsnebenprodukten auch nachteilig auf den Geschmack auswirken, vorteilhaft. Dabei kommen bisher jedoch nahezu ausschließlich die schon genannten Hg-Strahler zum Einsatz. Die Verwendung von Quecksilber ist jedoch ökologisch bedenklich und vermutlich in absehbarer Zeit nicht mehr zulässig. (RICHTLINIE 2011/65/EU DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES vom 08.06.2011 zur Beschränkung der

Verwendung bestimmter gefährlicher Stoffe in Elektro- und Elektronikgeräten). Darüber hinaus sind Hg-Dampf-Strahler mechanisch empfindlich. Die Bruchsicherheit und damit Quecksilberaustritt sowie Glassplitter sind in der Lebensmittelindustrie oder im mobilen Einsatz äußerst kritisch und erfordern bisher sehr hohen technischen Aufwand zur Vermeidung. Ein weiterer gravierender Nachteil herkömmlicher Strahler, welche meist in Form langer Röhren hergestellt werden, sind die geringen Variationsmöglichkeiten beim Reaktordesign. Der Reaktor wird sich bei axial angeströmten Systemen somit immer an der vorgegebenen Form des Zylinderstrahlers orientieren. Schaltfestigkeit und die Häufigkeit von Schaltzyklen sind bei herkömmlichen Strahlern im diskontinuierlichen Betrieb problematisch. Intermittierender Betrieb wie er vornehmlich bei PoU-Anlagen oder im Mobilen Einsatz gefordert ist, ist mit Ihnen nahezu unmöglich. Energieverschwendung durch lange Aufheizphasen ist die Folge. Die von Niederdruck-Hg-Strahlern emittierte Wellenlänge von 254nm liegt nicht im Maximum der Desinfektionswirksamkeit und kann Prinzip bedingt auch nicht verändert werden. Mitteldrucksysteme haben bei höherem Wirkungsgrad ein wesentlich breiteres Spektrum welches sogar bis in den Bereich des Sichtbaren Lichtes reicht. Da die UV-Strahlung stark im Waser absorbiert wird, sichtbares Licht jedoch wesentlich weiterreicht, kommt es so oft zu Bereichen in denen Algenwachstum begünstigt wird. Der Reaktor wird sich bei klassischen, axial angeströmten Systemen immer an der vorgegebenen Form des Zylinderstrahlers orientieren müssen und recht wenig flexibel sein. In allen Aspekten wird die LED-Technik als Lösung betrachtet.

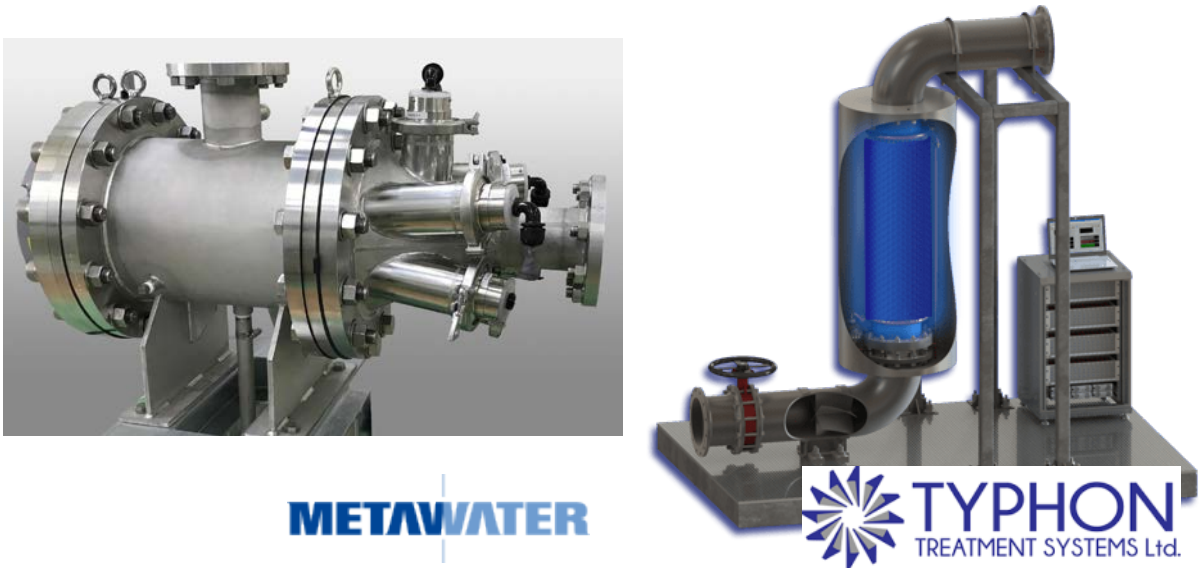


Abbildung 1: Beispiele für großtechnische LED-Reaktoren; Quellen: Typhon und Metawater

Mittlerweile werden zwei großtechnische LED-Reaktoren beworben (siehe Abbildung 1). Typhon stellte einen Reaktor vor, der in Zusammenarbeit mit einem Britischen Wasserversorgen getestet wurde (Kapazität 200 – 750 m³/h), Metawater stellte 2017 eine biodosimetrisch getesteten Reaktor bis 2.000 m³/Tag (83 m³/h bzw. 1.400 Liter pro Minute) vor. Auch wenn diese von den Firmen selbst teilweise als „nicht-wirtschaftlich“ vorgestellt werden wegen hohen Anschaffungskosten ist der Trend der Industrie erkennbar. Zahlreiche Firmen wie Aquisense, Acuva u.a. bieten einfache LED-basierte PoU-Geräte für kleine Durchflüsse an (siehe Abbildung 2). Im Falle von Acuva mit einer NSF 55 Zertifizierung in Bezug auf die Desinfektionsleistung und einiger technischer Aspekte (z.B. Druck und verwendete Materialien).

Abbildung 2: Point of Use-Geräte der Firmen (links nach rechts) Acuva, Aquisense und Hytecon Products. Quellen: Hersteller Homepage

Gemein ist allen Geräten bisher, dass keine wirksame Überwachung der Desinfektionsleistung vorgestellt wurde. Spätestens für den Einsatz in der nationalen Wasserversorgung ist dies aber in den meisten Ländern eine Voraussetzung.

5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Fraunhofer Institut für Optronik, Systemtechnik und Bildauswertung, Institutsteil Angewandte Systemtechnik

(Projektkoordinator)
Am Vogelherd 50
98693 Ilmenau

Xylem Services GmbH
Boschstraße 4-14
32051 Herford

PURION GmbH
Schubertstraße 18
98544 Zella-Mehlis

II. Eingehende Darstellung

1. Verwendung der Zuwendung und erzielte Ergebnisse

Wie bereits aus der Aufgabenstellung hervorgeht, gliederte sich das Projekt in die wesentlichen zwei Aufgabenbereiche

- Entwicklung von UV-LED-Arrays für Voruntersuchungen zur Wellenlängen-abhängigkeit
- Entwicklung, Aufbau und Test eines UV-LED-Reaktors zur Wasserdesinfektion

Für beide Aufgabenbereiche wurde vom TZW die Desinfektionswirksamkeit bestimmt. Zusätzlich wurden allgemeine technische Aspekte von LEDs und LED-Reaktoren untersucht.

1.1. Grundlagen der Desinfektion

Die Inaktivierung von Mikroorganismen und Viren durch UV-Strahlung beruht in erster Linie auf einer photochemischen Reaktion, bei der es zur Bildung von Pyrimidin-Dimeren in den DNA- bzw. RNA-Strängen kommt (Abbildung 3). Aufgrund der Dimerisierung von Pyrimidin-basen werden die Replikations- und Transkriptionsprozesse gehemmt und eine Vermehrung von Zellen verhindert.

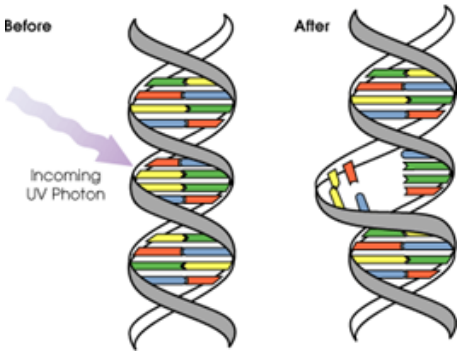


Abbildung 3: Mechanismus der DNA- bzw. RNA-Schädigung

Mikroorganismen besitzen mehrere Mechanismen diese DNA-Schäden zu tolerieren oder zu reparieren. Die zwei wichtigsten Wege sind hierbei die Nukleotid-Exzisions-Reparatur (NER) und die Photoreaktivierung. Bei der NER, die häufig als Dunkelreparatur bezeichnet wird, werden die fehlerhaften Nukleotide aus dem DNA-Strang herausgeschnitten und die entstandene Lücke anschließend repariert. An diesem Vorgang ist eine Vielzahl an Enzymen beteiligt. Bei der Photoreaktivierung, auch Lichtreparatur genannt, nutzt das Enzym Photolyase Energie aus Strahlung im Bereich zwischen 300 nm und 500 nm, um die Dimerisierung der Pyrimidine aufzuheben.

Für die effiziente Abtötung von Mikroorganismen sind UV-Strahlenquellen notwendig, die Wellenlängen emittieren, bei denen die Mikroorganismen spektral empfindlich sind. Der für die UV-Desinfektion maßgebliche Wellenlängenbereich liegt zwischen 240 nm und 290 nm, da in diesem Bereich die Nukleinsäuren DNA und RNA die Strahlung stark absorbieren, wobei das Absorptionsmaximum bei einer Wellenlänge von ca. 260 nm liegt. Bei höheren und niedrigeren Wellenlängen nimmt die Absorption deutlich ab (Abbildung 4).

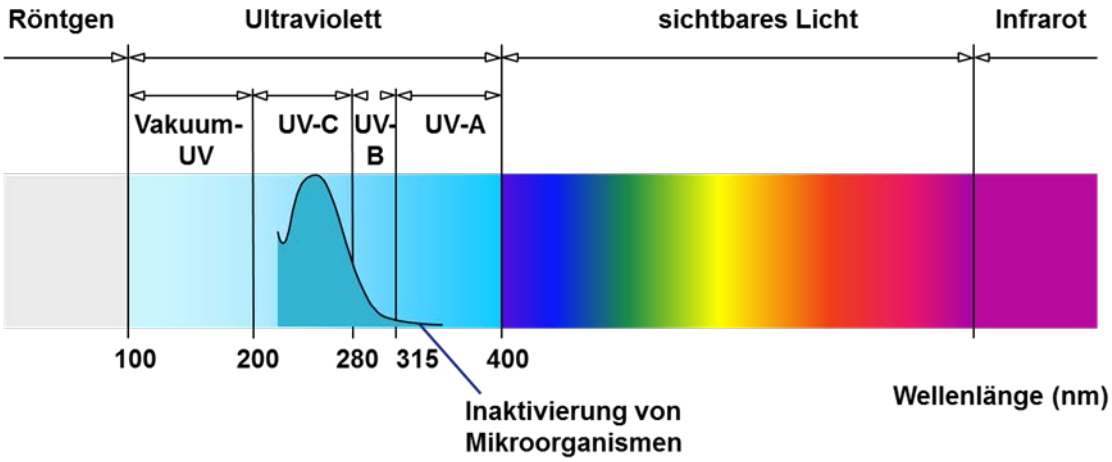


Abbildung 4: Spektralbereiche sowie spektrale Empfindlichkeit

Die grundsätzlichen Anforderungen an UV-Geräte wie auch an das zu desinfizierende Wasser sind im DVGW-Arbeitsblatt „UV-Geräte zur Desinfektion in der Wasserversorgung“ (DVGW Arbeitsblatt W 294, 2006) festgelegt. Dieses definiert neben den Anforderungen an die Prüfung von UV-Desinfektionsgeräten auch Anforderungen an den Betrieb der Geräte. Es gliedert sich in folgende drei Teile:

Teil 1: legt die „Anforderungen an Beschaffenheit und Funktion von UV-Desinfektionsanlagen sowie deren Betrieb“ und Überwachung im Bereich der Wasserversorgung fest (DVGW Arbeitsblatt W 294-1, 2006).

Teil 2: „Prüfung von Beschaffenheit, Funktion und Desinfektionswirksamkeit“ befasst sich mit den Prüfungsmodalitäten für UV-Desinfektionsgeräte (DVGW Arbeitsblatt W 294-2, 2006).

Teil 3: beschreibt die „Anforderungen an Messfenster und Sensoren zur radiometrischen Überwachung von UV-Geräten“ (DVGW Arbeitsblatt W 294-3, 2006).

Die amtliche „Liste der Aufbereitungsstoffe und Desinfektionsverfahren gemäß §11 Trinkwasserverordnung (TrinkwV, 2001)“ schreibt in der geltenden Fassung (siehe www.umweltbundesamt.de) vor, dass ausschließlich geprüfte und zertifizierte UV-Geräte eingesetzt werden dürfen, die eine Desinfektionswirksamkeit entsprechend einer Bestrahlung von mindestens 400 J/m² (bezogen auf 254 nm) aufweisen.

Bei dieser Fluenz wird, nach aktuellem Stand des Wissens, die für eine sichere Desinfektion erforderliche Reduktion von wasserhygienisch relevanten Bakterien, Viren und Protozoen um mindestens 4 log-Stufen (99,99%) erreicht.

Eine direkte Erfassung der Fluenz im UV-Reaktor ist messtechnisch nicht möglich. Eine indirekte Erfassung z. B. mittels Berechnung aus der Bestrahlungszeit und der Bestrahlungsstärke ist aufgrund der komplexen hydraulischen Bedingungen und der örtlich unterschiedlichen UV-Bestrahlungsstärken im UV-Reaktor ebenfalls nicht zuverlässig durchführbar. Die Desinfektionsleistung von UV-Geräten muss daher als Reduktionsäquivalente Dosis (RED) individuell für jeden Gerätetyp biodosimetrisch ermittelt werden.

Die Desinfektionswirksamkeit von UV-Geräten wird anhand eines für die Serienfertigung repräsentativen Baumusters entsprechend der geltenden Prüfgrundlage W 294-2 mittels Biodosimetrie geprüft (Baumuster-/Typprüfung). Dabei wird die Inaktivierung von *Bacillus subtilis* Sporen mit bekannter UV-Empfindlichkeit bei unterschiedlichen Wasserdurchflüssen, Bestrahlungsstärken und SSK-254 Werten bestimmt.

Auf der Basis dieser Daten werden die Eignungs- und Betriebskennwerte der Anlage festgelegt, für die die mikrobizide Mindestfluenz von 400 J/m² eingehalten wird (siehe Abbildung 4). Die Gerätesteuerung muss sicherstellen, dass die bei der Baumusterprüfung festgelegten Betriebskennwerte eingehalten werden und kein unzureichend desinfiziertes Wasser ins Netz abgegeben wird.

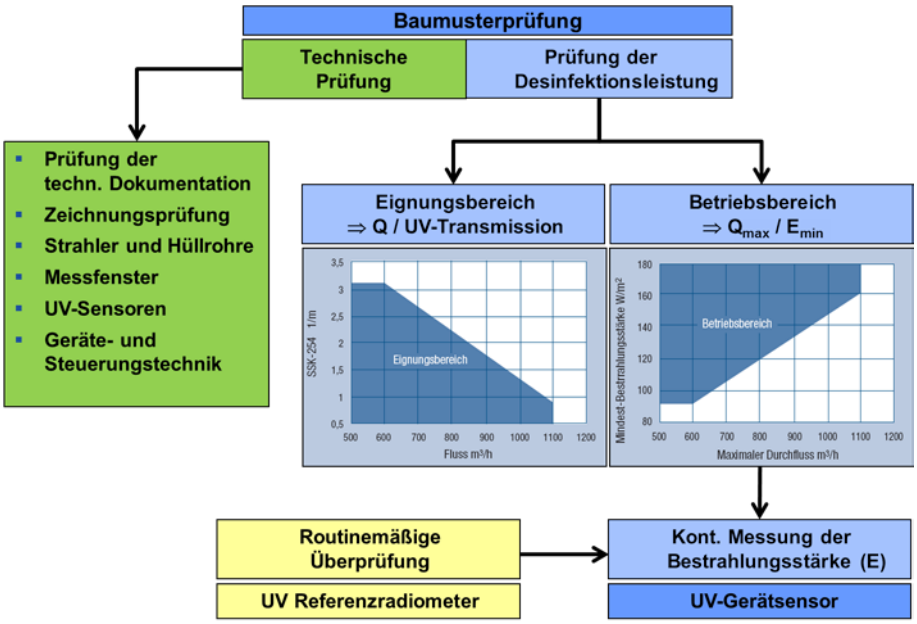


Abbildung 5: Prüfung von UV-Desinfektionsgeräten gemäß DVGW W-294

Neben der biodosimetrischen Prüfung werden auch die Einhaltung der geräte- und steuerungstechnischen Anforderungen des Arbeitsblattes W 294 überprüft. Hierzu sind der Prüfstelle technische Datenblätter für zertifizierungsrelevante Komponenten wie beispielsweise UV-Strahler, Strahlerhüllrohre, Sensormessfenster und UV-Sensoren vorzulegen, die auf Konformität mit dem Anforderungskatalog geprüft werden.

Technische Zeichnungen und Betriebshandbücher werden einer sorgfältigen Prüfung unterzogen. In der Gerätesteuerung wird die Anzeige der Strahlerfunktionen (Start/Betrieb/Störung/Ausfall), Betriebsstundenzähler, Zähler für Schaltungen sowie Rückstellbarkeit der Zähler überprüft. Das Auslösen von Meldungen/Schaltungen bei Störfunktionen, insbesondere Fehlfunktion eines Strahlers, Unterschreitung des Grenzwerts für die Mindestbestrahlungsstärke werden ebenso getestet. Ferner wird das Vorhandensein des Prüfmodus für die Kontrolle der Gerätesensoren (Aussetzen der Alarm- oder Schaltfunktionen) kontrolliert.

Weiterhin müssen UV-Geräte den allgemeinen Anforderungen für wassertechnische Einrichtungen genügen, insbesondere sind die einschlägigen Sicherheitsanforderungen für elektrische Anlagen einzuhalten. Die eingesetzten Werkstoffe müssen gegenüber UV-Strahlung beständig sein und dürfen nicht zu einer Beeinträchtigung der Trinkwasserbeschaffenheit führen.

UV-Geräte, die nach erfolgreichem Abschluss der Baumusterprüfung auf Prüfgrundlage W 294-2 ein DVGW-Zertifikat erhalten, erfüllen demnach grundsätzlich die Anforderungen des Arbeitsblattes W 294. Bei Einhaltung der festgelegten Betriebsparameter (Maximaler Durchfluss Q_{max} und Mindestbestrahlungsstärke E_{min}) werden damit eine ausreichende Fluenz und folglich eine ausreichende Desinfektionsleistung erzielt.

Weitere Prüfnormen bzw. Testprotokolle für großtechnische UV-Geräte zur Trinkwasserdesinfektion sind:

Ultraviolet Disinfection Guidance Manual for the Final Long Term 2 Enhanced Surface Water Treatment Rule (Ultraviolet Disinfection Guidance Manual, 2006): In den USA gibt es seit 2006 eine Art Betriebshandbuch für Wasserversorger und Planer, welches von der amerikanischen Umweltbehörde (USEPA) unter Mitwirkung von Prüfeinrichtungen, Universitäts- und Industriepartnern entwickelt wurde. Dieses Betriebshandbuch bietet u.a. technische Information für Wasserversorger zur Anwendung von UV-Desinfektion generell, sowie zusätzlich eine Anleitung für Auslegung und Planung einer UV-Desinfektion. Als wesentlicher Aspekt sind zwei Validierungs-Konzepte für UV-Reaktoren basierend auf Biodosimetrie aufgeführt, vergleichbar mit den DVGW W 294 Arbeitsblättern. Ein großer Unterschied ist jedoch, dass es für UVDGM geprüfte UV-Geräte lediglich einen Testbericht gibt, eine Zertifizierung von unabhängigen Zertifizierungsstellen zur Bestätigung, dass das Produkt vorgegebene Standards bzw. Regelwerke einhält, erfolgt nicht.

ÖNORM (ÖNORM M 5873-1&2, 2001): Das österreichische „Arbeitsblatt zur Baumusterprüfung von UV-Reaktoren für den Einsatz zur Trinkwasserdesinfektion“ ähnelt in vielerlei Hinsicht den DVGW Arbeitsblättern W 294 1-3. Die oben genannte Harmonisierung der deutschen und österreichischen Regelwerke steht kurz von dem Abschluss.

E DIN 19294 Geräte zur Desinfektion von Wasser mittels Ultraviolettstrahlung (E DIN 19294 Teil 1&2, 2019): Überarbeitung des W 294 Teil 2 Arbeitsblattes in Bezug auf die Prüfung von UV-Niederdruckanlagen (Teil 1) und des W 294 Teil 3 in Bezug auf die Prüfung von UV Referenzradiometer (Teil 3).

Speziell für point-of-use-Anwendungen mit geringen Durchflüssen gibt es in Deutschland bisher keine Regelwerke, deshalb wird hier auf den amerikanischen Standard verwiesen:

NSF/ ANSI Standard 55 (NSF Joint Committee on Drinking Water Treatment Units, 2009): bezieht sich auf “Class B systems (160 J/m²) for supplemental bactericidal treatment of public drinking water or other drinking water, which has been deemed acceptable by a local health agency”.

DIN EN 14897 (DIN EN 14897, 2007): befasst sich mit Anlagen zur Behandlung von Trinkwasser innerhalb von Gebäuden, insbesondere mit Geräten mit Hg-ND-Strahlern. Anforderungen an Ausführung, Sicherheit und Prüfung sind festgeschrieben.

1.2. Experimentelle Methoden

1.2.1. Biodosimetrie

Bei der Typprüfung/Baumusterprüfung wird die Dosis bzw. Desinfektionsleistung eines UV-Reaktors mittels Biodosimetrie bestimmt, da dies nicht direkt durch physikalische Messmethoden möglich ist. Wie schon aus dem Wort selbst entnommen werden kann, handelt es sich hierbei um eine biologische Methode. Als Biodosimeter wird im Allgemeinen ein nicht pathogener Testmikroorganismus verwendet (DVGW Arbeitsblatt W 294-2, 2006: *Bacillus subtilis* Sporen ATCC 6633). Die Biodosimetrie für die Validierung von UV-Reaktoren kann in zwei Teil-Bereiche untergliedert werden:

Einen Labor-Teil für die „Kalibrierung“ des für die Prüfung einzusetzenden Biodosimeters unter definierten Bedingungen. Kalibriert wird dabei die UV-Empfindlichkeit in Form einer sogenannten Inaktivierungskurve, welche im Folgenden noch detailliert erläutert wird.

Der zweite Teil umfasst den Einsatz direkt am zu prüfenden Reaktor. Für die Validierung wird die zuvor charakterisierte Charge des entsprechenden Testorganismus verwendet. Im Zuge der Prüfung werden die Testorganismen in den Zulauf des UV-Reaktors dosiert. Es werden Proben jeweils vor (N_0) bzw. nach (N) dem UV-Reaktor entnommen und das Verhältnis N/N_0 bestimmt. Über die zuvor im Labor bestimmte Inaktivierungskurve kann die Reduktionsäquivalente Dosis (RED) des Reaktors errechnet werden.

Das Prinzip der Biodosimetrie ist schematisch in Abbildung 5 dargestellt.

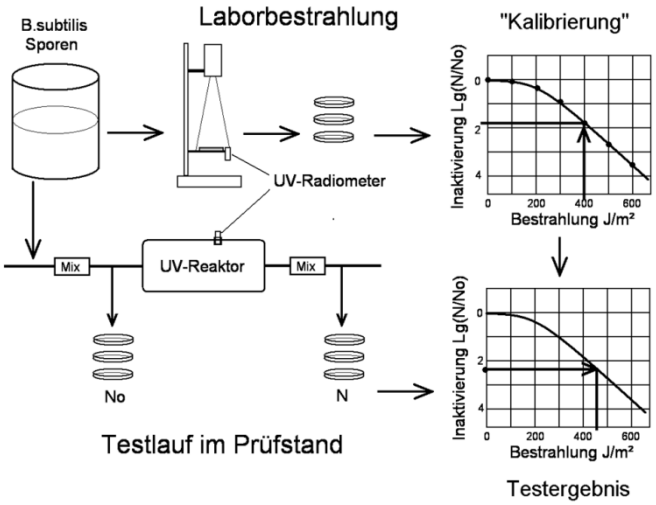


Abbildung 6: Prinzip der Biodosimetrie

Wie zuvor erwähnt, wird im Folgenden näher auf die Dosis-Wirk-Beziehung des Biodosimeters, also die Inaktivierungskurve unter definierten Laborbedingungen eingegangen.

Die Inaktivierungskurve wurde in einer kalibrierten, mit Hg-ND-Strahlern ausgestatteten Laborbestrahlungsanlage mit 7 abgestuften Fluenzen gemessen (DVGW Arbeitsblatt W 294-1, 2006).

Die Vorgehensweise im Labor war dabei folgende: Die Stammlösung mit den Testorganismen wurde nach Homogenisierung durch Rühren und Ultraschallbehandlung unter sterilen Bedingungen mit sterilem bidestilliertem Wasser auf eine Konzentration von ca. 1×10^6 KBE/ml verdünnt. Diese Ausgangssuspension wurde ebenfalls durch Rühren sowie Ultraschallbehandlung homogenisiert, danach wurden davon jeweils 25 ml in sterile Petrischalen (Greiner 94 mm x 16 mm) pipettiert. Von der Ausgangssuspension wurde die Transmission bei 254 nm mittels Photometrie (Perkin Elmer UV/VIS Spectrometer Lambda 2) bestimmt (T_{254nm}). Diese sollte, gemessen in einer 1 cm-Quarzküvette, mindestens 90% betragen.

Die Petrischalen mit der Ausgangssuspension wurden unter Rühren entsprechend der gewünschten Fluenz unterschiedlich lange bestrahlt, wobei gilt:

Fluenz [J/m²] = Bestrahlungsstärke [W/m²] * Bestrahlungszeit [s] Formel 1

Aus dem Verhältnis der Koloniezahlen vor (N_0) und nach (N) der UV-Bestrahlung wurde die Überlebensrate log berechnet:

$$\log = \log (N/N_0) \qquad \text{Formel 2}$$

Die Überlebensrate von *Bacillus subtilis* Sporen wurde in Abhängigkeit der eingesetzten Fluenz in J/m² aufgetragen. Aus den jeweiligen Werten der Überlebensraten bei entsprechender Fluenz H_0 (100 J/m² bis 600 J/m²) wurden durch lineare Regression die

Steigung k, der Wert für den Achsenabschnitt d und das Bestimmtheitsmaß r^2 für die folgende Geradengleichung berechnet:

$$\log (N/N_0) = k * H_0 + d \qquad \text{Formel 3}$$

Mit:

N Koloniezahl nach UV-Bestrahlung [KBE/ml]

N_0 Ausgangskoloniezahl [KBE/ml]

N/N_0 Überlebensrate (dimensionslos)

k Steigung [m²/J]

H_0 Fluenz [J/m²]

d Achsenabschnitt (dimensionslos)

Die ermittelten Daten sollten folgende Kriterien erfüllen:

bei 100 J/m² $\log (N/N_0)_{100} \geq -0,2$

bei 400 J/m² $-1,6 \leq \log (N/N_0)_{400} \leq -2,6$

Schnittpunkt mit der Ordinate $0,8 \leq d \leq 1,8$

$-0,007$ m²/J $\leq k \leq -0,011$ m²/J

$r^2 \geq 0,98$

Mindestens drei reproduzierbare Bestrahlungsversuche wurden durchgeführt und die entsprechenden Kurvenparameter ermittelt, dabei sollten folgende Abweichungen für dieselbe Sporencharge nicht überschritten werden:

Parameter:	maximale Abweichung:
$\log (N/N_0)_{400}$	± 0,2
d	± 0,2
k	± 0,001

Sind diese Kriterien erfüllt, ergibt sich aus den gemittelten Werten die charakteristische Inaktivierungskurve (Standardinaktivierungskurve) des Testorganismus.

Bei der Reaktorprüfung wurden Kennpunkte der Anlage in Abhängigkeit der Wasserbeschaffenheit (Transmission bzw. SSK-Wert) sowie des Durchflusses ermittelt.

Die Bestimmung der exakten mittleren Bestrahlungsstärke über der Petrischale ist für die Biodosimetrie von entscheidender Bedeutung. Dazu wurden zusätzlich folgende Korrekturfaktoren verwendet (Bolton, Beck, & Linden, Protocol for the determination of fluence (UV dose) using a low-pressure or low-pressure high-output UV lamp in bench-scale collimated beam ultraviolet experiments, 2015, Bolton & Linden, Standardization of methods for fluence (UV dose) determination in bench-scale UV experiments, 2003):

<u>Petri-Faktor (PF)</u>

Der PF ist ein Maß für die Homogenität der Bestrahlungsstärke über die bestrahlte Fläche der Petrischale. Er ist definiert als das Verhältnis der über die gesamte Fläche der Petrischale gemittelten Bestrahlungsstärke zur Bestrahlungsstärke im Zentrum der Petrischale. Die Vermessung des Bestrahlungsfeldes erfolgt mit Hilfe einer xy-Positioniereinheit in einem 5 mm-Raster. Zur Bestimmung des PF wird das Bestrahlungsfeld in x- und y-Richtung vermessen. Der PF sollte für Collimated-Beam-Apparaturen nicht unter 0,9 (90%) betragen.

