

Deutsche Bundesstiftung Umwelt

Abschlußbericht:

**Moringa-Projekt: Umweltfreundliche Trinkwasser-
aufbereitung durch den Einsatz von Samen des
Moringa oleifera / Meerrettichbaum**

Az: 07841

o. Prof. Dr.-Ing. U. Rott

Dr.-Ing. H.-P. Haug

staatl. gepr. Lebensmittelchemiker E. Schüle

**Institut für
Siedlungswasserbau, Wassergüte- und Abfallwirtschaft
Universität Stuttgart**

Projektbeginn: 1. 4. 1996

Projektlaufzeit: 12 Monate

Stuttgart 1997



11/95			Projektkennblatt der Deutschen Bundesstiftung Umwelt		
Az	07841	Referat	32/0	Fördersumme	80.000,00 DM
Antragstitel		Moringa Projekt: Umweltfreundliche Trinkwasseraufbereitung durch den Einsatz von Samen des Moringa oleifera/Meerrettichbaums			
Stichworte		Wasser, Verfahren, Mikrobiologie, Ökotoxikologie			
	Laufzeit	Projektbeginn	Projektende	Projektphase(n)	
	12 Monate	01.04.1996	31.03.1997	1	
Zwischenberichte					
XX					
Bewilligungsempfänger		Universität Stuttgart Institut für Siedlungswasserbau, Wassergüte- und Abfallwirtschaft		Tel (07 11) 6 85-37 11 Fax (07 11) 6 85-37 29	
		Bandtäle 2 70569 Stuttgart		Projektleitung Prof. Dr.-Ing. U. Rott	
				Bearbeiter Dr.-Ing. H.-P. Haug	
Kooperationspartner		Herr Dr. S. Gyadu, Erlangen			
Zielsetzung und Anlaß des Vorhabens					
<p>Untersuchung über die Anwendung des Moringa-Pulvers im Hinblick auf seine entkeimende Wirkung bei der Aufbereitung von Wasser, wobei in Laborversuchen die Wirkungsprinzipien und die unterschiedlichen Einflüsse untersucht werden, die in Bezug auf die Entkeimung von Bedeutung sind. Die übergeordneten Ziele sind dabei im verbesserten Schutz der Bevölkerung vor wasserbedingten Infektionen, die Entlastung der Umwelt von Desinfektionschemikalien und deren Reaktionsprodukten sowie die Schonung und Erneuerung der Ressourcen.</p>					
Darstellung der Arbeitsschritte und der angewandten Methoden					
<p>Mit dem Forschungsvorhaben soll untersucht werden, unter welchen Bedingungen und mit welchem Aufwand eine Entkeimung unterschiedlicher Rohwässer durch Einsatz von Pulver aus den Samen des Meerrettichbaumes (<i>Moringa oleifera</i>) möglich ist, welche Wirkungsprinzipien daran beteiligt sind und welche Schlußfolgerungen sich daraus für mögliche Aufbereitungsverfahren ergeben.</p> <p>Dazu wird in Laborversuchen Moringapulver in verschiedene Rohwasserarten eingemischt, gerührt, sedimentiert und der Überstand anschließend filtriert. Das Überstandswasser, das Filtrat, die Sedimente sowie der Filtrerrückstand werden sodann auf mikrobiologische Parameter untersucht, wobei sowohl das Überstandswasser wie auch das Filtratwasser nach längerer Lagerungszeit erneut auf Keimzahlen und -arten untersucht werden.</p> <p>Die folgenden Rohwasserarten sollen untersucht werden: wenig belastetes Rohwasser, mit Kläranlagenablauf belastetes Rohwasser, wenig belastetes Seewasser, Wasser aus Regenwasserzisternen. Als Einflüsse sollen die die Moringadosierung, deren Einmischung, Kontaktzeit und Abtrennung sowie die Pulverherstellung, Pulverfeinheit und Lagerungsdauer variiert werden.</p>					
Deutsche Bundesstiftung Umwelt • An der Bornau 2 • 49090 Osnabrück • Tel 0541/9633-0 • Fax 0541/9633-190					

Ergebnisse und Diskussion

Bei der Behandlung der verschiedenen Rohwässer mit Pulver aus Samen des *Moringa oleifera* wurde festgestellt, daß in jedem Fall eine **entkeimende Wirkung** gegeben war. Die entkeimende Wirkung **war umso höher, je trübstoffreicher** das Rohwasser war. Die entkeimende Wirkung war jedoch innerhalb eines halben Tages auch bei gefiltertem Wasser durch **Wiederverkeimung** aufgehoben. Nach einem Tag Standzeit überschritt die Keimzahl den ursprünglichen Wert und sogar den Wert einer entsprechenden Blindprobe.

Im einzelnen wurde untersucht, ob die **Zubereitung** und **Dosierung** des Moringapulvers einen Einfluß auf dessen entkeimende Wirkung besitzt. In einer ersten Testreihe wurde geprüft, ob das zeit- und arbeitsaufwendige Entfernen der **Samenhülle** vor der Pulverisierung des Samens notwendig ist. Die Ergebnisse zeigen eindeutig, daß die flockende und entkeimende Wirkung des Moringapulvers aus Samen mit Hüllen drastisch geringer ist als ohne Hüllen. Die **Entfernung potentieller Störstoffe** aus dem Moringapulver durch Extraktion erbrachten keine signifikante Verbesserung der Keimzahlreduktion. Untersuchungen zur **Stabilität der Wirkstoffe** von *Moringa oleifera* führten zu dem Ergebnis, daß erst eine längere Lagerzeit bei erhöhten Temperaturen (60°C, 97°C) einen negativen Einfluß auf die keimzahlreduzierende Wirkung des Moringapulvers besitzt. Hingegen läßt die keimzahlreduzierende und flockende Wirkung einer Moringasuspension rasch nach.

Inwieweit die entkeimende Wirkung auf den **Flockungseffekt** zurückzuführen ist wurde durch Vergleich mit den konventionellen Flockungsmitteln Aluminiumsulfat und Eisenchlorid untersucht. Die Ergebnisse zeigen, daß die Flockung mit Moringapulver länger dauert als mit chemischen Flockungsmitteln und die Resttrübung höher ist, wobei jedoch bei höherer Anfangstrübung die Resttrübung geringer wird. Trotz der höheren Resttrübung des mit Moringapulver geflockten Wassers entspricht dessen Restkeimgehalt dem mit Eisenchlorid behandelten Wassers und ist geringer als beim mit Aluminiumsulfat behandelten Wasser. Die durch Behandlung mit Moringapulver erzielte Keimzahlreduktion war bei trübstoffreichen Wässern deutlich höher als bei trübstoffarmen Wässern wie dem Ablauf der Nachklärung. Dies verdeutlicht, daß die Flockungswirkung der Moringasamen der entscheidende Faktor für das Ausmaß der Keimzahlreduktion ist. Auch die in der Literatur beschriebene teilweise deutlich höhere Keimzahlreduktion ist wohl auf die in diesen Versuchen eingesetzten Wässer mit sehr viel höherem Trübstoffgehalt zurückzuführen.

Der in den Samen des *Moringa oleifera* nachgewiesene **bakterizide Wirkstoff** hat nach unseren Untersuchungen bei den üblichen Anwendungskonzentrationen gegenüber der flockenden Wirkung einen untergeordneten Einfluß auf die entkeimende Wirkung. Dies geht schon aus der Tatsache hervor, daß eine den optimalen Wert überschreitende höhere Moringakonzentration zu einer geringeren Entkeimung führt. Darauf weist auch die beobachtete **Wiederverkeimung** hin, die bereits nach Stunden einsetzt, innerhalb eines halben Tags zur ursprünglichen Keimzahl führt und nach mehreren Tagen im Gegensatz zum Blindwert diesen um bis zu drei Zehnerpotenzen übersteigt. Ursache für den Effekt der Wiederverkeimung wird der Gehalt an organischer Substanz des Moringapulvers sein. Allerdings liegt diese zum großen Teil in nicht leicht abbaubarer Form vor, wie Untersuchungen zum BSB/CSB-Verhältnis zeigen.

Eine spezifische Wirkung von Moringapulver auf einzelne Bakteriengruppen konnte nicht festgestellt werden. Die gute flockende Wirkung des Moringapulvers besonders bei hohem Trübstoffgehalt hat zu der Überlegung geführt, dieses im Bereich der **Lebensmitteltechnologie** einzusetzen, da Moringasamen in den Ursprungsländern selbst als Lebensmittel Verwendung findet und die bei der Fällung entstehenden Fällungsschlämme leichter weiterzuverwerten wären als die chemischen Fällungsschlämme. Untersuchungen mit Hefesuspensionen waren erfolgreich und haben gezeigt, daß keine toxische Wirkung auf die Hefezellen ausging.

Öffentlichkeitsarbeit und Präsentation

Zur Verbreitung der Ergebnisse der Untersuchung ist eine Veröffentlichung in einer Fachzeitschrift sowie im Jahresbericht des Instituts vorgesehen. Ebenso ist geplant, darüber in einer Vortragsveranstaltung zu berichten.

Fazit

Bei den im Projekt durchgeführten Untersuchungen stellte sich heraus, daß durch den Einsatz von Moringapulver zur **Aufbereitung von Rohwasser** eine Reduktion der Keimzahlen erzielt werden kann. Die Reduktion ist umso höher, je trübstoffreicher das Wasser ist. Durch weitere Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, daß die Entkeimung im wesentlichen auf den Flockungseffekt des Moringapulvers zurückzuführen ist. Da die Rohwasserquellen in Deutschland meist relativ trübstoffarm sind, wird dieses Verfahren zur Wasserentkeimung hier **kaum in Frage** kommen, zumal die entkeimende Wirkung nach wenigen Stunden bzw. Tagen durch verstärkte Wiederverkeimung aufgehoben und diese sogar noch gefördert wird.

Die Verwendung des Moringapulvers zu Fällungszwecken in der **Lebensmittelindustrie** scheint aussichtsreicher zu sein, da *Moringa* selbst Lebensmittel ist und so eine biologische und umweltfreundliche Alternative zu chemischen Flockungsmitteln und deren Abfallproblematik darstellt.

INHALTSVERZEICHNIS

1 ZUSAMMENFASSUNG	1
2 ANLAß UND ZIELSETZUNG DES PROJEKTS	4
3 DIE PFLANZE <i>MORINGA OLEIFERA</i>	7
3.1 Moringaceae	8
3.2 Zusammensetzung und Verwendungszweck von <i>Moringa oleifera</i>	8
3.3 Chemie der Inhaltsstoffe von <i>Moringa oleifera</i>	9
3.3.1 Flockungswirkstoffe	9
3.3.2 Isothiocyanate	10
3.4 Antibakterielle Wirkung von <i>Moringa oleifera</i>	11
3.5 Wirkung der Samen von <i>Moringa oleifera</i> auf andere Organismen	13
3.5.1 Zusammenhänge zwischen Flockung mit <i>Moringa oleifera</i> und <i>Schistosoma mansoni</i> cercariae	13
3.5.2 Toxische Auswirkungen von <i>Moringa oleifera</i> Samen auf Protozoen	14
4 FLOCKUNGPROZESSE UND IHRE BEDEUTUNG FÜR DIE WASSERAUFBEREITUNG	15
4.1 Eigenschaften suspendierter Partikel	15
4.2 Flockungsvorgänge	17
5 EXPERIMENTELLER TEIL	19
5.1 Beschreibung der eingesetzten Wasserarten	19
5.2 Vergleich der keimzahlreduzierenden Wirkung von Samen von <i>Moringa oleifera</i> mit und ohne Hülle	19
5.2.1 Wasseruntersuchungen mit Suspensionen von Moringasamen ohne Hülle	20
5.2.2 Wasseruntersuchungen mit Suspensionen von Moringasamen mit Hülle	23
5.2.3 Zusammenfassung der Ergebnisse	24
5.2.4 Vergleich der Anwendung von Moringasamen mit und ohne Hülle	24
5.2.5 Untersuchungen zum Einfluß von Flockungsprozessen auf die Keimzahlreduktion	27

5.3 Vergleich der Flockungswirkung von <i>Moringa oleifera</i> und konventionellen Flockungsmitteln	33
5.4 Untersuchung zur Keimzahlreduktion und Flockung beim Einsatz von entfetteten Moringasamen	36
5.4.1 Auswirkungen der Extraktion potentieller Störstoffe aus entfetteten Moringasamen auf deren keimzahlreduzierende Wirkung	40
5.4.2 Auswirkungen auf die Keimzahlreduktion durch mehrmalige Behandlung mit Moringasamen	41
5.5 Stabilitätsuntersuchung der Wirkstoffe von <i>Moringa oleifera</i>	42
5.5.1 Keimzahluntersuchung von NKB(Nachklärbecken)-Wasser mit Moringa Samen nach Lagerung bei 60°C	42
5.5.2 Untersuchung der Wirkungsänderungen von <i>Moringa oleifera</i> durch siedendes Wasser	44
5.5.3 Haltbarkeit von <i>Moringa oleifera</i> Suspensionen bezüglich ihrer keimzahlreduzierenden Wirkung und Flockungsaktivität.	45
5.6 Bestimmung des Zeitrahmens der Wiederverkeimung von moringabehandeltem Wasser	47
5.7 Auswirkungen der Behandlung mit <i>Moringa oleifera</i> Samen auf verschiedene Bakterien in einem Kläranlagenablauf	49
5.8 Bestimmung des Chemischen Sauerstoffsbedarfs CSB und Biochemischen Sauerstoffbedarfs BSB₅	52
5.8.1 Der Chemische Sauerstoffbedarf einer mit <i>Moringa oleifera</i> geflockten Wasserprobe	52
5.8.2 Der Biochemische Sauerstoffbedarf BSB ₅	53
5.9 CSB in Abhängigkeit von der Moringakonzentration	54
5.10 Flockungswirkung von <i>Moringa oleifera</i> Samen in einer Hefesuspension	56
6 ERGEBNISSE, DISKUSSION ÖFFENTLICHKEITSARBEIT UND FAZIT	60
6.1 Ergebnisse und Diskussion	60
6.2 Öffentlichkeitsarbeit und Präsentation	61
6.3 Fazit	62
7 LITERATURVERZEICHNIS	63

8 ANHANG	66
8.1 Methoden	66
8.1.1 Behandlung der Samen vor den Versuchsdurchführungen	66
8.1.2 Gesamtkeimzahlbestimmung mit Chromocult® Coliformen Agar	68
8.1.3 Extraktion des Öles der Samen von <i>Moringa oleifera</i>	68
8.1.4 Flockungsversuche	68
8.1.5 Biochemischer Sauerstoffbedarf	69
8.1.6 Chemischer Sauerstoffbedarf (CSB)	71
8.1.7 Herkunft der Samen	72
8.1.8 Untersuchte Wasserarten	72
8.2 Chemikalien	73
8.3 Geräte	74

Tabellenverzeichnis

<u>Tabelle 1:</u> Keimzahlen [KBE / ml] moringabehandelter Proben nach unterschiedlicher Lagerzeit und Lagertemperatur	21
<u>Tabelle 2:</u> Keimzahlen von Wasser, das mit einer Suspension aus Moringasamen mit Hülle behandelt wurde. ...	23
<u>Tabelle 3:</u> Gesamtkeimzahlen [Bakterien/ml] von moringabehandeltem Wasser	25
<u>Tabelle 4:</u> Trübungsmesswerte von moringageflocktem Wasser	28
<u>Tabelle 5:</u> Gesamtkeimzahlbestimmung [Bakterien/ml] nach Flockung des Wassers.....	29
<u>Tabelle 6:</u> Trübungsverlauf von moringabehandelten Wasserproben mit höherer Anfangstrübung	30
<u>Tabelle 7:</u> Zweite Keimzahlbestimmung [Bakterien/ml] von Wasserproben, die mit Samen von <i>Moringa oleifera</i> behandelt wurden	31
<u>Tabelle 8:</u> Untersuchung des Flockungsverlaufs bei Einsatz von <i>Moringa oleifera</i> und konventionellen Flockungsmitteln.....	34
<u>Tabelle 9:</u> Keimzahlen von mit Moringa oder mit chemischen Flockungsmitteln geflocktem Wasser	35
<u>Tabelle 10:</u> Vergleich der Keimzahlreduktion zwischen mit konventionellen Flockungsmitteln und mit Moringa behandeltem Wasser	35
<u>Tabelle 11:</u> Keimzahluntersuchung mit entfettetem Samen von <i>Moringa oleifera</i>	37
<u>Tabelle 12:</u> Keimzahluntersuchung nach Behandlung mit einem Filtrat und dem Filtratrückstand von entfettetem Samen von <i>Moringa oleifera</i>	37
<u>Tabelle 13:</u> Trübungsverlauf von moringabehandeltem Wasser in verschiedenen Konzentrationen und unterschiedlicher Art der Samenzugabe.....	38
<u>Tabelle 14:</u> Trübungsverlauf nach der Flockung von Teichwasser mit entfettetem Moringapulver	39
<u>Tabelle 15:</u> Gesamtkeimzahlen nach Einsatz einer mit Ethylacetat extrahierten Moringasuspension	40
<u>Tabelle 16:</u> Keimzahlreduktion nach zweimaliger Zugabe von Moringasamen zu einem Probewasser	41
<u>Tabelle 17:</u> Keimzahlbestimmung nach Lagerung der gemahlene Samen bei 60°C	43
<u>Tabelle 18:</u> Keimzahlen von Wasserproben, nach Behandlung mit bei 97°C inkubierten Moringasamen	44
<u>Tabelle 19:</u> Keimzahlen von NKB-Wasser, das mit gelagerten Suspensionen aus Moringasamen behandelt wurde.	46
<u>Tabelle 20:</u> Ergebnisse der Trübungsmessungen mit gelagerten Suspensionen aus Moringasamen.....	46
<u>Tabelle 21:</u> Ergebnisse der Keimzahlbestimmungen [Bakterien/ml].....	47
<u>Tabelle 22:</u> Reduktion verschiedener Bakterienstämme [Bakterien/ml] nach Moringabehandlung.....	50
<u>Tabelle 23:</u> Vergleich von CSB- Werten nach Flockung.....	52
<u>Tabelle 24:</u> CSB-Werte verschiedener Moringakonzentrationen in NKB-Wasser	54
<u>Tabelle 25:</u> Trübungsverlauf [TE/F] der Flockung von Hefesuspensionen unterschiedlicher Konzentrationen.....	56
<u>Tabelle 26:</u> Zeitlicher Verlauf einer mit verschiedenen Moringakonzentrationen geflockten Hefesuspension (c= 20g/l)	57
<u>Tabelle 27:</u> Trübungsverlauf [TE/F] von geflockten Hefesuspensionen in unterschiedlichen Konzentrationen.....	58

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Blätter, Blüten und Früchte von <i>Moringa oleifera</i> [Jahn, GTZ 1981]	7
Abbildung 2: Samen von <i>Moringa oleifera</i> mit und ohne Hülle	7
Abbildung 3: Struktur von Benzylisothiocyanat	10
Abbildung 4: Struktur von 4-(α -L-Rhamnosyloxy)-benzylisothiocyanat	10
Abbildung 5: Negativ geladenes Partikel, umgeben von positiv geladenen Ionen	16
Abbildung 6: Bakterienkonzentration bei Lagerungstemperatur des Probewassers von 10°C	22
Abbildung 7: Bakterienkonzentration bei Lagerungstemperatur des Wassers von 20°C	22
Abbildung 8: Vergleich zwischen Anwendung von Moringasamen mit Hülle und ohne Hülle	26
Abbildung 9: Vergleich des Trübungsrückgangs von Wasser, das mit Moringasamen mit und ohne Hülle behandelt wurde	27
Abbildung 10: Keimzahlen von geflocktem Probewasser nach Moringabehandlung (mit und ohne Hülle)	28
Abbildung 11: Trübungsverlauf von moringabehandelten Proben mit höherer Anfangstrübung	30
Abbildung 12: Einfluß von Lagerungszeit und -temperatur auf Keimzahlen moringabehandelter Proben	31
Abbildung 13: Trübungsverlauf: Vergleich von <i>Moringa oleifera</i> und herkömmlichen Flockungsmitteln	33
Abbildung 14: Trübungsverlauf: Vergleich der Flockung von Wasser mit verschiedenen Konzentrationen, dem Filtrat und Filtratrückstand von Moringapulver.	37
Abbildung 15: Trübungsverlauf von mit Moringasamenfiltratrückstand und -filtrat in verschiedenen Konzentrationen behandeltem Wasser	38
Abbildung 16: Keimzahlen nach Lagerung gemahlener Samen bei 60°C	42
Abbildung 17: Ausmaß der Wiederverkeimung moringabehandelter Proben	46
Abbildung 18: Bakterienverteilung in moringabehandeltem Wasser	49
Abbildung 19: CSB-Werte in Abhängigkeit von der Samenkonzentration	53
Abbildung 20: BSB, CSB und suspendierte Partikel (SS) in Abhängigkeit der Moringakonzentration nach Sutherland, 1995	54
Abbildung 21: Trübungsverlauf einer mit verschiedenen Moringakonzentrationen geflockten Hefesuspension	56

Abkürzungsverzeichnis

ATH.....	N- Allylthioharnstofflösung
BSB.....	Biochemischer Sauerstoffbedarf
c.....	Konzentration
CSB.....	Chemischer Sauerstoffbedarf
<i>E.coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
FTU	Formazine Turbidity Units
KBE.....	koloniebildende Einheit
LFKW.....	Lehr- und Forschungskläwerk
NaCl.....	Natriumchlorid
NKB.....	Nachklärbecken
NTU.....	Nephelometric Turbidity Units = TE/F
TE/F	Trübungseinheit /Formazin
Upm.....	Umdrehungen pro Minute

1 Zusammenfassung

Bei der Trinkwasseraufbereitung von Oberflächengewässern stellen Flockungs- und Entkeimungsprozesse zur Abtrennung von Trübstoffen und Entfernung von Mikroorganismen wesentliche Arbeitsschritte dar. Als Flockungsmittel werden Polyelektrolyte auf der Basis von Metallsalzen (Eisen-, Aluminiumchlorid) verwendet. Bei der anschließenden Filtration fallen hierbei metallsalzhaltige Schlämme an, die behandelt und entsorgt werden müssen. Durch Oxidation, Flockung und Filtration wird auch eine sehr weitgehende Entfernung von Mikroorganismen erreicht. Zum Schutz vor Wiederverkeimung im Zuge der Wasserverteilung erfolgt in der Regel noch eine Chlorung des aufbereiteten Wassers. Die Aufbereitung von Oberflächenwasser zu Trinkwasser bedingt somit erhöhte bauliche und verfahrenstechnische Anforderungen und erweist sich für kleine Versorgungseinheiten wie Streusiedlungen, dezentrale Einzelwasserversorgungsanlagen u.ä. als unwirtschaftlich. Weiterhin wird eine Verwertung der im Zuge von Flockung und Filtration anfallenden Schlämme aufgrund des erhöhten Metallgehaltes infolge der Flockungsmitteldosierung erschwert.

