

**Daubner · Peter**  
**Membranfilter**



Daubner · Peter

# Membranfilter in der Mikrobiologie des Wassers

Mit 26 Abbildungen, zwei Farbtafeln  
und 36 Tabellen



Walter de Gruyter  
Berlin · New York · 1974

**RN Dr. Imrich Daubner, CSc., Direktor des Limnobiologischen Institutes der Slowakischen Akademie der Wissenschaften in Bratislava.**

**Dr. med. Helmut Peter, Facharzt für Laboratoriumsdiagnostik, Leiter des Bakteriologisch-serologischen Institutes in Hameln.**

**ISBN 3 11 003521 9**

**© Copyright 1974 by Walter de Gruyter & Co., vormals G. J. Göschen'sche Verlagshandlung, J. Guttentag, Verlagsbuchhandlung, Georg Reimer, Karl J. Trübner, Veit & Comp., Berlin 30.**

**Alle Rechte, insbesondere das Recht der Vervielfältigung und Verbreitung sowie der Übersetzung, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf in irgendeiner Form (durch Photokopie, Mikrofilm oder ein anderes Verfahren) ohne schriftliche Genehmigung des Verlages reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.**

**Satz: Walter de Gruyter, Berlin.**

**Printed in Germany.**

# Vorwort

Membranfilter finden in der Medizin, Naturwissenschaft und Technik immer weitergehende Anwendungsbereiche. Damit hat sich der ursprüngliche Zweck, nämlich Membranfilter bei der mikrobiologischen Wasseruntersuchung einzusetzen, erheblich ausgeweitet.

Umso erstaunlicher ist es, daß trotz einer fast unübersehbaren Fülle von Einzelarbeiten auf diesem Gebiet noch keine zusammenfassende Darstellung über dieses Thema in deutscher Sprache erschienen ist. Da der Einsatz von Membranfiltern bei der mikrobiologischen Wasseruntersuchung neben vielen anderen Staaten auch in Deutschland als Standardverfahren anerkannt ist, scheint hier eine Lücke zu bestehen, die wir mit dem vorliegenden Buch auszufüllen bestrebt sind.

Die Benutzer von Membranfiltern sind in der Regel wissenschaftlich ausgebildet. Deshalb erscheint es uns unumgänglich, über die reinen Anwendungsgebiete hinaus auch auf die Eigenheiten der Filter, die Theorie der Filtration und die Herstellung und Standardisierung der Membranfilter einzugehen.

Nur wenn man mit den theoretischen Grundlagen vertraut ist, wird man in der Praxis die Filter richtig einsetzen und Schwierigkeiten, die immer einmal auftreten können, meistern.

Zwar behandeln wir nur ein kleines Gebiet der Mikrobiologie. Trotzdem werden wir nicht alle Aspekte der Anwendung von Membranfiltern in der Mikrobiologie des Wassers aufgeführt haben und bitten um Nachsicht, wenn nicht alles, was mit unserer Thematik zusammenhängt, erschöpfend dargestellt wurde.

In dieser Zeit wird endlich der Bekämpfung der Umweltverschmutzung, besonders des Wassers, mehr Aufmerksamkeit geschenkt, als es früher der Fall war. Zu den damit zusammenhängenden Fragen der Wasseruntersuchung wollen wir mit der vorliegenden Publikation einen kleinen Baustein in methodischer Hinsicht beitragen und hoffen, daß unsere Arbeit den Laboratorien, die sich mit der mikrobiologischen Untersuchung des Wassers beschäftigen, eine Hilfe sein wird.