Reflektions-Faktor (RF)

Durch den RF wird die Reflektion der eintreffenden senkrechten Strahlung an der Wasseroberfläche berücksichtigt. Der RF für den Übergang von Luft zu Wasser beträgt 0,975 und wird über die fresnelschen Formeln errechnet.

Wasser-Faktor (WF)

Der WF beschreibt die UV-Schwächung innerhalb der zu bestrahlenden Schicht. Je tiefer die Strahlung in Wasser eindringt umso mehr UV-Strahlung wird absorbiert bzw. gestreut. Der WF lässt sich über Gleichung 4 berechnen. Gleichung 4 wird durch Integration des Lambert-Beer'schen Gesetz über die vertikale Weglänge der Ausgangssuspension erhalten und ist nur für durchmischte Bestrahlungssuspensionen anwendbar.

$$WF = \frac{1-10^{-SSK_{254}*d}}{SSK_{254}*d*\ln(10)}$$ Formel 4

Mit:

WF Wasser-Faktor

SSK_{254} spektraler Schwächungskoeffizient bei 254 nm [cm^{-1}]

d vertikale Schichtdicke der Sporensuspension [cm]

Bei den Versuchen mit abweichender Wellenlänge wurde der SSK jeweils für die nominelle Wellenlänge des entsprechenden LED-Arrays gemessen (255 nm, 265 nm, 275 nm) und der entsprechende Wasserfaktor berechnet.

Divergenz-Faktor (DF)

Der DF berücksichtigt die Abnahme der Bestrahlungsstärke über die vertikale Weglänge der Ausgangssuspension. In der Regel erfolgt in Luft die Abnahme der Bestrahlungsstärke proportional zum inversen Quadrat des Abstandes. Somit kann das Verhältnis zwischen der Bestrahlungsstärke bei Abstand L + x und der Bestrahlungsstärke bei Abstand L, wie in Gleichung 5 dargestellt, zusammengefasst werden als:

$$\frac{E_{L+x}}{E_L} = \frac{L^2}{(L+x)^2}$$ Formel 5

Mit:

L Abstand Strahler (axiales Zentrum) zur Oberfläche der bestrahlten Sporensuspension [cm]

x Schichtdicke der Suspension in der Petrischale [cm]

E_{L+x} Bestrahlungsstärke beim Abstand zur Strahlungsquelle L + x [W/m²]

E_L Bestrahlungsstärke beim Abstand zur Strahlungsquelle L [W/m²]

Durch Integrieren von Formel 5 über die vertikale Weglänge der Ausgangssuspension und Bildung des Mittelwertes erhält man den Divergenz-Faktor DF (Formel 6):

$$DF = \frac{L}{(L+d)}$$ Formel 6

Mit:

DF Divergenz-Faktor

d vertikale Schichtdicke der Sporensuspension [cm]

1.2.2. Mikrobiologische Verfahren

Für alle UV-Bestrahlungsversuche wurden zunächst Impfstammlösungen der verschiedenen Mikroorganismen hergestellt. Folgende Mikroorganismen wurden für die Bestrahlungsversuche verwendet: *Bacillus subtilis* Sporen (ATCC 6633), *Escherichia coli* (DSM 1103), *Pseudomonas aeruginosa* (DSM 1117), *Legionella pneumophila* (DSM 7513), *Enterococcus faecalis* (DSM 2570), *Enterococcus casseliflavus* (UI KA, pigmentiertes Umweltisolat aus einer kontaminierten Trinkwasserprobe). Außerdem wurden die Bakteriophagen MS2, phiX174 und T1UV bestrahlt. Hierfür wurden die Bakterien auf geeigneten Nährmedien vermehrt und in 0,9%iger, steriler NaCl-Lösung aufgenommen. Die Lagerung der Impfstammlösungen erfolgte im Kühlschrank bei ca. 4°C. Um für die UV-Bestrahlungsversuche definierte Mengen an Mikroorganismen einsetzen zu können, wurde die Konzentration der Mikroorganismen in den Impfstammlösungen bestimmt. Hierzu wurden Verdünnungsreihen in dekadischen Verdünnungsschritten in 0,9%iger steriler NaCl-Lösung angesetzt und Proben der Verdünnungen mit potentiell gut quantifizierbaren Mikroorganismen-Konzentrationen über das Kulturverfahren untersucht. Vor den UV-Bestrahlungen wurden die Impfstammlösungen dann entsprechend weiter verdünnt.

Die Bestrahlungsversuche wurden bei Konzentrationen von ca. 10^6 KBE/ml für Bakterien und *Bacillus subtilis* Sporen durchgeführt sowie von ca. 10^7 KBE/ml für MS2 Phagen.

Nach den UV-Bestrahlungen wurden dekadische Verdünnungsreihen der Proben in 0,9%iger, steriler NaCl-Lösung angesetzt, um von jeder Probe gut quantifizierbare Ansätze zu erhalten (ca. 20-200 KBE/Platte). In den nachfolgenden Abschnitten werden die Bedingungen zur Herstellung der Impflösungen und des kulturellen Nachweises nach UV-Behandlung für die eingesetzten Mikroorganismen beschrieben.

***Bacillus subtilis* Sporen**

Bacillus subtilis sind gram-positive Stäbchenbakterien, die UV-resistente Endosporen ausbilden. Diese Sporen werden als Biodosimeter zur Reaktorprüfung eingesetzt.

Für den kulturellen Nachweis wurde jeweils 1 ml der jeweiligen Verdünnungsstufe in eine sterile Petrischale pipettiert und im Plattengussverfahren mit Hefeextrakt-Agar (nach ISO 6222, Merck) vermischt. Nach Inkubation der Agar-Platten bei 36 ± 2°C für mindestens 24 Stunden wurden diese mit Hilfe eines Koloniezählgeräts ausgezählt. Die Bestimmung erfolgte im Dreifachansatz.

Pseudomonas aeruginosa und Escherichia coli

Coliforme Bakterien sind gram-negative Stäbchenbakterien, die in der Trinkwasseruntersuchung als Indikatororganismen herangezogen werden. *E. coli* ist ein Vertreter der coliformen Bakterien und ist im Trinkwasser der wichtigste Fäkalindikator. Der Nachweis von *E. coli* in einer Trinkwasserprobe ist ein Hinweis auf eine fäkale Kontamination durch menschliche oder tierische Abwässer. Für die Untersuchungen wurde deshalb *E. coli* ausgewählt.

Bei dem Umweltbakterium *Pseudomonas aeruginosa* handelt es sich um einen fakultativen Krankheitserreger, der insbesondere in Krankenhäusern zu Infektionen führen kann. Es ist ein ubiquitär in der Umwelt vorkommendes Bakterium das in allen Oberflächenwässern vorkommt und z. B. bei Baumaßnahmen in Trinkwassersysteme eingetragen werden kann.

Die Reinkulturen von *P. aeruginosa* (DSM 1117) und *E. coli* (DSM 1103) wurden auf DEV-Nähragar-Schrägröhrchen ausgestrichen und bei 36 +/- 2°C für 1-2 Tage kultiviert. Für die Herstellung des Inokulums wurden die in den Schrägröhrchen gewachsenen Kolonien in 2 ml

steriler 0,9%iger NaCl-Lösung suspendiert. Diese Suspension wurde in 7 ml sterile 0,9%ige NaCl-Lösung überführt und homogenisiert (Vortex). Zur Abtrennung größerer Agglomerate und Partikel wurde die Suspension über einen sterilen Faltenfilter filtriert und in 100 ml steriler 0,9%iger NaCl-Lösung aufgenommen.

Der kulturelle Nachweis von *P. aeruginosa* erfolgte entsprechend DIN EN ISO 16266 (DIN EN ISO 16266, 2008) mittels Membranfiltration der Probe und Bebrütung bei 36 +/- 2 °C auf CN-Selektivagar. Die Bebrütungszeit wurde in Abwandlung der Norm nach anfänglicher Überprüfung auf 24 Stunden verkürzt. Da der verwendete Laborstamm das blaugrüne Pigment als Nachweisreaktion beim Wachstum auf CN-Agar bzw. dem Membranfilter zeigte, waren weitere Nachweisschritte nicht erforderlich.

Zum kulturellen Nachweis von *E. coli* erfolgte eine Membranfiltration der Probe und Bebrütung bei 36 +/- 2°C auf chromogenem Coliformen-Agar (CCA) gemäß DIN EN ISO 9308-1 (2017). Nach 24 Stunden Bebrütungszeit konnten spezifisch gefärbte *E. coli*-Kolonien (dunkelviolett) quantifiziert werden.

Legionella pneumophila

Legionella pneumophila ist der wichtigste Vertreter der Legionellen und gilt als Hauptverursacher von Legionellose, eine der häufigsten wasserassoziierten Erkrankungen in den Industrieländern.

Die Reinkulturen von *Legionella pneumophila* (DSM 7513) wurden auf BCYE Agar ausgestrichen und die Platten bei 36 +/- 2°C für 4 Tage in feuchter, CO_2-gesättigter Atmosphäre inkubiert. Die gewachsenen Kolonien wurden dann mittels einer sterilen Impföse abgerieben und in 5 ml steriler, 0,9%iger NaCl-Lösung aufgenommen. Zur Entfernung größerer Zellagglomerate und Partikel wurde die Suspension anschließend homogenisiert (Vortex) und über einen Faltenfilter filtriert. Anschließend erfolgte ein Waschschritt, bei dem die Suspension auf einen Polycarbonatfilter filtriert und mit steriler 0,9%iger NaCl gewaschen wurde, um zuletzt in 100 ml steriler 0,9%iger NaCl-Lösung aufgenommen zu werden.

Der quantitative Nachweis von *L. pneumophila* erfolgte in Anlehnung an die DIN EN ISO 11731-2 (DIN EN ISO 11731-2, 2008) mittels Membranfiltration der Probe und Bebrütung der BCYE-Agarplatten bei 36 +/- 2°C für 4 Tage in feuchter, CO_2-gesättigter Atmosphäre. Da für die UV-Bestrahlungsversuche *L. pneumophila* Reinkulturen verwendet wurden, konnte in Abweichung zur DIN auf eine Säurebehandlung des Membranfilters zur Minimierung des Wachstums einer Begleitflora verzichtet werden. Nach der Bebrütungszeit konnten die gewachsenen Kolonien quantifiziert werden.

Enterococcus feacalis* und *Enterococcus casseliflavus

Enterokokken sind grampositive, fakultativ anaerobe Bakterien, die im Darm von Menschen und Tieren vorkommen und deshalb neben *E. coli* als die wichtigsten Indikatorbakterien für fäkale Belastungen im Trinkwasser angesehen werden. Die beiden Arten *Enterococcus faecalis* und *Enterococcus faecium* sind die anteilmäßig häufigsten Enterokokken im menschlichen Darm.

Die Anzucht der *E. faecalis* (DSM 2570) und *E. casseliflavus* (UI KA) Reinkulturen erfolgte durch Ausstreichen auf Hirn-Herz-Agar und Bebrütung bei 36 +/- 2°C für 48 Stunden. Zur Herstellung der Impfstammlösung wurden die gewachsenen Kolonien mit einer sterilen Impföse abgerieben, in 5 ml steriler 0,9%iger NaCl-Lösung aufgenommen und nach Homogenisierung (Vortex) über einen sterilen Faltenfilter in 100 ml sterile 0,9%ige NaCl-Lösung überführt.

Der kulturelle Nachweis von Enterokokken erfolgte gemäß DIN EN ISO 7899-2 (DIN EN ISO 7899-2, 2000) mittels Membranfiltration und Bebrütung des Filters auf Slanetz und Bartley (S&B) Agar für 44 +/- 4 Stunden bei 36 +/- 2°C. Da für die UV-Bestrahlungsversuche Reinkulturen verwendet wurden, wurde in Abwandlung der Norm auf Überführung des Filters auf Galle-Äsculin-Agar verzichtet und die auf S&B Agar gewachsenen Kolonien direkt quantifiziert.

MS2 Phagen

Bakteriophagen sind eine Gruppe von Viren, die auf Bakterien als Wirtszellen spezialisiert sind. Der MS2 (male-specific 2) Coliphage ist ein einzelsträngiges RNA-Virus, das *E. coli* infiziert und somit als Indikator für fäkale Verunreinigungen dient. Er wird häufig für Reaktorvalidierungen eingesetzt (Ultraviolet Disinfection Guidance Manual, 2006), da er in etwa die gleiche Größe und Form wie andere Viren aufweist, dabei aber resistenter ist und daher als idealer Stellvertreter angesehen werden kann. Er entspricht in der UV-Empfindlichkeit in etwa den *Bacillus subtilis* Sporen.

Die Herstellung der MS2 (NCTC 12487) Stammkultur, der Impfkulturen des Wirtsstammes *Salmonella typhimurium* WG49 (NCTC 12484) sowie der MS2-Nachweis erfolgte gemäß DIN EN ISO 10705-1 (DIN EN ISO 10705-2, 2002). Die Verdünnungsreihen wurden hierbei mit steriler Peptonsalzlösung angesetzt.

Für die Herstellung der Impfkultur wurde der Wirtsstamm WG49 aus einer Arbeitskultur in 50 ml Trypton-Hefeextrakt-Glukose-Bouillon (TYGB) eingeimpft und bis zum Erreichen der gewünschten Zelldichte von ca. 108 Zellen/ml schüttelnd bei 36 +/- 2°C bebrütet. Je Probe wurden zwei Zentrifugenröhrchen mit 2,5 ml warmem ssTYGA (mit zugesetzter Calcium-Glucose-Lösung, 0,5 ml/50 ml) mit 1 ml der Impfkultur und 1 ml der zu untersuchenden Probe versetzt, sorgfältig gemischt und auf einer TYGA-Platte (9 cm Durchmesser) verteilt. Nach Erstarren des Agars wurden die Platten bei 36 +/- 2°C für 18 +/- 2 Stunden bebrütet. Die Bestimmung der aktiven MS2 Phagen in den Proben geschah durch Quantifizierung der Plaques im gewachsenen Bakterienrasen.

Phagen phiX174 und T1UV

Die Herstellung der phiX174 (DSM 4497) Stammkultur, der Impfkulturen des Wirtsstammes *E. coli* WG5 (DSM 18455) sowie der phiX-Nachweis erfolgte gemäß DIN EN ISO 10705-2 (DIN EN ISO 10705-2, 2002). Die Verdünnungsreihen wurden hierbei mit steriler Peptonsalzlösung angesetzt. Der Nachweis von T1UV erfolgte ebenfalls gemäß DIN EN ISO 10705-2.

Für die Herstellung der Impfkultur wurde der Wirtsstamm WG5 aus einer Arbeitskultur in 50 ml Modifizierte Scholtens´ Bouillon (MSB) eingeimpft und bis zum Erreichen der gewünschten Zelldichte von ca. 10^8 Zellen/ml schüttelnd bei 36 +/- 2°C bebrütet. Je Probe wurden zwei Zentrifugenröhrchen mit 2,5 ml warmem Modifiziertem Scholtens´ Weichagar (ssMSA) (mit zugesetzter Calciumchlorid-Lösung, 0,5 ml/50 ml) mit 1 ml der Impfkultur und 1 ml der zu untersuchenden Probe versetzt, sorgfältig gemischt und auf einer MSA-Platte (9 cm Durchmesser) verteilt. Nach Erstarren des Agars wurden die Platten bei 36 +/- 2°C für 18 +/- 2 Stunden bebrütet. Die Bestimmung der aktiven phiX174 bzw. T1UV Phagen in den Proben geschah durch Quantifizierung der Plaques im gewachsenen Bakterienrasen.

1.3. Apparaturen und LED-Module

Im Rahmen des Projektes wurden die im Folgenden näher beschriebenen Apparaturen und LEDs geplant, gebaut oder eingesetzt:

Eine Collimated Beam-Apparatur mit Hg-Niederdruckstrahlern als Bezugsgröße für Inaktivierungen (254 nm).

Eine LED-Collimated Beam Apparatur für Inaktivierungen Typ PearlBeam des Herstellers AquiSense. Ausgestattet mit zwei LEDs der Wellenlängen 265 nm und je einer mit 285 und 365 nm.

Insgesamt vier verschiedene LED-Arrays für Inaktivierungen mit je vier LEDs einer Wellenlänge, im Quadrat angeordnet (260, 265, 275 und 280 nm Peakwellenlänge) und einer 365 nm LED im Zentrum.

Acht Einzel-LEDs der Firmen Nikkiso und Dowa, jeweils mit zugehöriger Steuerelektronik und Kühlkörper. Die Wellenlängen waren je zweimal 260, 265, 275 nm von Nikkiso, sowie je einmal 270 und 278 nm von Dowa.

Zwei Einzel-LEDs der Firma LG Innotek, jeweils mit zugehöriger Steuerelektronik und Kühlkörper. Die Wellenlängen waren 278 bzw. 280 nm.

Ein Goniometer-ähnlicher Messaufbau für Einzel-LEDs und LED-Module für die Bestimmung der Abstrahlcharakteristik.

Ein modular aufgebauter Reaktor mit 42 280 nm LEDs. Die LEDs und Steuerung wurde vom Fraunhofer IOSB-AST angefertigt, das Gehäuse mit Überwachungs-Equipment von Xylem.

1.3.1. Collimated Beam-Apparatur mit Hg-Niederdruckstrahler (ND-CB)

Die Laborbestrahlungsanlage (siehe Abbildung 8) besteht aus einem Lampengehäuse (1) mit einer luftgekühlten Strahlungsquelle (insgesamt drei Hg-Niederdruckstrahlern (2)) , einer Iris-Blende mit einem Verschluss (3), einem Collimator mit eine Länge von 15 cm (Durchmesser 10 cm (4)), einer Vorrichtung zur Aufnahme des Probengefäßes (Petrischale (5)) inkl. Magnetrührer (6) und einem UV-Radiometer als Monitorsensor (ILT1700 mit SED 240-Sensor (7)) zur kontinuierlichen Überwachung der Bestrahlungsstärke.

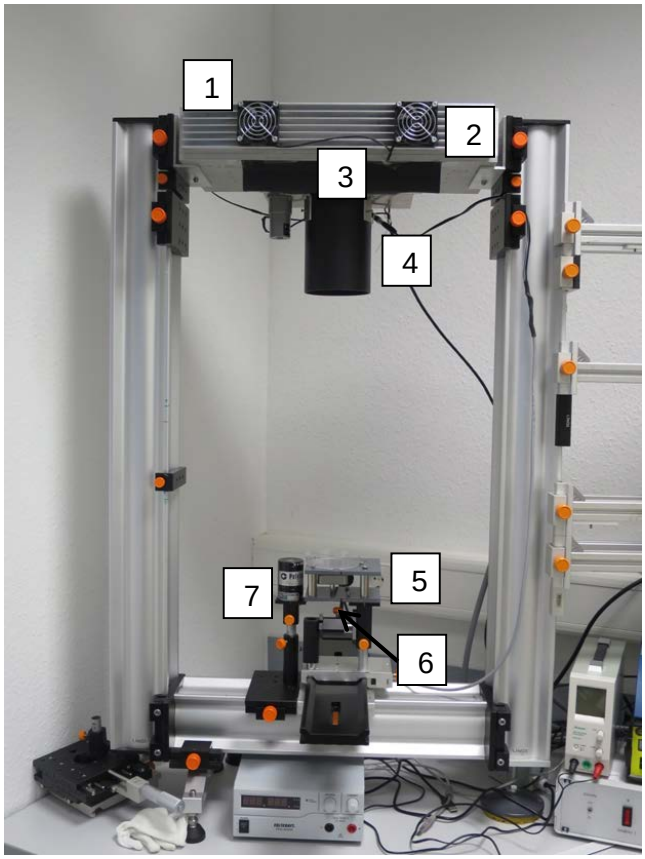


Abbildung 7: Aufbau der Hg-ND-CB-Anlage

Die Strahlung tritt vertikal nach unten aus. Im Strahlengang befindet sich ein Verschluss (3), mit dem die Bestrahlung der Probe zeitlich geregelt wird.

Dazu wurde die mit dem Monitorsensor (7) kontinuierlich gemessene Bestrahlungsstärke über die Bestrahlungszeit integriert und die Blende nach Erreichen einer zuvor gewählten Fluenz automatisch geschlossen.

Die Bestrahlungen wurden in geringer Schichtdicke (< 5 mm) in einem kreisrunden, horizontal angeordneten Probengefäß (Petrischale) vorgenommen, darin sollte ein nahezu paralleles, homogenes Bestrahlungsfeld herrschen.

Der Abstand von der Lampe bis zur Oberfläche der bestrahlten Probe in der Petrischale betrug 66 cm.

Abbildung 9 zeigt den Probentisch mit dem Probengefäß (Petrischale), dem Magnetrührer sowie dem Monitorsensor.

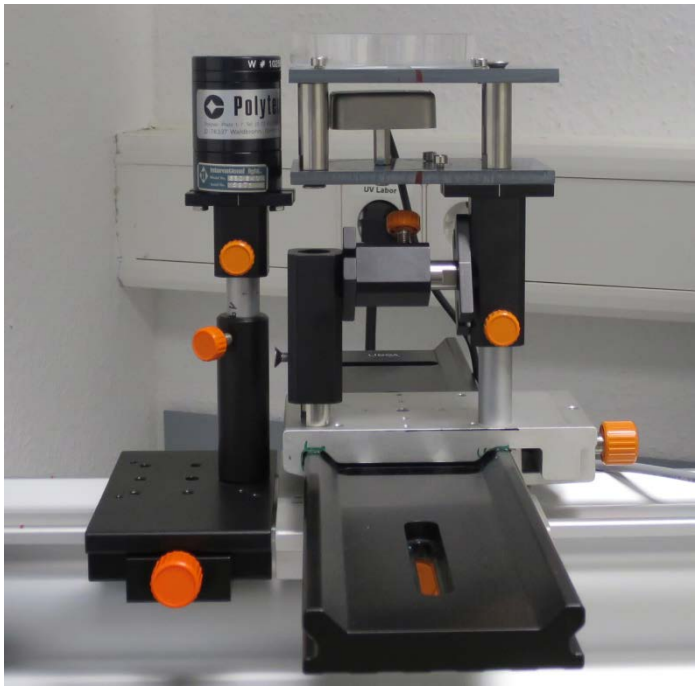


Abbildung 8: Probentisch mit Monitorsensor der Hg-ND-CB-Anlage

1.3.2. PearlBeam-Collimated Beam Apparatur

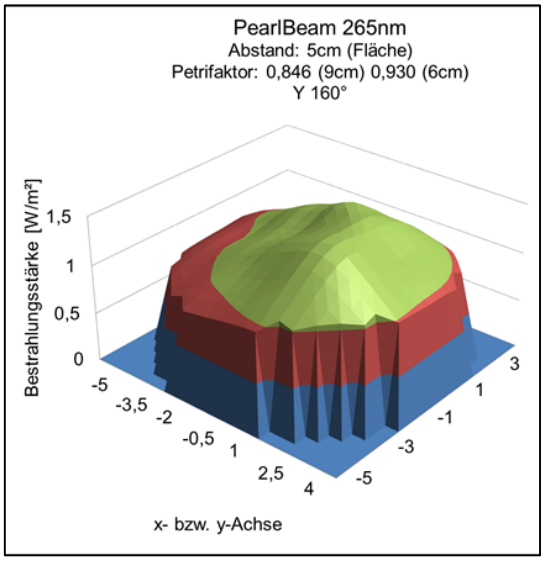
Um Verzögerungen bei der Bestrahlung von Mikroorganismen mit LEDs zu vermeiden wurde zu Projektbeginn ein fertiger LED-CB angeschafft. Er besteht aus drei Teilen: dem Steuermodul mit dem die LEDs eingeschalten werden, dem Bestrahlungsmodul in dem die LEDs verbaut sind inklusive Kühlköper und dem Teflon-Kollimator, der die Strahlung in eine Richtung lenken soll.

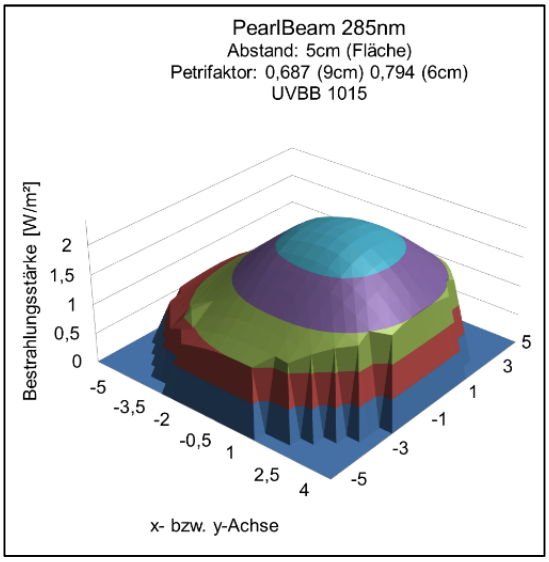
Da sich der Petri Faktor mit dem Kollimator verschlechterte wurde bei den Inaktivierungen darauf verzichtet. Dadurch konnte auch der Abstand zur Petrischale deutlich reduziert werden wodurch eine höhere Bestrahlungsstärke und damit geringere Bestrahlungszeit erreicht wurde. Abbildung 9 zeigt die Bestandteile des Aquisense LED-CB.

Abbildung 9: Aquisense LED-Collimated Beam

(Links nach rechts: Bestrahlungsmodul installiert über einer Petrischale; Steuermodul und Bestrahlungsmodul mit aktivierten 265 nm LEDs; Bestrahlungsmodul mit aufgesetzten Teflon Kollimator).

Der Petri Faktor ist eine Mittelung der Bestrahlungsstärke über die Fläche einer Petrischale. Die Bestimmung ist deshalb notwendig um die tatsächlich applizierte Dosis auf die Probe zu ermitteln. Alle Bestrahlungseinheiten, einschließlich dem ND-CB und LED-Modulen, wurden über eine Fläche von 5*5 cm in 0,5 cm Schritten abgescannt um für die verschiedenen Wellenlängen den Faktor zu ermitteln. In diesem Fall wurden die Petrischalen mit 9 cm Durchmesser (Standard) und 6 cm als Referenz genommen. Das Kürzel unter den Petri Faktoren der folgenden Abbildung 10 sind die Namen der verwendeten Sensoren: Referenzradiometer Y von IL Metronic vom Typ MUV 2.4 WR mit 160° Sensor; Breitband (BB) UV-Sensor von sglux mit Seriennummer 1015 bzw. 1014.





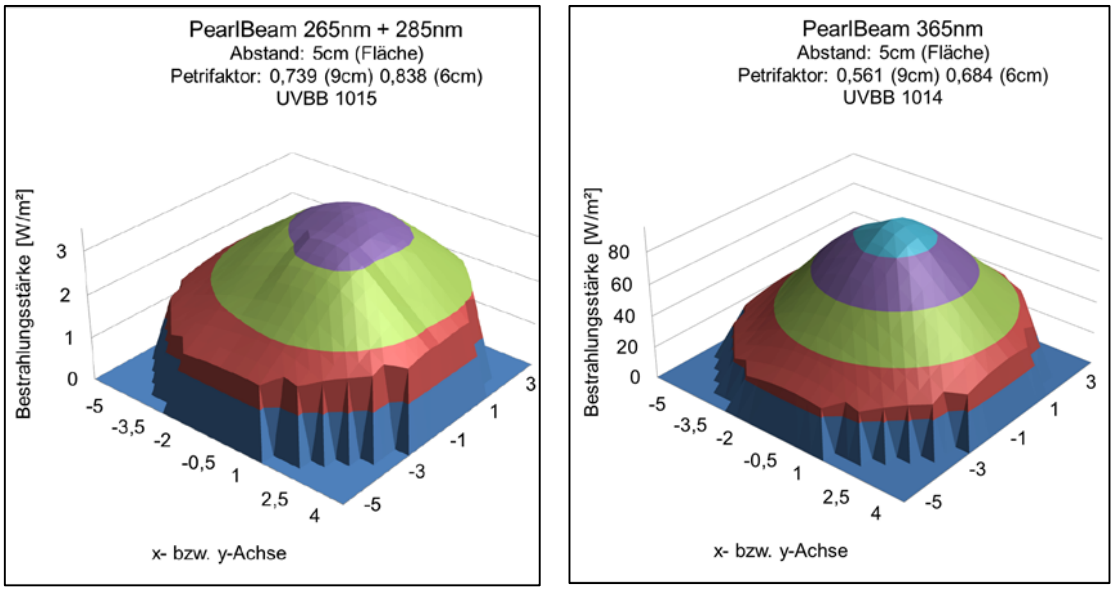


Abbildung 10: Petri Faktoren des PearlBeam-CBs für die unterschiedlichen Wellenlängen

Ebenso wurde über die Zeit der Inaktivierungen die Bestrahlungsstärke protokolliert. Hierbei wurde eine sehr schnelle Abnahme des UV-Outputs der 285 und 365 nm LED festgestellt, siehe Abbildung 11. Für die 265 nm LEDs wurden zu wenige Messpunkte aufgenommen.