In Entwicklungsländern wird überwiegend Wasser aus Oberflächengewässern für die Trinkwasserversorgung verwendet. Die Aufbereitung von Oberflächenwasser zu hygienisch unbedenklichem Trinkwasser stellt hierbei insbesondere in ländlichen Gebieten ein technisches und finanzielles Problem dar. Um die Oberflächengewässer als Trinkwasser besser nutzen zu können, haben sich besonders in ländlichen Regionen traditionelle Reinigungsmethoden entwickelt, die sich einheimischer, nachwachsender, pflanzlicher Rohstoffe bedienen. Verwendung finden Samen, Blätter, Rinden oder Wurzeln einheimischer Pflanzen, die flockungsaktive Wirkstoffe beinhalten. Die Samen von *Moringa oleifera* (Meerrettichbaum), einer in tropischen Regionen weit verbreiteten und vielfältig genutzten Baumart, enthalten flockungsaktive Proteine sowie bakterizid und fungizid wirksame Senfölglycoside und werden in manchen Ländern traditionell zur Wasseraufbereitung aus Oberflächengewässern verwendet. In vielfältigen in der Literatur dokumentierten Untersuchungen wird die flockende und keimreduzierende Wirkung der Samen von *Moringa oleifera* beschrieben, jedoch geht aus diesen Arbeiten nicht klar hervor, inwieweit die Flockungswirkung oder aber die Wirkung bakterizider Inhaltsstoffe hierfür ursächlich ist. Die im Zuge von Flockungsprozessen erreichbare Reduktion von Mikroorganismen wird sehr stark von der Trübstoffmenge und dem Ausmaß der Flockenbildung bestimmt und somit nicht in jedem Rohwasser gleichermaßen erreichbar. Eine durch antibakterielle Inhaltsstoffe hervorgerufene Reduktion von Mikroorganismen dagegen wäre auch in trübstoffarmem Wasser gegeben und somit z.B. zur Entkeimung von Wasser

aus dezentralen Einzelwasserversorgungsanlagen, von Wasser aus Regenwasserzisternen, oder zur zeitweiligen Desinfektion von Abwassereinleitungen anwendbar.

Neben der Ressourcenschonung durch den Einsatz nachwachsender Rohstoffe, der Verbesserung der Verwertungsmöglichkeit der Fällungsschlämme durch biologisch abbaubare Flockungsmittel, sowie dem Ersatz von chlorhaltigen Chemikalien durch biologisch abbaubare Stoffe, wäre insbesondere bei der Anwendung in Entwicklungsländern eine Vermeidung unnötiger Transporte durch die Verwendung örtlich gewinnbarer Rohstoffe erreichbar.

Ziel dieses Forschungsvorhabens war, die Anwendung des Moringa-Pulvers im Hinblick auf seine keimreduzierende Wirkung bei der Wasseraufbereitung zu untersuchen, hierbei nach flockender, sowie antibakterieller Wirkung hinsichtlich der Keimreduktion zu differenzieren und Kriterien zur Anwendung abzuleiten.

Weiterhin sollte die Lagerfähigkeit, bzw. das Ausmaß der Wiederverkeimung eines mit Moringa-Pulver behandelten Wassers untersucht werden.

Hierzu wurden hinsichtlich Trübstoff- und Keimgehalt unterschiedliche Wasserarten mit pulverisiertem Moringasamen unter variierenden Verfahrensbedingungen und Anwendungsformen behandelt und die Auswirkungen auf Trübstoff- und Keimgehalt, sowie das Ausmaß der Wiederverkeimung nach unterschiedlich langer Lagerung des behandelten Wassers, durch Bestimmung der Koloniezahl untersucht, sowie hinsichtlich unterschiedlicher Bakterienstämme differenziert.

Weiterhin wurden Untersuchungen zu den Auswirkungen von hohen Temperaturen auf Flockungsaktivität und Keimzahlreduktion der Samen in unterschiedlichen Anwendungsformen durchgeführt, um die Lagerstabilität der Präparate zu ermitteln.

Da Flockungsprozesse in der Lebensmittel- und Biotechnologie sehr wichtige Arbeitsschritte darstellen, wurde die Flockungswirkung von *Moringa oleifera* auf Zellen der Hefe *Saccharomyces cerevisiae* beispielhaft für Einsatzmöglichkeiten in diesen Bereichen untersucht. Hierbei wurden mikroskopische Untersuchungen durchgeführt, um Aufschluß über toxische Auswirkungen der Samen auf die Hefezellen zu erhalten.

Die Untersuchungen bestätigten die keimreduzierende Wirkung des pulverisierten Samens von *Moringa oleifera*. Es wurde jedoch festgestellt, daß die keimreduzierende Wirkung mit zunehmendem Trübstoffgehalt des Rohwassers größer wurde. Der Vergleich mit chemischen Flockungsmitteln ergab, daß trotz des etwas langsamer verlaufenden Flockungsprozesses bei Behandlung mit Samen von *Moringa oleifera* vergleichbare Werte für Resttrübung und Restkeimgehalt im Vergleich zur Wasserbehandlung mit üblichen chemischen Flockungsmitteln wie Eisenchlorid, bzw. Aluminiumsulfat resultierten. Hieraus wird deutlich, daß die Flockungswirkung der Mo-

ringasamen der entscheidende Faktor für das Ausmaß der Keimzahlreduktion ist. Auch die in der Literatur beschriebene teilweise deutlich höhere Keimzahlreduktion ist wohl auf die in diesen Versuchen eingesetzten Wässer mit sehr viel höherem Trübstoffgehalt zurückzuführen. Ein Einsatz zur Keimreduktion bei trübstoffarmen Wässern erscheint somit nicht sinnvoll.

Der in den Samen von *Moringa oleifera* nachgewiesene bakterizide Wirkstoff hat nach diesen Untersuchungen bei den üblichen Anwendungskonzentrationen einen gegenüber der flockenden Wirkung untergeordneten Einfluß hinsichtlich der keimreduzierenden Wirkung. Ebenso konnte keine spezifische Wirkung des pulverisierten Samens von *Moringa oleifera* auf einzelne Bakterienstämme festgestellt werden.

Die Wiederverkeimungsrate war relativ hoch, nach einem Tag Standzeit des behandelten Wassers war die Koloniezahl wieder auf Ausgangsniveau bzw. höher als dieses. Es wurde festgestellt, daß durch die Behandlung mit *Moringa oleifera* lösliche organische Substanzen im behandelten Wasser verbleiben, was im Anstieg des chemischen Sauerstoffbedarfs deutlich wird und wohl die Ursache für die Wiederverkeimungstendenz darstellt.

Untersuchungen zur Art der Zubereitung des pulverisierten Samens von *Moringa oleifera* zeigten, daß die Entfernung der Samenhülle vor der Pulverisierung trotz des damit verbundenen Arbeitsaufwandes zu deutlich besseren Ergebnissen hinsichtlich Flockung und Entkeimung führt. Die Extraktion des Ölanteiles führte zu keiner signifikanten Erhöhung der Wirksamkeit.

Untersuchungen zur Stabilität der Wirkstoffe von *Moringa oleifera* ergaben, daß das Pulver auch bei Lagerung unter erhöhter Temperatur sehr viel weniger an Wirksamkeit verliert als bei entsprechender Lagerung von Suspensionen aus pulverisierten Samen von *Moringa oleifera*.

Aufgrund der festgestellten guten flockenden Wirkung des Moringapulvers besonders bei hohem Trübstoffgehalt wurden Untersuchungen hinsichtlich eines Einsatzes im Bereich der Bio- oder Lebensmitteltechnologie durchgeführt, da Moringasamen in den Ursprungsländern selbst als Lebensmittel Verwendung findet, und die bei der Fällung entstehenden Fällungsschlämme leichter weiterzuverwerten wären, als die chemischen Fällungsschlämme. Sehr trübe Hefesuspensionen mit >2000 TE/F konnten bei den Untersuchungen weitgehend, bis zu einer Endtrübung von 24 TE/F, geklärt werden, wobei eine gute Flockungswirkung festgestellt wurde. Weitergehende Untersuchungen der geflockten Hefezellen ergaben, daß das Moringapulver nur flockende, keine toxische Wirkung auf die Hefezellen ausübte.

2 Anlaß und Zielsetzung des Projekts

Oberflächengewässer wie Teiche, Seen und Flüsse besitzen einen gewissen Trübungsgrad, der durch teils suspendierte, teils kolloidal gelöste Stoffe hervorgerufen wird, wobei das Ausmaß dieser Trübung je nach Jahreszeit sehr unterschiedlich sein kann. Bei der Trinkwasseraufbereitung von Oberflächengewässern stellen Flockungs- und Entkeimungsprozesse zur Abtrennung von Trübstoffen und Entfernung von Mikroorganismen somit wesentliche Arbeitsschritte dar. Als Flockungsmittel werden Polyelektrolyte auf der Basis von Metallsalzen (Eisen-, Aluminiumchlorid) verwendet. Bei der anschließenden Filtration fallen hierbei metallsalzhaltige Schlämme an, die behandelt und entsorgt werden müssen. Durch Oxidation, Flockung und Filtration wird auch eine sehr weitgehende Entfernung von Mikroorganismen erreicht. Zum Schutz vor Wiederverkeimung im Zuge der Wasserverteilung erfolgt in der Regel noch eine Chlorung des aufbereiteten Wassers. Die Aufbereitung von Oberflächenwasser zu Trinkwasser bedingt somit erhöhte bauliche und verfahrenstechnische Anforderungen und erweist sich für kleine Versorgungseinheiten wie Streusiedlungen, dezentrale Einzelwasserversorgungsanlagen u.ä. als unwirtschaftlich. Weiterhin wird eine Verwertung der im Zuge von Flockung und Filtration anfallenden Schlämme aufgrund des erhöhten Metallgehaltes infolge der Flockungsmitteldosierung erschwert.

In Entwicklungsländern wird überwiegend Wasser aus Oberflächengewässern für die Trinkwasserversorgung verwendet. Die Aufbereitung von Oberflächenwasser zu hygienisch unbedenklichem Trinkwasser stellt hierbei insbesondere in ländlichen Gebieten ein technisches und finanzielles Problem dar. Um die Oberflächengewässer als Trinkwasser besser nutzen zu können, haben sich besonders in ländlichen Regionen traditionelle Reinigungsmethoden entwickelt, die sich einheimischer, nachwachsender, pflanzlicher Rohstoffe bedienen. Verwendung finden Samen, Blätter, Rinden oder Wurzeln einheimischer Pflanzen, die flockungsaktive Wirkstoffe beinhalten.

Neben den Samen von *Moringa oleifera* werden noch zahlreiche andere Pflanzen länderspezifisch für die Reinigung von Wasser eingesetzt, so z.B. auch die Samen von *Moringa peregrina*. Dieser Baum ist wie auch *Moringa oleifera* im Sudan beheimatet. Der Saft des in Peru vorkommenden Tunakaktus *Opuntia ficus indica* besitzt ebenfalls Flockungseigenschaften. Sowohl im Sudan wie auch in Nigeria wird die Rinde von *Boscia senegalensis* zur Klärung von Wasser verwendet. In Indien werden die Samen von *Strychnos potatorum* zur Trinkwasseraufbereitung genutzt. Bei der Trinkwasserreinigung beispielsweise im Sudan werden die Samen von *Moringa oleifera* geschält, zerkleinert und in einem Tuch in einem Wasseraufbereitungsgefäß

20 - 30 Minuten lang geschwenkt. Nach etwa zwei weiteren Stunden sind die Trübstoffe sedimentiert und das Wasser kann verwendet werden. Es werden etwa drei Samen für vier Liter Wasser benötigt, um klares Wasser zu erhalten.

Zum Teil konnten die für die Flockung verantwortlichen Bestandteile bereits isoliert werden. Die Zusammensetzung der Flockungswirkstoffe ist unterschiedlich. Bei *Moringa oleifera* und *M. stenopetala* handelt es sich z.B. um flockungsaktive Proteine. Bei den Opuntien beruht die Flockungsaktivität auf dem Vorhandensein von Schleimstoffen und es wird vermutet, daß Kohlenhydrate für diese flockende Wirkung verantwortlich sind.

Neben den Flockungswirkstoffen beinhalten die Samen von *Moringa oleifera* ein Senfölglycosid, dessen Struktur von Badgett [Fink, 1984] aufgeklärt wurde. Senföle ist der historisch bedingte Name für Isothiocyanate. Sie besitzen bakterizide und fungizide Wirkung. Untersuchungen von Eilert [Eilert *et al.*, 1981] und Barth [Barth *et al.*, 1982] beschreiben die keimhemmende Wirkung des *Moringa oleifera* Samens auf verschiedene Reinkulturen von Bakterien und Pilzen.

Aus der Vielzahl dieser in der Literatur dokumentierten Untersuchungen geht jedoch nicht klar hervor, inwieweit die durch Zugabe der pflanzlichen Produkte induzierte Flockung oder aber die antibakteriellen Inhaltsstoffe für die beschriebene Keimreduktion verantwortlich sind. Die im Zuge von Flockungsprozessen erreichbare Reduktion von Mikroorganismen wird sehr stark von der Trübstoffmenge und dem Ausmaß der Flockenbildung bestimmt und somit nicht in jedem Rohwasser gleichermaßen erreichbar. Eine durch antibakterielle Inhaltsstoffe hervorgerufene Reduktion von Mikroorganismen dagegen wäre auch in trübstoffarmem Wasser gegeben und somit z.B. zur Entkeimung von Wasser aus dezentralen Einzelwasserversorgungsanlagen, von Wasser aus Regenwasserzisternen, oder zur zeitweiligen Desinfektion von Abwassereinleitungen anwendbar.

Der Einsatz der Samen von *Moringa oleifera* steht hierbei unter folgender ökologischer Zielsetzung:

- Ressourcenschonung durch den Einsatz nachwachsender Rohstoffe
- Verbesserung der Verwertungsmöglichkeit der Fällungsschlämme durch biologisch abbaubare Flockungsmittel
- Ersatz von chlorhaltigen Chemikalien durch biologisch abbaubare Stoffe
- Verwendung örtlich gewinnbarer Rohstoffe mit Vermeidung unnötiger Transporte

Ziel dieses Forschungsvorhabens war, die Anwendung des Moringa-Pulvers im Hinblick auf seine keimreduzierende Wirkung bei der Wasseraufbereitung zu untersu-

chen. Es sollte festgestellt werden, ob die in der Literatur beschriebene Keimreduktion auf die Flockung oder die antibakterielle Wirkung der Inhaltsstoffe zurückzuführen ist, und bei welcher Rohwasserbeschaffenheit die Anwendung sinnvoll erscheint. Weiterhin sollte die Lagerfähigkeit, bzw. das Ausmaß der Wiederverkeimung eines mit Moringa-Pulver behandelten Wassers untersucht werden.

Hierzu wurden hinsichtlich Trübstoff- und Keimgehalt unterschiedliche Wasserarten mit pulverisiertem Moringasamen unter variierenden Verfahrensbedingungen und Anwendungsformen behandelt, und die Auswirkungen auf Trübstoff- und Keimgehalt, sowie das Ausmaß der Wiederverkeimung nach unterschiedlich langer Lagerung des behandelten Wassers, durch Bestimmung der Koloniezahl untersucht, sowie hinsichtlich unterschiedlicher Bakterienstämme differenziert.

Weiterhin wurden Untersuchungen zu den Auswirkungen von hohen Temperaturen auf Flockungsaktivität und Keimzahlreduktion der Samen in unterschiedlichen Anwendungsformen durchgeführt um die Lagerstabilität der Präparate zu ermitteln.

Da Flockungsprozesse in der Lebensmittel- und Biotechnologie sehr wichtige Arbeitsschritte darstellen, wurde die Flockungswirkung von *Moringa oleifera* auf Zellen der Hefe *Saccharomyces cerevisiae* beispielhaft für Einsatzmöglichkeiten in diesen Bereichen untersucht. Hierbei wurden mikroskopische Untersuchungen durchgeführt, um Aufschluß über toxische Auswirkungen der Samen auf die Hefezellen zu erhalten.

2 Die Pflanze *Moringa oleifera*

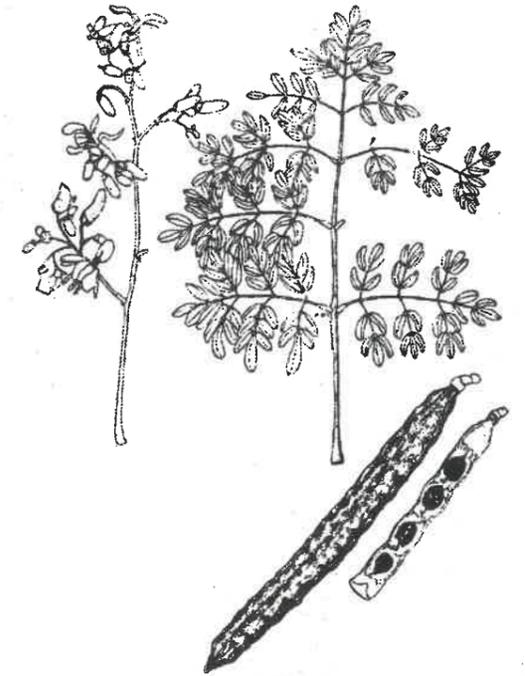


Abbildung 1: Blätter, Blüten und Früchte von *Moringa oleifera* [Jahn, 1981]

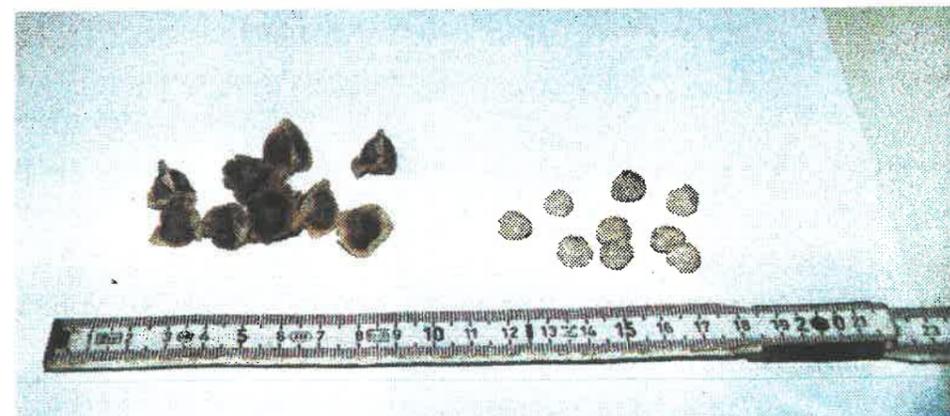


Abbildung 2: Samen von *Moringa oleifera* mit und ohne Hülle

3.1 Moringaceae

Die Familie der Moringaceen gehört laut botanischer Systematik zur Ordnung *Caprales*. Ihre einzige Gattung ("single genus") *Moringa* besteht aus 14 bekannten Spezies, die in Afrika, Madagaskar, Arabien und Indien beheimatet sind. Ungefähr die Hälfte davon ist relativ weit verbreitet und wird schon sporadisch kultiviert. Nur *Moringa oleifera* wird aufgrund seiner Vielfältigkeit überall in den Tropen angebaut. Neben den am meisten verbreiteten Namen "Meerrettichbaum" (wegen des meerrettichartigen Geruchs der Wurzeln) und "Drumstick Tree" (aufgrund der Gestalt der Schoten) hat *Moringa oleifera* eine Vielzahl einheimischer Namen, ein Zeichen für die Signifikanz des Baumes in vielen tropischen Ländern.

Der Baum erreicht eine Höhe von 5 - 12 m mit einer offenen, schirmartigen Krone, einem geraden Stamm von 10 - 30 cm Dicke mit korkiger, weißer Rinde. Ein Grund für die gute Anpassungsfähigkeit des *Moringa oleifera* Baumes an Dürreperioden bzw. trockenere Standorte mag darin liegen, daß dieser Baum eine tiefe Pfahlwurzel besitzt. Als Früchte werden Schoten ausgebildet, die eine Länge von bis zu 1,20 m erreichen können. Wie in Abbildung 2 zu erkennen ist, sind die eigentlichen Samen in den Schoten noch einmal von einer dünnen holzartigen Hülle mit drei papierähnlichen Flügeln umhüllt. *Moringa oleifera* ist ein Baum, der ursprünglich in heißen, halbtrockenen Regionen mit einer jährliche Niederschlagsmenge von 250 - 1500 mm vorkommt. Er ist jedoch sehr anpassungsfähig und hat sich auch in heißen, feuchten und nassen Gebieten mit einem jährlichem Niederschlag bis 3000 mm adaptiert. Außerdem ist der Baum gegen leichten Frost unempfindlich und kann deshalb auch in höheren Lagen angebaut werden. (1200 m in Mexiko, in Simbabwe in Höhen bis zu 2000 m) [Sutherland *et al.*, 1995].

3.2 Zusammensetzung und Verwendungszweck von *Moringa oleifera*

Fast alle Bestandteile der Pflanze *Moringa oleifera* werden in ihren Herkunftsländern in irgendeiner Form genutzt:

- Blätter und Blüten sind eßbar. Die Blätter werden vor allem in Teilen Afrikas, Indien, auf den Philippinen und Hawaii genutzt. Analysen haben ergeben, daß die Blätter einen beträchtlichen Anteil an Vitamin A, B und C, an Calcium und Eisen sowie Proteine enthalten
- Die grünen Samenschoten werden frisch oder konserviert hauptsächlich in Asien als Gemüse verwendet.

- Die Samen selbst werden entweder noch im grünen oder im ausgereiften Zustand gegessen.
- Die Samen enthalten einen Ölanteil von ca. 40%. Die Zusammensetzung des Öls ist dem Olivenöl ähnlich. Neben verschiedenen anderen Fettsäuren liegt der Hauptanteil mit 70% bei der Ölsäure. Das Öl wird zum Kochen, für die Seifenherstellung und als Basis für Kosmetik genutzt. Ebenso dient es als Lampenöl.
- Die Pflanzen dienen als Windschutz für die Felder.
- Das Holz wird als Brennstoff genutzt.
- Alle Pflanzenteile sind darüber hinaus Bestandteile in der traditionellen Medizin.
- Die Wurzeln wurden aufgrund ihres meerrettichartigen Geschmacks früher in Indien von den Europäern als Meerrettichersatz verzehrt. Es stellte sich jedoch heraus, daß die Wurzeln etwa 0,1% Alkaloide enthalten und somit für den Verzehr eher ungeeignet sind.
- Die Samen werden traditionell vor allem im Sudan und in Indonesien in den Haushalten für die Wasseraufbereitung eingesetzt.

3.3 Chemie der Inhaltsstoffe von *Moringa oleifera*

3.3.1 Flockungswirkstoffe

Von Fink wurden zwei flockungsaktive Proteine aus Samen von *Moringa oleifera* isoliert [Fink, 1984]. Dabei handelt es sich um mindestens 6 basische Polypeptide mit einem Molekulargewicht zwischen 7.000 und 10.000 Dalton für die niedermolekularen Peptide. Die höhermolekularen Peptide besitzen ein Molekulargewicht um 16.000 Dalton.