*Imrich Daubner  
Helmut Peter*



# Inhaltsverzeichnis

Einführung ( <i>I. Daubner</i> ) . . . . .	1
1. Historischer Überblick ( <i>I. Daubner</i> ) . . . . .	4
2. Filtration durch permeable Membranen ( <i>I. Daubner</i> ) . . . . .	12
2.1 Struktur des Membranfilters . . . . .	13
2.2 Theorie der Filtration . . . . .	17
2.3 Filtration von Elektrolyten . . . . .	24
2.4 Filtration von Chemikalien . . . . .	24
2.5 Filtration von Farbstoffen . . . . .	29
2.6 Filtration von Eiweißstoffen . . . . .	30
2.7 Filtration biologisch aktiver Stoffe . . . . .	32
2.8 Filtration von Viren und Bakteriophagen . . . . .	32
2.9 Filtration bakteriologischer Systeme . . . . .	35
3. Herstellung und Standardisierung der Membranfilter ( <i>I. Daubner</i> ) . . . . .	37
3.1 Beeinflussung der Porosität der Membranfilter . . . . .	38
3.2 Herstellung von Membranfiltern im Laboratorium . . . . .	42
3.2.1 Apparatur zur Herstellung der Membranfilter . . . . .	43
3.2.2 Membranfilter aus Nitrozellulose . . . . .	44
3.2.3 Transparente Membranfilter aus Nitrozellulose . . . . .	47
3.2.4 Membranfilter aus Acetylzellulose . . . . .	48
3.2.5 Transparente Membranfilter aus Acetylzellulose . . . . .	49
3.3 Industriell hergestellte Membranfilter . . . . .	51
3.4 Bestimmung der Porengröße des Filters . . . . .	59
3.4.1 Methode der Standardsole . . . . .	60
3.4.2 Blasendruckverfahren . . . . .	63
3.4.3 Die Methode des Wasserdurchflusses (Hagen-Poiseuille) . . . . .	65
3.4.3.1 Schichtdicke der Membrane . . . . .	66
3.4.3.2 Gewicht der feuchten und trockenen Membrane . . . . .	66
3.4.3.3 Durchflußgeschwindigkeit des Wassers . . . . .	67
3.4.3.4 Berechnung d. mittl. Porendurchmesser des Membranfilters . . . . .	68
3.4.4 Quecksilber-Intrusions-Verfahren . . . . .	70
3.5 Bestimmung der Durchlässigkeit der Membranfilter . . . . .	71
4. Sterilisierung und Aufbewahrung von Membranfiltern und Filtergeräten ( <i>I. Daubner</i> ) . . . . .	73
4.1 Sterilisierung durch Auskochen . . . . .	74
4.2 Sterilisierung der Membranfilter im Dampfstrom . . . . .	75
4.3 Sterilisierung der Membranfilter durch Autoklavierung . . . . .	76
4.4 Chemische Sterilisierung . . . . .	78
4.5 Sterilisierung durch ultraviolette Strahlen . . . . .	79
4.6 Aufbewahrung von Membranfiltern . . . . .	80
4.7 Sterilisierung der Filtrationsgeräte . . . . .	81
5. Anwendung von Membranfiltern in der Mikrobiologie ( <i>I. Daubner</i> ) . . . . .	84
5.1 Filtration des Wassers durch Membranfilter . . . . .	91
6. Bestimmung der Bakterienzahl im Wasser durch Membranfilter ( <i>I. Daubner</i> ) . . . . .	94
6.1 Gesamtzahl der Bakterien (mikrobielles Plankton) . . . . .	94
6.1.1 Die Methodik der mikroskopischen Direktzählung von Mikroorganismen . . . . .	102