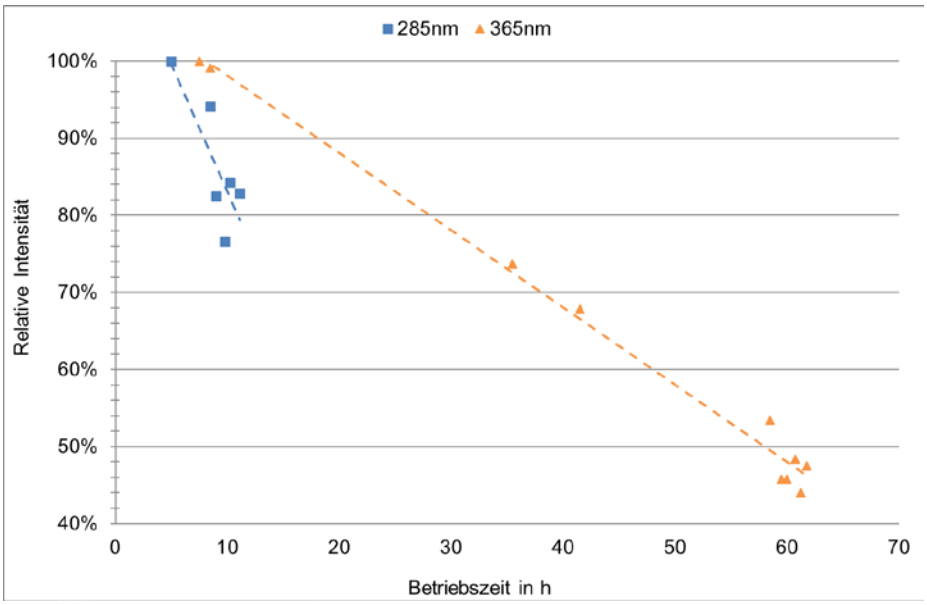


Abbildung 11: Alterungsverhalten der PearlBeam LEDs mit 285 und 365 nm Emissionspeak über die Projektlaufzeit

Die Kurven beginnen bei 5 bzw. 7,5 Stunden da zuvor keine Bestrahlungsstärke protokolliert wurde.

1.3.3. Im Projekt hergestellte LED-Arrays für Laborbestrahlungen

1.3.3.1. Simulation und Bau der LED-Module

Die verschiedenen Möglichkeiten der Modul-Layouts wurden vor Produktion vom TZW simuliert. Hierfür wurde ein Programm in LabVIEW geschrieben um die zwei relevanten Parameter „mittlere Bestrahlungsstärke“ und „Petri Faktor“ zu bestimmen. Insgesamt wurden 6 Layouts simuliert (Projekt 1-6, siehe Abbildung 12) und am Ende Projekt 1 als bester Kompromiss aus Petri Faktor und Bestrahlungsstärke gewählt. Ein Augenmerk dabei lag auch auf einer geringen Anzahl der noch sehr teuren LEDs.

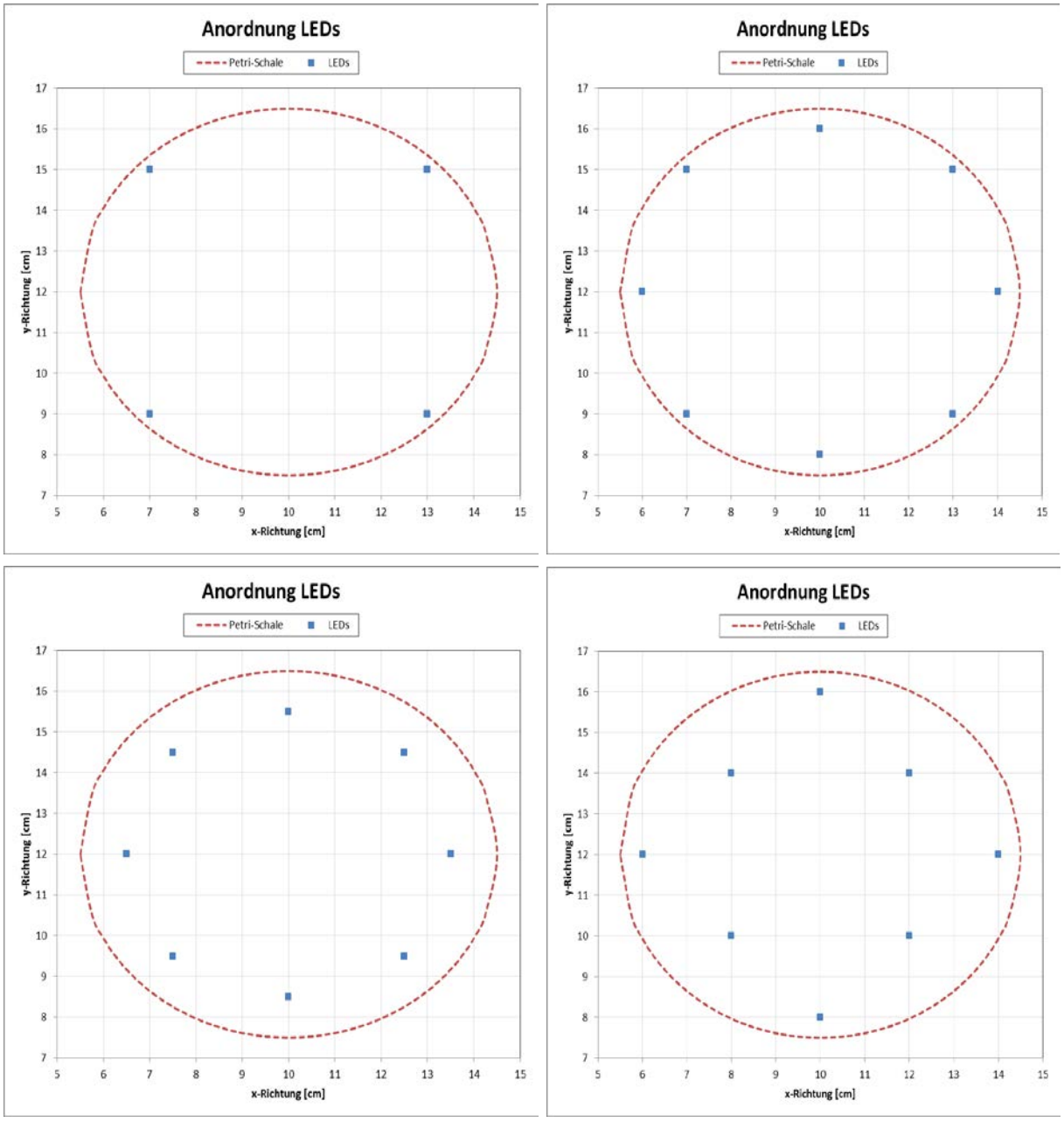


Abbildung 12: Mögliche simulierte Modul-Layouts für die Laborbestrahlung. Von oben links nach unten rechts: Projekt 1, 2, 5 und 6.

Die simulierten Endergebnisse sind in Abbildung 13 und Abbildung 14 dargestellt.

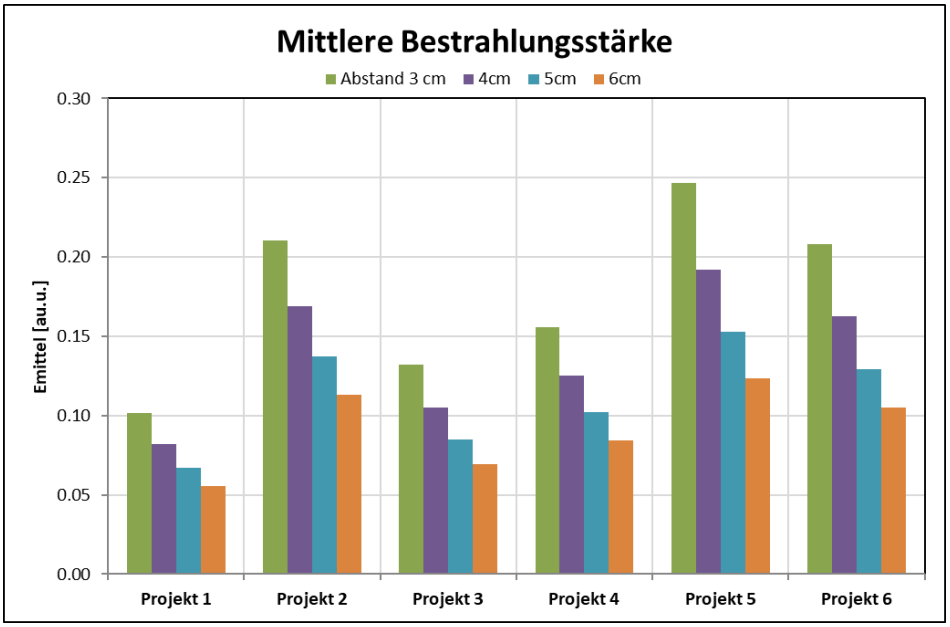


Abbildung 13: Simulierte Bestrahlungsstärke der verschiedenen LED-Layouts in Abständen von 3 cm bis 6 cm

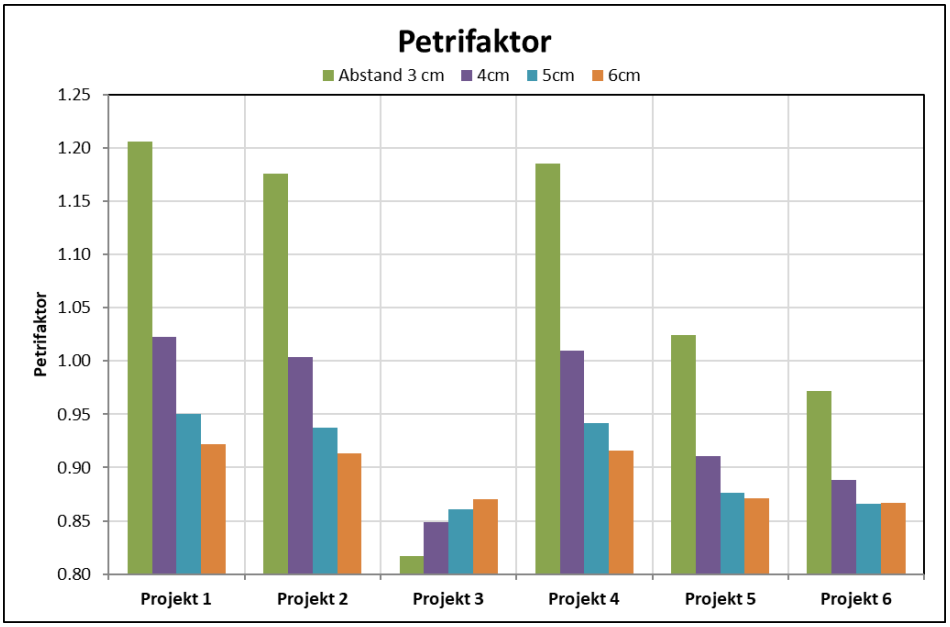


Abbildung 14: Simulierte Petri Faktoren der verschiedenen LED-Layouts in Abständen von 3 cm bis 6 cm

Nach der Entscheidung für Projekt 1 wurden die Daten an den Partner Fraunhofer IOSB-AST weitergereicht. Auf dieser Basis wurden 4 Module mit je 4 LEDs der Wellenlängen 260, 265, 275 oder 280 nm auf einer Platine installiert (K1-K4), sowie auf jeder Platine in der Mittelposition eine 365 nm LED für den UVA-Bereich (K5, siehe Abbildung 15). Jedes Modul wurde über Kühlrippen und Lüfter thermisch stabilisiert und über einen Controller konnte der Vorwärtsstrom eingestellt und ausgelesen werden. Spätere Updates ermöglichten z.B. das Auslesen der Platinen Temperatur. Der Controller wurde dabei per PC und einer vom TZW erstellten Software gesteuert.

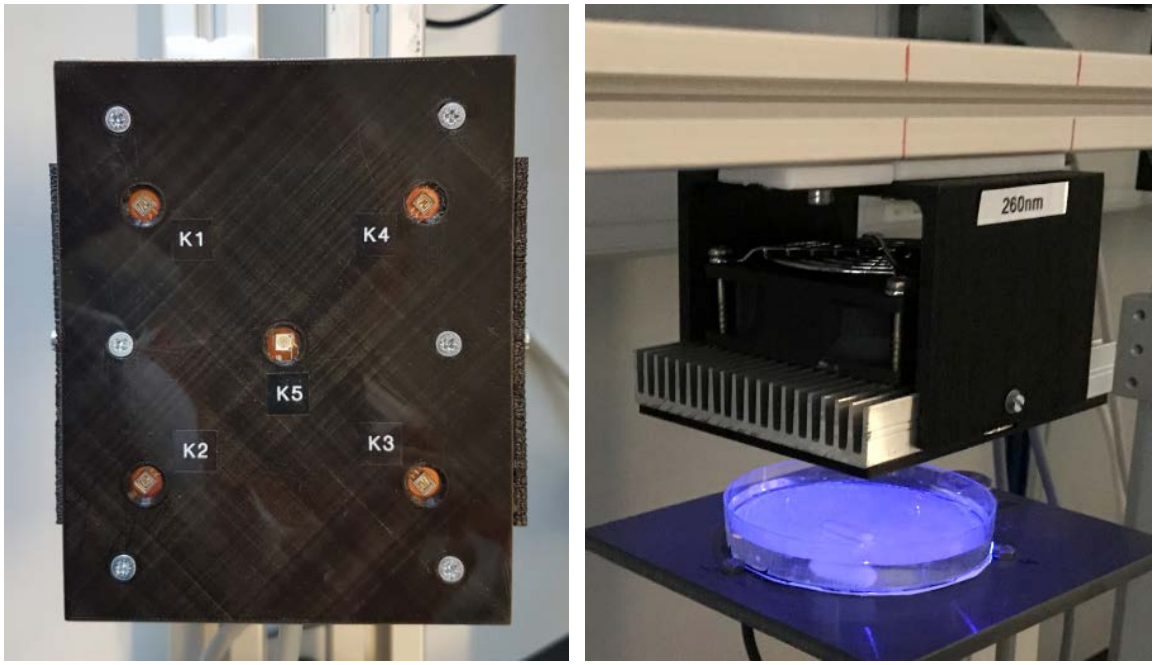


Abbildung 15: 260 nm LED-Array von unten (links) mit 260 nm LEDs in Position K1 bis K4 und 365 nm auf K5, sowie installiert über einer Petrischale (rechts)

Verwendet wurden folgende LEDs der Hersteller Nikkiso und Nichia:

- 280 nm: UV-HD02-004045-VPS171
- 275 nm: UV-HD02-004045-VPS171
- 265 nm: UV-HD02-002-VPS131
- 260 nm: UV-HD02-002-VPS131
- 365 nm: NCSU275T (Nichia)

1.3.3.2. Charakterisierung der LED-Module

1.3.3.2.1. Zusammenfassung

Alle Module wurden nach der Lieferung im TZW getestet. Hauptaugenmerk lag an der gemessenen Peak-Wellenlänge, der Halbwertsbreite, dem Petri Faktor und der mittleren Bestrahlungsstärke, wenn eine Suspension in einer Petrischale bestrahlt wird. Tabelle 2 zeigt eine Zusammenfassung der ermittelten Daten.

Tabelle 2: Zusammenfassung der Charakterisierung der LED-Module für Laborbestrahlungen mit ND-CB Daten zum Vergleich

LED-Modul bzw. Lampe	λ_{max} in nm	FWHM In nm	I in mA	PF	Bestrahlungsstärke In W/m²
260	259	11 - 12	125	0,951	0,66
265	265	11 - 12	100	0,973	0,82
275	274	12,5	75	0,923	0,84
280	276	12 – 12,5	75	0,943	0,94
365 (im 260)	367	12	100	0,561	1,9
254 ND (2 Strahler)	254	< 1		0,999	1,4
254 ND (3 Strahler)	254	< 1		0,985	2,6

1.3.3.2.2. Temperatur- und Einschaltverhalten bei verschiedenen Vorwärtsströmen

Um die Zeit abzuschätzen ab wann eine konstante Bestrahlungsstärke vorliegt wurden zu Beginn Untersuchungen zum Einschaltverhalten durchgeführt. Die LEDs wurden deshalb mit unterschiedlichen Vorwärtsströmen eingeschaltet und der Verlauf der Bestrahlungsstärke gemessen. Abbildung 16 zeigt den Verlauf der Bestrahlungsstärken bei 150, 125 und 100 mA für das 265 nm Modul.

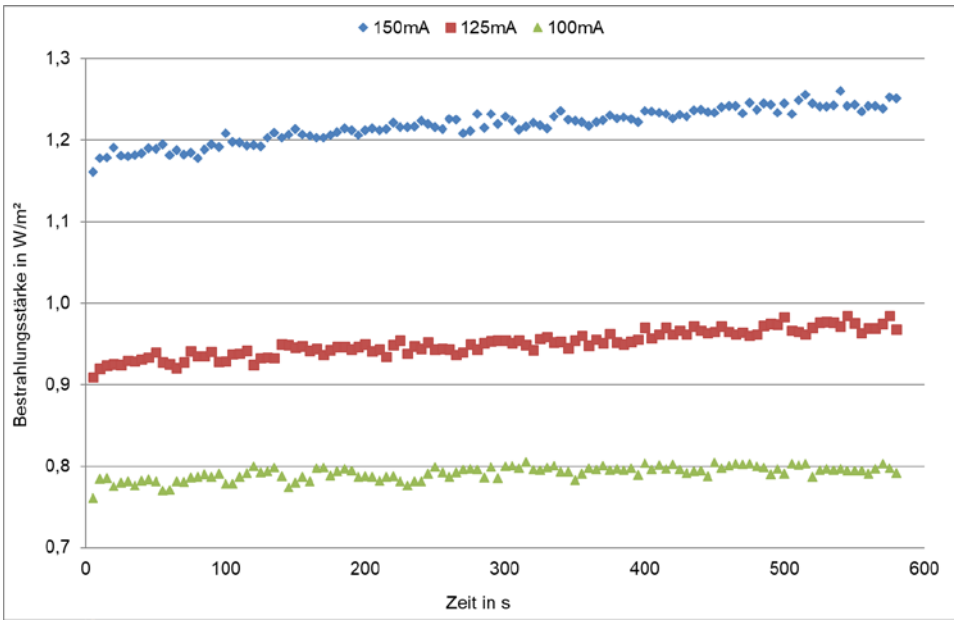


Abbildung 16: Verlauf der Bestrahlungsstärke des 265 nm Labor-Moduls für unterschiedliche Vorwärtsströme

Da ein Zusammenhang zwischen Stromaufnahme und Gleichgewichtsverhalten zu beobachten war, wurde ebenso das Temperaturverhalten der Platinen untersucht um für die Inaktivierungsversuche mit Mikroorganismen stabile Bedingungen zu gewährleisten. Hier wurde beispielsweise am 280 nm Modul beobachtet, dass bei 150 mA Vorwärtsstrom sich die Platine langsam erwärmt und mit der Temperatur die Bestrahlungsstärke ansteigt (Abbildung 17). Eine Reduktion des Stroms auf 100 mA verringerte zwar den Gesamtoutput des Moduls, lief aber dafür in ein Gleichgewicht an Strom und Bestrahlungsstärke. Alle Inaktivierungen wurden deshalb mit angepassten Vorwärtsströmen durchgeführt.

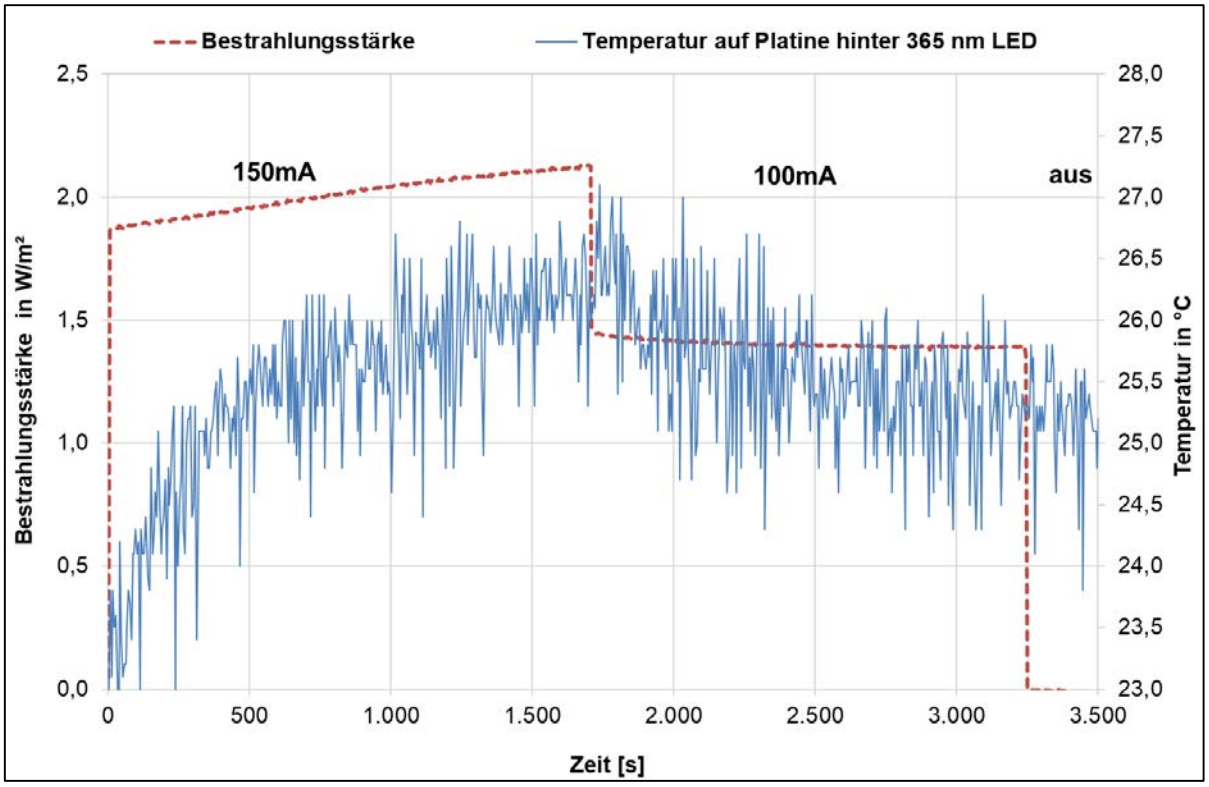


Abbildung 17: Verlauf der Bestrahlungsstärke und Temperatur am 280 nm Modul für 150 und 100 mA Vorwärtsstrom

1.3.3.2.3. Spektrale Untersuchungen

Für die Bestimmung von Peakwellenlänge und Halbwertsbreite wurde von jeder verbauten LED das Spektrum mittels dem Spektroradiometer Ocean Optics USB4000 aufgenommen. In Abbildung 18 und Abbildung 19 ist zu erkennen dass die 4 LEDs einer Wellenlänge jeweils nahe beieinander liegen in Bezug auf Emissionspeak und absoluten Output.

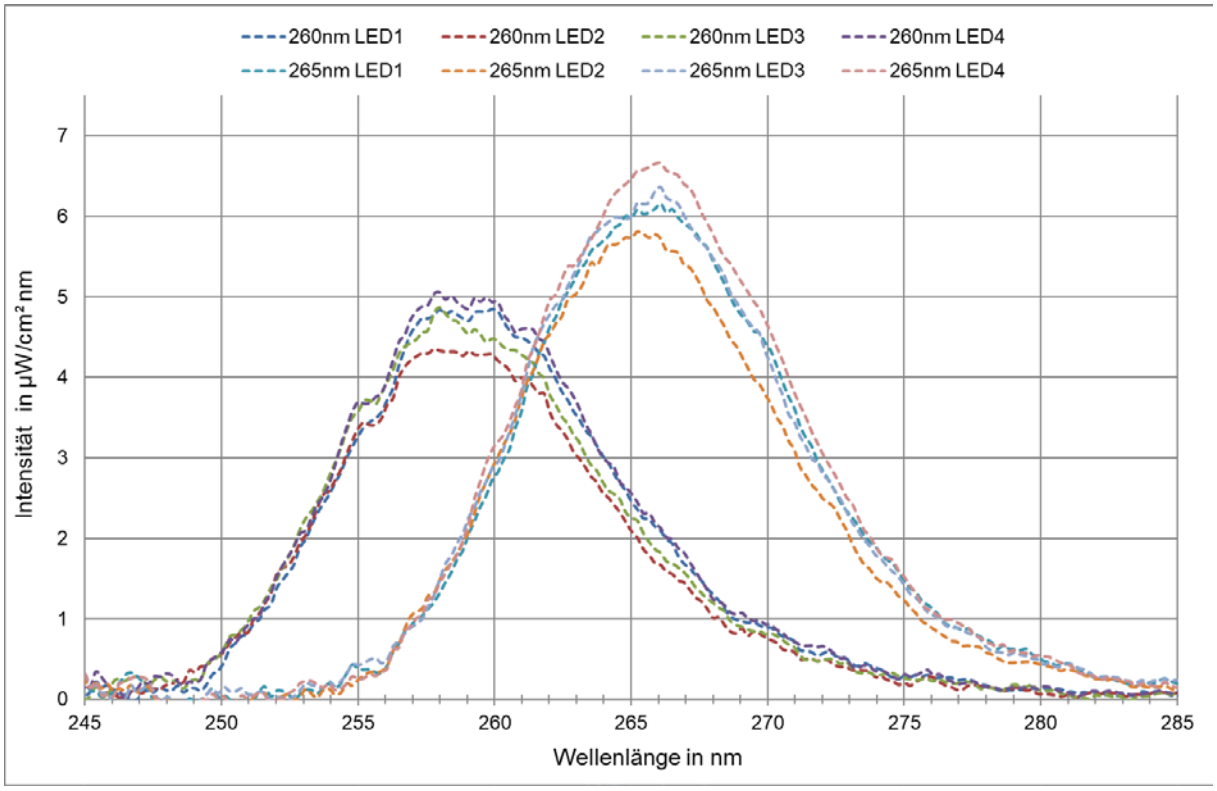


Abbildung 18: 260 und 265 nm LEDs der Labormodule. Vorwärtsstrom 125 mA und 100 mA

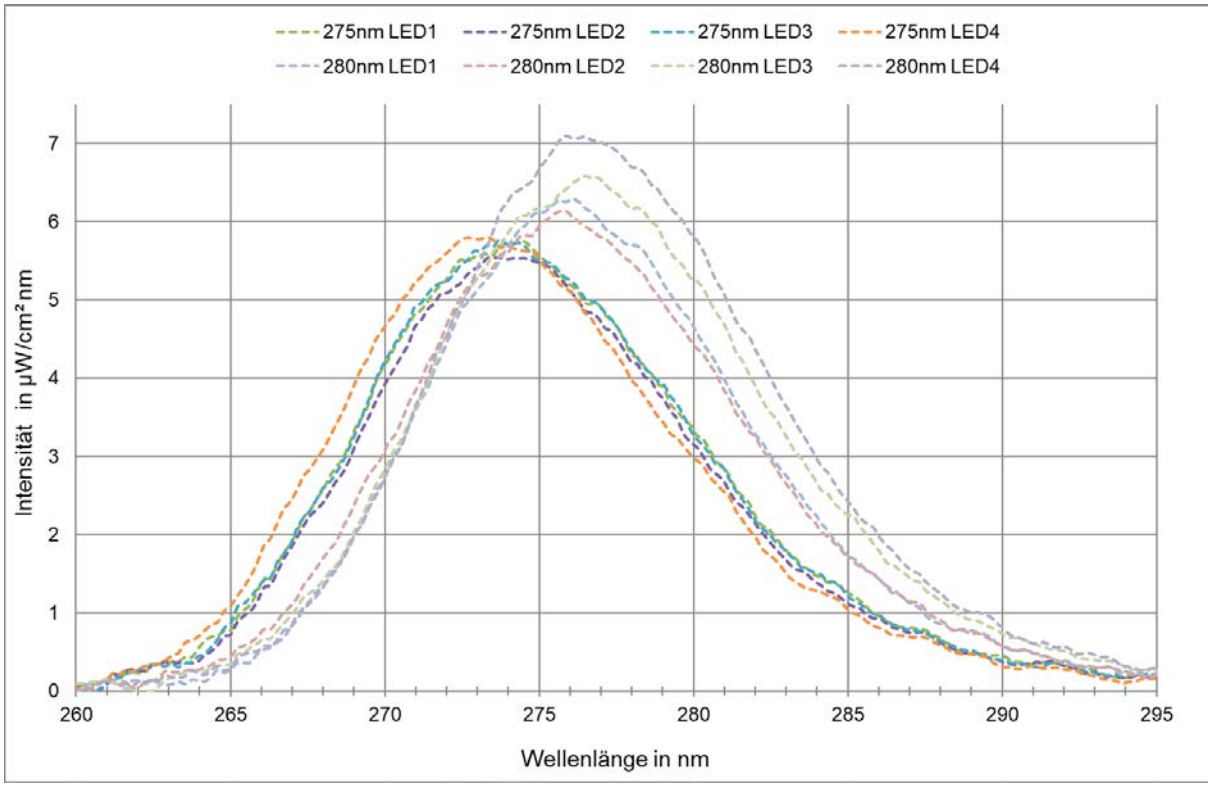


Abbildung 19: 275 und 280 nm LEDs der Labormodule. Vorwärtsstrom 75 mA

Abweichungen in der Bestrahlungsstärke wie bei den 280 nm LEDs zu erkennen sind werden über den Petri Faktor gemittelt und ein konstantes Rühren der zu bestrahlenden Suspension gleicht Unterschiede innerhalb der Petrischale aus. Die gute Übereinstimmung in der

Emissionswellenlänge ist laut Herstellerangaben auf eine vorherige Charakterisierung und Sortierung (binning) zurückzuführen.