Der isoelektrische Punkt der flockungsaktiven Stoffe ist > 10 . Infolgedessen liegen sie in wässriger Lösung in Form kationischer Polyelektrolyte vor.

Von Tauscher konnten die flockungsaktiven Proteine in drei Fraktionen aufgetrennt werden. Eine der drei Fraktionen konnte in weitere drei Proteinzonen mit flockenden Eigenschaften unterteilt werden. [Tauscher, 1994]

Durch Laborstudien wurde in anderen Moringaspezies ebenfalls eine natürliche Flockungswirkung gefunden: *M.peregrina* (Ägypten), *M.stenopetala* (Kenia), *M.longituba* (Somalia), *M.drouhardii* (Madagaskar) und *M.ovalifolia* (Namibia) [Jahn, 1986].

3.3.2 Isothiocyanate

Senföle ist die historisch bedingte Bezeichnung für Isothiocyanate. Sie sind geschmacksgebende Bestandteile der etherischen Öle vieler Pflanzen. Die Senföle liegen glycosidisch gebunden als Glucosinolate vor. In der Garten- und Kapuzinerkresse z.B. liegen die Isothiocyanate als Benzylisothiocyanate vor. Abbildung 3 zeigt die Struktur des Benzylisothiocyanats.

Das in den Samen von *Moringa oleifera* und *M. stenopetala* identifizierte Benzylisothiocyanat liegt als 4-(α -L-Rhamnosyloxy)-benzylisothiocyanat vor, dessen Struktur in Abbildung 4 dargestellt ist.

Die von der Hülle befreiten und entfetteten Samen beinhalten etwa 8-10% dieser antimikrobiellen Substanz. Seine Strukturaufklärung wurde von Badgett [Fink, 1984] vorgenommen. Die bakterizide Wirkung wurde unter anderem von Eilert [Eilert *et al.*, 1981] und Madsen [Madsen *et al.*, 1987] getestet.

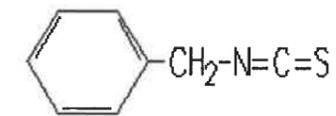


Abbildung 3: Struktur von Benzylisothiocyanat

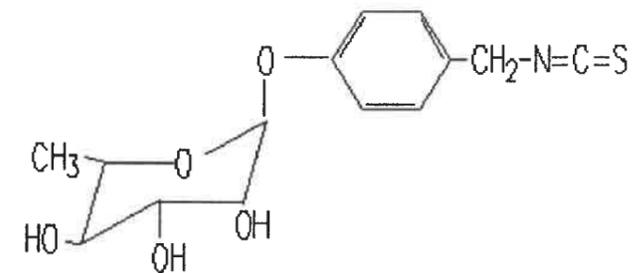


Abbildung 4: Struktur von 4-(α -L-Rhamnosyloxy)-benzylisothiocyanat

3.4 Antibakterielle Wirkung von *Moringa oleifera*

Es liegen verschiedene Forschungsergebnisse bezüglich der antibakteriellen Wirkung der Samen von *Moringa oleifera* vor.

Eine Untersuchung, die von Madsen durchgeführt wurde, beschäftigt sich mit der Frage, inwieweit *Moringa oleifera* auf verschiedene Bakterienreinkulturen eine bakterizide Wirkung besitzt [Madsen *et al.*, 1987]. Bei den dabei untersuchten Bakterien handelte es sich um *E.coli*, *Salmonella typhimurium* und *Shigella sonnei* sowie *Vibrio cholerae*, *Streptococcus faecalis* und *Clostridium perfringens*.

Als zu untersuchendes Wasser wurde Nilwasser während der Flutsaison simuliert (Nilschlamm mit einem Zusatz von Pepton in Leitungswasser gemischt). Außerdem wurden auch Versuche mit Nilwasser durchgeführt. Dabei wurde das Wasser auf Coliforme und fäkale Coliforme hin untersucht. Die Versuche wurden bei einer Temperatur von 30°C durchgeführt. Die Anfangstrübung betrug ca. 2000 FTU. Die Bakterienkonzentration zu Beginn der Versuche lag bei 10^5 - 10^6 KBE / ml. Bei *Salmonella* und *Shigella* stellte sich zunächst eine Reduktion ein. Nach zwei Stunden Einwirkzeit mit *Moringa oleifera* war jedoch die Bakterienkonzentration wieder angestiegen. In einigen Fällen nahm auch die Konzentration der *E.coli* Bakterien wieder zu. Bei den anderen Stämmen blieb ein Wiederanstieg aus. Dort wurde eine Bakterienreduktion bis zu 99% festgestellt. Die Reduktion der pathogenen Keime war allerdings nicht effektiv genug. Diese stellen jedoch einen der größten Bestandteile an Bakterien im tropischen Wasser dar. Daneben stellte sich auch eine erfolgreiche Flockung ein, die Trübung des Wassers ging innerhalb der ersten Stunde von 3200 FTU auf 13 FTU zurück.

Bei diesen Versuchen wurde Nilwasser mit einem sehr hohen Trübungsgrad möglichst realistisch simuliert. Diese Trübung von 3200 FTU besitzt der Nil, wie schon erwähnt, während der Regenzeit. Neben der Untersuchung der natürlich vorkommenden Bakterien in einer Wasserprobe des Blauen Nils, wurden einzelne oder mehrere Bakterienstämme dem oben erwähnten simulierten Probewasser zugegeben. Die besten Resultate, d.h. die größte Keimzahlreduktion konnte mit sehr trübem Wasser erzielt werden. Dies läßt schon einen Zusammenhang zwischen Flockung und Bakterienreduktion vermuten. Untersuchungen bezüglich der keimzahlreduzierenden Wirkung bei sehr geringem Trübungsgrad im Wasser wurden von dieser Forschungsgruppe nicht angestellt, da der Schwerpunkt der Versuche auf der Untersuchung der Wirkung der Samen von *Moringa oleifera* auf Nilwasser und dessen natürliche Keimbelastung lag.

Eine weitere Untersuchung von Eilert schloß neben einer Reihe von Bakterien auch eine Anzahl von Pilzen in die Versuchsreihe mit ein. Dabei handelte es sich um saprophytische, humanpathogene und phytopathogene Organismen. Auch hier konnten meist inhibierende Wirkungen festgestellt werden. Die Keimzahluntersuchungen wurden nach der Zugabe des Pulvers, bzw. Zugabe der Samensuspension von *Moringa oleifera* und nach einer kurzen Einwirkzeit durchgeführt. Tests auf einen Anstieg der Bakterienkonzentration, bzw. der Pilze nach einem längeren Zeitraum sind jedoch nicht dokumentiert. [Eilert *et al.*, 1981]

3.5 Wirkung der Samen von *Moringa oleifera* auf andere Organismen

3.5.1 Zusammenhänge zwischen Flockung mit *Moringa oleifera* und *Schistosoma mansoni cercariae*

In einem Projekt von Olsen sollte untersucht werden, inwieweit Larven eines parasitären Leberegels durch Flockung aus dem Wasser entfernt werden konnten [Olsen *et al* 1987]. Die Untersuchungen wurden mit Nilwasser, in dem die Larven dieses Parasiten auftreten, sowie mit Leitungswasser, dem die Larven zugesetzt wurden, vorgenommen. *Schistosoma mansoni cercariae* ist ein Parasit, der als Zwischenwirt Mollusken befällt und als Endwirt Säugetiere infiziert. Im Larvenstadium ist der Egel auf wäßriges Milieu angewiesen und wird über die Haut aufgenommen. Die ausgewachsenen Würmer sind in den venösen Gefäßen um dem Darmtrakt lokalisiert. Etwa 200 Millionen Menschen leiden an Schistosomiasis, eine hohe Anzahl darunter sind Kinder.

Unter anderem wurden Bentonit und Samen von *Moringa oleifera* auf ihre Wirksamkeit hin untersucht. Die Behandlung von Leitungswasser und Nilwasser mit *Moringa oleifera* Samen führte zu dem gleichen positiven Ergebnis. Fünf Stunden nach der Flockung lag die Konzentration der Larven unter 10% im Überstandswasser von Nil- und Leitungswasser. Die Verringerung der Larvenkonzentration scheint nicht von der Art des Wassers bzw. der Trübung abzuhängen. Aufgrund der Flockungseigenschaften von *Moringa oleifera* werden die Larven in die Flocken eingebunden und sedimentieren mit den Partikeln. Die Toxizität von *Moringa oleifera* auf diese Larven wurde bei diesen Untersuchungen nicht erforscht.

3.5.2 Toxische Auswirkungen von *Moringa oleifera* Samen auf Protozoen

In einer Veröffentlichung von Grabow wurde die Toxizität von Moringasamen bezüglich Protozoen untersucht [Grabow *et al.* 1985]. Dabei wurden die Auswirkungen auf den tierischen Einzeller *Tetrahymena pyriformis* in destilliertem Wasser und in Flußwasser getestet. Die maximale Trübung lag bei 90 NTU. Als Testmethode wurde die Sauerstoffaufnahme gemessen. Die Versuche ergaben, daß schon eine geringe Zugabe von Moringapulver von 5 mg/l zunächst zu einer Reduktion der Sauerstoffaufnahme führte. Allerdings wirkte sich die direkte Zugabe des Pulvers stärker aus, als die Zugabe in suspendierter Form. Im Vergleich zwischen Flußwasser und destilliertem Wasser zeigten die Ergebnisse keine signifikanten Unterschiede. Der Effekt kehrte sich jedoch in allen Fällen nach 24 Stunden wieder um, die Sauerstoffrate stieg. Nach 48 Stunden war der Kontrollwert nahezu erreicht, d.h. die Konzentration der getesteten Protozoen war wieder bis auf den Ausgangswert angestiegen.

Diese Untersuchung deutet wieder darauf hin, daß ein Zusammenhang zwischen Flockung und Reduktion von Organismen bei moringabehandeltem Wasser bestehen könnte. Wie im Text erwähnt, lag ein geringer Trübungsgrad des für die Versuche benutzten Flußwassers vor. Versuche mit stärker getrübttem Wasser wurden nicht aufgeführt.

4 Flockungsprozesse und ihre Bedeutung für die Wasseraufbereitung

4.1 Eigenschaften suspendierter Partikel

Wassertrübung wird durch die Suspension von Partikeln mit unterschiedlichen Durchmessern hervorgerufen:

- Grobe Verunreinigungen, die Partikelgröße ist $>1 \mu\text{m}$
- Kolloidal verteilte Partikel, deren Größe zwischen 1 nm und $1 \mu\text{m}$ liegen
- Dispergierte Partikel, deren Partikelgröße $< 1 \text{ nm}$ ist

Die spontane Sedimentation suspendierter Partikel mit gleicher Form und spezifischem Gewicht hängt von ihrer Größe ab. Entsprechend dem Stoke'schen Gesetz setzen sich Partikel mit einem spezifischen Gewicht von 3 g/cm^3 bei 20°C wie folgt ab:

Partikelradius [μm]	Sedimentationsgeschwindigkeit
0,06	1 cm/Woche
0,16	1 cm/Tag
0,79	1 cm/Stunde

Die Trübung von Wasser hängt von der Art und Menge grober und kolloidal suspendierter Partikel ab. Kolloide können hydrophob oder hydrophil sein. Ihre Stabilität hängt sowohl von der Partikelgröße, als auch vom existierenden Gleichgewicht zwischen elektrischer Abstoßung und Anziehungskraft ab.

Hydrophobe Kolloide wie Lehm, Ton und Erde sind in Wasser unlöslich. Ihre Partikel sind aufgrund ihrer negativen elektrischen Ladung in Suspension stabil. Diese Ladung ist die Folge einer isomorphen Substitution von Kationen.

Der Hauptanteil der in Wasser vorkommenden Partikel ist negativ geladen. Sie ziehen positiv geladene Partikel an. Diese umgeben die negativ geladenen Partikel. Dadurch ergibt sich ein kombiniertes System mit einer elektrischen Doppelschicht [Jahn, 1981] In Abbildung 5 ist ein negativ geladenes Partikel, umgeben von positiv geladenen Ionen, dargestellt.

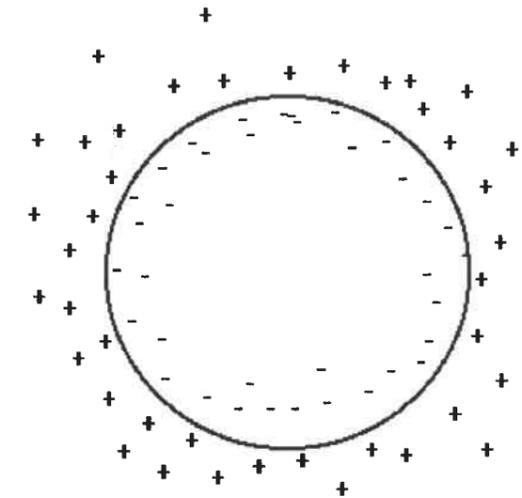


Abbildung 5: Negativ geladenes Partikel, umgeben von positiv geladenen Ionen

4.2 Flockungsvorgänge

Mit Flockung bezeichnet man die Vorgänge, bei denen das suspendierte Material eines kolloiden Systems in Form von sedimentierbaren Flocken zur Abtrennung gebracht wird.

Der Flockungsvorgang beruht auf zwei zusammenwirkenden Mechanismen:

- Entstabilisierung des Systems
- Transportvorgang

Je nach Art des Entstabilisierungsmechanismus unterscheidet man verschiedene Flockungsvorgänge:

- Die (Elektrolyt-) Koagulation ist die Einwirkung höher geladener, nicht hydrolysierender Ionen, deren Ladung dem der suspendierten Teilchen entgegengesetzt ist
- Unter der Adsorptionskoagulation versteht man die Einwirkung höher geladener hydrolysierender Ionen.

Flockungsmittel liefern die positiv geladenen Gegenkolloide. Dadurch kommt es zur Entstabilisierung der Kolloidsuspension. Um einen schnellen Transport und eine hohe Kontaktwahrscheinlichkeit der Gegenkolloide zu erreichen, muß zu diesem Zeitpunkt eine hohe Turbulenz erzeugt werden. Durch die Zugabe von Flockungsmitteln werden die negativ geladenen Schmutzteilchen entladen und dadurch die Wirkung Coloumb'scher Abstossungskräfte aufgehoben. Es kommt zur Ausbildung von Wasserstoffbrücken zwischen den einzelnen Molekülen, und Makroflocken entstehen. Im Verlauf der Flockung werden durch die van der Waal'schen Kräfte größere aus einzelnen Makroflocken bestehende Flocken gebildet, die suspendierte Partikel mit einschließen können.

Die Flocken werden durch relativ geringe Kräfte zusammengehalten und können deshalb durch Scherkräfte leicht zerschlagen werden. Zu diesem Zeitpunkt wird deshalb die Rührgeschwindigkeit herabgesetzt und somit eine niedrigere Turbulenz erzeugt. Zur Unterstützung der Flockenbildung und zur Flockenstabilisierung werden nun auch Flockungshilfsmittel zugegeben. Dabei handelt es sich um natürliche oder synthetische, langkettige Makromoleküle mit ionisierbaren Gruppen.

Flockungsmittel, die für die Wasseraufbereitung am häufigsten eingesetzt werden sind:

Aluminiumsulfat, Aluminiumchlorid, Eisen(III)-Sulfat, Eisen(III)-Chlorid

Als natürliche Flockungshilfsmittel werden z.B. Stärke und Zellulose verwendet. Durch die gute biologische Abbaubarkeit dieser Flockungshilfsmittel besteht jedoch die Gefahr einer Verkeimung von Anlageteilen. Deshalb werden sie in der Trinkwasseraufbereitung nicht eingesetzt. Für diesen Zweck wird von synthetischen Flockungshilfsmitteln wie Polyacrylsäure und Polyacrylamid Gebrauch gemacht.

Nach erfolgter und abgeschlossener Flockung werden die Flocken durch mechanische Trennverfahren, wie Sedimentation, Filtration oder Flotation aus dem Wasser entfernt. [Rott, 1993]

5 Experimenteller Teil

5.1 Beschreibung der eingesetzten Wasserarten

Die in der Literatur dokumentierten Untersuchungen wurden meist an Wässern mit relativ hohem Trübstoffgehalt durchgeführt. Um den Einfluß von Flockungsprozessen auf die Reduzierung des Keimgehaltes untersuchen zu können, wurden Wässer mit sehr unterschiedlichem Trübstoff- aber vergleichbarem Keimgehalt mit Samenpulver von *Moringa oleifera* behandelt.

Da das Wasser eines Kläranlagenablaufs weitgehend frei von Trübstoffen ist und somit keine Flockung mehr auftritt, jedoch eine Keimbelastung vorliegt, wurde für diese Versuche Wasser aus dem Nachklärbecken (NKB) des Lehr- und Forschungsklärwerks (LFKW) Büsnau verwendet. Die Keimbelastung des NKB wird überwiegend durch Coliforme Keime hervorgerufen. Das Maß der Keimbelastung in den Oberflächengewässern der Entwicklungsländer [Jahn, 1981] ist hierbei vergleichbar mit der Bakterienkonzentration des Wassers aus dem Nachklärbecken von etwa 10^4 - 10^6 KBE / ml.

Daneben wurde auch Wasser aus Fließgewässern und einem stehenden Gewässer aus der näheren Umgebung des LFKW für die Untersuchungen herangezogen. Die Gesamtkeimbelastung lag bei allen Wasserarten zwischen 10^4 und 10^6 KBE / ml. Da auch diese Gewässer selten eine natürliche Trübung über 25 TE/F aufwiesen, wurden sie mit Trübstoffen in Form von Silikaten versetzt.

5.2 Vergleich der keimzahlreduzierenden Wirkung von Samen von *Moringa oleifera* mit und ohne Hülle

Die Samen der Pflanze *Moringa oleifera* sind von einer holzartigen Hülle umgeben. Die in der Literatur dokumentierten Untersuchungen wurden mit Samen, bei denen diese Hülle entfernt worden war, durchgeführt. Da das Entfernen der Hülle einen bedeutenden Zeit- und Arbeitsaufwand darstellt, wurde bei den nachfolgend beschriebenen Versuchen untersucht, ob die Behandlung des Probewassers mit Samen mit Hülle oder ohne Hülle zu unterschiedlichen Ergebnissen hinsichtlich Keimzahlreduktion und Flockung führt. Dadurch sollte festgestellt werden, ob die Entfer-

nung der Hülle für die Effektivität der untersuchten Anwendungsmöglichkeiten zwingend notwendig ist.

Weiterhin wurde das Ausmaß der Wiederverkeimung des mit *Moringa oleifera* Samen behandelten Wassers untersucht. Berücksichtigt wurde dabei auch eine unterschiedliche Lagertemperatur des behandelten Probewassers. Nachstehend beschriebene Versuchsparameter wurden sowohl für die Behandlung von Probewasser mit Samen ohne Hülle als auch mit Hülle angewandt.

Da zunächst die keimreduzierende Wirkung der Samen von *Moringa oleifera* im Vordergrund der Untersuchungen stand, wurde Wasser aus dem Kläranlagenablauf mit gemahlene Moringasamen versetzt. Wie in Abschnitt 1 bereits erwähnt, liegt bei diesem Wasser eine geringe natürliche Trübung vor, so daß die flockende Wirkung der Samen nicht zum Tragen kommt. Zum Versuchszeitpunkt lag die Trübung des NKB-Wassers bei 1,5 TE/F.

Es wurde eine 2%ige Stammlösung aus gemahlene Moringasamen hergestellt und filtriert. Zwei Wasserproben wurde diese Moringasuspension zugegeben, so daß eine Endkonzentration von 200 mg Moringasamen pro Liter resultierte. Zusätzlich zu den angesetzten Proben wurde eine Blindprobe ohne Suspensionszugabe mitgeführt.

Für die Untersuchung der Wiederverkeimungsrate wurde das unfiltrierte Wasser bei 10°C und 20°C gelagert. Proben hiervon wurden nach einem, drei und fünf Tagen genommen und jeweils die Koloniezahl ermittelt.

Nach der im Kapitel 4.2.1 angegebenen Rührzeit wurden die Proben weitere zwei Stunden ohne Rühren stehengelassen, um eine möglichst gute Einwirkung der Samen zu gewährleisten. Danach wurde eine Probe für die Keimzahlbestimmung entnommen. Bei der Blindprobe wurde sofort nach dem Rührversuch eine erste Probe entnommen. 100 µl der entsprechenden Verdünnung wurden auf Platten ausgestrichen. Die Agarplatten wurden bei 20°C inkubiert.

5.2.1 Wasseruntersuchungen mit Suspensionen von Moringasamen ohne Hülle

500 ml Versuchswassers wurde aus dem Nachklärbecken des LFKW entnommen. Es wurde filtrierte Stammlösung aus ohne Hülle gemahlene *Moringa oleifera* Samen zugegeben, so daß sich im Probewasser eine Endkonzentration von 200 mg/l ergab. Die Rührzeit und -geschwindigkeit wurde wie folgt gewählt:

2 min bei 228 upm (max. speed)

15 min bei 140 upm

In Tabelle 1 sind die bei diesem Versuch erhaltenen Gesamtkeimzahlen, die nach zwei Stunden, ein, drei und fünf Tagen ermittelt wurden, aufgeführt.

Tabelle 1: Keimzahlen [KBE / ml] moringabehandelter Proben nach unterschiedlicher Lagerzeit - und -temperatur

Keimzahlen nach	Moringa beh. Proben Lagertemperatur 10°C	Blindwert bei 10°C	Moringa beh. Proben Lagertemperatur 20°C	Blindwert bei 20°C
0 Stunden	2×10^4	2×10^4	6×10^3	6×10^3
2 Stunden	3×10^3	2×10^4	6×10^3	6×10^3
1 Tag	6×10^4	2×10^4	2×10^6	8×10^3
3 Tagen	2×10^6	5×10^3	5×10^6	2×10^4
5 Tagen	7×10^7	2×10^3	6×10^6	5×10^1

Abbildungen 6 und 7 zeigen eine Übersicht der in Tabelle 1 aufgeführten Werte.