6.1.2 Anwendungsgebiete der mikroskopischen Methode in der Praxis . . .	110
6.2 Heterotrophe Bakterien . . . . .	114
6.2.1 Methodik der Bestimmung von heterotrophen Bakterien . . . . .	119
6.2.2 Bakterien der Familie Pseudomonadaceae . . . . .	112
7. Bestimmung der Indikatoren fäkaler Verunreinigung des Wassers ( <i>I. Daubner</i> und <i>H. Peter</i> ) . . . . .	125
7.1 Bestimmung von Bakterien aus der Familie Enterobacteriaceae (sog. Koli- forme Bakterien) ( <i>I. Daubner</i> ) . . . . .	126
7.1.1 Verfahren nach amerikanischen Standardmethoden ( <i>I. Daubner</i> ) . . .	127
7.1.2 Verfahren nach dem Vorschlag von Mucha und Daubner ( <i>I. Daubner</i> )	130
7.1.3 Erfahrungen mit Membranfilterverfahren ( <i>I. Daubner</i> u. <i>H. Peter</i> ) . .	133
7.2 Bestimmung von Enterokokken (fäkaler Streptokokken) ( <i>I. Daubner</i> ) . . . .	138
7.2.1 Bestimmung von Enterokokken im Wasser . . . . .	141
7.2.2 Empfindlichkeit des Membranfilterverfahrens . . . . .	142
7.3 Bestimmung von Clostridien ( <i>I. Daubner</i> ) . . . . .	144
7.3.1 Bestimmung von Clostridien im Wasser . . . . .	145
8. Bestimmung der pathogenen Bakterien im Wasser ( <i>H. Peter</i> und <i>I. Daubner</i> ) . . . . .	147
8.1 Allgemeine Hinweise . . . . .	148
8.2 Nachweis von Salmonellen im Wasser ( <i>I. Daubner</i> ) . . . . .	149
8.3 Nachweis von Shigellen im Wasser ( <i>H. Peter</i> ) . . . . .	153
8.4 Nachweis von pathogenen Kolistämmen im Wasser ( <i>H. Peter</i> ) . . . . .	155
8.5 Nachweis von Choleravibrionen im Wasser ( <i>H. Peter</i> ) . . . . .	156
8.6 Nachweis von pathogenen Staphylokokken im Wasser ( <i>H. Peter</i> ) . . . . .	158
8.7 Nachweis von Tuberkelbakterien im Wasser ( <i>H. Peter</i> ) . . . . .	159
8.8 Nachweis von Milzbrandbazillen im Wasser ( <i>H. Peter</i> ) . . . . .	160
8.9 Bestimmung und Abtrennung von Leptospiren ( <i>I. Daubner</i> ) . . . . .	161
8.9.1 Methodik und Ergebnisse . . . . .	161
8.9.2 Isolierung von Leptospiren aus dem Wasser . . . . .	163
8.9.2.1 Methodik und Ergebnisse . . . . .	163
8.10 Nachweis von Wurmeiern im Wasser ( <i>H. Peter</i> ) . . . . .	164
8.11 Nachweis von Viren ( <i>H. Peter</i> und <i>I. Daubner</i> ) . . . . .	166
8.11.1 Nachweis von Viren im Wasser . . . . .	166
8.11.2 Arbeitsverfahren für Trinkwasser . . . . .	168
8.11.3 Arbeitsverfahren für Abwasser . . . . .	168
9. Bestimmung von physiologischen Bakteriengruppen im Wasser ( <i>I. Daubner</i> ) . . . . .	171
9.1 Bestimmung von Aktinomyzeten . . . . .	172
9.2 Bestimmung von ammonifizierenden Bakterien . . . . .	174
9.3 Bestimmung von amylytischen Bakterien . . . . .	175
9.4 Bestimmung von denitrifizierenden Bakterien . . . . .	176
9.5 Bestimmung von Eisenbakterien . . . . .	178
9.6 Bestimmung von nitrifizierenden Bakterien . . . . .	178
9.7 Bestimmung von Phosphatase-positiven Bakterien . . . . .	180
10. Bibliographie ( <i>I. Daubner</i> ) . . . . .	182
Sachregister ( <i>I. Daubner</i> ) . . . . .	209

# Einführung

Gegenwärtig finden Membranfilter ständig größer werdende Anwendungsmöglichkeiten. In einigen Fachgebieten der Physik, Chemie, Radiologie, Biologie, Pharmazie, Hygiene, namentlich jedoch in der Bakteriologie und Virologie wurden sie unersetzliche Hilfsmittel der Methodik.

Membranfilter sind hochporöse, etwa 0,1 mm dicke elastische Schichten, hergestellt aus Derivaten der Zellulose. Die Porengröße variiert von einigen Mikrometern bis zur Größenordnung der Moleküle. Sie dienen zur Erfassung oder Absonderung der dispersen Phase eines Systems durch Filtration. Im Aussehen ähneln Membranfilter weißem Kreidepapier. Für spezielle Zwecke werden jedoch auch gefärbte Membranfilter produziert. Sie erleichtern das Unterscheiden von durchsichtigen und farblosen Teilchen bzw. Bakterienkolonien.

Die zunehmende Verwendung von Membranfiltern in den verschiedenen Wissenschaftsgebieten ist durch ihre vielfältigen Vorteile erklärlich: einfache Handhabung und Transportmöglichkeit der Filter, wodurch ihre Anwendung im Gelände ermöglicht und erleichtert wird; Material- und Zeitersparnis; genaue, reproduzierbare und vergleichbare Ergebnisse, was aus den weiteren Ausführungen ersichtlich wird. Durch die Membranfiltertechnik kann die Kapazität der Routinearbeit im Laboratorium ohne weitere Anforderungen an Glas, Nährböden und Bruträume bedeutend erhöht werden.