1.3.3.2.4. Petri Faktoren

Auch hier wurden alle LED-Module über eine Fläche von 5*5 cm in 0,5 cm Schritten abgescannt um für die verschiedenen Wellenlängen den Faktor zu ermitteln. Die erhaltenen Ergebnisse sind in Abbildung 20 dargestellt.

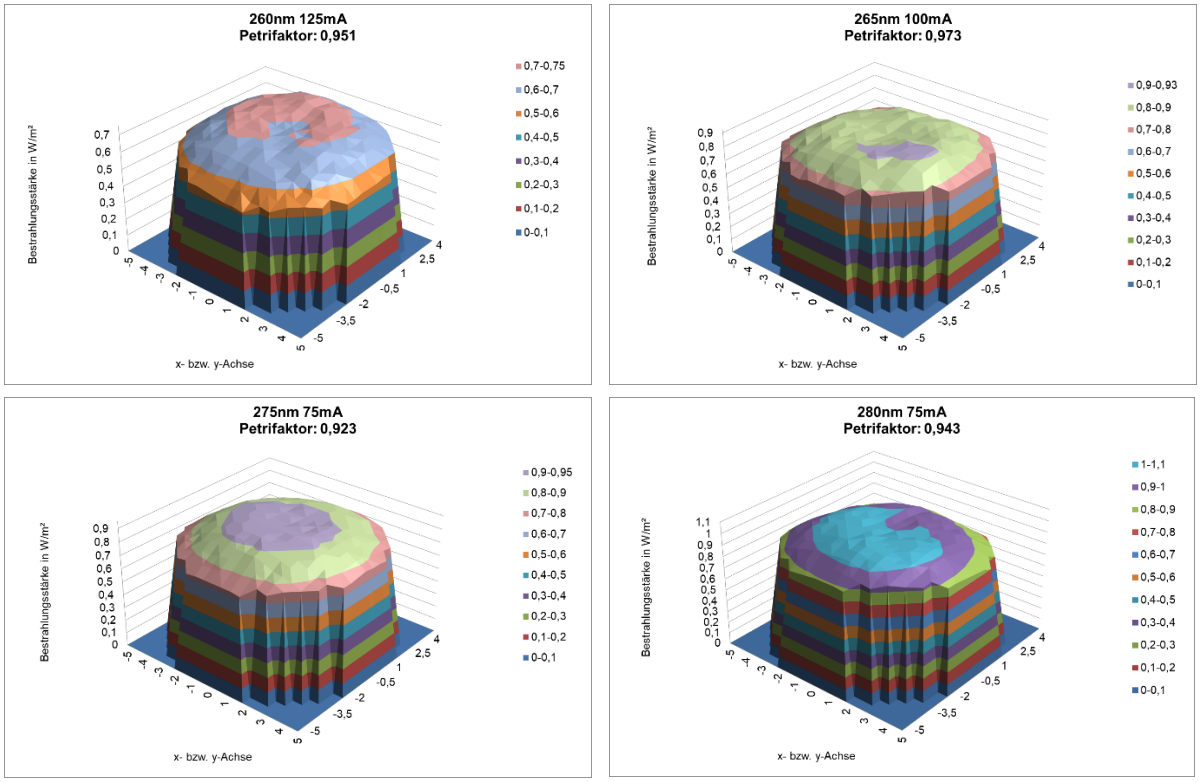


Abbildung 20: Gemessene Strahlungsverteilung über eine Petrischale und resultierender Petri Faktor für die LED-Module.

Der simulierte Petri Faktor wurde laut Abbildung 14 für das Projekt 1 zu 0,95 bestimmt. Dies gilt für vier LEDs mit demselben UV-Output und Abstrahlcharakteristik. Aus den obigen Messungen wurden tatsächliche Petri Faktoren von 0,92 bis 0,97 ermittelt was eine sehr gute Übereinstimmung mit den Simulationen darstellt. Die simulierten Bestrahlungsstärken waren relative Werte, da der tatsächliche LED Output abhängig von der Qualität und Wellenlänge ist und vor der Charakterisierung nicht bekannt war.

1.3.4. Einzel-LED Module zur Charakterisierung im Labor

Hergestellt und zur Verfügung gestellt wurden die Einzel-LED-Module vom Fraunhofer IOSB-AST. Die Module wurden für unterschiedliche Untersuchungen herangezogen und dienten dem Aufbau passender Messapparaturen am TZW in Kombination mit Vergleichsmessungen mit anderen Instituten. Abbildung 21 zeigt die fertigen Module inklusive Anschlusskabeln zum Netzteil. Tabelle 3 gibt einen Überblick zu den verwendeten Modulen.

Tabelle 3: Übersicht der Einzel-LEDs zur Labor-Charakterisierung

Hersteller	Modul-Bezeichnung	Bestrahlungsstärke (5 cm) in W/m²	Emissions-Peak bei nm	FWHM
Dowa	D270	4,03	270,3	10,8
Dowa	D278	4,94	278,6	10,6
Nikkiso	N260 A	0,90	259,3	11,9
Nikkiso	N260 B	1,23	259,3	11,9
Nikkiso	N265 A	1,93	265,7	11,9
Nikkiso	N265 B	1,70	265,4	11,9
Nikkiso	N275 A	2,58	274,6	12,5
Nikkiso	N275 B	2,53	274,6	12,5
LG Innotec	0 h	8,34	279,5	11,6
LG Innotec	100 h	8,20	278,0	11,7

Untersucht wurden:

- Bei allen LEDs die spektralen Eigenschaften Emissionswellenlänge, Halbwertsbreite und Bestrahlungsstärke in 5 cm Abstand mit jeweils passenden Integrationsbereichen
- An allen Modulen das Alterungsverhalten. Bei den Dowa und Nikkiso sowie den LG 100h Modulen wurden diese bei Raumtemperatur durchgeführt. Das Modul LG 0h wurde zuerst bei Raumtemperatur und anschließend bei 40°C in einem Inkubator gealtert.
- Das Temperaturverhalten der Module N260 A, N275 A und D270 zwischen 2°C und 40°C im Inkubator, in Bezug auf ihren spektralen Output
- Die Abstrahlcharakteristik aller Module mit einem dafür entwickelten Messaufbau

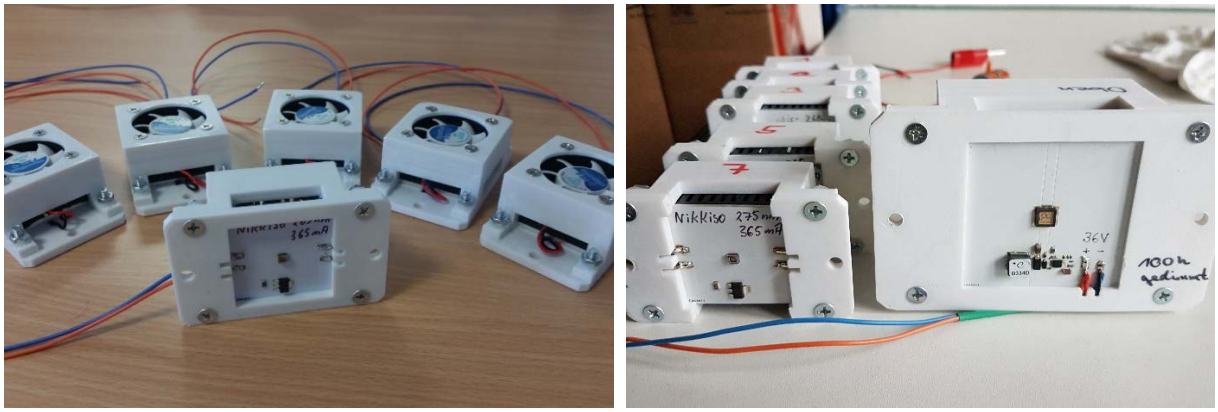


Abbildung 21: Einzel-LED-Module zur Charakterisierung im Labor.

Links: Sechs der 8 Nikkiso/Dowa Module (Bild: Fraunhofer IOSB-AST).
Rechts: Nikkiso/Dowa Module im Größenvergleich mit einem LG-Modul.

1.3.4.1. Ergebnisse der Charakterisierung

Die Messwerte für Wellenlänge, Halbwertsbreite und Bestrahlungsstärke sind aus Tabelle 3 zu entnehmen. Es ist auffällig, dass die doppelt vorhandenen LEDs sehr ähnliche Emissions-Peaks haben. Dies ist laut Angabe des Herstellers da die LEDs vorsortiert wurden. Zu bemerken ist ebenfalls der große Unterschied in der Start-Bestrahlungsstärke der N260 A/B Module und immer noch deutliche Unterschied der 265 A/B Module. Dies ist vermutlich auf eine vorherige Alterung der jeweils schwächeren LED zurück zu führen.

1.3.4.1.1. Alterungsverhalten

Abbildung 22 zeigt das Alterungsverhalten der 8 Nikkiso/Dowa Module sowie des später untersuchten LG 100h Moduls. Da bei den Nikkiso und Dowa Modulen keine Kenntnisse einer vorherigen Alterung vorlagen wurden alle Module intern als „neu“ gestartet. Sie wurden gleichzeitig in einem Inkubator platziert und mit einem Netzteil mit Leistung versorgt. Nach zeitlich größer werdenden Abständen wurden die Module entnommen und auf der optischen Bank in reproduzierbarem Abstand auf ihre Wellenlänge und Bestrahlungsstärke untersucht.

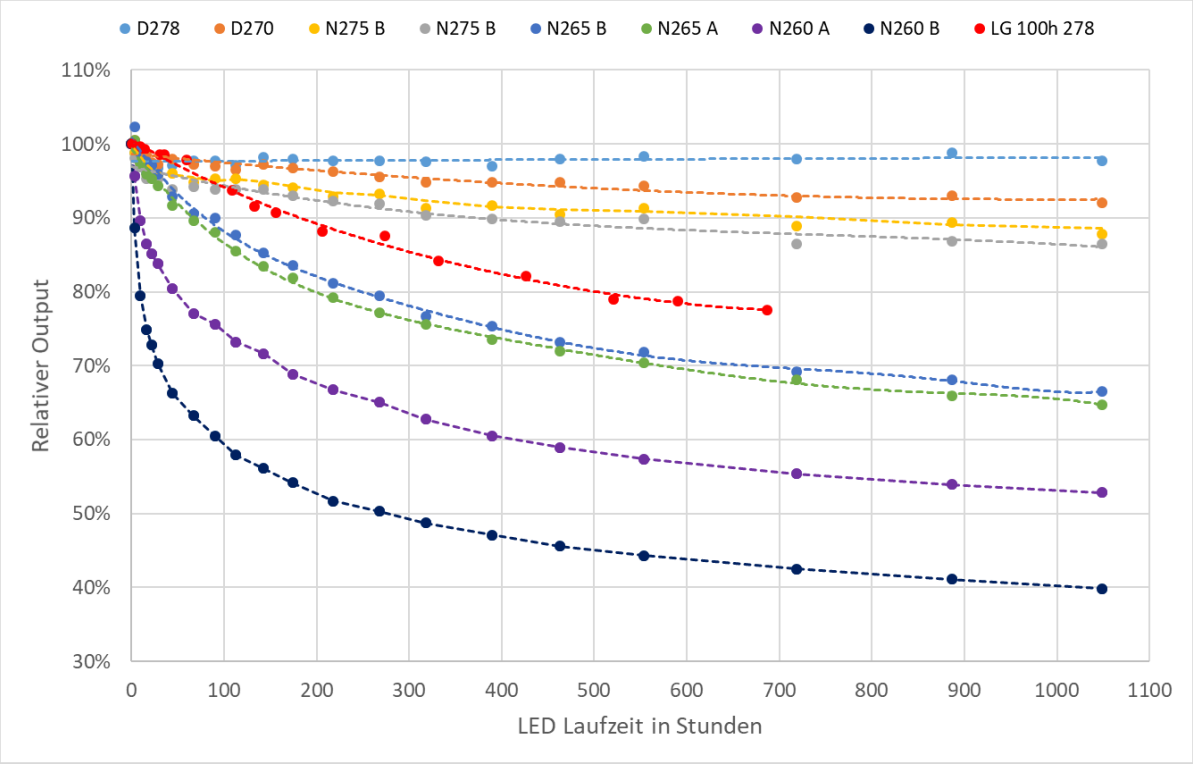


Abbildung 22: Alterungsverhalten der Einzel-LED-Module von 0 bis 1050 Stunden.
(Betrieb im Inkubator für stabile Bedingungen bei 20°C. LG 100h wurde ca. 140 Stunden vorgealtert).

Zu beobachten ist die deutlich schnellere Alterung der N260 B LED. Bei einer angenommenen Voralterung um ca. 100 Stunden der N260 A LED wären die Startbestrahlungsstärke und Verlauf der weiteren Alterung nahezu gleich. Insgesamt gibt es eine Tendenz zur schnelleren Alterung von LEDs mit kürzerer Emissions-Wellenlänge. Ebenso scheinen die Dowa LEDs langsamer zu Altern. Diese Beobachtung basiert jedoch auf einem sehr kleinen Datensatz. Die später durchgeführte Alterung der LG 100h LED zeigt für 278 nm Peak-Wellenlänge eine deutlich schnelle Alterung als vergleichbare Wellenlängen von sowohl Nikkiso als auch Dowa. Vor allem in Hinblick auf die Voralterung von ca. 140 Stunden. In wieweit all diese

Beobachtungen auf die LED oder andere Faktoren, wie z.B. unzureichendes Wärmemanagement zurückzuführen ist kann an dieser Stelle nicht beantwortet werden.

Abbildung 23 stellt die beiden LG LEDs gegenüber. Die LG 100h war zum Testzeitpunkt etwa 140 Stunden vorgealtert und wurde bei ca. 20,5°C im Labor betrieben. Die LG 0h war etwa 40 Stunden vorgealtert und wurde zuerst für ca. 70 Stunden ebenfalls bei 20,5°C im Labor betrieben und anschließend bei 40°C in einem Inkubator. Damit sollte das Alterungsverhalten bei höheren Umgebungstemperaturen untersucht werden.

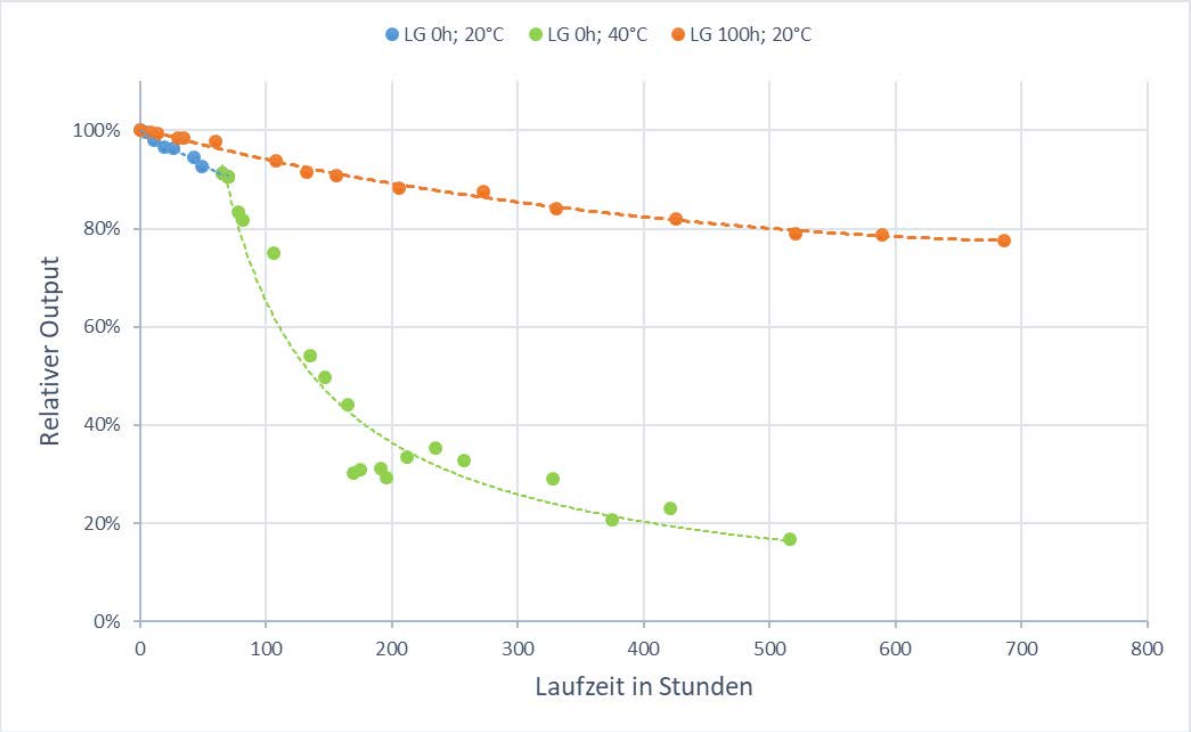


Abbildung 23: Alterungsverhalten der LG Module im Vergleich.
(LG 100h war ca. 140 Stunden vorgealtert, LG 0h war ca. 40 Stunden vorgealtert).

Die Messergebnisse zeigen einen deutlichen Einfluss auf die Alterung mit steigender Umgebungstemperatur. Der schnellere Abfall der LG 0h gegenüber der LG 100h bei gleicher Temperatur zu Beginn kann auf die längere Voralterung der LG 100h zurückgeführt werden.

1.3.4.1.2. Verhalten bei unterschiedlichen Temperaturen

Um das Verhalten der Einzel-LED-Module bei verschiedenen Umgebungstemperaturen zu überprüfen wurden diese und ein Aufbau für das Spektralradiometer USB 4000 in einem Inkubator platziert. Die Temperatur wurde von 2°C bis 40°C variiert und jeweils ca. eine halbe Stunde gewartet um alle Geräte auf gleicher Temperatur zu haben. Abbildung 24 zeigt den Aufbau von LEDs und Spektrometer. Die optische Bank des Spektrometers wurde dabei außerhalb des Inkubators platziert da ein deutlicher Einfluss der Temperatur auf dieses Bauteil gemessen wurde.

Abbildung 24: Messaufbau im Inkubator für das Temperaturverhalten
(Links nach rechts: Durchführung der Spektrometer-Glasfaser in den Inkubator; Glasfaser-Kopf positioniert unter der LED im Inkubator; Inkubator von außen mit Netzteil rechts für die LED Versorgung).

Untersucht wurden die 3 LED-Module N260 A, N275 A und D278. Dargestellt hier werden die zwei Extreme N260 A und D278. Abbildung 25 und Abbildung 26 zeigen die aufgenommenen Spektren im Inkubator.

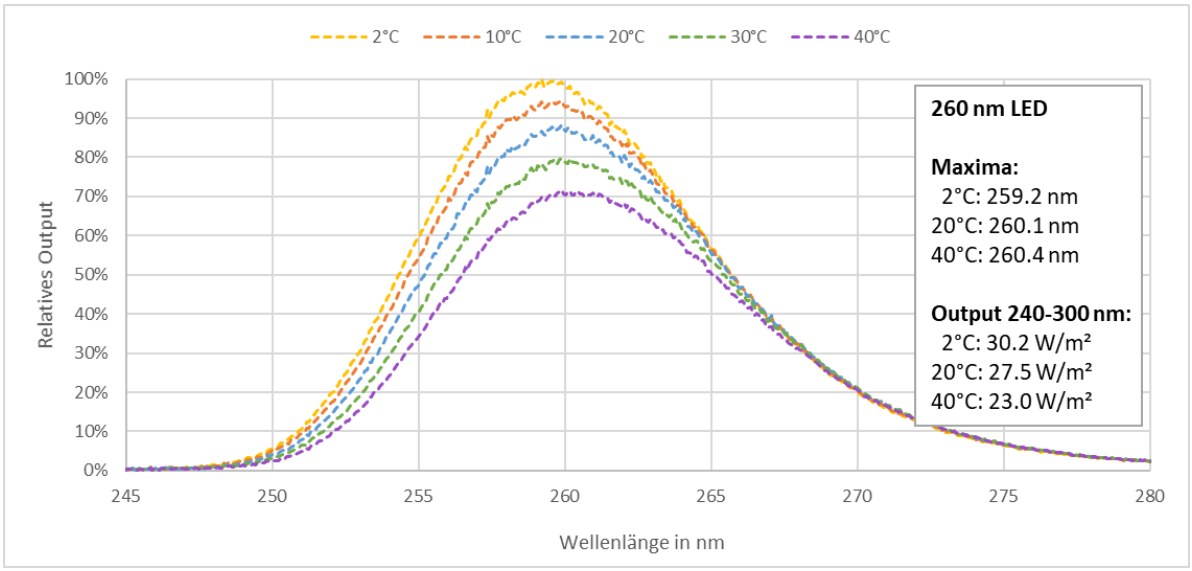


Abbildung 25: Temperaturverhalten der N260 A LED im Inkubator

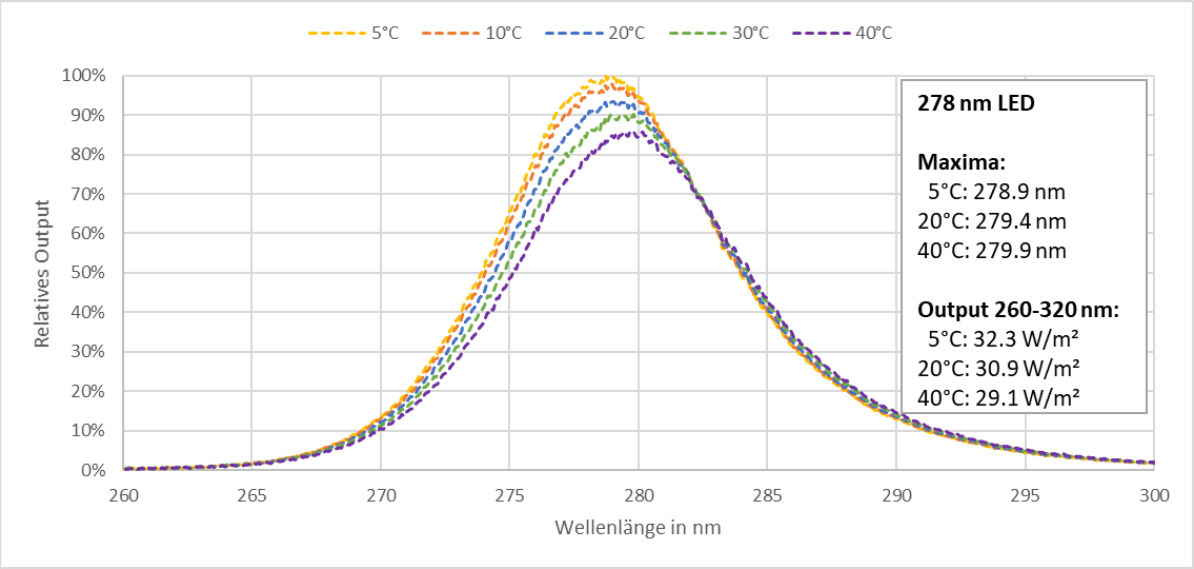


Abbildung 26: Temperaturverhalten der D278 LED im Inkubator

Bei beiden LEDs ist im Verlauf der Temperaturerhöhung ein Wellenlängenshift des Maximums um etwa 1 nm zu beobachten. Ebenfalls wird ein Rückgang des Outputs gemessen der sich für die 260 nm LED auf etwa 24% und für die 278 nm LED auf etwa 10% beläuft. Das selbe Verhalten war auch für die 275 nm LED zu messen, die Reduktion des Outputs lag dabei zwischen den beiden dargestellten Werten.

1.3.4.1.3. Abstrahlcharakteristik der LEDs

Eines der wichtigsten Kriterien einer Strahlungsquelle ist die Abstrahlcharakteristik. Bei LEDs kann dies z.B. über das Gehäuse oder spätere Beschichtung beeinflusst werden. Da der absolute UV Output als Leistung normalerweise mittels Ulbricht-Kugel gemessen, diese aber dem TZW nicht zur Verfügung stehen, wurden andere Möglichkeiten gesucht dies mit vorhandenen Mitteln zu machen. Untenstehend und in den Bildern zwei Methoden die auf Gleichartigkeit und Handling untersucht wurden. Vermessen wurden dabei die Nikkiso und Dowa Einzel-LED-Module mit einem späteren Vergleich mit den zugehörigen Datenblättern.

Methode A (Abbildung 27)**:** Der Sensor, hier das Glasfaserende des Spektroradiometers, bleibt in einer festen Position ausgerichtet auf das Zentrum der LED. Die LED ist in der Drehachse gelagert und kann so in einer Achse ihre Orientierung zum Sensor ändern. Der Abstand LED-Sensor bleibt so gleich, es wird direkt der emittierte Anteil in Richtung Sensor gemessen. Vorteil: Simple Theorie mit wenig bewegten Elementen. Nachteil: Die Positionierung muss genau in der Drehachse sein und dabei flexibel genug für viele LED-Layouts oder Module.

Methode B (Abbildung 28)**:** Die LED bleibt in einer festen Position und der Sensor wird auf das Zentrum ausgerichtet. Dieser wird dann senkrecht zur LED auf einer Schiene in einer Achse bewegt. Vorteil: Die Positionierung ist einfacher da die LED Aufnahme beliebig ist solange der Sensor darauf ausgerichtet werden kann. Nachteil: Es sind mehrere Faktoren einzuberechnen wie Abstand Sensor-LED, Richtungsempfindlichkeit des Sensors und minimales Signal, da über den größer werdenden Abstand das LED Signal kleiner wird.

Nachdem das Abstrahlverhalten so aufgenommen wurde, konnte die LED-Leistung berechnet werden.