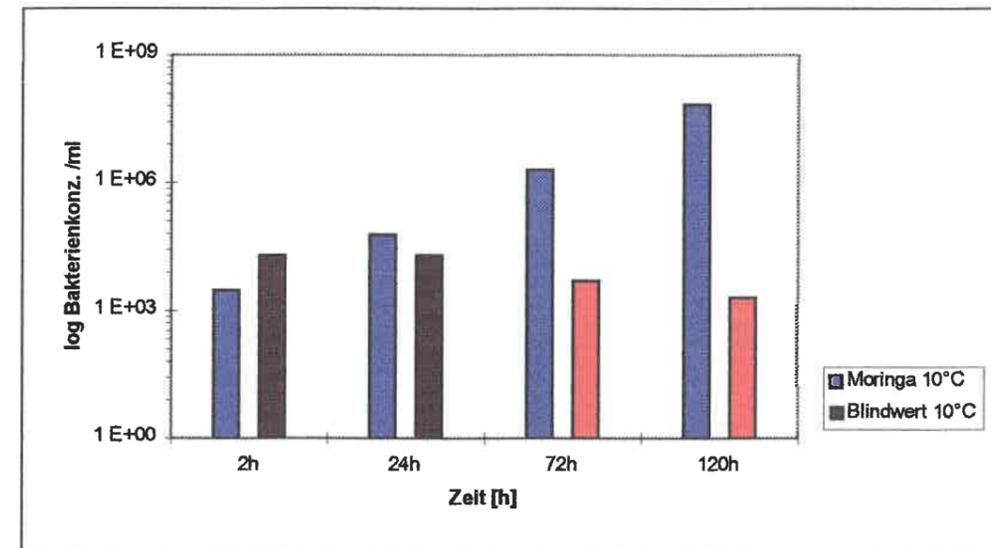


Abbildung 6: Bakterienkonzentration bei Lagerungstemperatur des Probewassers von 10°C

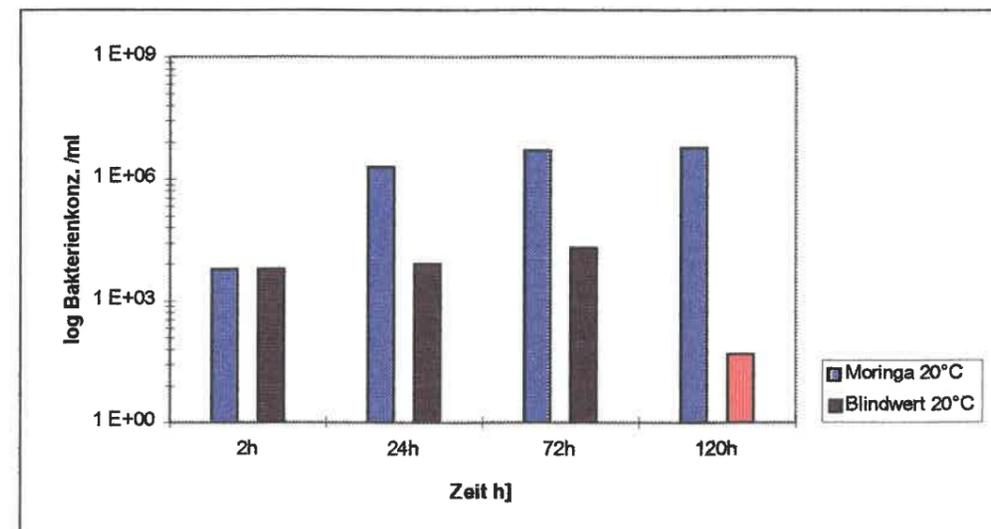


Abbildung 7: Bakterienkonzentration bei Lagerungstemperatur des Wassers von 20°C

Wie aus der Abbildung 6 hervorgeht, hat sich die Gesamtkeimzahl bei mit *Moringa oleifera* Samen behandelten Wasserproben im Vergleich zur Blindprobe nach zwei Stunden Einwirkzeit bei einer Lagerung des Wassers von 10°C um 85% verringert. Abbildung 7 zeigt, daß bei erhöhter Lagerungstemperatur von 20°C keine Keimzahlreduktion eingetreten ist.

Nach einem Tag Lagerung stieg die Keimzahl in den mit Moringasamen behandelten Wasserproben in beiden Fällen stark an. Die Lagerung des Wassers bei einer Umgebungstemperatur von 10°C verminderte die Wiederverkeimung des behandelten Wassers nicht.

Der Rückgang der Keimzahl in der unbehandelten Blindprobe war untypisch. Ihre Anzahl blieb bei nachfolgenden Tests konstant bzw. stieg ebenfalls an.

Aufgrund der eingebrachten Moringasuspension stieg die Trübung des Wassers von anfänglich 1,5 TE/F auf 18 TE/F direkt nach der Zugabe. Im Verlauf der fünf Tage konnte jedoch ein Trübungsrückgang durch Sedimentation beobachtet werden. Die Endtrübung lag bei 5 TE/F. Die Trübung der Blindproben blieb nahezu konstant.

5.2.2 Wasseruntersuchungen mit Suspensionen von Moringasamen mit Hülle

Der gleiche Versuch wurde mit einer Suspension aus gemahlene Moringasamen mit Hülle wiederholt. Die Endkonzentration von 200 mg/l wurde beibehalten. Der Versuch wurde mit der gleichen Rührzeit- und -geschwindigkeit durchgeführt.

Wie die Tabelle 2 zeigt, war nach einem Tag Lagerung des Probewassers wiederum ein Anstieg an Bakterien über den Anfangswert von $1,4 \times 10^4$ Bakterien/ml hinaus zu verzeichnen. Deshalb wurde auf weitere Keimzahlbestimmungen nach längerer Lagerungsdauer der Wasserproben verzichtet.

Tabelle 2: Keimzahlen von Wasser, das mit einer Suspension aus Moringasamen mit Hülle behandelt wurde.

Probenahme nach	Moringa beh. Proben	Blindwert
0 Stunden	$1,4 \times 10^4$	$1,4 \times 10^4$
2 Stunden	8×10^3	$1,4 \times 10^4$
1 Tag 10°C	6×10^4	5×10^4
1 Tag 20°C	6×10^6	5×10^5

Wie aus Tabelle 2 hervorgeht, wurde im Gegensatz zum vorangegangenen Versuch nur eine Probe mit einer Suspension aus Moringasamen mit Hülle behandelt. Diese Probe, sowie die mitgeführte Blindprobe, wurden nach zwei Stunden auf Keimzahlen hin untersucht. Für die Lagerung wurde dann jeweils das halbe Volumen der Wasserproben bei 10°C bzw. 20°C für einen Tag gelagert.

5.2.3 Zusammenfassung der Ergebnisse

Nach einer Einwirkzeit der Samen von zwei Stunden lag die Keimzahlreduktion bei Behandlung des Probewassers mit Moringasamen mit Hülle bei 43%.

Bei Wasserproben, die mit Moringasamen ohne Hülle behandelt worden waren, war eine Reduktion der Keimzahl um 80% zwei Stunden nach der Rührzeit zu verzeichnen. Ein Wiederanstieg der Bakterienkonzentration auf das Anfangsniveau erfolgte jedoch bei beiden Versuchen innerhalb eines Tages. Dabei spielt die Lagerungstemperatur der Wasserproben längerfristig keine große Rolle. Die in den Tabellen 1 und 2 dokumentierten Werte zeigen, daß eine höhere Umgebungstemperatur das Wachstum der Mikroorganismen beschleunigt. Bei 20°C gelagertes Wasser keimte innerhalb eines Tages noch stärker als Wasser, das bei 10°C gelagert wurde, das Ausmaß der Verkeimung war jedoch nach Ablauf des Versuchszeitraumes in beiden Fällen etwa gleich hoch. Die Keimzahlreduktion zwei Stunden nach der Einwirkzeit war bei Wasserproben, die mit Moringasuspensionen aus Samen ohne Hülle behandelt worden waren, deutlich größer, als die Reduktion der Keimzahl bei Versuchen mit Suspensionen aus Moringasamen mit Hülle. Dies läßt vermuten, daß die Entfernung der Hülle vor dem Mahlen der Samen für ein positives Versuchsergebnis vorteilhaft ist. Im anschließenden Abschnitt wird ein direkter Vergleich von Moringasamen mit und ohne Hülle, jedoch ohne verschiedene Lagerungstemperaturen der behandelten Wasserproben beschrieben.

5.2.4 Vergleich der Anwendung von Moringasamen mit und ohne Hülle

Bei diesem Versuch wurde die Wirkung von mit Hülle gemahlener Samen der Wirkung gemahlener Samen ohne Hülle direkt gegenübergestellt. Dabei sollte überprüft werden, ob auf die Entfernung der Hülle im Hinblick auf die Keimzahlreduktion verzichtet werden könnte. Dies wäre bei einer annähernd gleichen Keimzahlreduktion der Fall.

Nachstehend sind noch einmal die Versuchsbedingungen aufgeführt, die sich jedoch nicht von den Bedingungen der vorhergehenden Versuche unterscheiden.

Versuchsbedingungen:

500ml Wasserprobe aus dem Nachklärbecken

2%ige filtrierte Stammlösung aus gemahlene *Moringa oleifera* Samen ohne bzw. mit Hülle

eingesetzte Endkonzentration: 200mg/l

Rührzeit und -geschwindigkeit: 2 min bei 228 upm

15 min bei 140 upm

Die Inkubation der Platten wurde bei 20°C durchgeführt. Die Lagerungstemperatur des behandelten Probewassers betrug 20°C.

Wie die Tabelle 3 zeigt, wurden Proben für die Keimzahlbestimmung nach zehn Minuten, zwei Stunden und 24 Stunden genommen.

Tabelle 3: Gesamtkeimzahlen [KBE/ml] von moringabehandeltem Wasser.

Probenahme nach	Moringa ohne Hülle	Moringa mit Hülle	Blindwert
10 min	1×10^3	5×10^3	6×10^3
2 h	1×10^3	5×10^3	6×10^3
24 h	1×10^6	4×10^6	8×10^5

Wie aus Tabelle 3 hervorgeht, lag die Reduktion der Keimzahl bei dem Probewasser, das mit Moringasamen ohne Hülle behandelt wurde, bei 84%. Die erzielte Reduktion mit Moringasamen mit Hülle behandeltem Wasser lag jedoch nur bei 17%. Nach 24 stündiger Lagerung des Wassers war die Keimzahl jedoch über den Wert des Blindwertes angestiegen. Der Grund dazu könnte in einem durch die Behandlung mit dem Samenpulver hervorgerufenen Nährstoffeintrag liegen.

Die in der Tabelle 3 aufgeführten Werte sind in Abbildung 8 als Säulendiagramm dargestellt.

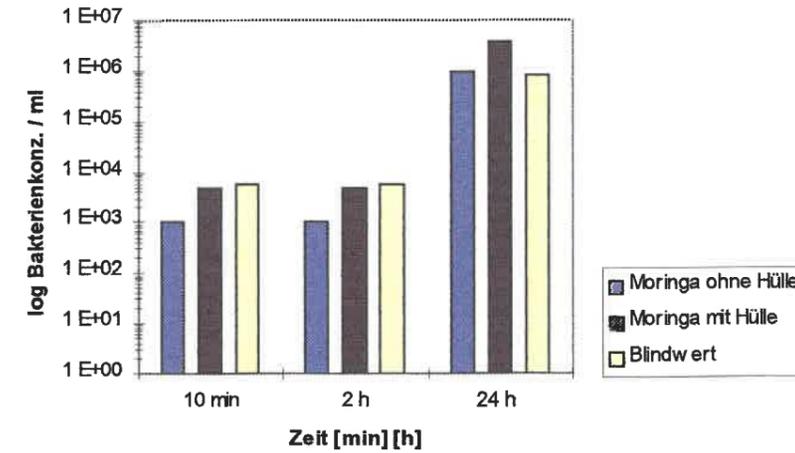


Abbildung 8: Vergleich zwischen Anwendung von Moringasamen mit Hülle und ohne Hülle

Die Wirksamkeit der Samen bezüglich der Keimzahlreduktion wird durch den zusätzlichen Eintrag der Hülle in das Probewasser herabgesetzt, da die Hülle der Samen neben fehlender keimreduzierender Eigenschaften auch keine flockungsaktiven Substanzen beinhaltet. Aufgrund der im Vergleich zum Inhalt geringeren Dichte der Samenhülle schwammen die Bestandteile der Hülle teilweise auf der Wasseroberfläche und sedimentierten nicht.

Unabhängig davon lag die Keimzahl in beiden Fällen nach einem Tag Lagerung höher als der Blindwert, und damit deutlich höher als der Ausgangswert der Bakterienkonzentration im Probewasser vor der Behandlung mit Moringasamen. Die Keimzahlreduktion war deutlich geringer als in der Literatur beschrieben, was darauf hindeutet, daß die antibakterielle Wirkung allein nicht ausreichend für eine weitgehende Keimreduktion ist und Flockungsprozessen somit wesentliche Bedeutung hinsichtlich der Keimzahlreduktion zukommt. Der in den Abbildungen 6, 7 und 8 verdeutlichte Anstieg der Keimzahlen im Vergleich zum Blindwert, deutet darauf hin, daß durch die Anwendung von Samenpulver von *Moringa oleifera* lösliche Nährstoffe in die Wasserprobe eingebracht werden und die Vermehrungsfähigkeit der Mikroorganismen begünstigt wird. In den Kapiteln 4.7 und 4.8 werden weitergehende Untersuchungen hierzu beschrieben.

Tabelle 4: Trübungsmesswerte von moringageflocktem Wasser

Zeit [min]	Moringa ohne Hülle [TE/F]	Moringa mit Hülle [TE/F]	Blindwert [TE/F]
0	180	180	180
30	52	73	165
60	30	45	123
120	20	31	102

Abbildung 9 zeigt den Rückgang der Trübung von moringabehandeltem Wasser in Abhängigkeit von der Zeit. Die einzelnen Werte sind der oben aufgeführten Tabelle 4 entnommen.

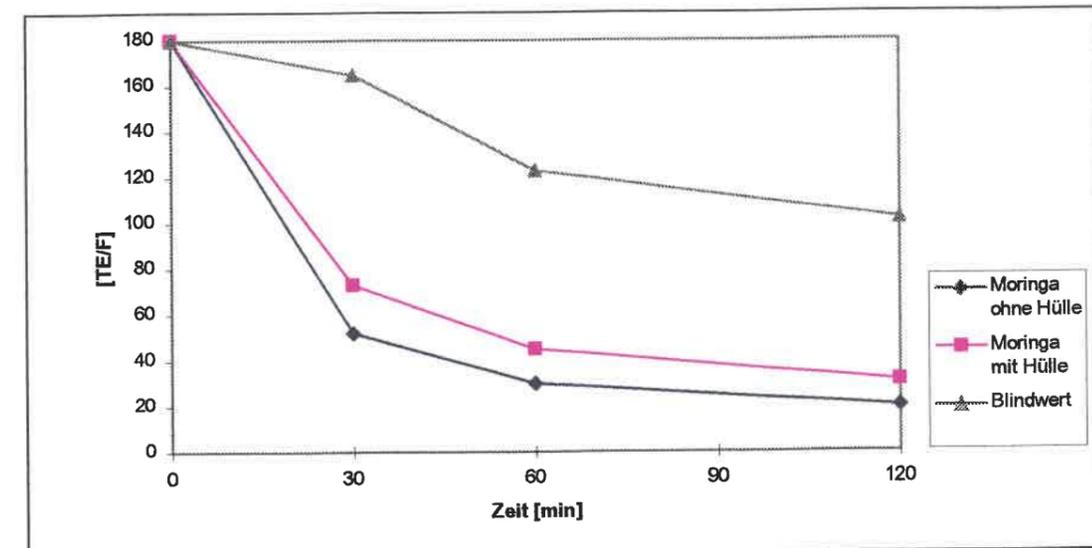


Abbildung 9: Vergleich des Trübungsrückgangs von Wasser, das mit Moringasamen mit und ohne Hülle behandelt wurde.

In Tabelle 5 sind die Keimzahlen aufgeführt, die nach diesem Flockungsversuch bestimmt wurden. Das Probewasser wurde 24 Stunden bei 10°C bzw. 20°C gelagert. Danach wurde eine erneute Keimzahlbestimmung vorgenommen.

Tabelle 5: Gesamtkeimzahlbestimmung [Bakterien/ml] nach Flockung des Wassers

Probenahme nach	Moringa ohne Hülle	Moringa mit Hülle	Blindwert
2h	6×10^2	2×10^3	2×10^4
24h (Lagerung bei 10°C)	3×10^4	4×10^4	7×10^3
24h (Lagerung bei 20°C)	1×10^6	4×10^6	4×10^4

Abbildung 10 zeigt die in der Tabelle 5 aufgelisteten Werte als Säulendiagramm

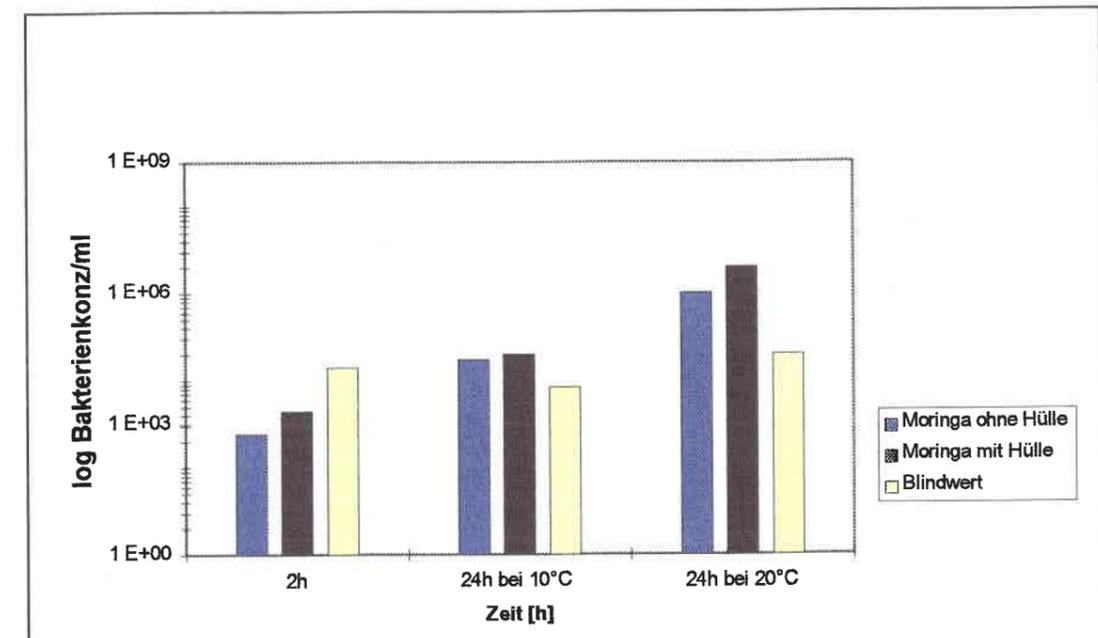


Abbildung 10: Keimzahlen von geflocktem Probewasser nach Moringabehandlung (mit und ohne Hülle)

Der zweite Flockungsversuch, dessen Werte in Tabelle 6 aufgelistet sind, wurde mit etwas stärker nachgetrübtem Teichwasser durchgeführt. Der Anfangswert der Trübung lag zwischen 200 und 300 TE/F. Die anderen Versuchsparameter waren mit dem vorangegangenen Versuch identisch.

Tabelle 6: Trübungsverlauf von moringabehandelten Wasserproben mit höherer Anfangstrübung

Zeit [min]	Moringa ohne Hülle [TE/F]	Moringa mit Hülle [TE/F]	Blindwert [TE/F]
0	300	230	200
15	45	64	65
30	26	40	50
45	13	30	43
60	11	24	41
120	7,5	16	37

Bei diesem Versuch sank die Trübung innerhalb von zwei Stunden auf ein Minimum von 7,5 TE/F. Wie aus Tabelle 6 hervorgeht, wurde dieser Wert für Wasser, das mit Samen von *Moringa oleifera* ohne Hülle behandelt wurde, erreicht. Die Trübung für das Wasser, das mit Samen von Moringa mit Hülle behandelt worden war, lag mit 16 TE/F Endtrübung über dem Doppelten des oben genannten Minimums. Die natürliche Sedimentation des Blindwertes erreichte 37 TE/F. Die in Tabelle 4 dokumentierten Trübungswerte nach Versuch 1 erreichten nach der gleichen Zeit ihr Minimum von 20 TE/F ebenfalls bei der mit Moringasamen ohne Hülle behandelten Probe. Die Trübung des Blindwertes ging auf 102 TE/F zurück. Die Wasserprobe, die mit Moringasamen mit Hülle versetzt wurde, wies zu diesem Zeitpunkt noch eine Trübung von 31 TE/F auf. Die Anfangstrübung lag im Gegensatz zu Versuch 2 mit 180 TE/F niedriger. Dies bestätigt die schon bei Jahn [Jahn, 1986] erwähnte Beobachtung, daß die Flockung mit Moringasamen bei starker Trübung deutlich wirksamer ist, und die Ergebnisse die Endtrübungswerte schwächer getrübler Wasserproben hier sogar übertreffen.

In Abbildung 11 werden die in Tabelle 6 aufgeführten Werte noch einmal dargestellt.

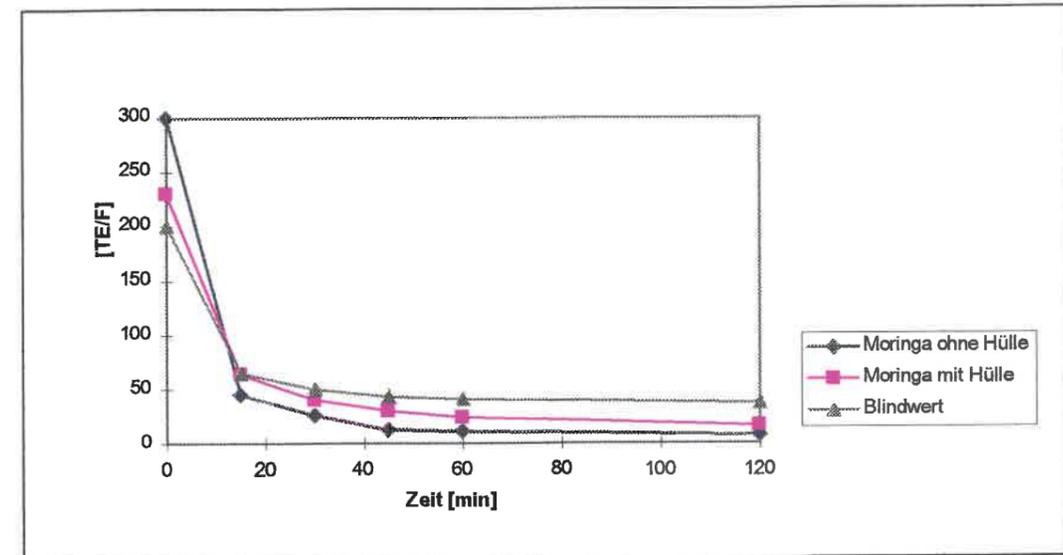


Abbildung 11: Trübungsverlauf von moringa-behandelten Proben mit höherer Anfangstrübung

In Tabelle 7 sind die Daten der Keimzahlbestimmung nach der zweiten. Trübungsmessung aufgelistet.

Tabelle 7: Keimzahlbestimmung [Bakterien/ml] von stärker getriebenen Wasserproben, die mit Samen von *Moringa oleifera* behandelt wurden

Probenahme	Moringa ohne Hülle	Moringa mit Hülle
Anfangswert	1×10^5	1×10^5
nach 2h	2×10^3	2×10^3
24h bei 10°C	1×10^4	2×10^4
24h bei 20°C	1×10^7	6×10^6

Die in der Tabelle 7 aufgeführten Werte sind in nachstehender Abbildung 12 graphisch dargestellt.