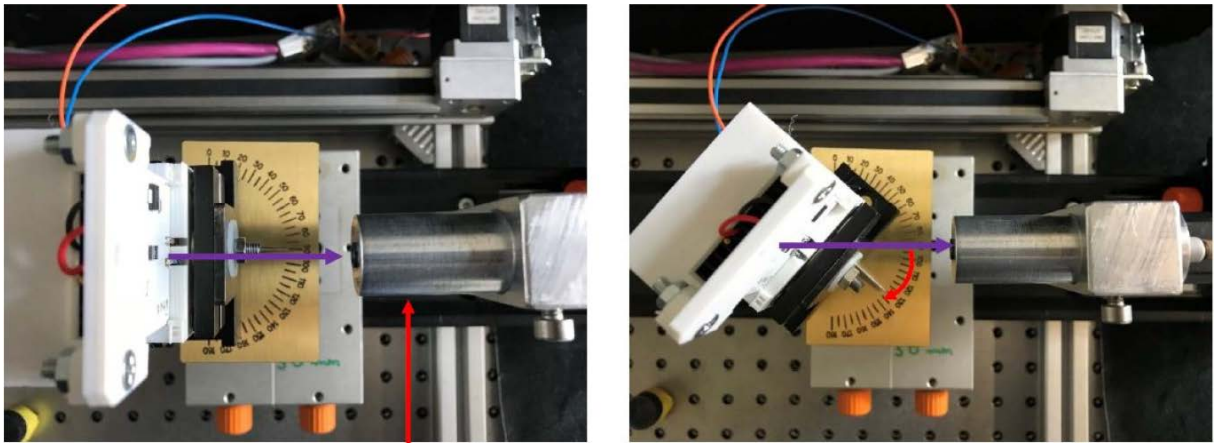


Abbildung 27: Methode A zur Messung des absoluten LED-Outputs: Feste Position des Sensors rechts und Drehung der LED in der Drehachse bei gleichem Abstand

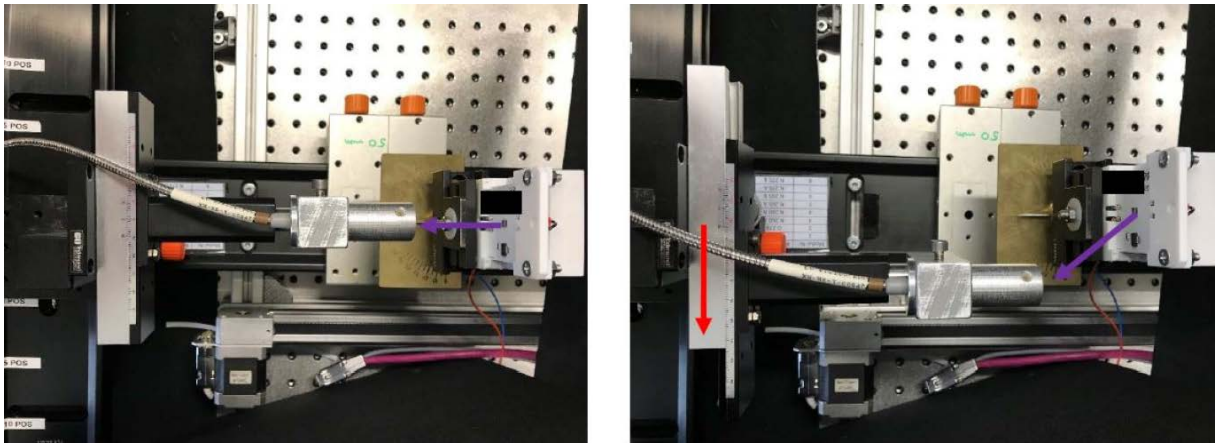


Abbildung 28: Methode B zur Messung des absoluten LED Outputs: LED rechts in fester Position; Sensor wird auf einer Achse bewegt

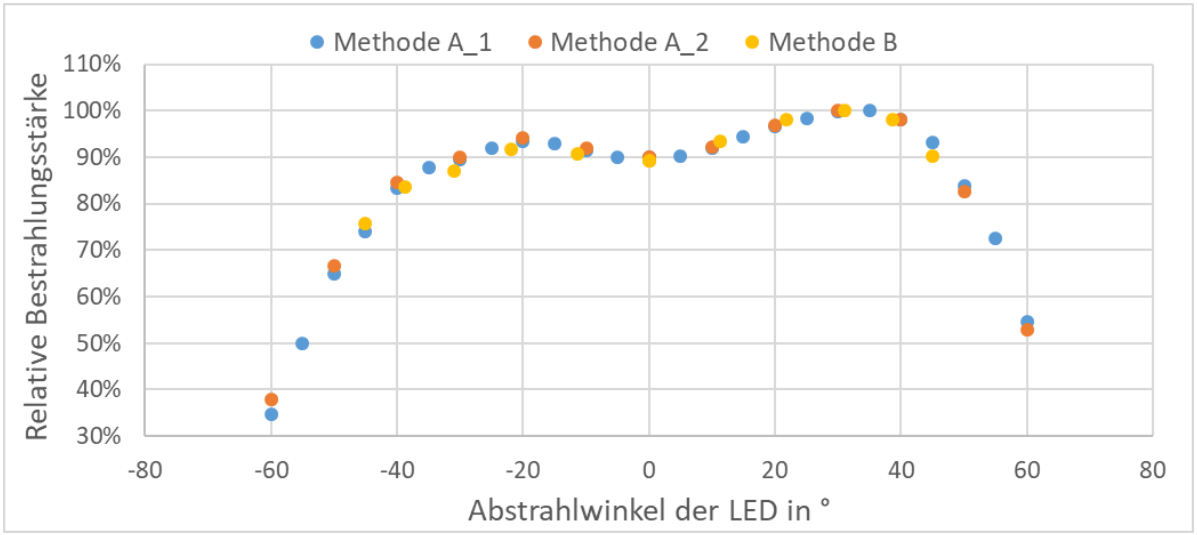


Abbildung 29: Abstrahlcharakteristik der LED D278 gemessen mittels Methode A und B

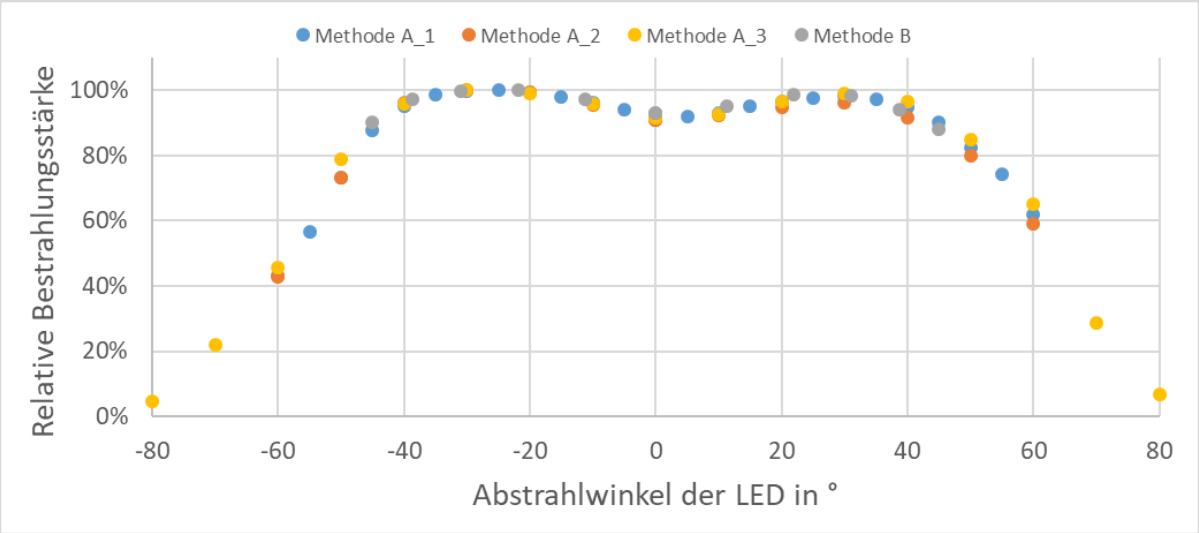


Abbildung 30: Abstrahlcharakteristik der LED N265 A gemessen mittels Methode A und B

Aus Abbildung 29 und Abbildung 30 ist zu beobachten, dass beide Methoden vergleichbare und reproduzierbare Messergebnisse bringen. Dabei ist Methode A leichter zum Auswerten während Methode B flexibler im Messaufbau ist. Beispielsweise konnten die LG Module nicht im selben Aufbau eingesetzt werden. Im Rahmen des Projektes wurde deshalb ein neuer Messplatz gebaut der beide Vorteile vereinigen sollte. Eine flexible Aufnahme für LEDs unterschiedlicher Geometrie, und eine fixe Position der LED. Entschieden wurde sich für einen Goniometer-typischen Aufbau, bei dem sich ein Arm mit dem Sensor um die LED bewegt. Somit wird derselbe Abstand eingehalten und die LED kann über verschiedene Positionierungen in die Drehachse gesetzt werden. Über den Dreh-Arm kann der Abstand Sensor-LED eingestellt werden und ist so für unterschiedliche LED-Leistungen zu nutzen. Zusätzlich kann die LED über eine zusätzliche Drehachse im gesamten 2π-Raum gemessen werden. Abbildung 31 zeigt den schematischen Aufbau der Apparatur.

1	Aufnahmeplatte, genutet
2	2 – Achsige Positionsbühne
3	Drehbühne 60 mm
4	Winkeladapter
5	Blech
6	1 – Achsige Postionsbühne
7	Zwischenplatte
8	Aluminiumprofil
9	Drehbühne 120 mm
10	Grundplatte
11	Winkelverbindungselement
12	Sensor/ Justagelaser
13	Sensorhalter
14	Kleine Montageplatte
15	Schlitten
16	Ausleger (Schiene)
17	Montageschraube
18	Drehachse Ausleger
19	Drehachse LED Aufnahme
20	Adapterplatte

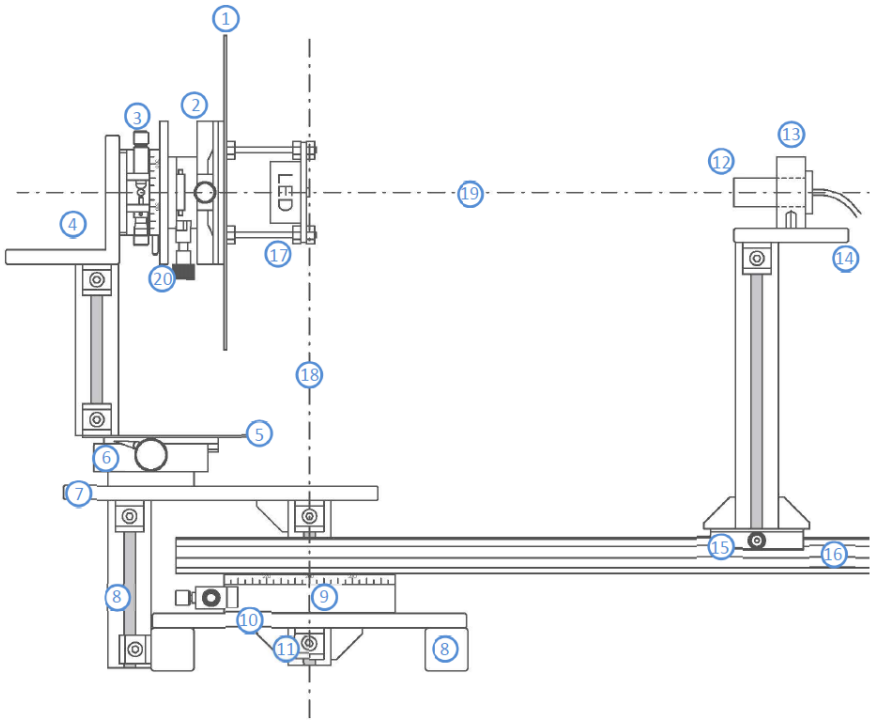


Abbildung 31: Messaufbau für die Abstrahlcharakteristik von Einzel-LEDs und Modulen.
(Quelle: Alexander Simler, Bachelorarbeit).

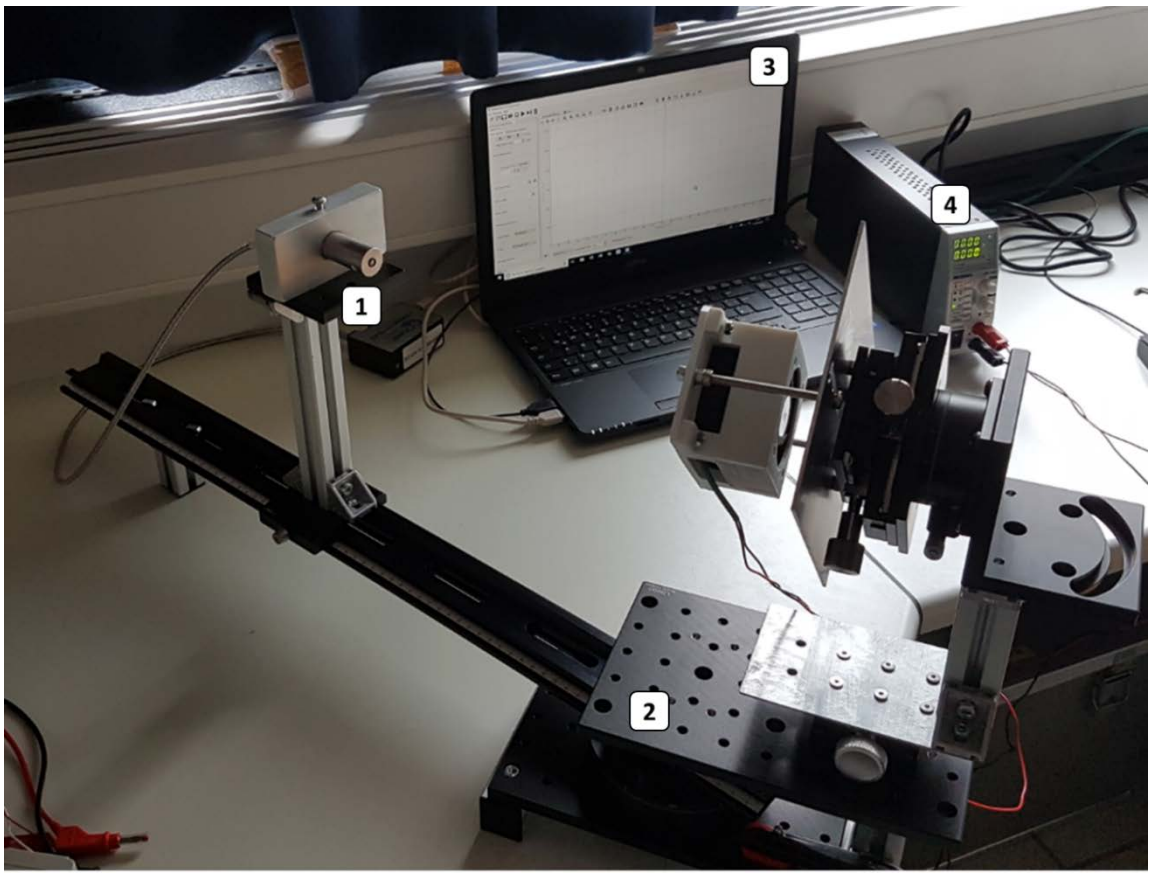


Abbildung 32: Konstruierter LED-Messstand als Goniometer Aufbau.
(1) Sensorhalterung, hier Glasfaser des USB4000 Spektrometers,
(2) Aufbau gemäß Abbildung 32,
(3) Laptop mit angeschlossenen Spektrometer und zugehöriger Software,
(4) Netzteil zur LED-Versorgung.

Folgende Abbildung 33 zeigt 11 Messungen an der LED LG 100h im Verlauf der Abbildung 22 gezeigten Alterung. Alle Messungen wurden mit dem in Abbildung 32 gezeigten Goniometer aufgenommen.

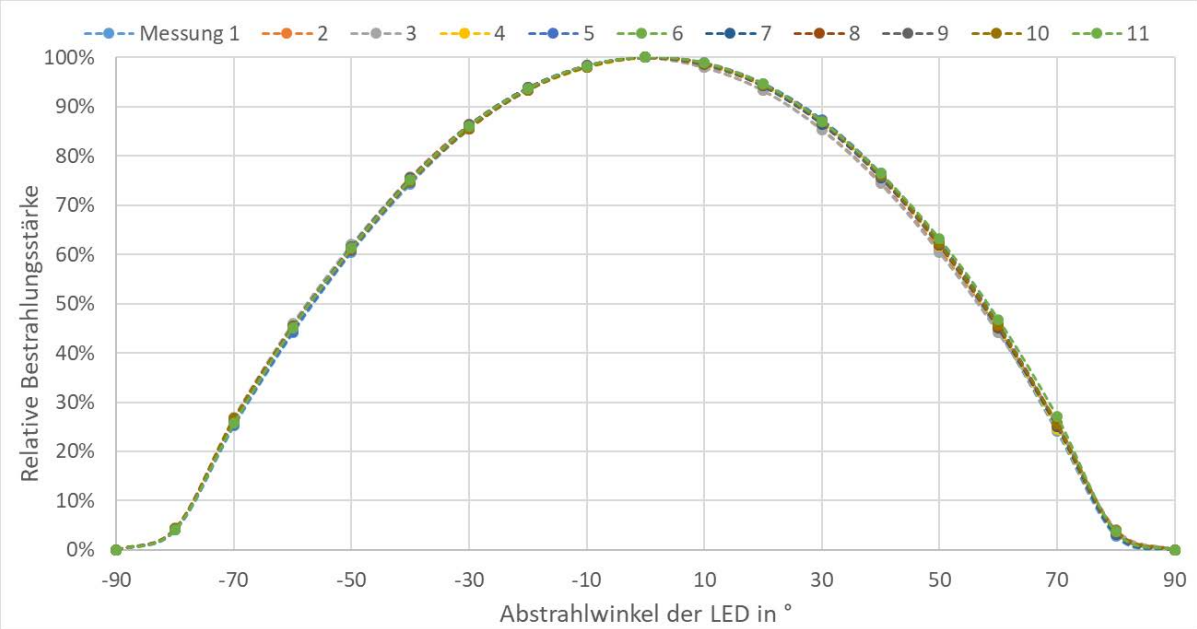


Abbildung 33: Abstrahlcharakteristik der LED LG 100h mit dem Goniometer.

Zu sehen sind die Messungen über ca. 700 Stunden Alterungszeit, verteilt über etwa 1,5 Monate Versuchszeit, mit jeweiligen Kontrollmessungen. Es wird eine sehr gute Reproduzierbarkeit beobachtet und kein Einfluss der Alterung auf das Abstrahlverhalten der LED festgestellt. Über die zusätzliche Drehachse wurde von der LG 100h der gesamte 2π-Raum vor der LED gemessen. Abbildung 34 zeigt die erhaltenen und grafisch dargestellten Messwerte.

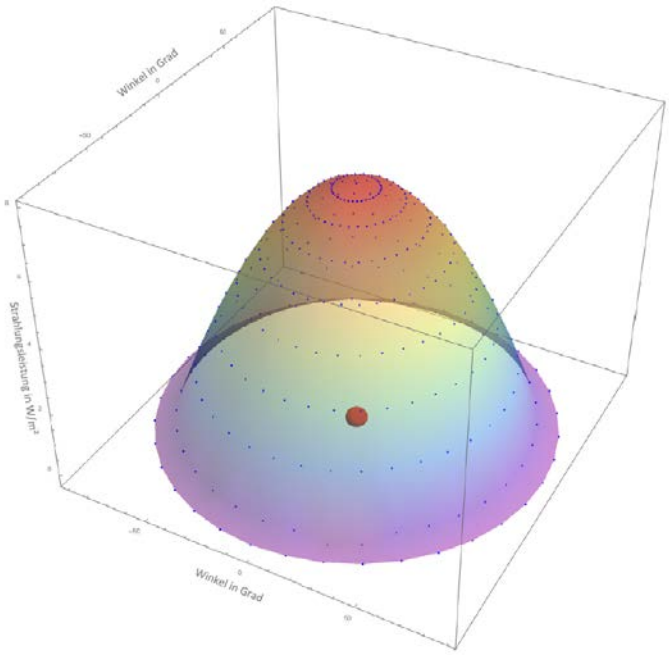


Abbildung 34: Räumliche Messung der LED LG 100h in Vorwärtsrichtung.
Die Quelle ist als roter Punkt im Ursprung dargestellt, die blauen Punkte geben die Messwerte wieder.
Quelle: Alexander Simler, Bachelorarbeit.

Die räumliche Darstellung zeigt die Symmetrie der LG 100h LED. Anders als bei den Nikkiso und Dowa LEDs wird die Strahlung hier nach vorne fokussiert.

1.3.4.1.4. Berechnung des UV-Outputs mittels der Abstrahlcharakteristik

Da dem TZW keine integrierende Ulbricht Kugel zur Verfügung steht wurde eine Methode entwickelt über die Abstrahlcharakteristik und die gemessene Bestrahlungsstärke das absolute Output einer LED zu berechnen.

Benutzt wird: Leistung P = Fläche A * mittlere Bestrahlungsstärke E_{Mittel}

Beispiel: Für A ergibt sich im normal verwendeten Abstand von X = 5 cm zur Petrischale und einem Abstrahlwinkel von α = 140° über die geometrischen Funktionen eine bestrahlte Fläche von A = 0,059 m². E_{Mittel} ergibt sich aus der zentral gemessenen Bestrahlungsstärke $E_{Zentrum}$ * Petri Faktor. Für den Petri Faktor werden die Messwerte der Abstrahlcharakteristik in ein LabView Programm geladen welches den Petri Faktor berechnet (Abbildung 35).

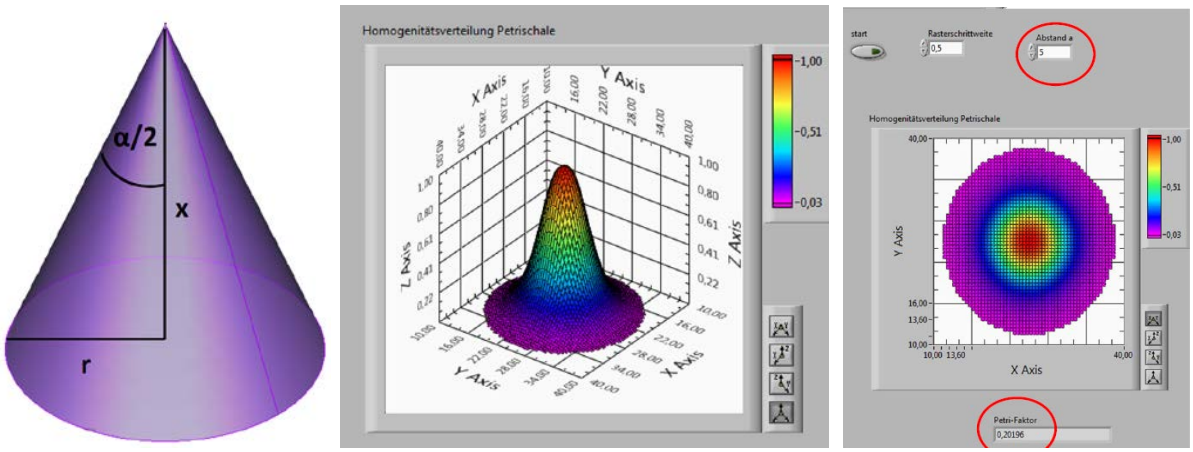


Abbildung 35: Beispielhafte Berechnung der LED Leistung über geometrische Verfahren

Für die uns zur Verfügung stehenden Einzel-LEDs ergaben sich damit die in Tabelle 4 aufgeführten Leistungswerte. Die Angaben der Datenblätter sind jeweils den Messergebnissen gegenübergestellt. Als Grundlage wurden die Bestrahlungsstärkewerte der ungealterten LEDs verwendet.

Tabelle 4: Vorwärtsstrom und Leistung aus LED Datenblättern und berechnet mit oben beschriebenen Methode A

	Data-sheet	N260 A	N260 B	Data-sheet	N265 A	N265 B	Data-sheet	N275 A	N275 B
$I_{Vorwärts}$ in mA	350	365	365	350	365	365	350	365	365
UV-Leistung in mW	10-12	10,8	14,4	10-12	23,5	20,8	20-25	29,7	31,6

	Data-sheet	D270	Data-sheet	D278	Data-sheet	LG 278
$I_{Vorwärts}$ in mA	570	570	570	570	350	390
UV-Leistung in mW	40-45	46,0	40-45	60,7	300	627

Der angelegte Vorwärtsstrom weicht teilweise von den im Datenblatt stehenden Daten ab, was aber wegen eines i.A. linearen Verhältnisses zum Output nur geringfügige Abweichungen erklärt. Deutlich wird jedoch, dass ein Großteil der berechneten UV-Leistungen merklich über den Hersteller Angaben liegen, teilweise bis zu einem Faktor 2. Ob dies durch eine fehlerhafte Messmethode oder falsche Datenblattangaben verursacht wird konnte im Projekt nicht festgestellt werden. Durch Vergleichsmessungen mit dem Ferdinand-Braun-Institut für Hochfrequenzforschung wurde zum Beispiel festgestellt, dass dort die zugeschickten Nikkiso LEDs ohne Kühlung betrieben wurden. Somit sind deutlich andere Rahmenbedingungen gegeben. Die vom FBH ermittelten UV-Leistungen weichen, eventuell auch dadurch, von den TZW Leistungen um -38% (N260 B), -33% (N265 B) und -19% (N275 B) ab.

1.3.5. LED-Reaktor

Der LED-Reaktor wurde modular aufgebaut und besteht aus den zwei großen Teilen: „inneres LED-Modul“ und „Reaktorgehäuse“, zu sehen in Abbildung 36. Das Modul, hergestellt vom IOSB-AST, beinhaltet sechs mit je sieben LEDs ausgestatteten Streifen. Diese werden von der Platine am oberen, außerhalb des Reaktor gelegenen, Ende überwacht und gesteuert. Eine vom Fraunhofer Institut programmierte Steuerungssoftware lässt die Streifen über einen PC steuern und Messdaten aufnehmen. Am Reaktorgehäuse, hergestellt von Xylem, sind sechs Sensoranschlusssysteme verbaut die es erlauben DVGW konforme Sensoren einzusetzen. Durch jeden Sensor wird dabei direkt ein Streifen überwacht. Eine Messbox zum Auslesen der Sensorsignale wurde von Xylem mitgeliefert.

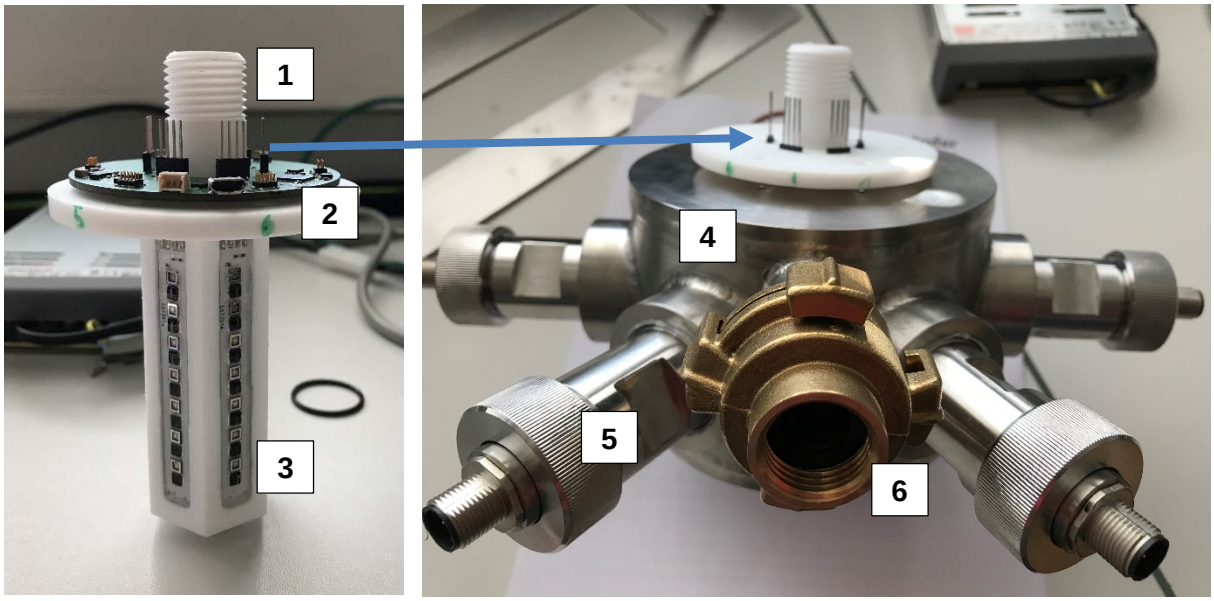


Abbildung 36: Inneres LED-Modul und Reaktorgehäuse
1) Zu-/Ablauf des Testwassers; 2) Kontrollplatine mit Steuerung der LED-Streifen; 3) LED-Streifen mit jeweils 7 Einzel-LEDs. Die Streifen sind als 6-Eck-Flächen im Reaktorinneren angeordnet; 4) Reaktorgehäuse mit Modul-Aufnahme; 5) Sensorports für Monitorsensoren, je 1 Sensor pro LED-Streifen zur Überwachung; 6) Ab-/Zulauf des Testwassers

1.3.5.1. Durchführung der Reaktorprüfung

1.3.5.1.1. Prüfaufbau

Zur Bestimmung der Desinfektionswirksamkeit des LED-Moduls wurde der Prüfstand in der TZW Außenstelle „Durlacher Wald“ genutzt. Dieser Prüfstand wurde speziell für UV-Reaktoren mit kleinen Durchflüssen aufgebaut.

Um unterschiedliche Sporenkonzentrationen und Wassertransmissionen einstellen zu können wird Umkehr-Osmose-Wasser in einem großen Vorlage-Behälter (5 m³ Volumen, platziert in einem Vorbau des Prüfstandes) vorbereitet. Zwei 100 Liter Edelstahl Behälter werden als Vorlage für Mikroorganismen und transmissionsreduzierenden Substanzen genutzt, welche anschließend verdünnt werden. Während der Vorlagebehälter über eine Kreiselpumpe den gesamten Prüfaufbau beliefert, dosieren kleine Zahnradpumpen die Suspensionen in den Hauptwasserstrom. Rückschlagventile und Durchflussmessen (magnetisch-induktiv, HygienicMaster300 FH311, DN4) sichern die Funktion der Zahnradpumpen.

Durchflussmesser in den Rohrleitungen überwachen den Gesamtdurchfluss durch die UV-Reaktoren. Der innen liegende Aufbau des Prüfstandes ist in Abbildung 37 zu sehen.

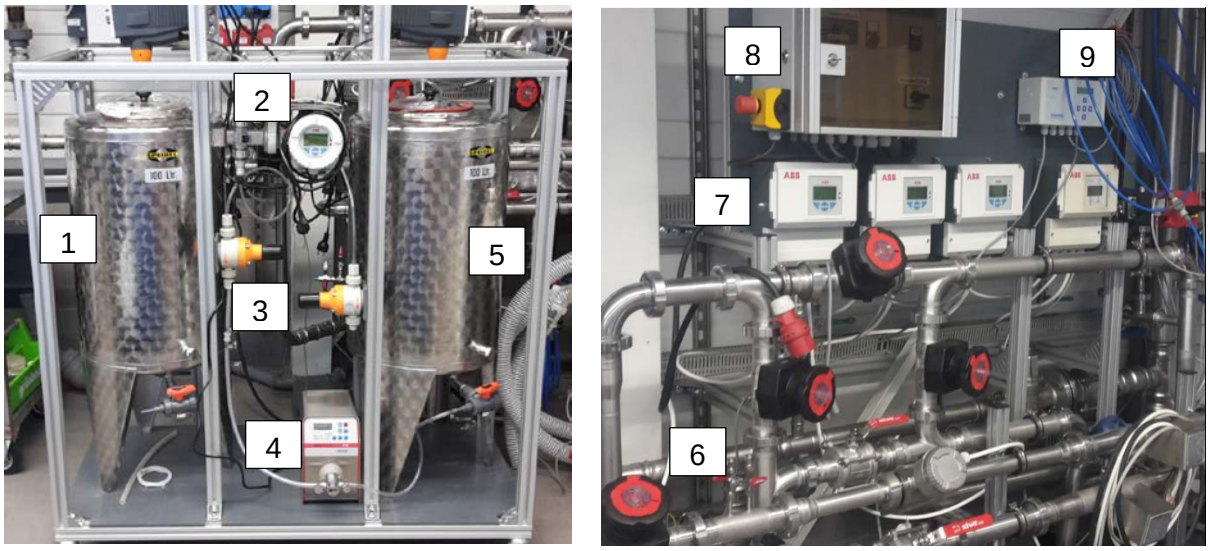


Abbildung 37: Prüfaufbau für kleine UV-Reaktoren

1) Behälter für Sporensuspension; 2) DN4 Durchflussmesser für Zahnradpumpen; 3) Rückschlagventile; 4) Zahnradpumpe für Sporensuspension (für LSA nicht im Bild); 5) Behälter für LSA-Suspension; 6) Verrohrung mit Ventilen für verschiedene Reaktorgrößen; 7) Anzeigeelemente der Durchflussmesser; 8) Schaltschrank mit Sicherungen; 9) Auslesegerät für Messsignale mit PC-Anschluss

1.3.5.1.2. Biodosimetrischer Prüfumfang

Bei drei Prüfzyklen wurden am LED-Modul insgesamt 28 Prüfpunkte (davon 4 nicht auswertbar) durchgeführt. Dabei wurde ein Transmissionsbereich (UVT10) von 90 % bis 98 % und ein Durchflussbereich zwischen 2 l/min und 10 l/min abgedeckt. Zusätzlich wurden zwei verschiedene Mikroorganismen (MO) mit unterschiedlichen Sensitivitäten gegenüber UV eingesetzt, *Bacillus subtilis* Sporen für einen Dosisbereich von 200 J/m² bis ca. 600 J/m² und T1UV für etwa 50 J/m² bis 250 J/m². Bei den *Bacillus subtilis* Sporen wurden insgesamt 3 verschiedene Chargen verwendet (im Folgenden als #1, #2 und #3 bezeichnet). Tabelle 5 gibt einen Überblick zu den Prüfpunkte mit den verschiedenen Einstellungen.