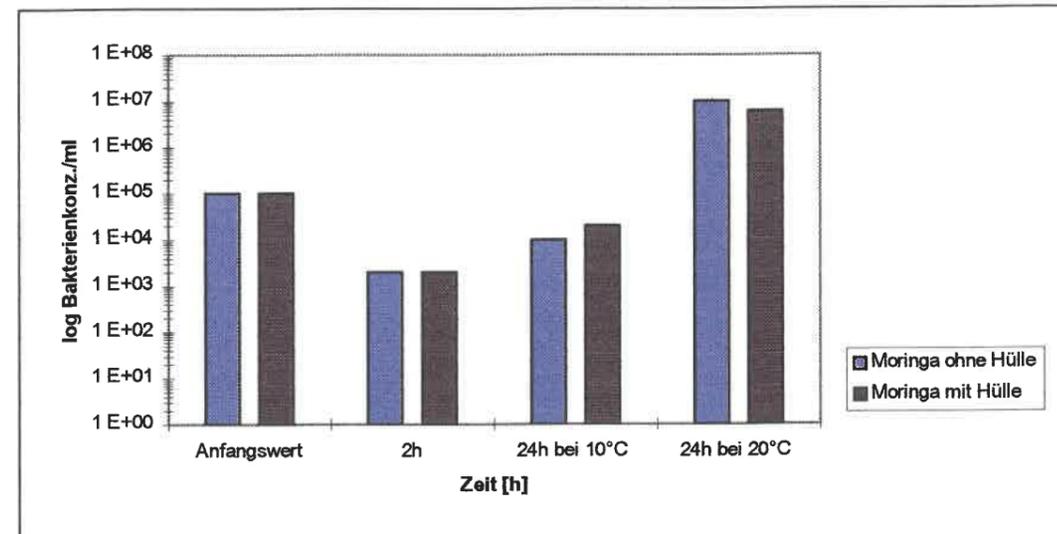


Abbildung 12: Einfluß von Lagerungszeit und -temperatur auf Keimzahlen moringabehandelter Proben

Im Vergleich zum Versuch in Abschnitt 4.1.4 (vgl. Tabelle 3), der mit geklärtem also ungetrübtem Wasser durchgeführt wurde, ist hier bei beiden Versuchen, wie aus den Abbildungen 10 und 12 hervorgeht, nach zwei Stunden eine deutlich höhere Keimzahlreduktion bei vergleichbarer Ausgangskonzentration zu beobachten. Bei beiden Versuchen verringert sich die Keimzahl um 97%. Diese Reduktion tritt sowohl bei der mit Moringasamen mit Hülle behandelten Wasserprobe, als auch bei der Probe, die mit gemahlenden Moringasamen ohne Hülle behandelt wurde, auf.

Das Überstandswasser wurde nach der Flockung und erfolgter Sedimentation nach zwei Stunden abfiltriert und zur Bestimmung der Wiederverkeimung 24 Stunden bei 10°C und 20°C gelagert. Trotz der Filtration stellte sich erneut eine hohe Wiederverkeimung ein. Ein Vergleich der Werte in Tabelle 5 und 7 zeigt, daß die Wiederverkeimung der Wasserprobe, die mit Moringasamen mit Hülle geflockt wurde, in beiden Versuchen stärker ausfiel, als bei den mit Moringasamen ohne Hülle behandelten Proben.

Auch die Flockung war bei Moringasamen ohne Hülle wirksamer als die Flockung mit Moringasamen mit Hülle. Ebenso konnte festgestellt werden, daß eine höhere Anfangstrübung, wie es beim zweiten Versuch der Fall war, eine bessere Flockung hervorruft. Die Trübung ging bis auf 7,5 TE/F zurück.

Die Entfernung der Hülle bei den Samen wirkt sich positiv sowohl auf den Flockungsvorgang, als auch auf die Keimreduktion aus. Um bessere Ergebnisse zu erzielen, muß die Hülle entfernt werden. Der Unterschied zwischen beiden Anwendungen ist so groß, daß dies den zusätzlichen Arbeitsaufwand rechtfertigt.

5.3 Vergleich der Flockungswirkung von *Moringa oleifera* und konventionellen Flockungsmitteln

In der Wasseraufbereitung werden hauptsächlich Flockungsmittel wie Aluminiumsulfat $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$ und Eisen(III)-Chlorid $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ eingesetzt. Da bei vorhergegangenen Versuchen die Keimzahlreduktion in Verbindung mit einer Flockung deutlich größer war, sollte nun ein Vergleich zwischen diesen beiden Flockungsmitteln und Moringasamen dargestellt werden. Die dazu benutzte Aluminiumsulfatlösung ist 8%ig und die Eisen(III)-Chloridlösung 40%ig. Für die Flockung eines Teichwassers mit einer Anfangstrübung von 120 TE/F wurden wenige Tropfen des jeweiligen Flockungsmittels zugesetzt. Die eingesetzte Konzentration an Moringasamen betrug 100 mg/l. Die Flockung war bei den herkömmlichen Flockungsmitteln schon nach 40 Minuten nahezu abgeschlossen. Es konnte noch eine sehr geringe Trübung von 1,1 bzw. 2,4 TE/F gemessen werden. Bei dem mit Moringa behandelten Wasser betrug die Trübung noch 18,5 TE/F, sank jedoch im Laufe der nächsten 80 Minuten unter 10 TE/F.

Bei einem zweiten Vergleich chemischer Flockungsmittel mit Moringasamen, der in Tabelle 8, bzw. Abbildung 13 dargestellt ist, wurden Moringakonzentrationen von 200 bzw. 300 mg/l eingesetzt. Die Anfangstrübung betrug 200 TE/F. Nach 30 Minuten war die Flockung mit Aluminiumsulfat und Eisen(III)-Chlorid abgeschlossen. Bei der Flockung mit den Moringasamen wurden nach 150 Minuten noch Werte von 10 und 6 TE/F gemessen.

Diese Untersuchungen zeigen, daß die Flockung mit Samen von *Moringa oleifera* länger dauert, als es mit chemischen Flockungsmitteln der Fall ist. Auch verblieb immer eine kleine Resttrübung, die jedoch bei einer höheren Anfangstrübung des Wassers geringer ausfiel. In diesem Fall wurden mit Samen von *Moringa oleifera* Endwerte zwischen 6 und 10 TE/F erreicht.

Tabelle 8: Untersuchung des Flockungsverlaufs bei Einsatz von *Moringa oleifera* und konventionellen Flockungsmitteln

Zeit [min]	Moringa 200mg/l	Moringa 300mg/l	Aluminiumsulfat	Eisen(III)-Chlorid	Blindwert
0	200	200	200	200	200
30	26	46	1,3	1,0	50
60	15	24			47
120	10	13			40
150	6	10			35

In Abbildung 13 ist der Flockungsverlauf graphisch dargestellt.

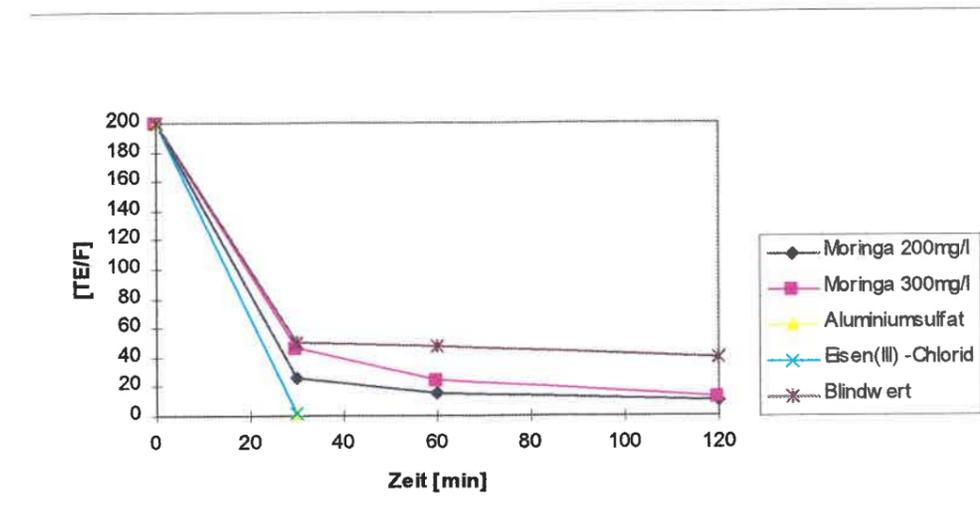


Abbildung 13: Trübungsverlauf: Vergleich von *Moringa oleifera* und herkömmlichen Flockungsmitteln

Neben dem Verlauf der Flockung wurde auch die Keimzahlreduktion beim Einsatz der unterschiedlichen Flockungsmittel untersucht. Vor der Probenahme für die Gesamtkeimzahlbestimmung wurden alle Wasserproben filtriert. In Tabelle 9 und 10 sind die Ergebnisse dieser Untersuchungen dargestellt.

Tabelle 9: Keimzahlen von mit Moringa oder mit chemischen Flockungsmitteln geflocktem Wasser

Gesamtkeimzahl	Moringa 100mg/l	Aluminiumsulfat	Eisen(III)-Chlorid	Blindwert
Anfang	2×10^3	2×10^3	2×10^3	2×10^3
nach 2h	2×10^2	6×10^2	2×10^2	2×10^3
Keimzahlreduktion	90%	70%	90%	0%

Wie in Tabelle 10 dargestellt wird, lag der Anfangswert des noch unbehandelten Wassers im folgenden Versuch mit 9×10^4 Bakterien/ ml deutlich höher. Es wurden die in der Tabelle aufgeführten Keimzahlreduktionen ermittelt.

Tabelle 10: Vergleich der Keimzahlreduktion zwischen mit konventionellen Flockungsmitteln und mit Moringa behandeltem Wasser.

Gesamtkeimzahl	Moringa 200mg/l	Moringa 300mg/l	Aluminiumsulfat	Eisen(III)-Chlorid	Blindwert
Anfangswert	9×10^4	9×10^4	9×10^4	9×10^4	9×10^4
nach 2h	3×10^3	5×10^3	5×10^3	1×10^3	9×10^4
Keimzahlreduktion	97%	94%	94%	99%	0%

Bei beiden Versuchen ist die Keimzahlreduktion bei herkömmlichen Flockungsmitteln im Vergleich zu den mit Moringasamen geflockten Proben etwa gleich groß. Die Flockung mit Moringasamen dauert länger und es verbleibt eine Resttrübung. Positiv wirkt sich jedoch dagegen aus, daß sich bei einer Flockung mit Moringasamen keine chemischen, sondern nur rein pflanzliche Rückstände im Sediment befinden. Bei einer Flockung mit Aluminiumsulfat bilden sich Aluminiumsalze, die unter anderem eine umweltgerechte Entsorgung des Flockungsrückstandes schwierig gestalten. Der bei der Anwendung von Moringasamen anfallende Flockungsrückstand kann hingegen landwirtschaftlich verwertet oder kompostiert werden, wodurch sich die Entsorgung relativ unproblematisch gestaltet.

5.4 Untersuchung zur Keimzahlreduktion und Flockung beim Einsatz von entfetteten Moringasamen

Die Samen von *Moringa oleifera* besitzen einen Ölanteil von 30%. Dieser hat nach Fink [Fink, 1984] keine flockende und laut Veröffentlichung von Eilert [Eilert *et al.*, 1981] keine keimreduzierende Wirkung. In den vorher beschriebenen Versuchen lag zwar eine Keimzahlreduktion nach zwei Stunden Einwirkzeit der Samen vor, die Wiederverkeimung des Probewassers setzte jedoch schon nach einem Tag in beträchtlichem Maße ein. Durch Abtrennung des Fettanteils sollte untersucht werden, ob dadurch die Keimzahlreduktion verbessert werden könnte und vor allem ob durch das Konzentrieren des aktiven Anteils der Samen eine erneute Wiederverkeimung ausblieb oder später einsetzte.

Vor dem Versuch wurde gemahlener Moringasamen ohne Hülle mit Dichlormethan als Lösungsmittel extrahiert, getrocknet und zur Behandlung des Wassers eingesetzt. Dabei wurden 200 mg/l und 400 mg/l des pulverisierten entfetteten Samens direkt dem zu behandelten Wasser zugesetzt. Zusätzlich wurde eine Suspension aus entfettetem Moringasamen mit einer Konzentration von 5% hergestellt, durch einen Mikrofilter filtriert und das Filtrat, sowie der Filtratrückstand zur Wasserbehandlung eingesetzt. Für den Versuch wurde Teichwasser mit einer Anfangstrübung von 170 TE/F verwendet. Zum Vergleich wurde ein zweiter Ansatz einer filtrierten Suspension von Moringasamen mit den Konzentrationen 100 mg/l und 300 mg/l für eine Wasserbehandlung verwendet. Als dritte Probe wurde Wasser mit dem Filtratrückstand der Moringasuspension in einer Konzentration von 100 mg/l behandelt.

Vor der Keimzahluntersuchung wurden Trübungsmessungen vorgenommen, deren Werte in Tabelle 13 und 14 aufgeführt sind.

In Tabelle 11 und 12 sind die Keimzahluntersuchungen, die mit entfettetem Samen von *Moringa oleifera* durchgeführt wurden, dargestellt. Die Zugabe des Pulvers zu dem zu untersuchenden Wasser erfolgte in verschiedenen Konzentrationen und in unterschiedlicher Form. Es wurde entweder das Pulver direkt zu dem Probewasser hinzugegeben oder auch als filtrierte Suspension. Mit dem Filtratrückstand dieser Suspension wurde ebenfalls eine Keimzahluntersuchung vorgenommen. Damit konnte auch die Wirksamkeit der unterschiedlichsten Zugabeformen von entfettetem *Moringa oleifera* Samen zum Probewasser einander gegenübergestellt werden.

Tabelle 11: Keimzahluntersuchung mit entfettetem Samen von *Moringa oleifera*

Probenahme	Filtrat 200 mg/l	Moringa 200mg/l Pulver	Moringa 400mg/l Pulver	Filtratrückstand 200 mg/l	Blindwert
Anfangswert	4×10^3	4×10^3	4×10^3	4×10^3	4×10^3
nach 2 h	3×10^3	3×10^2	3×10^2	4×10^3	4×10^3
nach 24 h	9×10^3				9×10^3

Später wurde eine andere Wasserprobe mit unterschiedlichen Konzentrationen einer filtrierten Suspension aus Moringasamen und dem Filtratrückstand in anderer Konzentration versetzt. Die Versuche sind in Tabelle 12 aufgeführt.

Tabelle 12: Keimzahluntersuchung nach Behandlung mit einem Filtrat und dem Filtratrückstand von entfettetem Samen von *Moringa oleifera*

Probenahme	Moringa 100mg/l Filtrat	Moringa 300mg/l Filtrat	Filtratrückstand 100mg/l	Blindwert
Anfangswert	2×10^3	2×10^3	2×10^3	2×10^3
nach 2 h	1×10^3	4×10^2	2×10^3	2×10^3

Bei der Keimzahlbestimmung, die nach 24 Stunden durchgeführt wurde, war der Anstieg der Gesamtkeimzahl so groß, daß eine Auswertung nicht mehr sinnvoll erfolgen konnte. Bei beiden Versuchen wies das mit dem Filtratrückstand behandelte Wasser noch die Keimzahlen des Blindwerts auf. Es war also keine Reduktion festzustellen. Die Methode, bei der das Wasser mit Pulver ohne vorherige Suspendierung behandelt wurde, erwies sich als die effektivste. Wie aus Tabelle 11 hervorgeht, verringert sich die Keimzahl bei Behandlung des Wassers mit den Konzentrationen von 200 und 400 mg/l um 90%. Anhand der in der Tabelle 13 dokumentierten

bungsmessungen ist jedoch eine Zugabe von 200 mg/l Moringasamen effektiver. Dabei wurde die niedrigste Endtrübung von 4,5 TE/F erreicht. In Tabelle 13 und 14 sind die Ergebnisse dieser Trübungsmessungen dokumentiert.

Tabelle 13: Trübungsverlauf von moringabehandeltem Wasser in verschiedenen Konzentrationen und unterschiedlicher Art der Samenzugabe

Zeit [min]	c = 200mg/l [TE/F]	c = 400mg/l [TE/F]	Filtrat 200 mg/l [TE/F]	Filtratrückstand 200 mg/l [TE/F]	Blindwert [TE/F]
0	170	170	170	170	170
20	7,5	20	12	34	95
40	12	23	12,8	25	90
60	6,0	12	11	20	82
90	4,8	6,0	11	18	72
120	(8,5)	(12)	14	17,5	70
160	4,5	7,5	14	17	62

Die Werte der Trübungsmessung aus Tabelle 13 sind in Abbildung 14 graphisch dargestellt

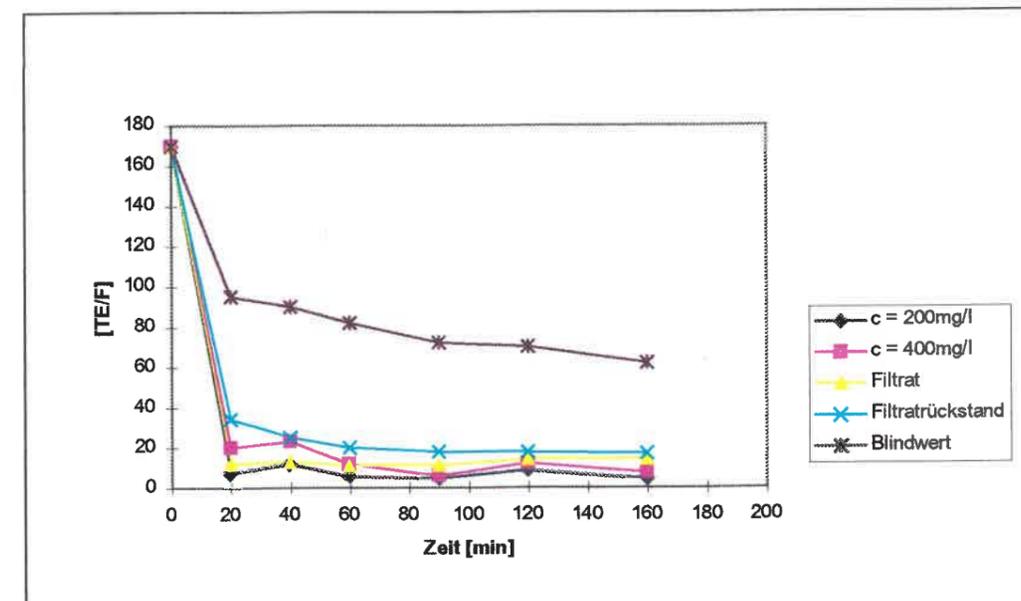


Abbildung 14: Trübungsverlauf: Vergleich der Flockung von Wasser mit verschiedenen Konzentrationen, dem Filtrat und Filtratrückstand von Moringapulver.

Die Werte der Tabelle 14 zeigen die Ergebnisse einer weiteren Trübungsmessung, die im Rahmen dieser Versuche mit entfettetem Pulver von Moringasamen durchgeführt wurde. Entfettete gemahlene Samen wurden in den nun variierten Konzentrationen von 100 mg/l und 300 mg/l als filtrierte Suspensionen mit dem Probewasser vermischt. Außerdem wurde eine Flockung mit dem Filtratrückstand der Suspension in der Konzentration von 100 mg/l durchgeführt.

Tabelle 14: Trübungsverlauf nach der Flockung von Teichwasser mit entfettetem Moringapulver

Zeit [min]	c = 100mg/l [TE/F]	c = 300mg/l [TE/F]	Filtratrückst. 100mg/l [TE/F]	Blindwert [TE/F]
0	220	220	220	220
20	51	42	50	85
40	27	20	23	66
60	24	11,5	17	55
80	22	6,2	17	55
100	17	6,2	14	52
120	19	5	14	48

In Abbildung 15 ist der Trübungsverlauf aus Tabelle 14 graphisch dargestellt

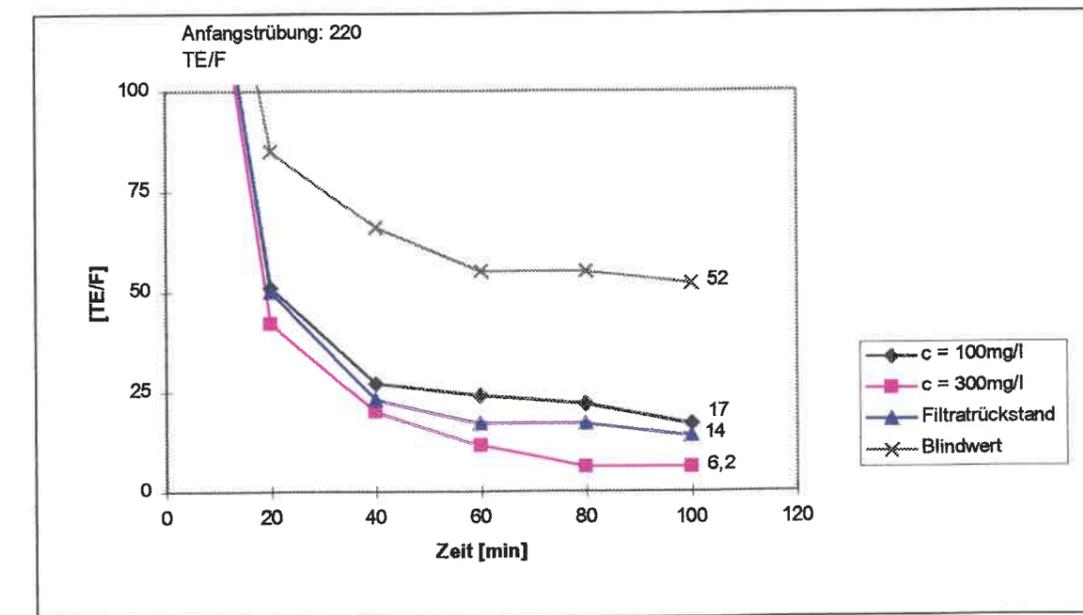


Abbildung 15: Trübungsverlauf von mit Moringasamenfiltratrückstand und -filtrat in verschiedenen Konzentrationen behandeltem Wasser

5.4.1 Auswirkungen der Extraktion potentieller Störstoffe aus entfetteten Moringasamen auf deren keimzahlreduzierende Wirkung

Um weitere mögliche störende Bestandteile wie z.B. Proteine aus den pulverisierten Samen von *Moringa oleifera* zu entfernen, wurde eine Extraktion mit Ethylacetat durchgeführt. Aus entfettetem Pulver wurde eine Suspension mit der Konzentration von 60 g/l hergestellt, filtriert und die filtrierte Lösung mit Ethylacetat extrahiert. Danach wurde das Ethylacetat unter Vakuum in einem Rotationsverdampfer wieder abgetrennt. Der nach dem Abrotieren erhaltene Rückstand hatte eine ölige Konsistenz. Dieser wurde in 1 ml bidestilliertem Wasser aufgenommen und für die Untersuchung eingesetzt, deren Ergebnisse in Tabelle 15 aufgeführt sind. Um den Wirkstoff der Samen im Extrakt möglichst konzentriert einsetzen zu können, wurde das Probenvolumen des NKB-Wassers auf 50 ml beschränkt. Das eingesetzte Wasser war ohne Zusatz von Trübstoffen. Die Rührdauer bei mittlerer Rührgeschwindigkeit belief sich auf eine Stunde.

Tabelle 15: Gesamtkeimzahlen nach Einsatz einer mit Ethylacetat extrahierten Moringasuspension

Probenahme	Moringaextrakt	Blindwert
Anfangswert	8×10^4	8×10^4
2 h	3×10^4	8×10^4
20 h	2×10^6	3×10^6

Der Versuch ergab zunächst eine Keimzahlreduktion von lediglich 63% nach zwei Stunden. Das behandelte Wasser wurde nach 20 Stunden Einwirkzeit des Extraktes erneut auf Keimzahlen untersucht. Dabei ergab sich nun eine Reduktion von nur noch 33%, in Bezug auf das unbehandelte Wasser der Blindprobe. Eine weitere Probe nach 40 Stunden zeigte nun einen so hohen Anstieg der Keimzahl, daß die weitere Auswertung der Platten nicht mehr sinnvoll erschien. Es war keinerlei Reduktion mehr festzustellen. Auch bei weiteren, hier nicht dokumentierten Versuchen, die mit extrahierten Suspensionen von Moringasamen durchgeführt worden waren, konnten keine anderen Ergebnisse erzielt werden.

Es wurde entweder keine oder eine im Vergleich zum Einsatz unbehandelten Moringapulvers geringere Reduktion der Keime festgestellt. Ein Grund für diese Ergebnisse könnte in der zu geringen Konzentration des antibakteriellen Wirkstoffes der Samen im Extrakt liegen. Dies könnte durch Verluste während des Extraktionsverfahrens begründet sein. Ein weiterer möglicher Grund wäre die bereits erwähnte Auswirkung der Flockungsvorgänge an sich auf die Keimzahlreduzierung, die hier mangels Trübstoffen nicht stattfinden konnten.

5.4.2 Auswirkungen auf die Keimzahlreduktion durch mehrmalige Behandlung mit Moringasamen

Bei diesem Versuchsablauf wurde ein zu untersuchendes Wasser aus dem Kläranlagenablauf der Kläranlage Büsnau im Abstand von zwei Stunden mit Samen von *Moringa oleifera* behandelt. Es sollte festgestellt werden, ob eine erneute Zugabe von Moringapulver in bereits geflocktes und keimzahlreduziertes Wasser eine weitere Reduktion der Keime bewirken kann.

Die Anfangstrübung des Wassers betrug 390 TE/F. Diese Trübung wurde durch Zugabe von Trübstoffen erzeugt. Beim ersten Versuch wurde das Pulver direkt mit dem Wasser in einer Konzentration von 400 mg/l verrührt. Nach einer Einwirkzeit von zwei Stunden wurde das Wasser filtriert und eine Probe für die Keimzahlbestimmung genommen. Danach erfolgte eine weitere Zugabe von 200 mg/l Moringa Pulver in das filtrierte Wasser, das weitere 20 Minuten gerührt wurde. Aus dem Wasser wurde nach weiteren zwei Stunden wieder eine Probe genommen.

Bei der zweiten Untersuchung wurde eine 2%ige wäßrige Suspension aus Moringasamen hergestellt, filtriert und für den Versuch mit einer Endkonzentration von 200 mg/l eingesetzt. Die zweite Zugabe von Moringapulver zu dem Probewasser erfolgte ebenfalls in einer Konzentration von 200 mg/l.

In Tabelle 16 sind die Ergebnisse dieser Untersuchungen aufgeführt.

Tabelle 16: Keimzahlreduktion nach zweimaliger Zugabe von Moringasamen zu einem Probewasser

	Moringa 400mg/l u. 200mg/l Pul- ver	Blindwert	filtrierte Suspen- sion je 200 mg/l	Blindwert
1. Zugabe	5×10^3	5×10^4	1×10^4	9×10^4
2. Zugabe	4×10^3	5×10^4	9×10^3	9×10^4

Die Gesamtkeimzahlreduktion liegt bei beiden Versuchen bei ungefähr 90%. Wie aus Tabelle 15 zu ersehen ist, führte die Zugabe weiterer Moringa Samen in den angegebenen Konzentrationen jedoch zu keiner weiteren signifikanten Reduktion der Keime. Auch die unterschiedliche Art der Zugabe von Moringasamen, direkt als Pulver zum untersuchenden Wasser oder als Suspension, führte zu keiner abweichenden Keimzahlreduktion.

Eine Keimzahlbestimmung 24 Stunden nach der Behandlung des Wassers zeigte wiederum einen Anstieg beider Ansätze auf die ursprünglich vorhandene Keimzahl.

Eine erneute Zugabe von Moringapulver zu bereits behandeltem Wasser, führt zu keiner weiteren Keimzahlreduktion. Bei den beschriebenen Versuchen erfolgte die erste Zugabe von Moringasamen zu Wasser mit einer Trübung von 390 TE/F. Bei der erneuten Behandlung des gleichen Wassers waren die Trübstoffe bereits sedimentiert und abfiltriert, d.h. das Wasser war relativ frei von zu flockenden Bestandteilen. Da nach der Behandlung keine weitere Reduktion der Keime zu beobachten war, bestätigt sich die Vermutung, daß die Keimzahlreduktion hauptsächlich durch die Flockung verursacht wird. Bei der Flockung werden neben den Trübstoffen auch Keime in die Flocken eingebunden und mit ihnen sedimentiert.

5.5 Stabilitätsuntersuchung der Wirkstoffe von *Moringa oleifera*

Bei dieser Versuchsreihe sollte getestet werden, welche Wirkung höhere Temperaturen auf die gemahlene Samen und damit auch auf die flockende und keimzahlreduzierende Wirkung besitzen. Dies sollte anhand zweier unterschiedlicher Temperaturen untersucht werden. Dabei wurde sowohl die Lagerung des Pulvers bei einer erhöhten Temperatur, als auch die Hitzestabilität einer filtrierten Samensuspension berücksichtigt.

Des Weiteren wurden die Auswirkungen der Lagerung von Moringasuspensionen bei Raumtemperatur und bei einer Temperatur von 7°C untersucht.

5.5.1 Keimzahluntersuchung von NKB(Nachklärbecken)-Wasser mit Moringa Samen nach Lagerung bei 60°C

Entfettetes und nicht entfettetes Moringapulver ohne Hülle wurden bei 60°C im Trockenschrank unterschiedlich lange gelagert. Danach wurden die gemahlene Samen in der Konzentration von 200 mg/l dem zu untersuchenden Wasser zugegeben.

Nach der üblichen Rührdauer von 20 Minuten wurde nach Ablauf der Sedimentation nach weiteren zwei Stunden Proben für die Bestimmung der Gesamtkeimzahl entnommen. Als Blindwert wurde für die Lagerungszeiten der Samen bei 60°C von 0,5, 1 und 2 Stunden ein Wert bestimmt. Zusätzlich wurde nach 24 stündiger Lagerungszeit der Samen ein neuer Blindwert ausgezählt. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Tabelle 17 aufgeführt.

Tabelle 17: Keimzahlbestimmung nach Lagerung der gemahlene Samen bei 60°C

Lagerung der Samen bei 60°C [h]	Moringa Samen entfettet	Moringa Samen nicht entfettet	Blindwert
0,5	4×10^2	2×10^2	1×10^4
1	$1,6 \times 10^3$	8×10^2	
2	$2,2 \times 10^3$	$1,5 \times 10^3$	
24	6×10^3	5×10^3	1×10^4

Die in Tabelle 17 zusammengefaßten Ergebnisse sind in Abbildung 16 graphisch dargestellt.

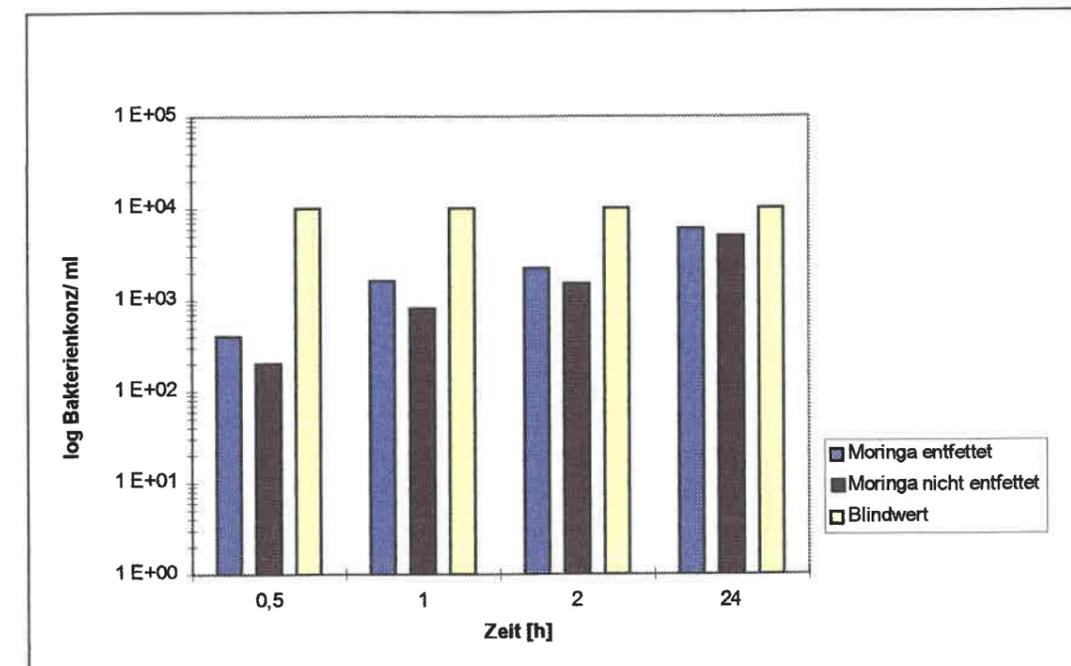


Abbildung 16: Keimzahlen nach Lagerung gemahlener Samen bei 60°C

Die Keimzahlreduktion lag im Rahmen der bei vorangegangenen Versuchen erhaltenen Werte von 98% - 78% nach der halben bis zweistündigen Lagerung der Samen bei 60°C. Wie aus Abbildung 16 hervorgeht, erhöhte sich die Keimzahl erst bei der Wasserprobe, die mit 24 Stunden bei 60°C gelagerten Samen behandelt worden war. Die Keimzahlreduktion lag nun im Vergleich zum Blindwert bei 40%.- 50%. Dies bedeutet, daß erst eine längere erhöhte Temperatur einen negativen Einfluß auf die keimzahlreduzierende Wirkung der Samen besitzt.

5.5.2 Untersuchung der Wirkungsänderungen von *Moringa oleifera* durch siedendes Wasser

Aus der Literatur [Fink,1984] ist bekannt, daß die flockungsaktiven Wirkstoffe des Moringasamens hitzestabil sind und erst nach längerer großer Hitzeeinwirkung zerstört werden und ihre flockenden Eigenschaften verlieren. Nachdem die Samen bei einer Temperatur von 60°C ihre keimreduzierende Wirkung auch erst nach längerer Einwirkzeit verloren, sollte diese Untersuchung nun mit einer Temperatur von 97°C wiederholt werden.

Es wurde eine 2%ige Suspension aus gemahlenden, entfetteten Samen hergestellt und abfiltriert. Das Filtrat wurde im 97°C heißem Wasserbad 10 bis 60 Minuten inkubiert. Im zehnminütigen Abstand wurde eine Wasserprobe ohne Trübung mit der so inkubierten Suspension behandelt. Dabei lag die Endkonzentration der Suspension bei 200 mg/l.

In Tabelle 18 sind die ermittelten Keimzahlen aufgeführt.

Tabelle 18: Keimzahlen von Wasserproben nach Behandlung mit bei 97°C inkubierten Moringasamen

Inkubation bei 97°C im Wasserbad [min]	Moringa Suspension 200mg/l	Blindwert
0	1 x 10 ⁴	4 x 10 ⁴
10	1 x 10 ⁴	
20	1 x 10 ⁴	
30	3 x 10 ⁴	
40	4 x 10 ⁴	
50	3 x 10 ⁴	
60	3 x 10 ⁴	

Das Ausflocken von denaturierten Proteinen konnte schon nach zehn Minuten beobachtet werden. Die Moringasuspension wurde deshalb nach Herausnehmen aus dem Wasserbad filtriert und dann mit dem zu untersuchenden Wasser vermischt. Wie aus Tabelle 18 hervorgeht, lag die Keimzahlreduktion vor der Hitzebehandlung bei 75%. Erst bei den über 30 Minuten inkubierten Moringasuspensionen war ein Rückgang der Keimreduktion im behandelten Wasser zu verzeichnen. Sie lag nur noch bei 25%.

Parallel dazu wurde mit Trübstoffen versetztes NKB-Wasser auf Flockungsaktivität der inkubierten Suspensionen getestet. Diese war erwartungsgemäß nach 60 minütiger Inkubationszeit noch wirksam.

5.5.3 Haltbarkeit von *Moringa oleifera* Suspensionen bezüglich ihrer keimzahlreduzierenden Wirkung und Flockungsaktivität.

Es sollte festgestellt werden, ob Suspensionen aus Samen von *Moringa oleifera* länger gelagert werden können, oder ob sie dadurch ihre keimreduzierende Wirkung, bzw. Flockungsaktivität verlieren.

Nicht filtrierte Suspensionen von Moringapulver mit einer Konzentration von 2% wurden bei Raumtemperatur (RT) und bei einer Temperatur von 7°C ein und zwei Tage gelagert. Für die Wasseruntersuchungen wurde eine Endkonzentration von 200 mg/l gewählt. Die Suspensionen wurden aus entfetteten und nicht entfetteten Samen hergestellt. Für die Untersuchung wurde NKB-Wasser verwendet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 19 zusammengefaßt.

Nach zwei Tagen Lagerung der Suspensionen wurden diese für einen Flockungsversuch eingesetzt. Die Trübung des NKB-Wassers betrug 25 TE/F. Wie aus Tabelle 20 ersichtlich ist, wurde die Trübung nach 60, 120 und 180 Minuten nach Zugabe der Suspension gemessen.

Tabelle 19: Keimzahlen von NKB-Wasser, das mit gelagerten Suspensionen aus Moringasamen behandelt wurde.

Lagerung der Suspension bei	Suspension aus entfetteten Samen	Suspension aus nicht entfetteten Samen	Blindwert
RT 1 Tag	3×10^4	3×10^4	3×10^4
RT 2 Tage	2×10^5	1×10^5	4×10^4
7°C 1 Tag	2×10^4	4×10^4	3×10^4
7°C 2 Tage	3×10^4	3×10^4	4×10^4

Tabelle 20: Ergebnisse der Trübungsmessungen mit gelagerten Suspensionen aus Moringasamen

Zeit [min]	entfettete Samen Lagerung bei 7°C	entfettete Samen Lagerung bei RT	nicht entfettete Samen Lagerung bei 7°C	nicht entfettete Samen Lagerung bei RT	Blindwert ohne Moringa
0	25	25	25	25	25
60	13	28	18	22	19
120	11	20	15	17	14
180	9	18	12	16	15

Die Lagerung filtrierter Suspensionen führte sowohl zu einer Beeinträchtigung der keimzahlreduzierenden als auch der flockenden Wirkung. Wie aus Tabelle 20 hervorgeht, trat nach der Lagerung der Suspension bei niedriger Temperatur (7°C) eine bessere Flockung auf, als bei einer Lagerung der Suspension bei Raumtemperatur. Eine Keimzahlreduktion war jedoch nicht mehr festzustellen.

5.6 Bestimmung des Zeitrahmens der Wiederverkeimung von moringabehandeltem Wasser

Bei diesem Versuch sollte überprüft werden, nach welcher Zeit die Wiederverkeimung einsetzt. Zusätzlich mit Erde getrübbtes NKB-Wasser wurde zum einen mit gemahlene Samen und zum anderen mit einem Filtrat gemahlener Samen versetzt. Die zugesetzte Konzentration lag in beiden Fällen bei 200 mg/l. Nach zwei Stunden wurden die Proben abfiltriert und die erste Keimzahlbestimmung vorgenommen. Weitere Proben wurden im Abstand von jeweils zwei Stunden entnommen und die Keimzahlen bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 21 dokumentiert.

Tabelle 21: Ergebnisse der Keimzahlbestimmungen [Bakterien/ml]

Probenahme nach [h]	Samen gemahlen 200mg/l	Blindwert	Filtrat 200 mg/l	Blindwert
2	5×10^3	1×10^5	4×10^3	1×10^5
4	5×10^3	1×10^5	5×10^3	1×10^5
6	7×10^3	2×10^5	1×10^4	1×10^5
8	8×10^3	$2,5 \times 10^5$	2×10^4	3×10^5
10	2×10^4	$2,5 \times 10^5$	1×10^5	5×10^5
14	2×10^5	$2,5 \times 10^5$		

Die in Tabelle 21 aufgeführten Werte sind in Abbildung 17 graphisch dargestellt.

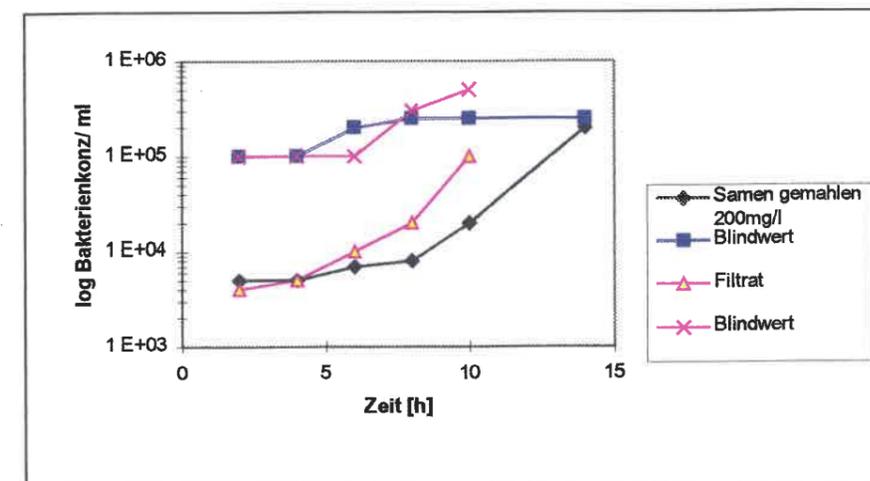


Abbildung 17: Ausmaß der Wiederverkeimung moringabehandelter Proben

Wie aus Tabelle 21 hervorgeht, wurde der Anfangswert der Gesamtkeimzahl bei der Probe, der die Samen direkt zugegeben wurden, nach 14 Stunden überschritten. Bei der mit Filtrat behandelten Probe wurde der Anfangswert schon nach 10 Stunden erreicht. Zum Vergleich für den Keimzahlanstieg wurde jeweils eine Blindprobe ohne Moringazugabe ebenfalls alle zwei Stunden auf Keimzahlen untersucht. Aus Abbildung 17 ist ersichtlich, daß die Keimzahlen der Blindwerte mit der Zeit ebenfalls anstiegen. Trotz gleicher Ausgangsproben und identischer Vorgehensweise zeigen die Blindwerte leichte Differenzen im Anstieg der Keimzahlen. Trotz dieser Streuung geht aus Abbildung 17 eindeutig hervor, daß durch den beschleunigten Anstieg der Bakterienkonzentration in den moringabehandelten Proben der Ausgangszustand von

1×10^5 Bakterien/ml wieder erreicht, bzw. überschritten wird.

5.7 Auswirkungen der Behandlung mit *Moringa oleifera* Samen auf verschiedene Bakterien in einem Kläranlagenablauf

Die Gesamtbakterienkonzentration des Kläranlagenablaufs der Kläranlage Büsnau beträgt je nach Zusammensetzung des Abwassers 10^4 - 10^6 Bakterien/ml.

Bakterien färben sich bei Kultivierung auf *Chromocult*[®] *Coliformen Agar* aufgrund seiner Nährstoffzusammensetzung unterschiedlich an. So lassen sich die drei Bakterienarten *E.coli*, Coliforme und andere Enterobacteriaceen optisch voneinander unterscheiden. Ziel dieses Versuchs war es, einen Überblick über die Zahl dieser verschiedenen Bakterienarten im NKB-Wasser zu erhalten und mit diesem Schnelltest abzuschätzen, ob sich durch die Behandlung mit Samen von *Moringa oleifera* eine unterschiedliche Wirkung auf die einzelnen Bakterienstämme feststellen lässt.

Anteile der Bakterienstämme im NKB-Wasser

Coliforme:	20 - 30%
<i>E.coli</i> :	6 - 8%
Andere Enterobacteriaceae:	58 - 67%

Versuchsbedingungen:

Verschiedene Konzentrationen von gemahlenden Moringasamen wurden direkt mit dem zu untersuchenden Wasser vermischt. Das eingesetzte Probenvolumen betrug 500 ml. Wie in Tabelle 22 aufgeführt ist, lagen die Konzentrationen der Moringasamen bei 200, 300, und 400 mg/l. Während bei der Konzentration von 400 mg/l keine Trübstoffe zugesetzt worden waren, wurde die Trübung bei den anderen Konzentrationen durch zugesetzte Trübstoffe auf 200 TE/F erhöht und ein zweiter Blindwert bestimmt. Die Samen wurden fünf Minuten bei 288 upm und 20 Minuten bei 68 upm eingerührt. Nach einer Einwirkzeit von zwei Stunden wurden die Proben für die Keimzahlbestimmung entnommen.

Tabelle 22: Reduktion verschiedener Bakterienstämme [Bakterien/ml] nach Moringabebehandlung

	Moringasamen c=400mg/l	Blindwert	Moringasamen c=200mg/l	Moringasamen c=300mg/l	Blindwert
Coliforme	4×10^4	8×10^4	4×10^2	10×10^2	8×10^3
<i>E.coli</i>	8×10^3	16×10^3	2×10^2	4×10^2	3×10^3
Andere	8×10^4	15×10^4	1×10^3	1×10^3	2×10^4
Gesamt	$1,3 \times 10^5$	$2,5 \times 10^5$	$1,6 \times 10^3$	$2,4 \times 10^3$	$3,1 \times 10^4$

In Abbildung 18 ist die prozentuale Verteilung von Bakterienstämmen im NKB-Wasser vor und nach einer Moringabebehandlung dargestellt.