Tabelle 5: Prüfpunkte des LED-Moduls aus dem GEntLED UV Projekt

Datum	Prüfpunkt ID	MO	UVT10 in %	Durchfluss in l/min
24.10.2018	2	*B. subtilis* #1	98	4
24.10.2018	3	*B. subtilis* #1	98	6
14.11.2018	13	*B. subtilis* #2	98	2
14.11.2018	14	*B. subtilis* #2	98	3
30.01.2019	21	*B. subtilis* #3	98	2
30.01.2019	22	*B. subtilis* #3	98	4
30.01.2019	23	*B. subtilis* #3	98	6
14.11.2018	7	T1UV	98	6
14.11.2018	8	T1UV	98	10
14.11.2018	9	T1UV	98	4
24.10.2018	5	*B. subtilis* #1	95	4
24.10.2018	6	*B. subtilis* #1	95	6
14.11.2018	15	*B. subtilis* #2	95	2
14.11.2018	16	*B. subtilis* #2	95	3

Datum	Prüfpunkt ID	MO	UVT10 in %	Durchfluss in l/min
30.01.2019	24	*B. subtilis* #3	95	2
30.01.2019	25	*B. subtilis* #3	95	6
14.11.2018	10	T1UV	95	10
14.11.2018	11	T1UV	95	6
14.11.2018	12	T1UV	95	4
14.11.2018	18	*B. subtilis* #2	90	2
14.11.2018	19	*B. subtilis* #2	90	3
14.11.2018	20	*B. subtilis* #2	90	4
30.01.2019	27	*B. subtilis* #3	90	3
30.01.2019	28	*B. subtilis* #3	90	4

Zusätzlich wurden insgesamt sechs Control- und Blank-Prüfpunkte durchgeführt, die für QM Maßnahmen wichtig sind. Die Control Tests überprüfen die Wiederfindungsrate bei ausgeschalteten LEDs, also ob die Konzentration der MOs im Zulauf und im Ablauf des LED-Reaktors identisch sind, und somit ein Maß für die Güte der Einmischung. Die Blank Tests sollen überprüfen, ob ohne Zudosierung von MOs generell Kontaminationen im System vorliegen. Sowohl die Control- als auch die Blank-Prüfpunkte haben die QM-Anforderungen innerhalb der Prüfreihe hinreichend erfüllt.

1.3.5.1.3. Biodosimetrische Prüfergebnisse

Für einen idealen Reaktor mit optimalen hydraulischen Eigenschaften hat jedes Partikel nach dem Verlassen des Reaktorraumes die identische applizierte Dosis (Dosisverteilung mit einer Standardabweichung von 0) und ist somit unabhängig von der spezifischen Sensitivität von Mikroorganismen (DL = benötigte Dosis pro log10(I)). Bei einem realen Reaktor ist dies nicht der Fall. Für jeden Reaktor ist die Dosisverteilung spezifisch und unterscheidet sich abhängig von Durchfluss und Transmission. Somit unterscheidet sich auch die applizierte Dosis für eine bestimmte Kombination von Durchfluss und Transmission in Abhängigkeit vom Mikroorganismus. Je sensitiver ein Mikroorganismus (geringe benötigte Dosis pro log10(I)) desto geringer ist auch die applizierte Dosis im Vergleich zu einem wenig sensitiveren Mikroorganismus (höhere benötigte Dosis pro log10(I)). Dies liegt daran, dass bei sensitiveren Mikroorganismen bei identischer Dosis im Vergleich zu wenig sensitiveren Mikroorganismen eine zum Teil deutlich höhere log10(I) erzielt wird und diese in stärkerer Form von den „Dosis-Ausreißern“ nach unten beeinflusst wird. Dieses Wissen ist Voraussetzung bei der Betrachtung der folgenden Ergebnisse.

In Tabelle 6 sind die Prüfpunkte mit dazugehöriger log-Inaktivierungsrate (logI) und reduktionsäquivalenten UV-Dosen (RED) aufgelistet.

Tabelle 6: Prüfpunkte mit logI und dazugehöriger RED

Prüfpunkt ID	MO	UVT10 in %	Durchfluss in l/min	logI	RED in J/m²
2	*B. subtilis* #1	98	4	1,93	323
3	*B. subtilis* #1	98	6	1,32	245
13	*B. subtilis* #2	98	2	3,19	595
14	*B. subtilis* #2	98	3	2,31	465
21	*B. subtilis* #3	98	2	3,52	640
22	*B. subtilis* #3	98	4	2,08	406
23	*B. subtilis* #3	98	6	1,53	315
7	T1UV	98	6	3,97	201
8	T1UV	98	10	2,63	133

Prüfpunkt ID	MO	UVT10 in %	Durchfluss in l/min	logI	RED in J/m²
9	T1UV	98	4	4,94	249
5	*B. subtilis* #1	95	4	1,65	287
6	*B. subtilis* #1	95	6	1,12	220
15	*B. subtilis* #2	95	2	2,95	560
16	*B. subtilis* #2	95	3	2,12	436
24	*B. subtilis* #3	95	2	3,13	576
25	*B. subtilis* #3	95	6	1,33	283
10	T1UV	95	10	2,53	128
11	T1UV	95	6	3,53	178
12	T1UV	95	4	4,62	234
18	*B. subtilis* #2	90	2	2,41	480
19	*B. subtilis* #2	90	3	2,82	393
20	*B. subtilis* #2	90	4	1,50	345
27	*B. subtilis* #3	90	3	2,15	417
28	*B. subtilis* #3	90	4	1,67	339

Die REDs der Prüfpunkte wurde mittels tagesaktuellen Inaktivierungskurven der jeweiligen Mikroorgansimen berechnet. Die Inaktivierungskurven der *Bacillus subtilis* Chargen 1-3 sowie von T1UV sind in Abbildung 38 dargestellt.

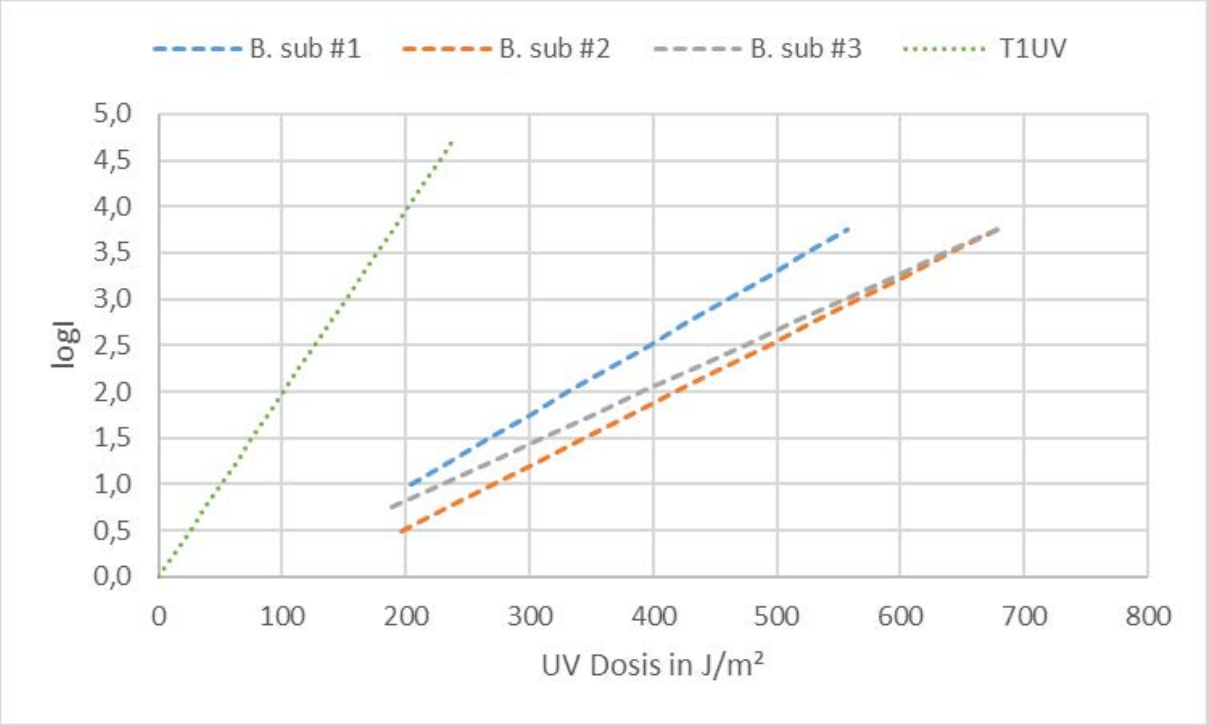


Abbildung 38: Inaktivierungskurven der *Bacillus subtilis* Chargen 1-3 sowie T1UV zur Berechnung der RED für die durchgeführten Prüfpunkte

Die Berechnung der RED aus den jeweiligen logI Ergebnissen kann für *Bacillus subtilis* und T1UV mit Formel 7 berechnet werden:

$$RED = A + B * logI$$ Formel 7

Die dazugehörigen Regressionsparameter A und B für die jeweilige Inaktivierungskurve sind in Tabelle 7 enthalten.

Tabelle 7: Regressionsparameter für Inaktivierungskurven von *Bacillus subtilis* und T1UV

MO	A	B
Bacillus subtilis #1	75,374	128,45
Bacillus subtilis #2	122,53	148,18
Bacillus subtilis #3	65,773	163,22
T1UV	0	50,518

Abbildung 39 zeigt die erzielte UV Dosis bei UVT10 von 98 % in Abhängigkeit von Durchfluss und verwendetem Mikroorganismus. Hierbei ist deutlich zu sehen, dass bei identischem Durchfluss, aber unterschiedlichem Mikroorganismus bzw. anderer Charge ein Unterschied in der applizierten Dosis (als RED) vorliegt (Stichwort Dosisverteilung, applizierte Dosis ≠ mathematische Dosis). So werden z.B. bei 4 l/min und mit *Bacillus subtilis* #3 ca. 400 J/m², mit *Bacillus subtilis* #1 ca. 320 J/m² und mit T1UV lediglich ca. 250 J/m² erzielt.

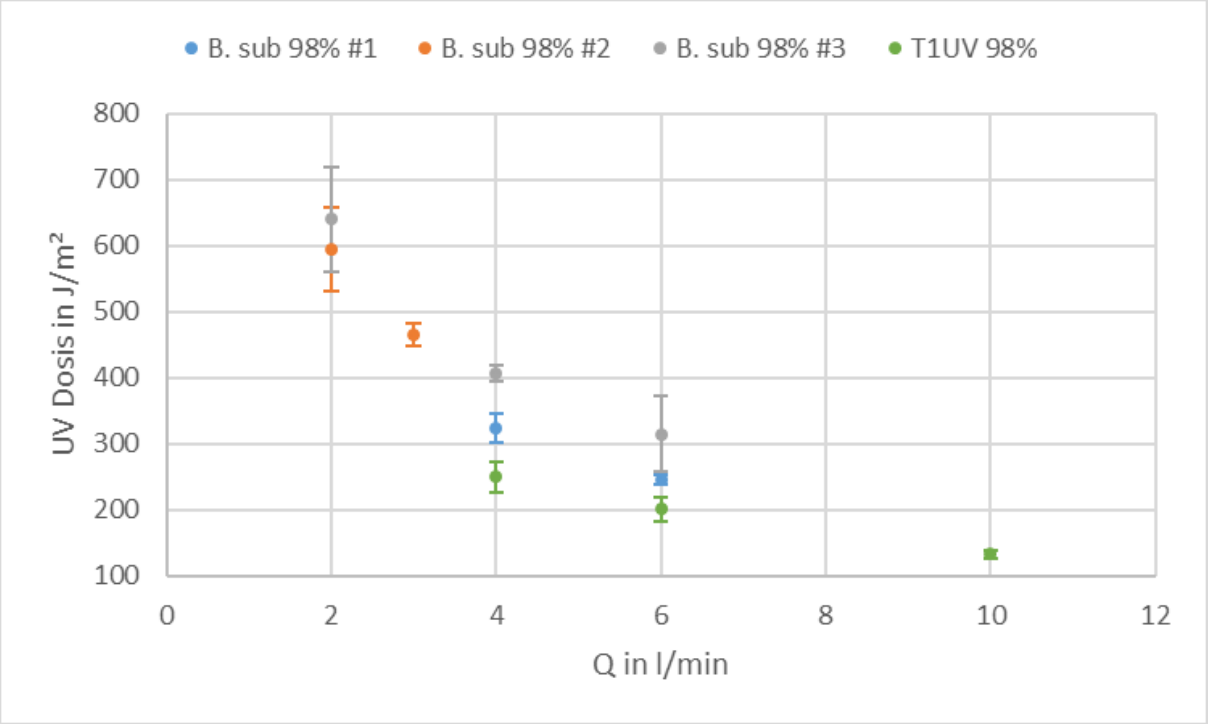


Abbildung 39: Ermittelte RED in Abhängigkeit von Durchfluss und Mikroorganismus bei UVT10 von 98 %

Die erzielte Dosis in Abhängigkeit von der UV-Sensitivität des eingesetzten MOs bei den Durchflüssen 4 l/min bzw. 6 l/min und bei 98 % UVT10 ist in Abbildung 40 dargestellt.

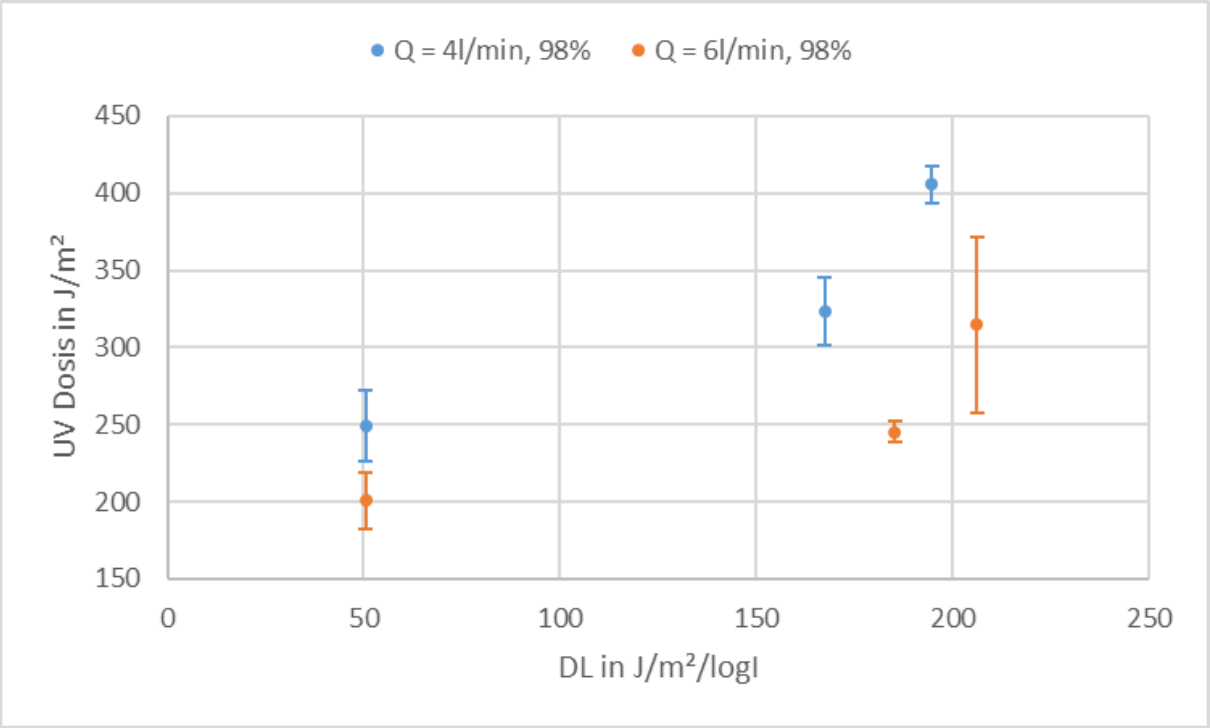


Abbildung 40: Ermittelte Dosis in Abhängigkeit von der UV-Sensitivität (DL) bei UVT10 von 98 % und den Durchflüssen 4 l/min und 6 l/min

Analog zu den Ergebnissen für eine UVT10 von 98 % enthalten Abbildung 41 und Abbildung 42 die Resultate für eine UVT10 von 95 %.

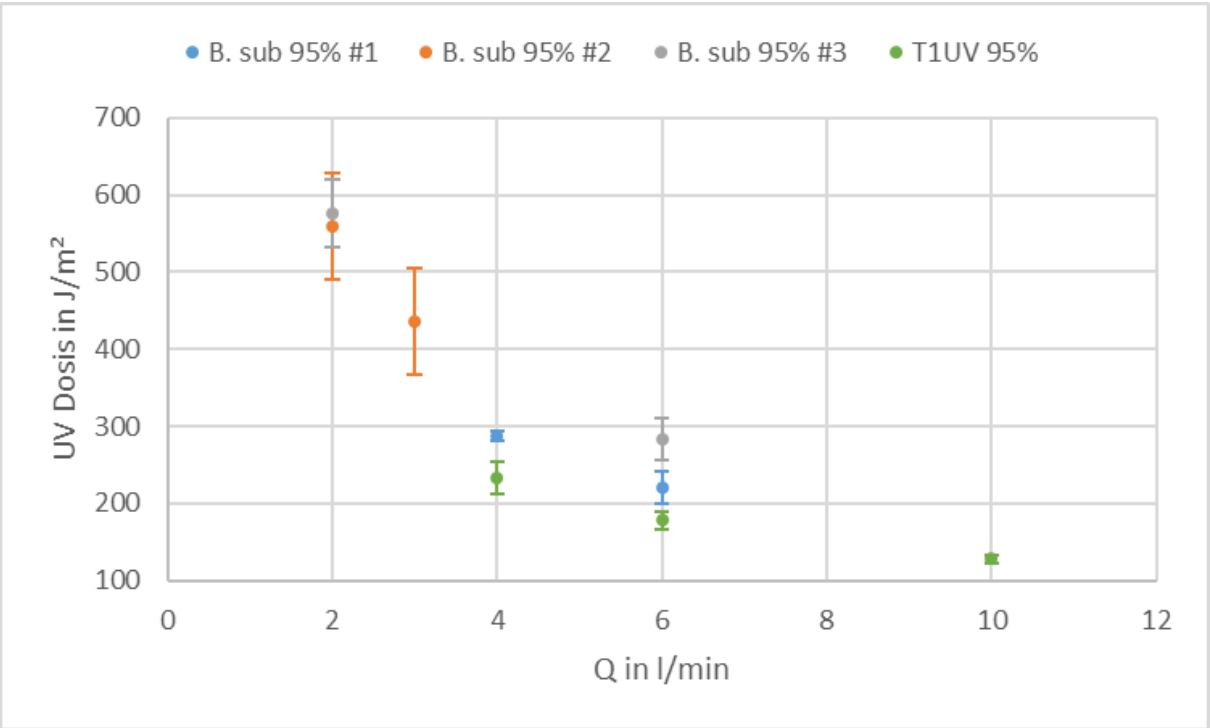


Abbildung 41: Ermittelte RED in Abhängigkeit von Durchfluss und Mikroorganismus bei UVT10 von 95 %

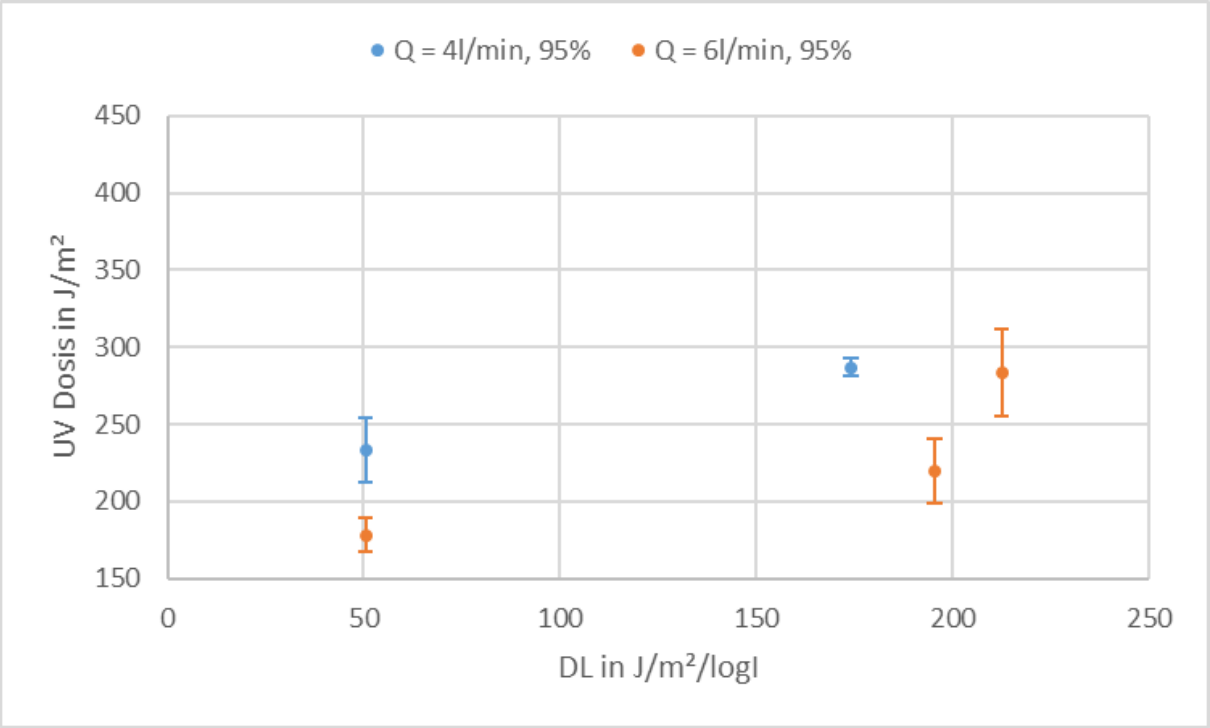


Abbildung 42: Ermittelte Dosis in Abhängigkeit von der UV-Sensitivität (DL) bei UVT10 von 95 % und den Durchflüssen 4 l/min und 6 l/min

Bei den vorliegenden Ergebnissen wurde keine Gewichtung der Wellenlänge vorgenommen, da kein exaktes aktuelles Wirkspektrum für *Bacillus subtilis* vorliegt. Für eine vollständige Betrachtung der Ergebnisse und eine zukünftige Bewertung von LED-Desinfektionssystemen muss dies jedoch miteinbezogen und ein aktuelles Wirkspektrum für *Bacillus subtilis* ermittelt werden. Nichtsdestotrotz zeigen die Erkenntnisse dieser Prüfung, wie wichtig eine standardisierte Prüfmethodik und die Auswahl des verwendeten Testorganismus ist um eine einheitliche Bewertung der Desinfektionswirksamkeit sicherzustellen.

1.3.5.1.4. Technische Prüfungen und Untersuchungen

Zusätzlich zu den biologischen Untersuchungen wurden verschiedene technische Aspekte betrachtet. Dies diente vor allem dazu mehr Wissen über das Verhalten von LEDs beim Einsatz im Trinkwasser und die Möglichkeiten der Überwachung zu erhalten.

Die erste Untersuchung betraf die absoluten (dunklere Punkte im oberen Diagramm Bereich) und relativen (helle Punkte im unteren Bereich, übereinanderliegend) Bestrahlungsstärkemessungen im Reaktor bei unterschiedlichen Wassertransmissionen. Diese so genannten Set Point-Kurven werden zu Beginn jeder Reaktorprüfung aufgenommen um das System zu charakterisieren und dienen als Bezugsgröße für die Biodosimetrie.

In Abbildung 43 ist zu sehen, dass die relativen Sensorsignale über alle Messpositionen gleichmäßig abnehmen. Die Daten wurden zusätzlich mit einem Referenzradiometer an allen Positionen und Transmissionen aufgenommen. Das Ergebnis wurde dabei reproduziert. Dies weist darauf hin, dass der Abstand zwischen Sensor und LED-Streifen an allen Positionen gleich ist. Ein um mehrere Millimeter abweichender Abstand hätte merklichen Einfluss auf das relative Sensorsignal bei sich ändernden Transmissionen. Die unterschiedlichen absoluten Signale (z.B. 77,0 W/m² zu 67,8 W/m² bei 99,9% UVT10) stammen daher von unterschiedlichen UV-Outputs der LED-Streifen und leicht unterschiedlichen Kalibrierungen.

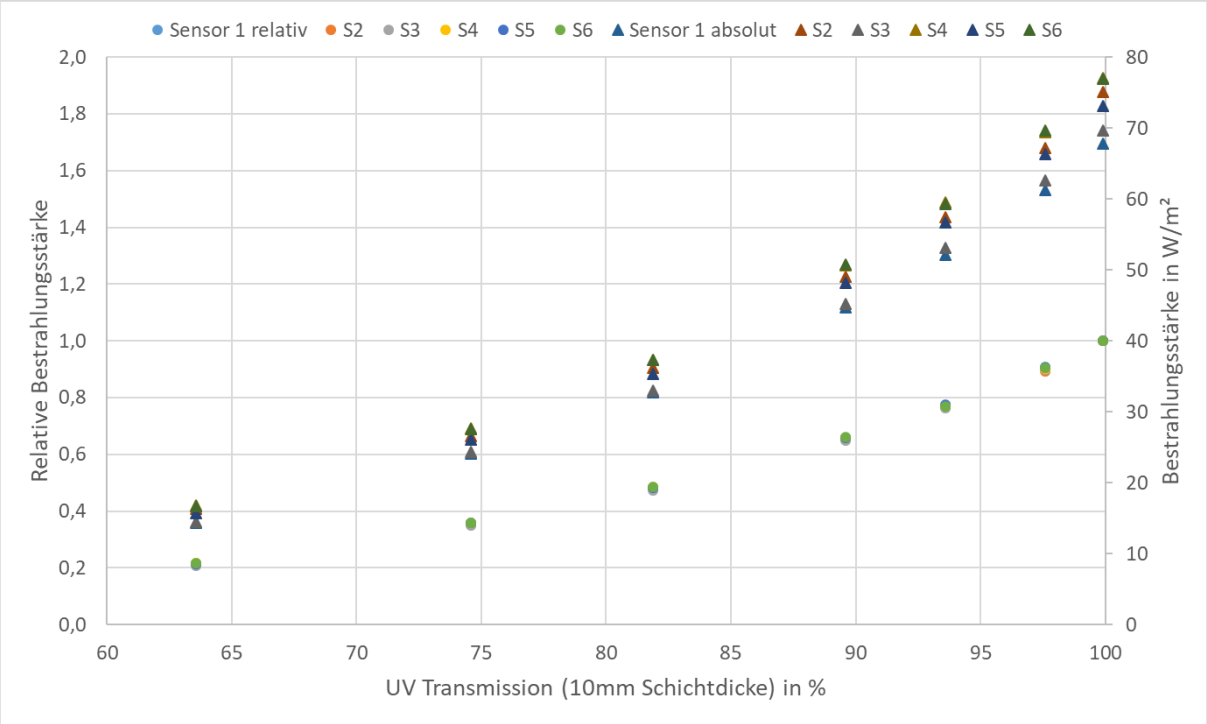


Abbildung 43: Relative (Punkte) und absolute (Dreiecke) Bestrahlungsstärkewerte bei unterschiedlichen Wassertransmissionen

Abbildung 44 zeigt die Temperatur auf den LED-Streifen im Reaktor. Alle Streifen werden über Kupferkühlkörper, die vom Wasser umströmt werden, gekühlt. Untersucht wurde wie sich die Streifen-Temperatur ändert während der Vorwärtsstrom der LEDs zwischen 500 und 50 mA variiert wird. Es ist zu beobachten, dass auch bei 500 mA eine Temperatur weit unter der vom Hersteller maximal erlaubten erreicht wird. Durch die sehr effektive Wasserkühlung besteht somit die Möglichkeit die LEDs mit mehr Strom zu beschicken und so den UV-Output zu erhöhen. Trotzdem ist zu erwarten, dass eine höhere Temperatur und ein höherer Strom die Lebensdauer der LEDs verringert. Bei Labormessungen konnte gezeigt werden, dass es einen leichten Wellenlängen-Shift und eine Reduktion des Outputs mit steigender Temperatur gibt (siehe Kapitel 1.3.4.1.2).