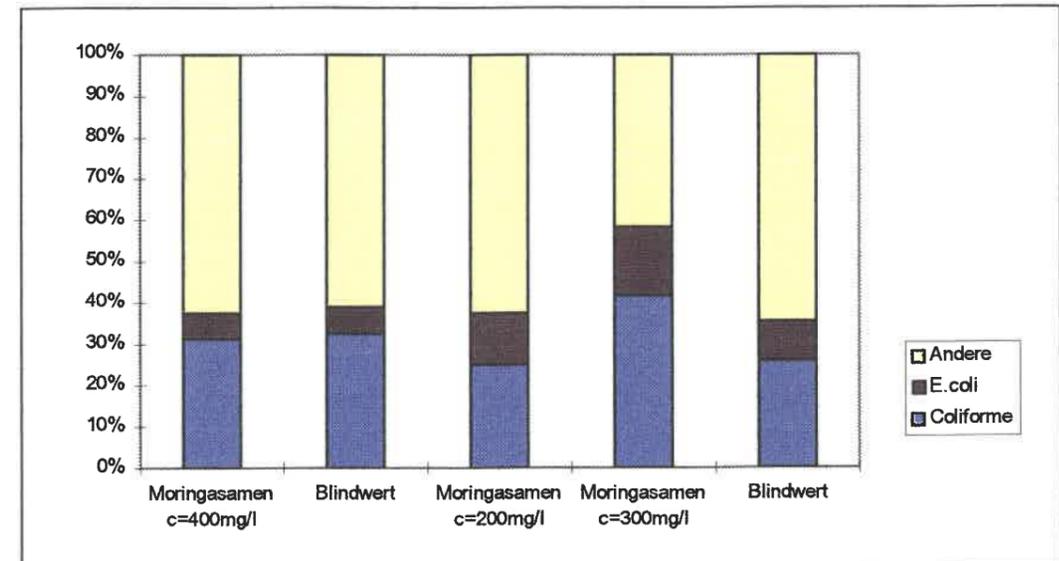


Abbildung 18: Bakterienverteilung in moringabehandeltem Wasser

Auswertung:

Bei einer Konzentration der Moringasamen von 400 mg/l reduzierte sich die Zahl der Gesamtkeime im ungetrübten Wasser um 48%. Eine spezifische Wirkung auf einzelne Bakteriengruppen konnte nach einem Vergleich mit dem Blindwert nicht festgestellt werden. Wie aus Tabelle 22 ebenfalls hervorgeht, konnte bei den Konzentrationen von 200 und 300 mg/l im nachgetrübten Wasser eine Reduktion der Gesamtkeime von 92 - 95% festgestellt werden. Diese Differenz ist auf die vorausgehende Flockung im trüben Wasser zurückzuführen. Wie aus Abbildung 18 ersichtlich ist, konnte auch hier keine spezifische Wirkung von *Moringa oleifera* auf bestimmte Bakterienstämme nachgewiesen werden. Die prozentuale Verteilung der Keime in moringabehandeltem Wasser und unbehandeltem Wasser blieb nahezu gleich.

5.8 Bestimmung des Chemischen Sauerstoffsbedarfs CSB und Biochemischen Sauerstoffbedarfs BSB₅

5.8.1 Der Chemische Sauerstoffbedarf einer mit *Moringa oleifera* geflockten Wasserprobe

Der CSB ist ein Maß für die Gesamtheit der im Wasser enthaltenen organischen Stoffe. Die Bestimmung des CSB erfolgt nach der in den Deutschen Einheitsverfahren (DEV) festgelegten Norm. Wegen der raschen Wiederverkeimung von mit *Moringa oleifera* geflocktem Wasser sollte festgestellt werden, inwieweit die durch die Moringasamen oder -suspensionen zugeführten organischen Substanzen nach der Flockung im filtrierten Wasser verbleiben. Als Vergleich wurde der CSB einer unbehandelten Wasserprobe und einer mit Eisenchlorid geflockten Wasserprobe gemessen. Die eingesetzte Moringakonzentration betrug 100 mg/l. Als Versuchswasser wurde NKB-Wasser, das zusätzlich mit Trübstoffen versetzt wurde, eingesetzt. Die anfängliche Trübung betrug 120 TE/F. Alle Proben wurden nach Beendigung des Flockungsvorgangs nach zwei Stunden abfiltriert. In Tabelle 23 sind die Werte dieser als Doppelbestimmung durchgeführten Messung aufgeführt.

Tabelle 23: Vergleich von CSB- Werten nach Flockung

CSB-Werte in mg/l	Blindwert	mit Moringa geflockte Probe	mit Eisenchlorid geflockte Probe
1.Messung	53	78	26
2.Messung	51	64	32
Durchschnittswerte	52	71	29

Mit einem Wert von 52 mg/l lag der CSB des Blindwertes bei dieser Wasserprobe ungewöhnlich hoch. Der Durchschnittswert des CSB im Kläranlagenablauf liegt bei 25 mg/l. Dies ist vermutlich auf Substanzen aus den zugesetzten Trübstoffen zurückzuführen, die durch die Filtration nicht entfernt wurden. Wie aus Tabelle 23 hervorgeht, wurden diese Substanzen jedoch bei der Eisenchloridflockung zum Teil mit ausgeflockt und folglich abfiltriert. Daher liegt der CSB-Wert dieser Probe unterhalb des Blindwertes. Der CSB der mit Moringa geflockten Probe liegt jedoch mit 71 mg/l deutlich über dem Wert der Blindprobe.

Obwohl eine Flockung stattgefunden hat, sind folglich durch die Behandlung mit Moringasamen als Flockungsmittel mehr organische Substanzen in das zu behandelnde Wasser eingebracht worden, als durch die Flockung mit nachfolgender Sedimentation und Filtration wieder entfernt werden konnten. Das durch die verbleibenden Stoffe erhöhte Nährstoffangebot begünstigt die bereits erwähnte verstärkte Wiederverkeimung.

5.8.2 Der Biochemische Sauerstoffbedarf BSB₅

Durch den BSB erhält man quantitative Angaben über die biologisch abbaubare organische Belastung eines Wassers. Er wird über die Sauerstoffzehrung bestimmt. Damit werden organische Stoffe erfaßt, die von Mikroorganismen abgebaut und damit oxidiert werden. Im Fall der Bestimmung des BSB₅ in einer mit Samen von *Moringa oleifera* behandelten Wasserprobe sollte festgestellt werden, in welcher Größenordnung die Samen zur organischen Belastung beitragen, bzw. als Nährstoff für Mikroorganismen dienen können. Der BSB₅ wurde nach der Verdünnungsmethode nach DIN 38 409 der deutschen Einheitsverfahren zur Wasser- Abwasser- und Schlammuntersuchung vorgenommen. Als Vergleich wurde der BSB₅ einer mit Eisenchlorid geflockten Wasserprobe, sowie einer unbehandelten Wasserprobe herangezogen.

Ergebnisse

Der BSB₅ des Kläranlagenablaufs der Kläranlage Büsnau liegt durchschnittlich bei 5 mg/l Sauerstoff. Die BSB₅ Werte der Blindprobe bei diesem Versuch lagen mit einem Wert < 3 mg/l unterhalb dieses Durchschnittswertes. Auch der ermittelte Wert der mit Eisenchlorid behandelten Probe lag unterhalb der Meßgrenze von 3 mg/l Sauerstoff. Da kein, bzw. ein anorganisches Flockungsmittel zugegeben wurde, ist, wie erwartet, bei diesen beiden Proben kein Anstieg des BSB₅-Wertes festgestellt worden. Die parallel bestimmten CSB-Werte der Blindprobe von 50 mg/l und der mit Eisenchlorid geflockten Probe von 30 mg/l bestätigten ebenfalls, daß kein organisches Material eingebracht worden war.

Der BSB₅ des mit *Moringa oleifera* behandelten Wassers lag bei 9 mg/l. Der dazugehörige CSB betrug 70 mg/l. Dies deutet wiederum darauf hin, daß durch die Flockung mit *Moringa oleifera* das Wasser zusätzlich mit organischer Substanz angereichert wurde, die auch nach Sedimentation und Filtration im Wasser verblieben ist. Wie sich jedoch aus dem Verhältnis BSB₅ zu CSB schließen läßt, handelt es sich nicht um leicht abbaubare Substanzen. Diese hätten bei diesem CSB-Wert eine raschere Sauerstoffzehrung und somit einen höheren BSB₅ zur Folge gehabt. Trotzdem stellen die durch das Flockungsmittel *Moringa oleifera* eingebrachten Substanzen ein erhöhtes Nährstoffangebot dar, und begünstigen somit längerfristig die Wiederverkeimung.

5.9 CSB in Abhängigkeit von der Moringakonzentration

Um die Auswirkung des Moringaeintrags auf den CSB näher zu bestimmen, wurde NKB-Wasser mit unterschiedlichen Moringakonzentrationen versetzt. Es lag eine sehr geringe Trübung mit 2 - 5 TE/F vor. Nach einer Rührzeit von 20 Minuten und einer Einwirk- und Sedimentationszeit von zwei Stunden wurde der CSB gemessen.

Tabelle 24: CSB-Werte verschiedener Moringakonzentrationen in NKB-Wasser

Moringakonz. in mg/l	0	150	200	250	300
CSB in mg/l	55	143	165	160	190

Die Werte aus Tabelle 24 sind in Abbildung 19 graphisch dargestellt.

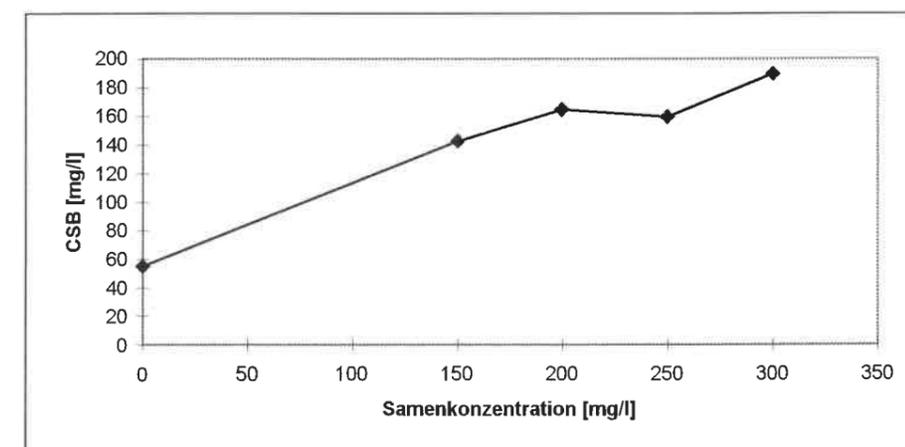


Abbildung 19: CSB-Werte in Abhängigkeit von der Samenkonzentration

Der CSB des behandelten Wassers steigt mit der Konzentration an zugesetzten Moringasamen an. Dies zeigt den beträchtlichen Eintrag von organischem Material durch die Samen. Der CSB der Blindprobe lag bei diesem Versuch bei 55 mg/l.

Auch in nachfolgender Abbildung 20 [Sutherland, 1995] ist ein Verlauf des CSB in Abhängigkeit von der eingesetzten Moringamenge dargestellt. Die von Sutherland ermittelten Ergebnisse wurden jedoch aus einer mit Moringa geflockten Wasserprobe entnommen. Im Gegensatz zu Abbildung 19 sinkt der CSB hier zunächst mit Zunahme der Moringakonzentration im behandelten Wasser und bleibt dann nahezu gleich. Die Anfangswerte des CSB lagen jedoch mit 450 mg/l sehr hoch. In Folge der Verwendung von mit Trübstoffen versehenem Wasser und der daher durch *Moringa oleifera* hervorgerufenen Flockung wurden die für den CSB-Wert relevanten Stoffe vermutlich in größerem Umfang geflockt und mit ausgefällt. Die in Tabelle 23 aufgeführten Werte, gehen jedoch aus Wasserproben hervor, bei denen aufgrund eines sehr geringen Trübungsgrades keine Flockung einsetzte. Das heißt, der CSB ergab sich nur durch den Eintrag der Moringasamen, wohingegen bei Sutherland die Flockung des trübstoffhaltigen Wassers dazu führte, daß mehr organisches Material gebunden wurde, als durch die Samen eingebracht worden war, der CSB also zunächst abnahm, dann jedoch auf vergleichbarem Niveau wie im oben dargestellten Versuch selbst bei höherer Moringakonzentration nahezu konstant blieb.

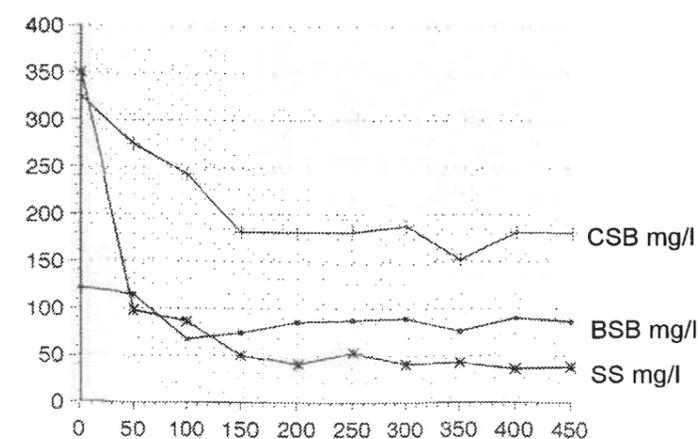


Abbildung 20: BSB, CSB und suspendierte Partikel (SS) in Abhängigkeit der Moringakonzentration nach Sutherland, 1995

5.10 Flockungswirkung von *Moringa oleifera* Samen in einer Hefesuspension

Um die Wirkung von *Moringa oleifera* zusätzlich auf einen nichtbakteriellen Einzeller zu untersuchen, wurden Versuche mit Hefe durchgeführt. Da Hefen, die den Pilzen zugeordnet werden, auch in der Biotechnologie eine bedeutende Rolle spielen, wurde *Saccharomyces cerevisiae* (Backhefe) als Vertreter dieser Gruppe ausgewählt. Technische Trennverfahren, die industriell zum Einsatz kommen sind die Zentrifugation und die Filtration mit verschiedenen apparatetechnischen Möglichkeiten. Dabei wird in vielen Fällen von geflockten Fermenterabläufen ausgegangen. Als Flockungsmittel wird unter anderem auch Aluminiumsulfat eingesetzt. Wie schon in Abschnitt 4.2 erwähnt, könnte *Moringa oleifera* eine Alternative zu chemischen Flockungsmitteln darstellen.

Für die Flockung mit *Moringa oleifera* wurde Hefe in unterschiedlicher Menge mit Wasser vermischt. 1g Preßhefe enthält ca. 10^{10} Hefezellen. Die Trübung der Hefesuspensionen lag mit Werten von >2000 TE/F sehr hoch. Damit konnte auch festgestellt werden, inwieweit die Flockungswirkung von *Moringa oleifera* in sehr trüben Suspensionen noch zum Tragen kommt.

Mit den ersten Flockungsversuchen sollte festgestellt werden, ob sich solche Suspensionen mit Moringasamen flocken lassen. Die Auswertung der Ergebnisse ist in Tabelle 25 dargestellt. Die Blindwerte der Hefekonzentrationen, die ebenfalls in den angegebenen Zeiträumen gemessen wurden, lagen bis zur letzten Messung über 2000 TE/F

Tabelle 25: Trübungsverlauf [TE/F] der Flockung von Hefesuspensionen unterschiedlicher Konzentrationen

Zeit [min]	5g/l Hefe + 2g/l Moringa	12,5g/l Hefe+ 3g/l Moringa	20g/l Hefe + 3g/l Moringa	30g/l Hefe + 3g/l Moringa	40g/l Hefe + 3g/l Moringa
0	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000
60	67	160	112	>2000	>2000
90			65		
120	58	47	54		
150				1700	60
180	38	43	43	102	
210	24	41	55	76	

Aus den Werten der Tabelle 25 geht hervor, daß sich eine Flockung von Hefesuspensionen in jedem dieser Fälle durchführen läßt.

Aufgrund dessen wurde im folgenden eine optimale Dosierung der Moringasamen für eine Flockung einer Hefesuspension mit einer Konzentration von 20g/l ermittelt. Die Trübung wurde nach Sedimentation der Hefezellen in den in Tabelle 26 angegebenen Zeiträumen gemessen.

Tabelle 26: Zeitlicher Verlauf einer mit verschiedenen Moringakonzentrationen geflockten Hefesuspension (c= 20g/l)

Zeit [min]	Moringa 4g/l [TE/F]	Moringa 6g/l [TE/F]	Moringa 8g/l [TE/F]	Moringa 12g/l [TE/F]	Moringa 15g/l [TE/F]
0	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000
30	>2000	530	180	255	265
60	>2000	122	84	113	91
120	1300	48	32	32	34
150	400	36	25	32	35
210	227	40	24	32	38

Die Werte der Trübungsmessung aus Tabelle 26 sind in Abbildung 21 graphisch dargestellt.

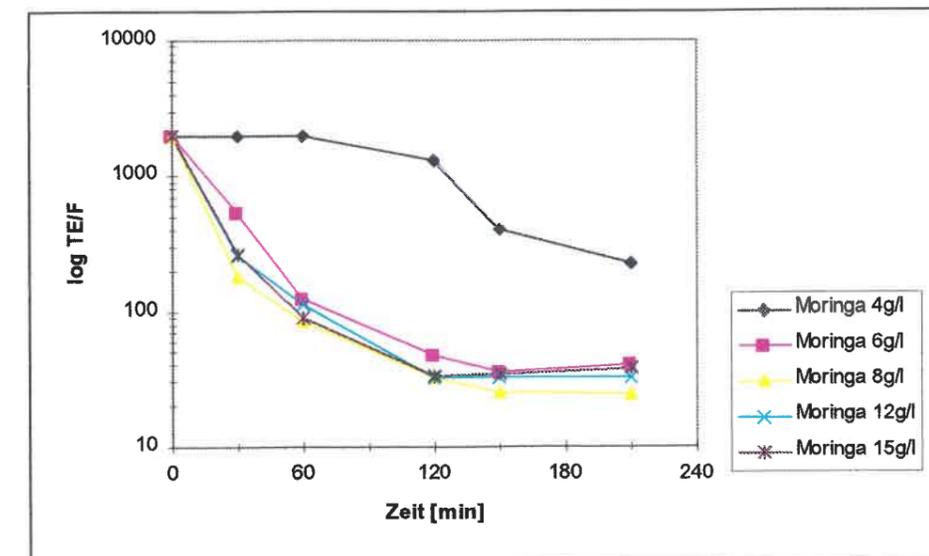


Abbildung 21: Trübungsverlauf einer mit verschiedenen Moringakonzentrationen geflockten Hefesuspension

Mit einer Moringakonzentration von 8 g/l konnte eine minimale Endtrübung von 24 TE/F erreicht werden

Die Konzentration der Hefe in der Suspension wurde dann mehrmals erhöht und mit 8 g/l bzw. 16 g/l Moringasuspension versetzt. Die untersuchten Hefekonzentrationen und die sich daraus ergebenden Werte sind in Tabelle 27 dokumentiert.

Tabelle 27: Trübungsverlauf [TE/F] von geflockten Hefesuspensionen in unterschiedlichen Konzentrationen

Zeit [min]	30g/l Hefe + 8g/l Moringa	40g/l Hefe + 8g/l Moringa	50g/l Hefe + 16g/l Moringa	60g/l Hefe + 16g/l Moringa	Blindprobe
0	>2000	>2000	>2000	>2000	>2000
60	>2000	>2000	>2000	>2000	
120	440	1160	140	78	
210	a) 50 b) 290	a) 113 b) kein Meßwert	a) 84 b) 130	a) 49 b) 80	
330	b) 57	kein Meßwert	b) 67	b) 58	>2000

a) Probenahme für die Trübungsmessung in oberer Phase

b) Probenahme für die Trübungsmessung in mittlerer Phase

Auswertung:

Wie aus Tabelle 26 hervorgeht, hängt die Qualität der Flockungsergebnisse bei gleicher Hefekonzentration von der optimalen Konzentration an Moringasamen ab. Wird die eingesetzte Samenmenge zu hoch dosiert, führt dies zu einer Verminderung des Trübungsrückgangs.

Bei der Erhöhung der Hefekonzentration auf 30 g/l wurde, wie aus Tabelle 27 ersichtlich ist, eine höhere Endtrübung von 57 TE/F gemessen. Auch bei einer Hefekonzentration von 60 g/l konnte, infolge Erhöhung der Konzentration von Moringasamen auf 16 g/l wieder eine gute Flockungswirkung erzielt werden.

Die Besonderheit bei der Flockung von Hefesuspensionen zeigt sich darin, daß sich während der Flockung drei Phasen unterschiedlicher Trübung bilden. Die oberste Flüssigkeitsphase von ca. 50 ml bei einem Gesamtvolumen von 400 ml wird schon nach 30 Minuten durchsichtig klar. Daran schließt sich eine milchig trübe Schicht an, die jedoch gegen Ende des Flockungszeitraums, die in Tabelle 27 genannten Endtrübungswerte erreicht. Die geflockten Hefezellen befinden sich in der untersten Phase, mit einem Volumen von ca. 100 ml.

Bei der Blindprobe konnte eine natürliche Absetzung der Hefezellen in der Suspension verfolgt werden. Diese nahm jedoch einen längeren Zeitraum in Anspruch. Nur oberhalb der ersten 10 - 20 ml war die Suspension nicht mehr getrübt. Darunter lag der Trübungswert der Blindprobe innerhalb des Meßzeitraums immer über 2000 TE/F. Darüber hinaus kam es bei der Blindprobe nicht zur Auftrennung in weitere Phasen.

Mikroskopische Beobachtungen

Mit Hilfe eine Methylenblaulösung können tote Hefezellen blau angefärbt werden. Lebende Zellen werden nicht angefärbt und erscheinen farblos unter dem Mikroskop. Zunächst wurden Hefezellen der Blindprobe mit Methylenblau angefärbt und mikroskopisch untersucht. Der dabei festgestellte prozentuale Anteil an toten Hefezellen lag bei ca. 1%. Die Untersuchung der sedimentierten Hefezellen, die mit Moringasamen geflockt worden waren, ergab bei drei Stichproben keinen wesentlich höheren Anteil an toten Hefezellen. Daraus läßt sich schließen, daß eine Behandlung mit *Moringa oleifera* keine toxische Wirkung auf die Hefe *Saccharomyces cerevisiae* besitzt, sondern sie nur ausflockt.

6 Ergebnisse, Diskussion Öffentlichkeitsarbeit und Fazit

6.1 Ergebnisse und Diskussion

Bei der Behandlung der verschiedenen Rohwässer mit Pulver aus Samen von *Moringa oleifera* wurde festgestellt, daß in jedem Fall eine entkeimende Wirkung gegeben war. Die entkeimende Wirkung war umso höher je trübstoffreicher das Rohwasser war. Die entkeimende Wirkung war jedoch innerhalb eines halben Tages auch bei gefiltertem Wasser durch Wiederverkeimung aufgehoben. Nach einem Tag Standzeit überschritt die Keimzahl den ursprünglichen Wert und sogar den Wert einer entsprechenden Blindprobe.

Im einzelnen wurde untersucht, ob die Zubereitung und Dosierung des Moringapulvers einen Einfluß auf dessen entkeimende Wirkung besitzt. In einer ersten Testreihe wurde geprüft, ob das zeit- und arbeitsaufwendige Entfernen der Samenhülle vor der Pulverisierung des Samens notwendig ist. Die Ergebnisse zeigen eindeutig, daß die flockende und entkeimende Wirkung des Moringapulvers aus Samen mit Hüllen drastisch geringer ist als ohne Hüllen. Die Entfernung potentieller Störstoffe aus dem Moringapulver durch Extraktion erbrachten keine signifikante Verbesserung der Keimzahlreduktion. Untersuchungen zur Stabilität der Wirkstoffe von *Moringa oleifera* führten zu dem Ergebnis, daß erst eine längere Lagerzeit bei erhöhten Temperaturen (60 °C, 97°C) einen negativen Einfluß auf die keimzahlreduzierende Wirkung des Moringapulvers besitzt. Hingegen läßt die keimzahlreduzierende und flockende Wirkung einer Moringasuspension rasch nach.