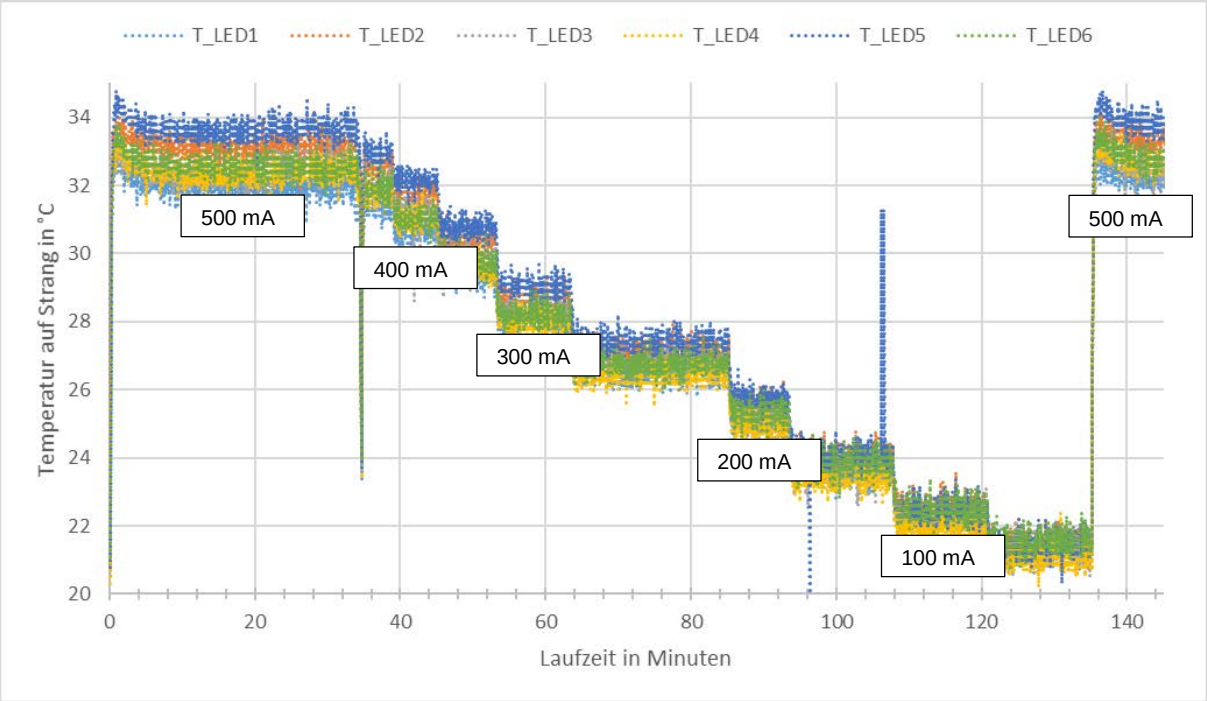


Abbildung 44: Verhalten der Temperatur der LED-Streifen bei konstanter Wassertemperatur und verschiedenen Vorwärtsströmen. Start bei 500 mA, Reduktion um 50 mA bis minimal 50 mA

Abbildung 45 zeigt die relativen Sensorsignale beim Dimmen, also einer Reduktion des Vorwärtsstroms, der LED-Streifen. Da von einem linearen Verhalten der Sensoren ausgegangen wird, sind Abweichungen der Sensoren untereinander auf das Verhalten der LED-Streifen zurück zu führen.

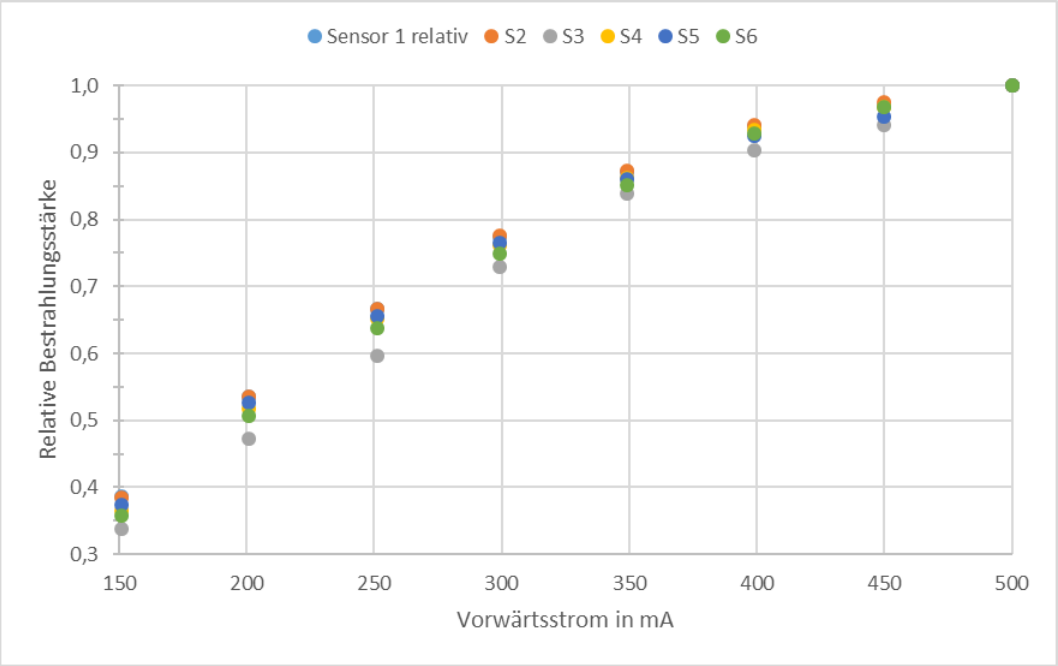


Abbildung 45: Relative Bestrahlungsstärken der Sensoren beim Dimmen

Es ist vor allem für die Sensoren 2 und 3 zu beobachten, dass die relativen Messwerte merklich voneinander abweichen. Streifen 3 weist einen vergleichsweise stärkeren Leistungsabfall auf.

Im praktischen Betrieb könnte ein solches Verhalten durch die Änderung der Dosis-Verteilung im Reaktor eine deutliche Änderung in der Desinfektionsleistung bewirken.

1.4. Inaktivierungsversuche mit verschiedenen Wellenlängen und Mikroorganismen

Im Verlauf des Projektes wurden neun unterschiedliche Spezies mit den zur Verfügung stehenden Wellenlängen der Labor-Module bestrahlt. Teilweise wurden Kombinationen aus verschiedenen UVC-Wellenlängen eingesetzt und teilweise zusätzlich mit der 365 nm LED bestrahlt um eine möglicherweise stattgefundene Fotoreaktivierung zu überprüfen. **Tabelle 8** zeigt eine Zusammenfassung aller durchgeführten Inaktivierungen für die unterschiedlichen MO.

Tabelle 8: Übersicht der durchgeführten Inaktivierungen
Verwendete Mikroorganismen sowie Wellenlängen (in nm). Rechte Spalten: Kombinationsbestrahlungen mit zwei verschiedenen Wellenlängen. Alle Bestrahlungen wurden zusätzlich mit dem ND-Collimated Beam (254 nm) als Referenz durchgeführt.

Mikroorganismus	ND-CB	260	265	275	280	285	365	260/ 280	265/ 285	260/ 365	265/ 365
Enterococcus faecalis	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓		✓		✓
Bacillus subtilis	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Pseudomonas aeruginosa	✓	✓	✓	✓	✓		✓				
Escherichia coli	✓	✓	✓	✓	✓		✓				
Legionella pneumophila	✓	✓	✓	✓	✓		✓				
MS2	✓	✓	✓	✓	✓		✓				
phiX 174	✓	✓	✓	✓	✓		✓				
Enterococcus casseliflavus	✓		✓			✓			✓		✓

Insgesamt wurden Bestrahlungen an 67 Kombinationen aus MO und UV-Wellenlängen durchgeführt. Jede Bestrahlung besteht dabei aus ca. 8 verschiedenen Dosen um gut aufgelöste Dosis-Wirk-Beziehungen zu erhalten. Mit Ausnahme von *Enterococcus casseliflavus* wurden alle Bestrahlungen mindestens doppelt durchgeführt für eine verbesserte statistische Auswertung. Somit wurden im Rahmen des Projekts ca. 1.000 Proben am TZW angesetzt, ausgezählt und statistisch ausgewertet. Im Allgemeinen wurde dabei jede Probe dreifach angesetzt. Ansatz oder Kultivierung erfolgte gemäß den in Kapitel 1.2.2 beschriebenen Verfahren.

In der folgenden Abbildung 46 bis Abbildung 55 werden die Ergebnisse der Inaktivierungen dargestellt. Bei einigen MO, z.B. *E. coli*, sind die benötigten Dosen für eine Reduktion um mehrere log-Stufen sehr gering. Dies erhöht die Messunsicherheiten und verringert die Reproduzierbarkeit, da sehr kurze Zeitspannen für die Bestrahlung benötigt werden. Auch bestehen die auswertbaren Daten damit aus wenigen Messpunkten da bei höheren Dosen keine MO mehr in der Suspension waren und die Dosis-Wirk-Kurven damit ein

charakteristisches Verhalten aufweisen. Aus zeitlichen Gründen konnten die meisten Versuche jedoch nicht mit deutlich kleineren Dosis-Schritten wiederholt werden.

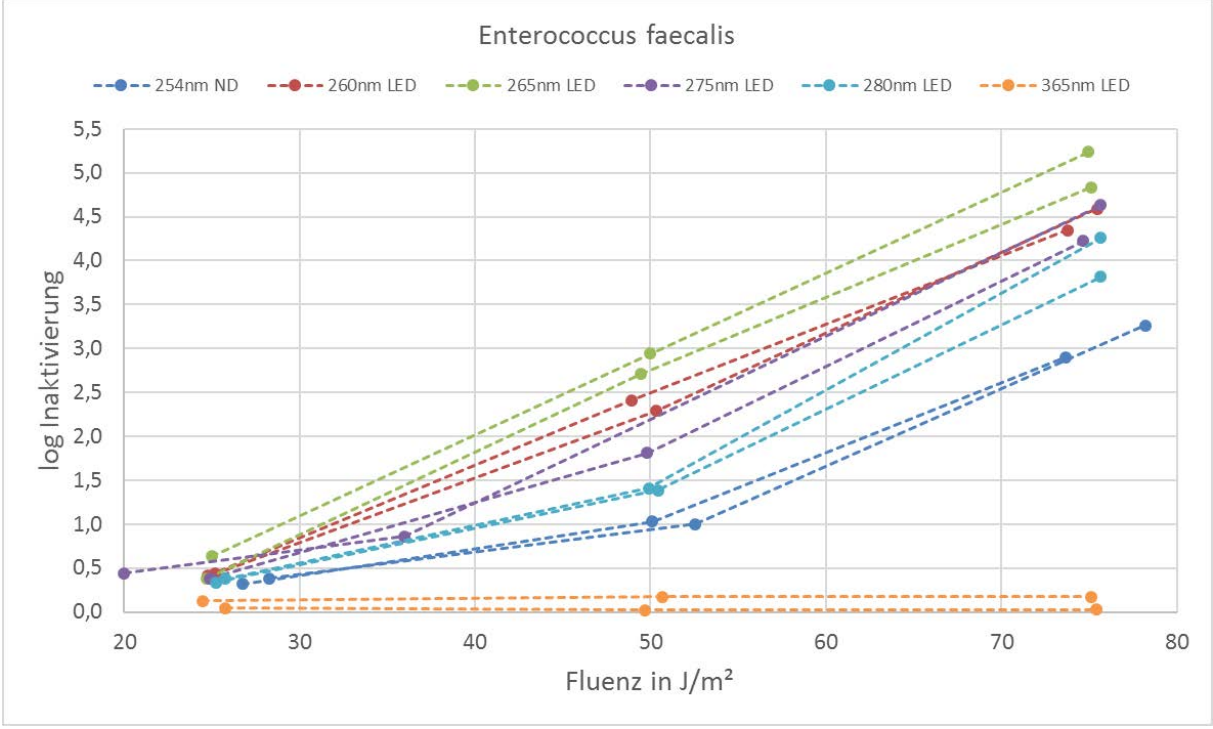


Abbildung 46: *Enterococcus faecalis* Inaktivierungen

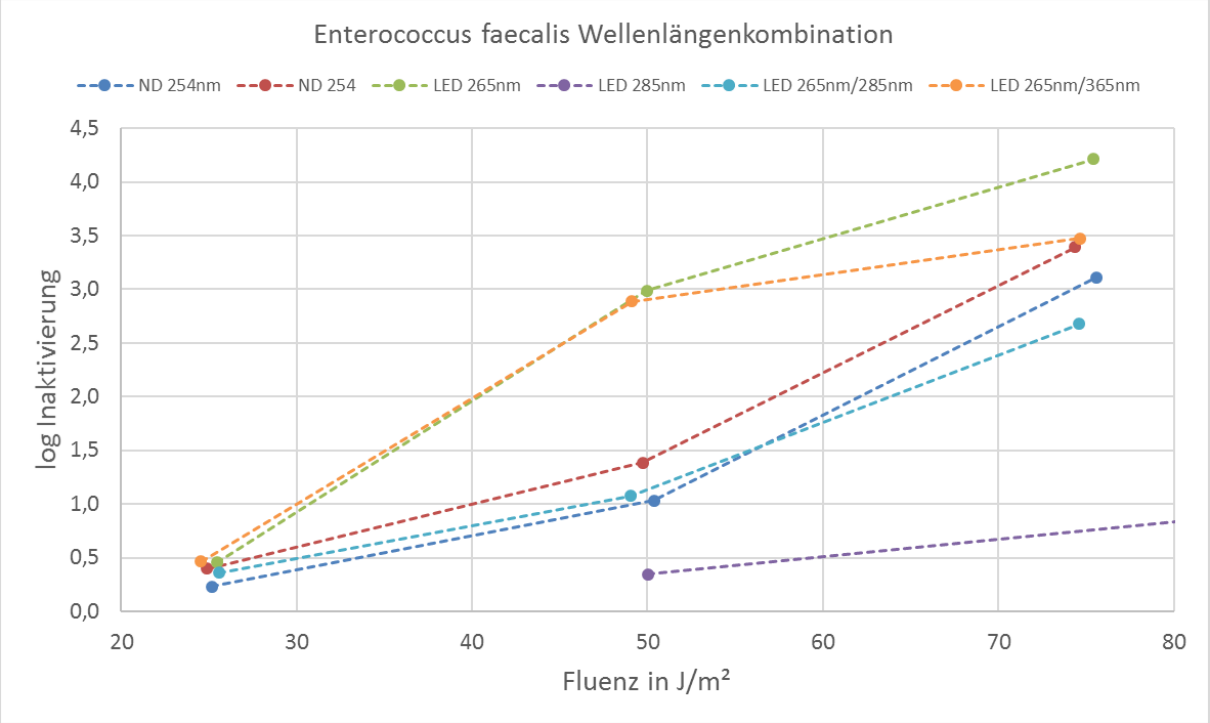


Abbildung 47: *Enterococcus faecalis* Inaktivierungen zur Untersuchung von Wellenlängenkombinationen

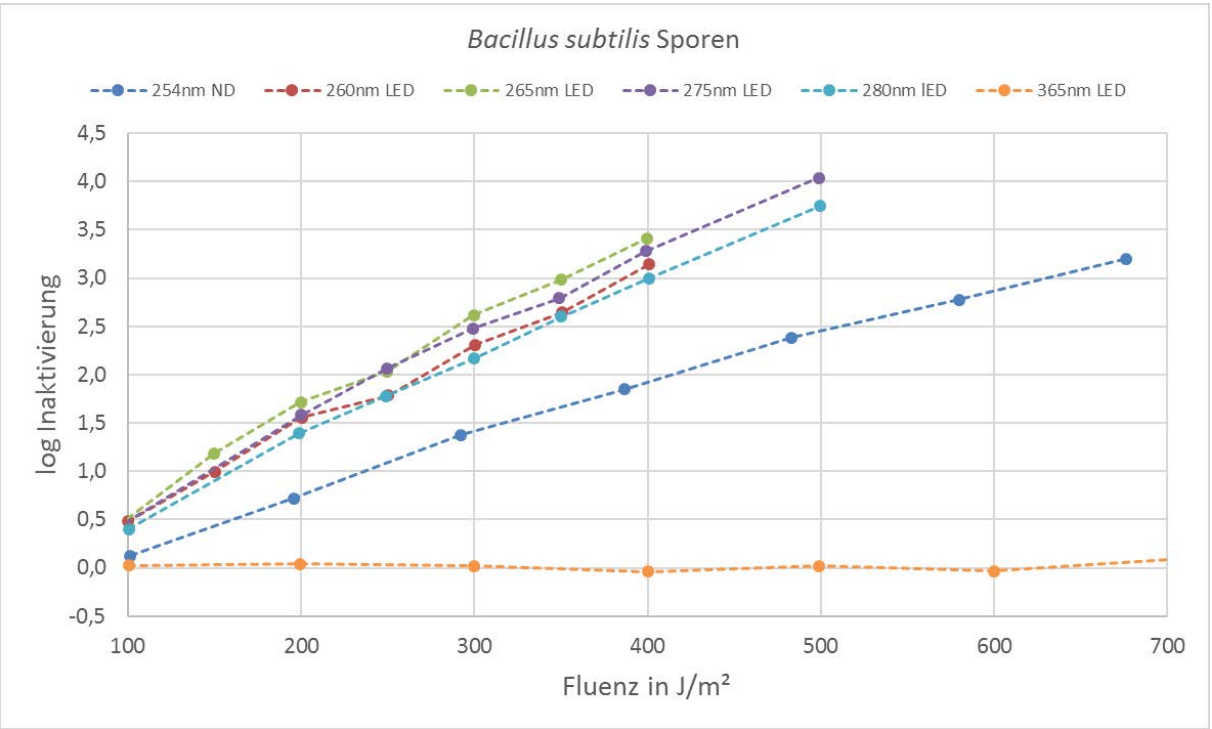


Abbildung 48: *Bacillus subtilis* Sporen Inaktivierungen mit Einzelwellenlängen

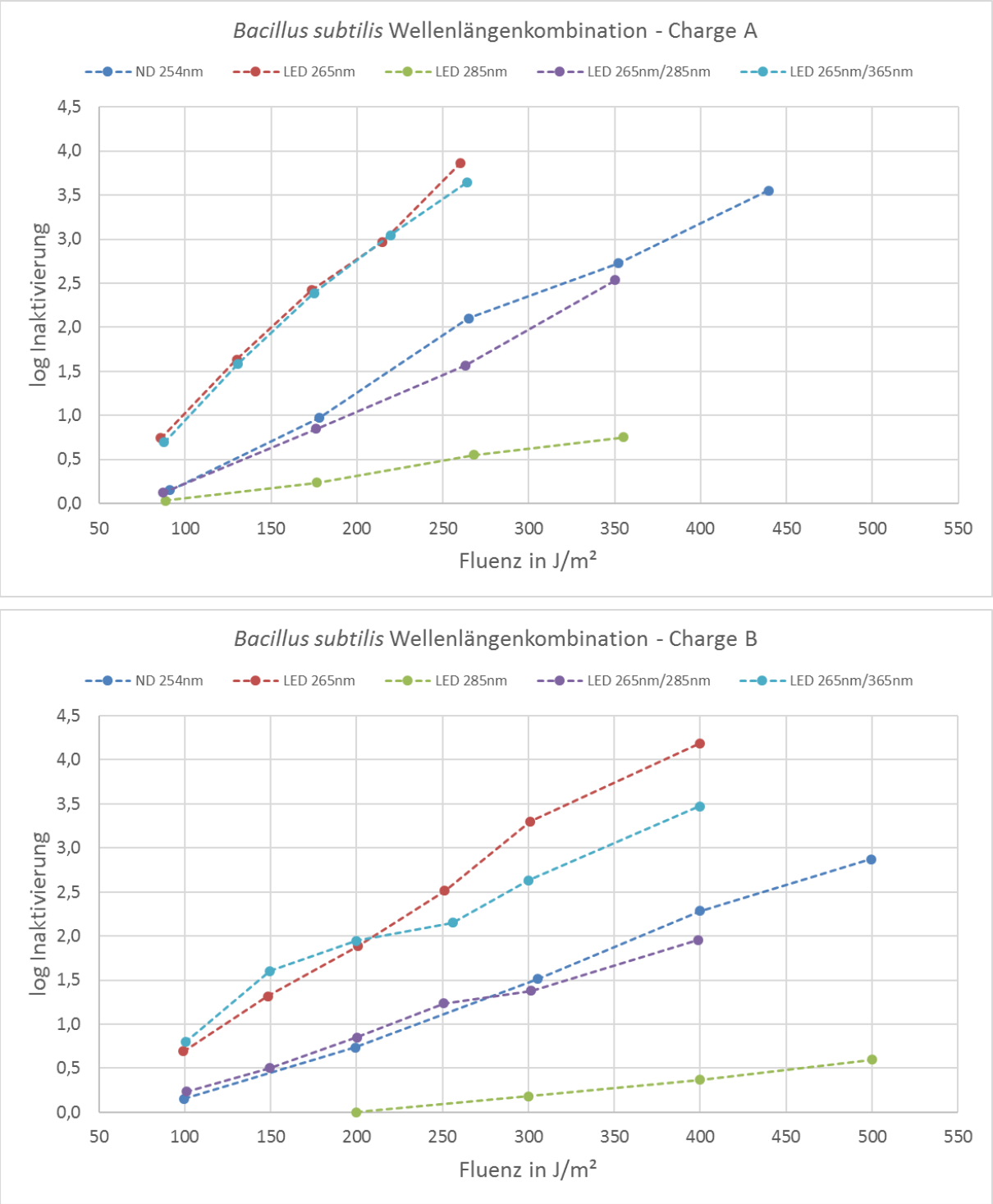


Abbildung 49: *Bacillus subtilis* Sporen Inaktivierungen mit Wellenlängenkombinationen

Es mussten verschiedenen Chargen eingesetzt werden, deshalb gibt es systematische Unterschiede zwischen den jeweils 2 Inaktivierungen einer Wellenlänge. Die Verhältnisse zwischen den Wellenlängen waren jedoch reproduzierbar.

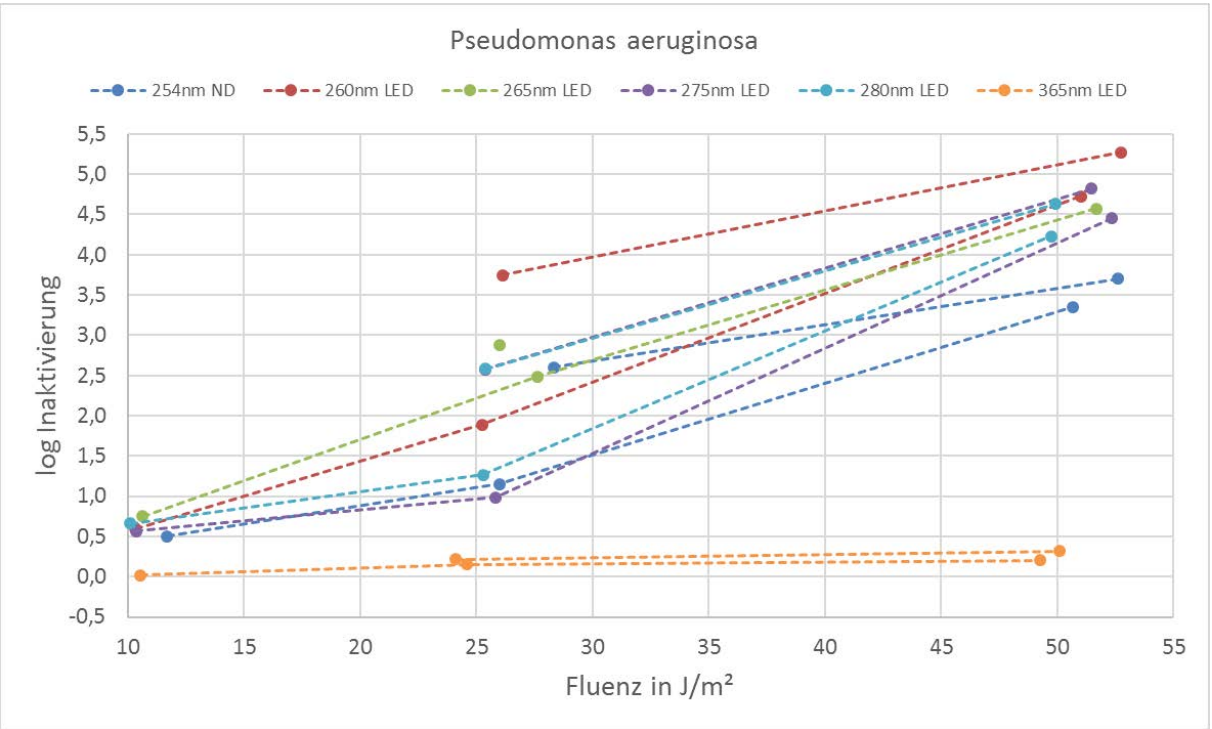


Abbildung 50: *Pseudomonas aeruginosa* Inaktivierungen

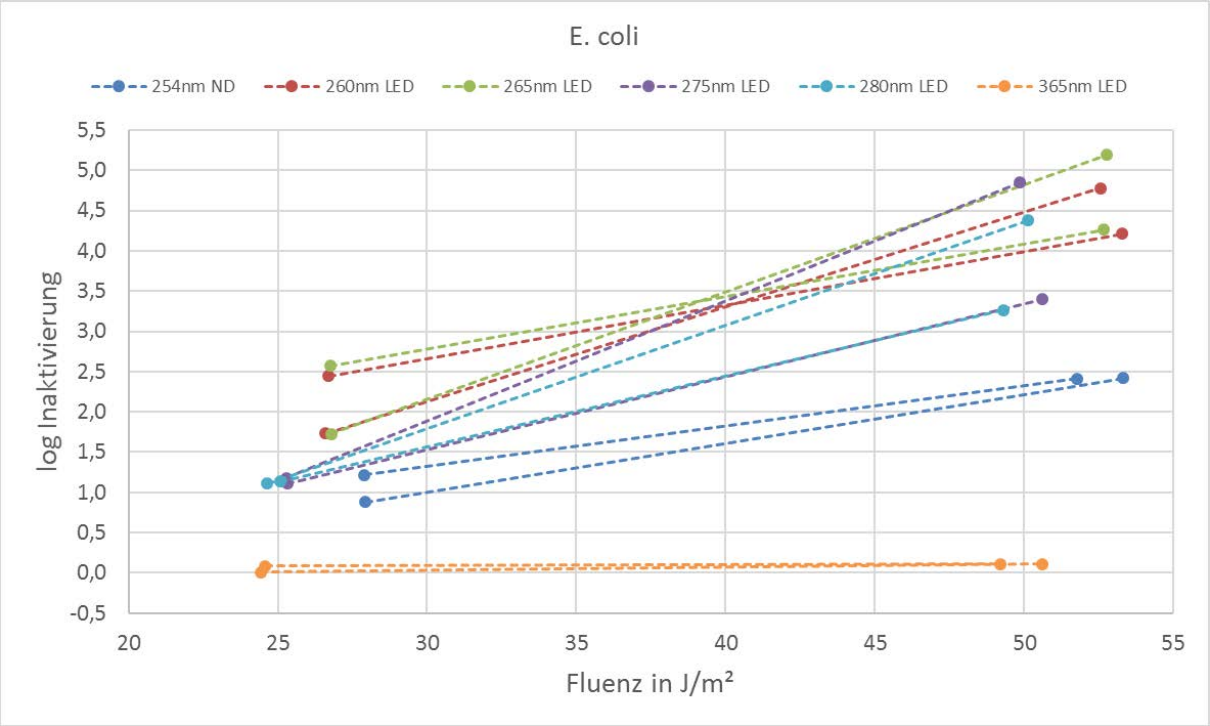


Abbildung 51: *Escherichia coli* Inaktivierungen

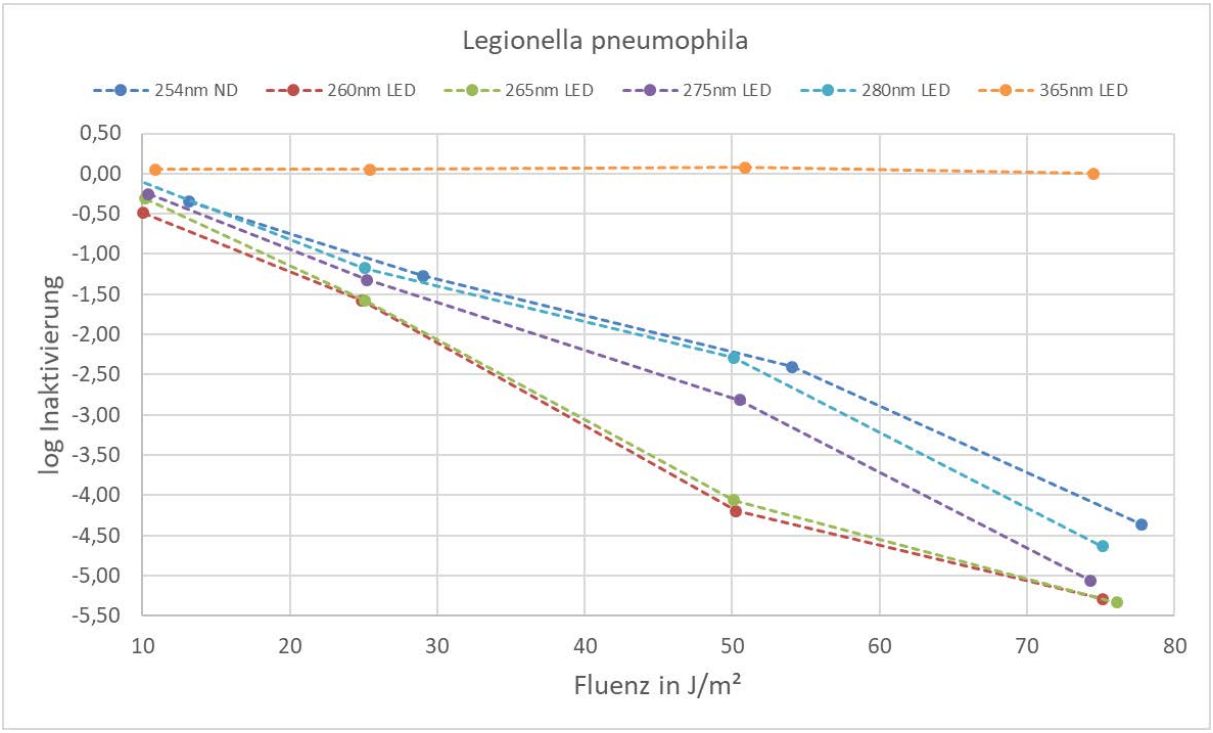


Abbildung 52: *Legionella pneumophila* Inaktivierungen

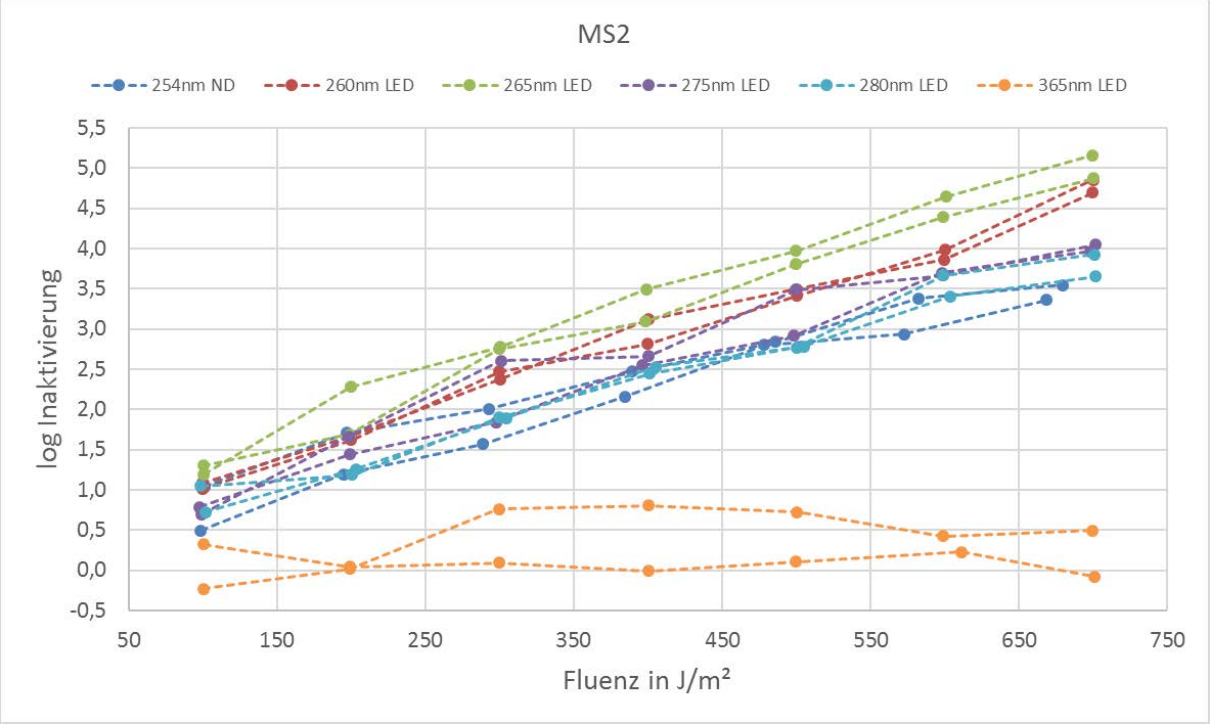


Abbildung 53: MS2 Inaktivierungen

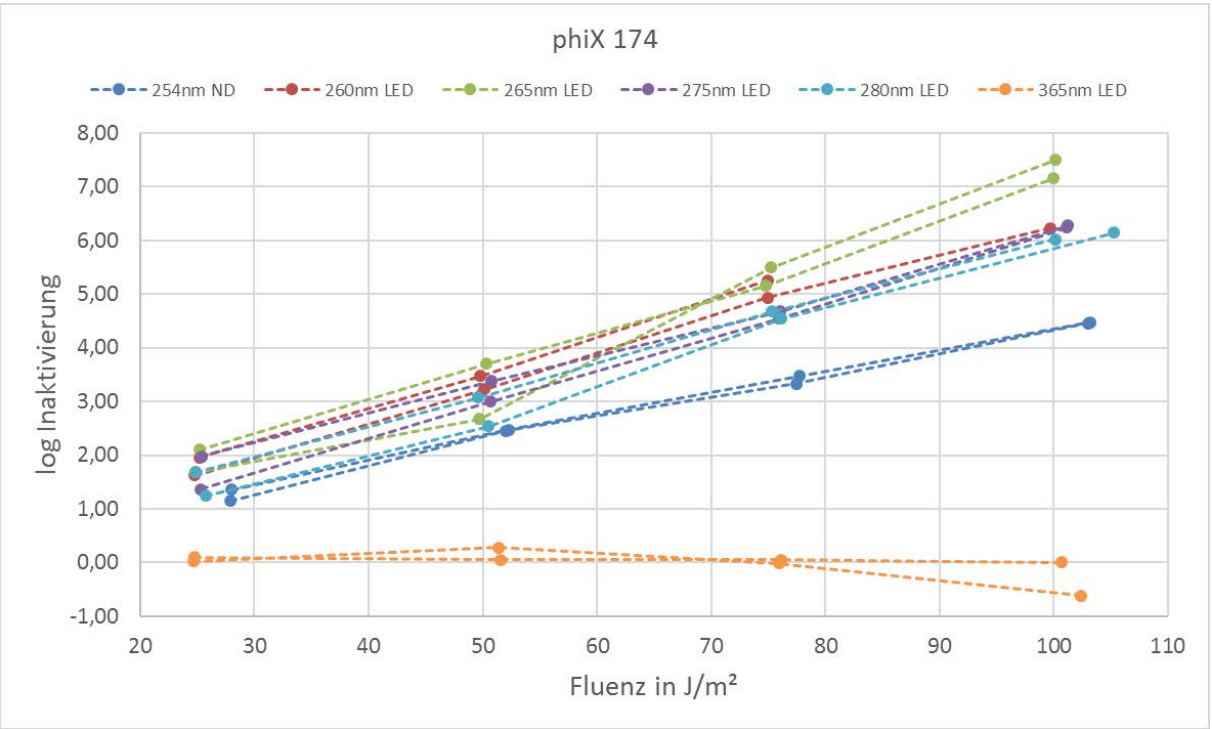


Abbildung 54: phiX 174 Inaktivierungen

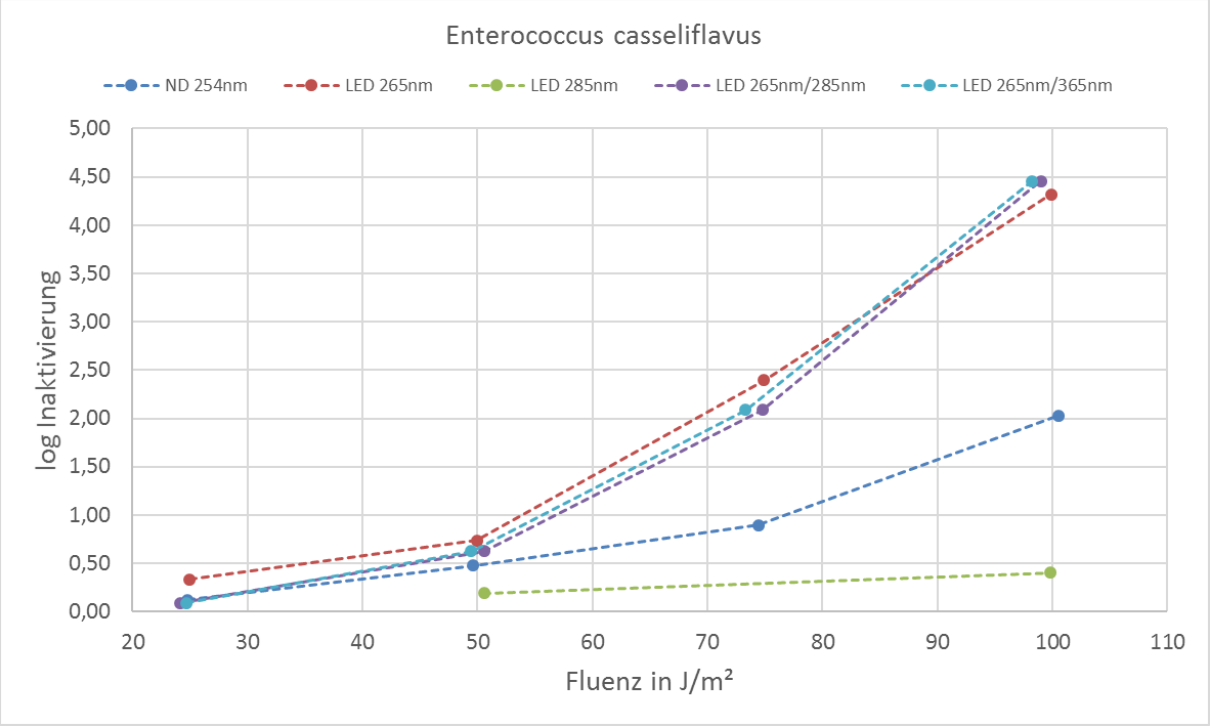


Abbildung 55: *Enterococcus casseliflavus* Inaktivierungen

Zusammenfassend ist für alle durchgeführten Inaktivierungen zu sagen, dass LEDs mit Emissionswellenlängen von 265 nm die höchsten Inaktivierungswerte erreichen. 260 nm sind i.A. gleichauf (*E. coli, Legionella pneumophilia*) oder leicht schlechter (MS2 Inaktivierungen Kombiniert mit einer Abnahme der Effizienz der LEDs zu geringeren Wellenlängen, sowie schnellerem Altern und höheren Produktionskosten ist derzeit kein Vorteil von 260 nm gegenüber 265 nm zu erkennen.

280 nm und 275 nm LEDs weisen eine meist deutlich höhere mikrobizide Wirksamkeit auf als der bei 254 nm emittierende ND-CB (*Enterococcus faecalis, Bacillus subtilis*), jedoch niedriger als 265 und 260 nm (MS2, *Legionella pneumophilia*). Hier ist jedoch entsprechend der vorherigen Aufzählung bisher ein technischer Vorteil bei den höheren Wellenlängen zu sehen in Bezug auf UV-Leistung, Effizienz und Lebensdauer. Bisher werden in ersten auf dem Markt erhältlichen Desinfektionsgeräten bevorzugt LEDs mit 280 nm Emissionswellenlänge eingesetzt, da hiermit ein guter Kompromiss zwischen Kosten/Leistung und mikrobiologischer Effizienz erhalten wird.

Inaktivierungen mit LEDs der 285 nm Wellenlängen zeigen eine starke Abnahme der Desinfektionswirksamkeit im Vergleich zu kurzwelligeren Wellenlängen, so dass deren Einsatz nicht zu empfehlen ist. Dies kann damit begründet werden, dass die Sensitivität von MO gegenüber UV-Strahlung in diesem Bereich schon deutlich geringer wird. Kombiniert mit der Halbwertsbreite von ca. 12 nm liegt damit ein großer Teil des gesamten UV-Outputs außerhalb des effektiven Bereichs.

Abbildung 56 zeigt eine graphische Darstellung der von Beck et al. (Beck, 2015) erhaltenen Forschungsergebnisse. Das beobachtete spektrale Verhalten bei obigen Bestrahlungen ist auch hier deutlich zu erkennen. Die größte Empfindlichkeit für die in der Studie untersuchten, trinkwasserrelevanten MO liegt i.A. zwischen 260 und 270 nm während sie bei 285 nm in einer deutlich abnehmenden Flanke liegt.

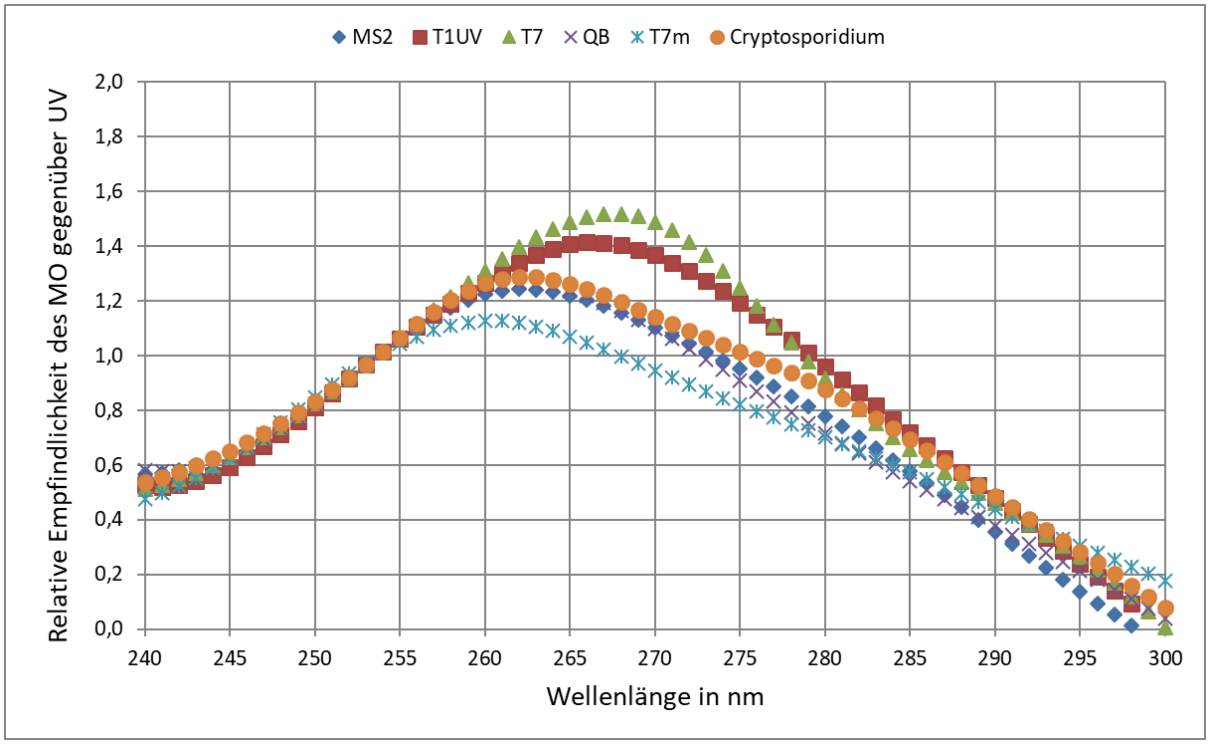


Abbildung 56: UV-Empfindlichkeit von ausgesuchten Mikroorganismen, normiert auf 254 nm

2. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Die erzielten Projektergebnisse waren nur durch die intensive Zusammenarbeit der Verbundpartner möglich. Die Projektlaufzeit für das am TZW angesiedelte Teilprojekt wurde um zwei Monate kostenneutral verlängert, um dem TZW wegen verspäteter Lieferung des LED-Reaktors Zeit zu geben der im Projektantrag dargelegten Planung zu folgen. Alle im Arbeitsplan formulierten Aufgaben und Arbeitspakete konnten somit erfolgreich bearbeitet werden.

3. Voraussichtlicher Nutzen

Die gewonnenen Ergebnisse der umfangreichen Inaktivierungsversuche an unterschiedlichen Mikroorganismen zur mikrobiziden Effizienz unterschiedlicher Wellenlängen und Wellenlängenkombinationen fließen direkt in die im Rahmen des Folgeprojekts ELEDWa aufzubauenden LED-basierten Desinfektionsgeräte ein. Weiterhin sind die erzielten Ergebnisse zur Wellenlängenabhängigkeit u.a. von großer Relevanz für die im Rahmen des Advanced UV for Life Konsortiums derzeit in Bearbeitung befindlichen Projekte zur Dekontamination technischer Oberflächen in der Lebensmittelverarbeitung (KONTRA), Luftentkeimung und -reinigung für Kühlfahrzeuge (LuReK) und zur validierten Aufbereitung thermolabiler Endoskope (ValEndUV).

Auch in die Erarbeitung einer nationalen Prüfnorm (DIN-Norm) für UV-LED-basierte Desinfektionsgeräte werden die im Rahmen des durchgeführten Projekts gewonnenen Erkenntnisse einfließen. Eine weitere wirtschaftliche Verwertung der Ergebnisse durch das TZW ist nicht vorgesehen, diese obliegt den Industriepartnern Xylem und Purion.

4. Fortschritt auf dem Gebiet des Vorhabens bei anderen Stellen

In Japan wurde in 2018 eine UV-LED Validation Guideline durch das JWRC veröffentlicht. Auch in den USA ist die Erarbeitung einer Validation Guideline in 2018 angelaufen. Weiterhin wurde das technische Regelwerk NSF 55, welches bislang ausschließlich für UV-Niederdruck basierte Desinfektionsgeräte Gültigkeit hatte, um alternative Strahlungsquellen u.a. LEDs erweitert; mit der Veröffentlichung wird in Kürze gerechnet.

Im Verlauf des Projektes wurden von einigen Herstellern PoU-Geräte auf den Markt gebracht oder werden zumindest beworben: In diesem Zusammenhang sind beispielsweise Acuva, HCEN und Aquisense zu nennen. Im Falle von Acuva wird mit NSF 55 zertifizierter biologischer Wirkung nach Class B sowie technischen Prüfungen geworben. Ein belastbares System für die Überwachung der Desinfektionswirksamkeit im laufenden Betrieb wurde bisher jedoch nicht vorgestellt.

Die Firmen Typhon und MetaWater bewerben seit 2017 großtechnische LED-Desinfektionsanlagen auf ihren Homepages. Über biodosimetrische oder Lebensdauer Untersuchungen ist bisher nichts bekannt.

5. Erfolgte oder geplante Veröffentlichungen der Ergebnisse

Erfolgt:

- T. Schwarzenberger, A. Neuner, J. Glaab, J. Eggers, „UVC LED: Bench Scale Irradiation of Microorganisms with Various Wavelengths“. IUVA World Congress, Vancouver, Februar 2016.
- T. Schwarzenberger, „UV Desinfektion: Betrieb und zukünftige Entwicklungen in der UV-Technologie“. TZW-Kolloquium, Karlsruhe, November 2016.
- T. Schwarzenberger, A. Neuner, T. Westerhoff, J. Eggers, „Development of UVC LED Modules for Bench Scale Irradiation Experiments“. IUVA World Congress, Dubrovnik, September 2017.
- T. Schwarzenberger, „Alternative UV-Strahlungsquellen für die Wasserbehandlung“. Innovationsforum Baden, September 2017.
- J. Eggers, „UV Light for Water Treatment: Applications and Challenges“. Empowering Photonics Regional Event, Berlin, Oktober 2017.
- J. Eggers, „UV LED Systems: Reflections on validation testing“. ICULTA Conference, Berlin, April 2018.
- K.-H. Schön, T. Schwarzenberger, J. Eggers, „Why and how to characterize LEDs? Part 1: Test protocols, aging and temperature dependency“. ICULTA Conference, Berlin, April 2018.
- T. Schwarzenberger, K.-H. Schön, J. Eggers, „Why and how to characterize UVC LED? Part 2: Measurement of directivity and UVC output“. ICULTA Conference, Berlin, April 2018.
- J. Eggers, T. Schwarzenberger, K.-H. Schön, Quantensprung durch UV-LED-Technologie in der Trinkwasserdesinfektion? In: Impuls zu aktuellen Wasserthemen. Veröffentlichungen aus dem Technologiezentrum Wasser 85, ISSN 1434-5765, 69-85 (2018).
- K.-H. Schön, T. Schwarzenberger, J. Eggers, “Vom Labor zum Reaktor – Einsatz von UVC-LEDs zur Trinkwasserdesinfektion“, DAfP-Symposium, Braunschweig, Juni 2019.

6. Literatur

Aquionics UV-Pearl Operations & Maintenance Manual. (April 2012).

Batoni, P., Pagan, J., Harris, T., Lawal, O., Linden, K., Bartow, C., & Beck, S. (2012). Early adoption of UV-C light emitting diode technology for water disinfection. *IUVA News 14 (3)*, S. 18-22.

Beck, S. E. (2015). Action spectra for validation of pathogen disinfection im medium-pressure ultraviolet systems. *Water Research 70*, S. 27-37.

Bolton, J. R., & Linden, K. G. (2003). Standardization of methods for fluence (UV dose) determination in bench-scale UV experiments. *J. Environ. Eng. 129*, S. 209-215.

Bolton, J. R., Beck, S., & Linden, K. G. (2015). Protocol for the determination of fluence (UV dose) using a low-pressure or low-pressure high-output UV lamp in bench-scale collimated beam ultraviolet experiments. *IUVA News 17 (1)*, S. 11-17.

Bowker, C., Sain, A., Shatalov, M., & Ducoste, J. (2011). Microbial UV fluence-response assessment using a novel UV-LED collimated beam system. *Water Research 45*, S. 2011-2019.

Cabaj, A., Sommer, R., Pribil, W., & Haider, T. (2002). The spectral UV sensitivity of microorganisms used in biodosimetry. *Water Science and Technology: Water Supply 2 (3)*, S. 175-181.

Chatterley, C., & Linden, K. (2010). Demonstration and evaluation of germicidal UV-LEDs for point-of-use water disinfection. *Journal of Water and Health 08.3*, S. 479-486.

Chen, R. Z., Craik, S. A., & Bolton, J. R. (2009). Comparison of the action spectra and relative DNA absorbance spectra of microorganisms: Information important for the determination of germicidal fluence (UV dose) in an ultraviolet disinfection of water. *Water Research 43*, S. 5087-5096.

Chevrefils, G., Caron, E., Wright, H., Sakamoto, G., Payment, P., Barbeau, B., & Cairns, B. (März 2006). UV dose required to achieve incremental log inactivation of bacteria, protozoa and viruses. *IUVA News 8 (1)*, S. 38-45.

DIN EN 14897. (2007). *Anlagen zur Behandlung von Trinkwasser innerhalb von Gebäuden - Geräte mit Quecksilberdampf-Niederdruckstrahlern - Anforderungen an Ausführung, Sicherheit und Prüfung; Deutsche Fassung EN 14897:2006+A1:2007*.

DIN EN ISO 10705-2. (2002). *Wasserbeschaffenheit - Nachweis und Zählung von Bakteriophagen - Teil 2: Zählung von F-spezifischen RNA-Bakteriophagen (ISO 10705-1:1995); Deutsche Fassung EN ISO 10705-1:2001*.

DIN EN ISO 11731-2. (2008). *Wasserbeschaffenheit - Nachweis und Zählung von Legionellen - Teil 2: Direktes Membranfiltrationsverfahren mit niedriger Bakterienzahl (ISO 11731-2:2004); Deutsche Fassung EN ISO 11731-2:2008*.

DIN EN ISO 16266. (2008). *Wasserbeschaffenheit - Nachweis und Zählung von Pseudomonas aeruginosa - Membranfiltrationsverfahren (ISO 16266:2006); Deutsche Fassung EN ISO 16266:2008*.

DIN EN ISO 7899-2. (2000). *Wasserbeschaffenheit - Nachweis und Zählung von intestinalen Enterokokken - Teil 2: Verfahren durch Membranfiltration (ISO 7899-2:2000); Deutsche Fassung EN ISO 7899-2:2000*.

DVGW Arbeitsblatt W 294-1. (2006). *UV-Geräte zur Desinfektion in der Wasserversorgung; Teil 1: Anforderungen an Beschaffenheit, Funktion und Betrieb*. Wirtschafts- und Verlagsgesellschaft Gas und Wasser mbH, Bonn.

DVGW Arbeitsblatt W 294-2. (2006). *UV-Geräte zur Desinfektion in der Wasserversorgung; Teil 2: Prüfung von Beschaffenheit, Funktion und Desinfektionswirksamkeit*. Wirtschafts- und Verlagsgesellschaft Gas und Wasser mbH, Bonn.

DVGW Arbeitsblatt W 294-3. (2006). *UV-Geräte zur Desinfektion in der Wasserversorgung; Teil 3: Messfenster und Sensoren zur radiometrischen Überwachung von UV-Desinfektionsgeräten; Andorderungen, Prüfung und Kalibrierung*. Wirtschafts- und Verlagsgesellschaft Gas und Wasser mbH, Bonn.

Gates, F. L. (1930). A study of the bactericidal action of ultra violet light III. The absorption of ultra violet light by bacteria. *The Journal of General Physiology*, S. 31-42.

Hijnen, W. A., Beerendonk, E. F., & Medema, G. J. (2006). Inactivation credit of UV radiation for viruses, bacteria and protozoan (oo)cysts in water: A review. *Water Research 40*, S. 3-22.

Kneissl, M., Kolbe, T., Würtele, M., & Hoa, E. (2010). *Techneau Development of UV-LED Disinfection.* Integrated Project Funded by the European Commission 2007.

Knight, G. (2014). Characterization of UV light emitting diodes for water disinfection. *IUVA Americas Regional Conference.* White Plains, NY.

Kuhn, H. J., Braslavsky, S. E., & Schmidt, R. (2004). Chemical Actinometry (IUPAC Technical Report). *Pure Appl. Chem. 76 (12)*, S. 2105-2146.

Linden, K. G., Wright, H. B., Collins, J., Cotton, C., & Beck, S. E. (2015). Guidance for implementing action spectra correction with medium pressure UV disinfection. *Water Research Foundation*, S. 1-121.

Mamane-Gravetz, H., & Linden, K. G. (2004). UV disinfection of indigenous aerobic spores: implications for UV reactor validation in unfiltered waters. *Water Research 38*, S. 2898-2906.

Mamane-Gravetz, H., Linden, K., Cabaj, A., & Sommer, R. (2005). Spectral sensitivity of Bacillus subtilis spores and MS2 coliphage for validation testing of ultraviolet reactors for water disinfection. *Environ. Sci. Technol. 39*, S. 7845-7852.

Moeller, R., Douki, T., Rettberg, P., Reitz, G., Cadet, J., Nicholson, W. L., & Horneck, G. (2010). Genomic bipyrimidine nucleotide frequency and microbial reactions to germicidal UV radiation. *Arch Microbiol 192*, S. 521-529.

NSF Joint Committee on Drinking Water Treatment Units. (August 2009). NSF/ ANSI 55 - 2009. *Ultraviolet Microbiological Water Treatment Systems*. NSF International.

Oguma, K., Katayama, H., & Ohgaki, S. (2004). Photoreactivation of Legionella pneumophila after inactivation by low- or medium-pressure ultraviolet lamp. *Water Research 38*, S. 2757-2763.

ÖNORM M 5873-1&2. (2001). *Anlagen zur Desinfektion von Wasser mittels Ultraviolett-Strahlen; Anforderungen und Prüfung; Teil 1: Anlagen mit Quecksilberdampf-Niederdruckstrahlern*. Österreichisches Normungsinstitut, Wien.

Sommer, R. C. (1993). Evaluation of the efficiency of a UV plant for drinking water disinfection. *Water Science and Technology 27 (3-4)*, S. 357-362.

TrinkwV. (2001). *Verordnung über die Qualität von Wasser für den menschlichen Gebrauch*.

Ultraviolet Disinfection Guidance Manual. (November 2006). *Pirnie, M. Inc., Carollo Engineers, The Cadmus Group, Linden, K. G., Malley, J. P.* U. S. Environmental Protection Agency Office of Water.

Vermeulen, N., Keeler, W. J., Nandakumar, K., & Leung, K. T. (Februar 2008). The bactericidal effect of ultraviolet and visible light on Escherichia coli. *Biotechnology and Bioengineering 99 (3)*, S. 550-556.

Vilhunen, S., & Sillanpää, M. (2010). Recent developments in photochemical and chemical AOPs in water treatment: a mini review. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol. 9*, S. 323-330.

Vilhunen, S., Särkkä, H., & Sillanpää, M. (2009). Ultraviolet light-emitting diodes in water disinfection. *Environ. Sci. Pollut. Res. 16*, S. 439-442.

Wang, T., MacGregor, S. J., Anderson, J. G., & Woolsey, G. A. (2005). Pulsed ultra-violet inactivation spectrum of Escherichia coli. *Water Research 39*, S. 2921-2925.

Wilson, B. R. (1992). Coliphage MS-2 as a UV water disinfection efficacy test surrogate for bacterial and viral pathogens. *Proceedings, Water Quality Technology Conference* (S. 219-235). Toronto, Canada: Amer. Wat. Works Assoc., Denver, Co.

Wright, H., Mackey, E. D., Gaithuma, D., Fonseca, C., Baumberger, L., Dzurny, T., Gribbin, C. (2007). Optimization of UV disinfection. *Awwa Research Foundation and NYSERDA*, S. 1-380.

Würtele, M. A., Kolbe, T., Lipsz, M., Külberg, A., Weyers, M., Kneissl, M., & Jekel, M. (2011). Application of GaN-based ultraviolet-C light emitting diodes - UV LEDs - for water disinfection. *Water Research 45*, S. 1481-1489.