Inwieweit die entkeimende Wirkung auf den Flockungseffekt zurückzuführen ist wurde durch Vergleich mit den konventionellen Flockungsmitteln Aluminiumsulfat und Eisenchlorid untersucht. Die Ergebnisse zeigen, daß die Flockung mit Moringapulver länger dauert als mit chemischen Flockungsmitteln und die Resttrübung höher ist, wobei jedoch bei höherer Anfangstrübung die Resttrübung geringer wird. Trotz der höheren Resttrübung des mit Moringapulver geflockten Wassers entspricht dessen Restkeimgehalt dem mit Eisenchlorid behandelten Wasser und ist geringer als beim mit Aluminiumsulfat behandelten Wasser. Die durch Behandlung mit Moringapulver erzielte Keimzahlreduktion war bei trübstoffreicheren Wässern deutlich höher als bei trübstoffarmen Wässern wie dem Ablauf der Nachklärung. Dies verdeutlicht, daß die Flockungswirkung der Moringasamen der entscheidende Faktor für das Ausmaß der Keimzahlreduktion ist. Auch die in der Literatur beschriebene teilweise deutlich hö-

here Keimzahlreduktion ist wohl auf die in diesen Versuchen eingesetzten Wässer mit sehr viel höherem Trübstoffgehalt zurückzuführen.

Der in den Samen des *Moringa oleifera* nachgewiesene bakterizide Wirkstoff hat nach unseren Untersuchungen gegenüber der flockenden Wirkung bei den üblichen Anwendungskonzentrationen einen untergeordneten Einfluß auf die entkeimende Wirkung. Dies geht schon aus der Tatsache hervor, daß eine den optimalen Wert überschreitende höhere Moringakonzentration zu einer geringeren Entkeimung führt. Darauf weist auch die beobachtete Wiederverkeimung hin, die bereits nach Stunden einsetzt, innerhalb eines halben Tags zur ursprünglichen Keimzahl führt und nach mehreren Tagen im Gegensatz zum Blindwert diesen um bis zu drei Zehnerpotenzen übersteigt. Ursache für den Effekt der Wiederverkeimung wird der Eintrag von löslicher organischer Substanz bei Anwendung des Moringapulvers sein. Allerdings liegt diese zum großen Teil in nicht leicht abbaubarer Form vor, wie Untersuchungen zum BSB/CSB-Verhältnis zeigen. Der Eintrag von organischer Substanz könnte aber bei infolge ungenügender Keimzahlreduktion notwendiger Chlorung durch erhöhte Chlorzehrung, bzw. Bildung von Chlorierungsprodukten, nachteilige Auswirkungen haben.

Eine spezifische Wirkung von Moringapulver auf einzelne Bakteriengruppen konnte nicht festgestellt werden.

Die gute flockende Wirkung des Moringapulvers besonders bei hohem Trübstoffgehalt hat zu der Überlegung geführt, dieses im Bereich der Lebensmitteltechnologie einzusetzen, da Moringasamen in den Ursprungsländern selbst als Lebensmittel Verwendung findet und die bei der Fällung entstehenden Fällungsschlämme leichter weiterzuverwerten wären, als die chemischen Fällungsschlämme. Untersuchungen mit Hefesuspensionen waren erfolgreich und haben gezeigt, daß keine toxische Wirkung auf die Hefezellen ausging.

6.2 Öffentlichkeitsarbeit und Präsentation

Zur Verbreitung der Ergebnisse der Untersuchung ist eine Veröffentlichung in einer Fachzeitschrift sowie im Jahresbericht des Instituts vorgesehen. Ebenso ist geplant, darüber in einer Vortragsveranstaltung zu berichten.

6.3 Fazit

Bei den im Projekt durchgeführten Untersuchungen stellte sich heraus, daß durch den Einsatz von Moringapulver zur Aufbereitung von Rohwasser eine Reduktion der Keimzahlen erzielt werden kann. Die Reduktion ist umso höher, je trübstoffreicher das Wasser ist. Durch weitere Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, daß die Entkeimung im wesentlichen auf den Flockungseffekt des Moringapulvers zurückzuführen ist. Da die Rohwasserquellen in Deutschland meist relativ trübstoffarm sind, wird dieses Verfahren zur Wasserentkeimung hier kaum in Frage kommen, zumal die entkeimende Wirkung nach wenigen Stunden bzw. Tagen durch verstärkte Wiederverkeimung aufgehoben und sogar noch gefördert wird.

Die Verwendung des Moringapulvers zu Fällungszwecken in der Lebensmittelindustrie scheint aussichtsreicher zu sein, da Moringa selbst Lebensmittel ist und so eine biologische und umweltfreundliche Alternative zu chemischen Flockungsmitteln und deren Abfallproblematik darstellt.

Stuttgart, den 16. Juli 1997



Prof. Dr.-Ing. U. Rott



Dr.-Ing. H.-P. Haug

7 Literaturverzeichnis

- Bayrisches Landesamt für Wasserwirtschaft, Info Heft 3/91, Untersuchungen zur Keimreduktion im gereinigten Abwasser durch UV- Bestrahlung
- Barth H., Habs M., Klute R., Müller S. und Tauscher B.; Trinkwasseraufbereitung mit Samen von *Moringa oleifera*, Chemiker Zeitung 2/82
- Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser-, und Schlammuntersuchung; Fachgruppe Wasserchemie in der GDCh Karlsruhe in Gemeinschaft mit dem Normenausschuß Wasserwesen im Deutschen Institut für Normung e.V., Beuth Verlag GmbH, 36. Lieferung 1996
- Eilert U., Wolters B. and Nahrstedt; The Antibiotic Principle of seeds of *Moringa oleifera* and *Moringa stenopetala*, Planta medica, Journal of Medicinal Plant Research, 1981
- Fink W.; Dissertation, Identifizierung, Reindarstellung und Strukturaufklärung flokkungsaktiver Wirkstoffe aus höheren Pflanzen zur Wasserreinigung, 1984
- Folkard G.K., Sutherland J.P. and Grant W.D.: Optimisation of the use of natural coagulants for water purification. Technical report No. R4254. Dept. of Engineering, University of Leicester 1989
- Grabow W.O.K., Slabbert J.L., Morgan W.S.G. und Jahn S.A.A.; Toxicity and mutagenicity evaluation of water coagulated with *Moringa oleifera* seed preparations using fish, protozoan, bacterial, coliphage, enzyme and Ames *Salmonella* assays, Water SA, 11:9, 1985
- Gyadu, Samuel et.al.; Untersuchungen über die entkeimende Wirkung des Pulvers von Samen des *Moringa oleifera* –Baumes. unveröffentlicht 1994
- Jahn S.A.A.; Dirar H.; Studies on Natural Coagulants in the Sudan with Special Reference to *Moringa oleifera* Seeds, Water SA, 5:90, 1979
- Jahn S.A.A.; Traditional Water Purification in Tropical Developing Countries - Existing Methods and Potential Application -, GTZ Eschborn 1981

- Jahn S.A.A.; Effectiveness of Traditional Flocculants as Primary Coagulant Aids for the Treatment of Tropical Raw Water with a more than Thousand-fold Fluctuation in Turbidity, *Water Supply* 2, 3/4. SS 6-8 , 1984
- Jahn S.A.A.; Proper use of African natural coagulants for rural water supplies - Research in the Sudan and a guide for new projects -, GTZ Eschborn, 1986
- Jahn S.A.A.; Using *Moringa* Seeds as Coagulants in Developing Countries, *Journal AWWA*, Juni 1988
- Jahn S.A.A.; Möglichkeiten und Grenzen der Anwendung von Moringa-Samen für die Abwasserbehandlung, *Wasser-Info* 04, GTZ Eschborn, 1992
- Madsen M., Schlundt J. und El Fadil E. Omer; Effect of water coagulation by seeds of *Moringa oleifera* on bacterial concentrations, *Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 90, 101-109, 1987
- Muyibi S. A., Evison L.M.: Optimizing physical parameters affecting coagulation of turbid water with *Moringa oleifera* seeds. *Wat.Res.* Vol 29/12 2689-2695 1995
- Olsen A.; Low technology water purification by Bentonite clay and *Moringa o.* seed flocculation as performed in sudanese villages: Effects on *Schistosoma mansoni* cercariae, *Wat.Res.* Vol.21, No 5. 1987
- Römpp Chemie Lexikon, Thieme Verlag Stuttgart, 9. Auflage 1992
- Rott U.; Manuskript zur Vorlesung Wasseraufbereitung I, Institut für Siedlungswasserbau der Universität Stuttgart, 1993
- Skript zum Anwenderseminar „Biochemischer Sauerstoffbedarf“, Institut für Siedlungswasserbau - Abteilung Chemie - der Universität Stuttgart, April 1990
- Sutherland J.P., Folkard G.K. and Grant W.D.; Natural Coagulants at Pilot scale 18th WEDC Conference Proceedings pp. 55-58. 1992

Sutherland J.P., Folkard G.K.; Development of Robust Water Treatment Processes Incorporating Natural Coagulants, Leicester University, Department of Engineering, Report 95

Sutherland J.P., Al-Khalili R., Folkard G.K.; *Moringa oleifera* - A Multipurpose Tree, persönliche Mitteilung, 1996

Tauscher B.; Water Treatment by Flocculant Compounds of Higher Plants, Plant Research and Development, Institute for Scientific Co-operation, Tübingen, Vol. 40, 1994

Wagner R.; Wasserkalender 1990 Erich Schmidt Verlag, Berlin 1989

8 Anhang

8.1 Methoden

8.1.1 Behandlung der Samen vor den Versuchsdurchführungen

Zerkleinern der Samen

Vor Flockungsversuchen und bakteriologischen Untersuchungen wurden die Samen gemahlen. Es wurden Samen mit Hülle und ohne Hülle in einer Zentrifugalmühle unter Stickstoffzufuhr gemahlen. Diese Art der Zerkleinerung wurde gewählt, da der hohe Ölanteil der Samen bei anderen Mühlen dazu führte, daß die Samen lediglich zu einer inhomogenen Masse zerquetscht wurden und ein exaktes Abwiegen für das Herstellen von Suspensionen nicht möglich gewesen wäre.

Samensuspensionen

Es wurde eine wäßrige Lösung aus den gemahlene Samen mit bzw. ohne Schale als 2%ige Stammlösung hergestellt. Zur besseren Suspension wurde die Lösung zunächst mit Ultraschall vorbehandelt, danach 30 Minuten gerührt und abfiltriert. Die Porengröße des Filters betrug 0,125 mm.

Zum Vergleich wurden gemahlene Samen in unterschiedlichen Konzentrationen auch direkt mit dem zu untersuchenden Wasser gemischt.

Frisch zermörserte Samen

Bei verschiedenen Versuchen wurden auch frisch zermörserte Samen eingesetzt. Durch diese Experimente konnte ausgeschlossen werden, daß durch eine zu lange Lagerung von gemahlene Samen die Wirkung der Samen in größerem Maße beeinträchtigt wird.

Abtrennen störender Samenbestandteile

Zur Aufkonzentrierung des antibakteriellen Wirkstoffes wurden zwei verschiedene Methoden angewandt:

1. Extraktion der Samensuspensionen mit Ethylacetat
2. Denaturierung von Proteinen durch Hitze

Extraktion mit Ethylacetat

Zur Isolierung der aktiven Substanz und zur Abtrennung von Proteinen, wurde eine Extraktion mit Ethylacetat durchgeführt [Eilert *et al.*, 1981]. Mit den gemahlten und entölten Samen wurde eine wäßrige Lösung in verschiedenen Konzentrationen hergestellt. Nach dem Abfiltrieren mit einem Faltenfilter wurde die Lösung mit Ethylacetat in einem Schüttelkolben ausgeschüttelt. Die wäßrige Phase wurde verworfen. Zur Abtrennung des restlichen Wassers wurde der Ethylacetatphase wasserfreies Natriumsulfat zugegeben und abdekantiert. Anschließend wurde das Ethylacetat unter Vakuum abgetrennt. Der Rückstand wurde in Wasser gelöst und für weitere Versuche verwendet.

Gesamtkeimzahlbestimmung

Nähragar : 40g "DEV - Nähragar" Nr. 11471 wurde in 1l bidestilliertes Wasser gelöst und autoklaviert.

Die Verdünnungsreihen wurden mit 0,9%igem NaCl angelegt. Es wurden 0,1 ml der jeweiligen Verdünnung der zu untersuchenden Probe auf Agarplatten pipettiert und verstrichen.

Bebrütungsdauer: 44h ± 4h

Bebrütungstemperatur: 20°C.

8.1.2 Gesamtkeimzahlbestimmung mit Chromocult® Coliformen Agar

Chromocult® Coliformen Agar ist ein Selektivagar zum gleichzeitigen Nachweis von Gesamtcoliformen und *E. coli*. Durch Zugabe verschiedener Substrate kommt es bei den verschiedenen Bakterien zu unterschiedlichen Farbreaktionen aufgrund dessen die Bakterien identifiziert werden können.

Auswertung: *E. coli*: Dunkelblau-violette Kolonien (Salmon-GAL- und X-Glucuronid-Reaktion)

Coliforme: Rosa-rote Kolonien (Salmon-Gal-Reaktion)

Andere Enterobacteriaceae: Farblose Kolonien. Eine Ausnahme bilden einige Stämme, die β -D-Glucuronidaseaktivität besitzen. Diese Kolonien färben sich hellblau-türkis.

8.1.3 Extraktion des Öles der Samen von *Moringa oleifera*

Die Extraktion wurde mit einer kleinen Soxhletsäule (Länge 28 cm) durchgeführt. Für jede Extraktion wurden 7-10 g gemahlene Moringasamen ohne Hülle abgewogen und in eine Extraktionshülse gefüllt. Als Lösungsmittel wurde Dichlormethan eingesetzt. Für die 3 - 4 Stunden dauernde Extraktion wurden 150 ml Dichlormethan in einem 250 ml Rundkolben mit einer Heizhaube erhitzt. Nach erfolgter Extraktion wurde die Hülse unter dem Abzug getrocknet und anschließend gewogen. Der Ölanteil bei *Moringa oleifera* beträgt ungefähr 30%.

8.1.4 Flockungsversuche

Die Flockungsversuche wurden mit einem Reihenrührgerät "Aqua Lytic®" durchgeführt. In Bechergläser wurden 500-800 ml des zu untersuchenden Wassers eingefüllt. Die Rührgeschwindigkeit und -dauer wurde je nach Art des Versuches variiert.

8.1.5 Biochemischer Sauerstoffbedarf

Der biochemische Sauerstoffbedarf ist ein Maß zur Quantifizierung der Belastung eines Wassers/Abwassers mit abbaubaren organischen Stoffen, d.h. mit solchen organischen Stoffen, die von den Mikroorganismen eines aquatischen Ökosystems als Wasserstoffdonatoren genutzt und dabei oxidiert werden können. Mit dem BSB wird eine bestimmte Wirkung erfaßt, die einer Vielzahl von Einzelstoffen in der Probe gemeinsam ist, die weder der Art noch der Menge nach bekannt sein müssen. Als eine weitgehend stoffunspezifische Kerngröße ist er ein typischer Summenparameter. Der BSB wird zwar wie eine Konzentration behandelt, aber es handelt sich nur um eine konzentrationsanaloge Größe, deren additives Verhalten im Einzelfall ggf. nachgewiesen werden muß. Wasserstoffdonatoren verursachen einerseits Sauerstoffzehrung, andererseits sind sie auch für andere mikrobielle Reduktionsvorgänge essentiell. Aus diesem Grund ist der BSB auch wichtig für die Beurteilung von organischen Wasserbelastungen. Darüber hinaus stellt er auch ein Kriterium für die biologische Aktivität eines Gewässers dar, da Verschmutzungsstoffe auch als Nährstoffe verwertbar sein können. Mit dem BSB wird die Sauerstoffzehrung des Versuchswassers bestimmt. Mit dem BSB_5 wird der Sauerstoffbedarf des biologisch leicht abbaubaren Anteils an der Gesamtheit der organischen Stoffe beschrieben. Um sicherzustellen, daß evtl. Adaptionsvorgänge der Mikrobiozönose abgeschlossen und organische Stoffe abgebaut sind, wurde die Zeitspanne für die Bestimmung des BSB auf fünf Tage festgelegt. Dadurch ist auch die Vergleichbarkeit von BSB-Werten gewährleistet.

Der Quotient von BSB_5 und CSB wird als Abbauquotient (AQ) bezeichnet. Er dient zur Charakterisierung der in den Proben enthaltenen organischen Substanzen. Mit dem Abbauquotienten können Rückschlüsse darauf gezogen werden, wie gut, bzw. wie schlecht die organischen Substanzen abbaubar sind.

$$AQ = \frac{BSB_5}{CSB} \times 100$$

Bewertung des Abbaquotienten

- AQ \geq 60% Die organische Substanz ist leicht und praktisch vollständig abbaubar
- 60% > AQ > 0% Die organische Substanz ist nur unvollständig abbaubar, verursacht durch
- a) verzögerten Anlauf der Reaktion wegen langwieriger mikrobieller Anpassungsvorgänge, oder
 - b) das Vorliegen von Substanzgemischen mit Anteilen an schwer oder nicht abbaubaren Stoffen, oder
 - c) hemmende Einflüsse toxischer Bestandteile
- AQ \approx 0% mangelnder Abbau wegen Vorliegens von
- a) persistenten organischen Verbindungen, oder
 - b) toxischen Verbindungen, die die mikrobielle Aktivität im Test zum Erliegen bringen.

[Wagner, 1990]

Verdünnungsmethode

Bei der Ermittlung des BSB₅ darf nur das abbaubare Substrat als limitierender Faktor auftreten. Alle anderen Wachstumsbedingungen müssen möglichst optimal erfüllt sein.

Für die Verdünnung wird kein deionisiertes Wasser, sondern Trinkwasser verwendet, um die Versorgung von Spurenelementen, eines geeigneten osmotischen Druckes und einer ausreichenden Pufferkapazität zu gewährleisten. Dabei muß das Trinkwasser jedoch weniger als 0,1mg /l freies Chlor enthalten, um das Inokulum nicht zu schädigen. Das zu untersuchende Wasser wird mit einem relativ reinen Wasser, das nur einen sehr geringen eigenen biochemischen Sauerstoffverbrauch aufweist und das mit Sauerstoff gesättigt ist, verdünnt. Dabei muß gewährleistet sein, daß der Sauerstoffvorrat der sich ergebenden Mischung größer ist, als der Sauerstoffbedarf in der vorgesehenen Versuchszeit.

Zur Animpfung wird vorgeklärtes häusliches Abwasser (im Volumenverhältnis 1:100) benutzt. Damit ist auch der Spurenelementbedarf ausreichend gedeckt. Damit kein Mangel an Makronährstoffen auftritt, der limitierend wirken könnte, werden zusätzlich als Stickstoff- und Phosphatquelle Harnstoff und Natriumtripolyphosphat zugesetzt.

Das Verdünnungswasser wird bei 20°C im Dunkeln schwach belüftet. Damit notwendige Adaptionsvorgänge abgeschlossen sind, sollte das Verdünnungswasser erst ab dem dritten Tag verwendet werden. Es sollte aber nicht länger als bis zum 10. Tag benutzt werden, da nach diesem Zeitraum nicht mehr gesichert ist, daß die Biozönose noch nicht geschädigt ist. Der pH -Wert des Verdünnungswassers sollte zwischen 6 und 9 liegen.

Die Anfangs- und Endsauerstoffkonzentration der BSB₅-Bestimmung wird amperometrisch gemessen.

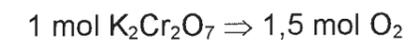
[Skript Anwenderseminar BSB, 1990]

Nachstehende photometrische Bestimmung des CSB wurden mit Spectroquant® Küvettentests der Fa. Merck, Darmstadt durchgeführt.

8.1.6 Chemischer Sauerstoffbedarf (CSB)

Der CSB ist ein Maß für die Gesamtheit der im Wasser enthaltenen organischen Stoffe.

Der CSB-Küvettentest beruht auf der Oxidierbarkeit organischer und anorganischer Stoffe im Wasser durch Kaliumdichromat. Die Masse an volumenbezogenem Sauerstoff ist mit der Masse an Kaliumdichromat äquivalent.



Durchführung: Die Wasserprobe wird mit heißer schwefelsaurer Kaliumdichromat-Lösung oxidiert. Silbersulfat wirkt als Katalysator. Störende Chloridionen werden mit Quecksilbersulfat maskiert. Photometrisch wird die Konzentration der unverbrauchten Chromat-Ionen bestimmt. Durch die Massenäquivalenz kann dann auf die unverbrauchte Sauerstoffmenge rückgeschlossen werden.

8.1.7 Herkunft der Samen

Die Samen von *Moringa oleifera* wurden aus Ghana von Dr. Samuel Gyadu, Erlangen, beschafft.

8.1.8 Untersuchte Wasserarten

Folgende Wasserarten wurden für die Versuche herangezogen:

- Wasser aus dem Kläranlagenablauf der Kläranlage Büsnau (Nachklärbecken)
- Wasser aus dem Bandtälesbach
- Wasser eines nahegelegenen Teiches
- Neckarwasser

8.2 Chemikalien

Aluminiumsulfat, 8%ig

Giulini Chemie GmbH
Ludwigshafen/Rh

N- Allylthioharnstoff, Ammoniumsulfat,
Acetonitril,
Ascorbinsäure, Dichlormethan
Ethanol, Ethylacetat, Methanol, Me-
thylenblau, Natriumhydrogenphosphat,
Natriumsulfat, Natronlauge, penta-
Natriumtriphosphat, Spectroquant (Kü-
vettentest für photometrische Schnel-
lanalyse von Nitrat, Nitrit, Ge-
samtstickstoff, CSB,), Schwefelsäure

Fa. Merck, Darmstadt

DEV Nähragar

Fa. Merck, Darmstadt

Eisenchlorid, 40%ig

Herkommer & Bangerter GmbH & Co,
89079 Ulm

8.3 Geräte

Floc Tester Aqua Lytic	Fa. Hoelzle & Chelius, Neu Isenburg
Microprocessor pH/ION Meter Microprocessor OXI-Meter -	Wissenschaftlich-technische Werk- stätten, Weilheim
Mikroskop "Biolam"	Bresser - Optik, Borken/Westf.
Photometer	Fa. Merck, Darmstadt
Ratio/XR Turbidimeter	Fa. Hach, Namur, Belgien
Rotationsverdampfer Rotavapor	Fa. Büchi Laboratoriumstechnik AG, Flawil, Schweiz
Soxhlet-Säule	Schott Glaswerke, Mainz
Thermoreactor TR 300	Fa. Merck, Darmstadt
Ultraschallbad, Sonorex	Bandelin electronic, Berlin
Zentrifugalmühle	Fa. Retsch, Haan