Zusätzlich zu diesen wesentlichen Vorteilen ermöglichen Membranfilter die Durchführung von Aufgaben und Analysen, die sonst in vielen Fällen schwieriger, komplizierter und kostspieliger wären. Es handelt sich zum Beispiel um das Erfassen eines pathogenen Agens aus Wasser oder anderen Medien, um die Bestimmung und Isolierung einiger physiologischer Bakteriengruppen, um die chemische Bestimmung von Spurenelementen, die schnelle Diagnostik des Weges der Infektion bei Epidemien, um das Erfassen bakterieller Toxine und Metaboliten im Filtrat, um die Bestimmung pathogener Keime in Liquor, Harn und Blut, um die Entkeimung von Lösungen, Gasen usw.

Eine bedeutende Erleichterung und Vereinfachung der Arbeit bieten Membranfilter bei der Sterilisierung besonders thermolabiler Flüssigkeiten und in der pharmazeutischen Industrie, da festgestellt wurde, daß Ultrafilter auch pyrogene Stoffe erfassen. Man kann die Filter auch zur Bestimmung des Erfolges der Desinfektion, zur Kontrolle der Sterilität biologischer Produkte und in der Lebensmittelindustrie verwenden. Sie bewähren sich auch bei Empfindlichkeitstests auf Antibiotika und andere Heilmittel, in der Klinik zur abschließenden Filtration vor der intravenösen Behandlung, weiter in der hygienischen Praxis bei der Untersuchung des Waschwassers von Obst

und Gemüse, bei der Kontrolle von Molkereien sowie der Hände und Kleidung des Personals, in der Parasitologie bei der helminthologischen Untersuchung des Bodens, in der Hydrobiologie bei der Analyse des Planktons usw.

Membranfilter werden auch erfolgreich eingesetzt zur Trennung von Kolloiden aus Lösungen, bei gravimetrischen und mikrochemischen Bestimmungsverfahren in der Spektroskopie, Röntgenographie und Elektronendifraktion, bei der quantitativen Analyse der Luft, zur Bestimmung der Staubpartikel für hygienische und technische Zwecke, zur Erfassung der Aerosole, zur Analyse und Identifikation von Mikrotropfchen, zur Bestimmung der Konzentration der radioaktiven Stoffe, d. h. also bei vielen Aufgaben nicht nur in der Hydromikrobiologie und Bakteriologie, sondern auch in anderen Fachgebieten.

Obwohl Membranfilter in der Praxis, vor allem in der Hydromikrobiologie, vielfach Verwendung finden, gibt es unseres Wissens bisher noch keine zusammenfassende Monographie – außer den zahlreichen Originalarbeiten in der Literatur und den Prospekten der Herstellerfirmen – über dieses Thema. Wir möchten diese Lücke schließen und auf der Grundlage eigener Forschungsergebnisse unter Einbezug der Fachliteratur eine möglichst vollständige Übersicht über die Anwendungsmöglichkeiten von Membranfiltern in der Wassermikrobiologie geben.

Das Buch teilen wir in zehn Kapitel ein. Wir erwähnen kurz die Geschichte der Membran- und anderer Filter sowie der Ultrafiltration, mit spezieller Berücksichtigung der Hydromikrobiologie. Obwohl das Buch vor allem für die Routine-laboratorien bestimmt ist, halten wir es für notwendig, auch die Struktur des Membranfilters und die Theorie der Filtration zu beschreiben. Einen Abschnitt widmen wir dem filtrierte Material, welches durch seine physikalisch-chemischen Eigenschaften die Ergebnisse der Filtration wesentlich beeinflusst. Weiterhin beschreiben wir die Herstellung, Standardisierung, d. h. Bestimmung der Porengröße, und Sterilisierung der Membranfilter. Wenn auch heute die Laboratorien mit Fabrikzeugnissen guter Qualität und verschiedener Art versorgt sind, führen wir einige Möglichkeiten der Herstellung der Membranfilter im Laboratorium an. Unseren Erfahrungen nach kann dies bei speziellen Forschungsarbeiten nützlich sein.

Die physikalisch-chemischen Eigenschaften der Membranfilter behandeln wir nicht in einem selbständigen Kapitel, da diese bei den einzelnen Arten wegen der verschiedenen Herstellungsmethoden unterschiedlich sind und auch durch Art und Qualität des Rohmaterials beeinflusst werden. Wir führen sie im Kapitel über Filtration durch permeable Membranen sowie bei den einzelnen Typen der Membranfilter an.

In weiteren Kapiteln besprechen wir die Möglichkeiten der Anwendung der Membranfilter in der Hydromikrobiologie, besonders bei der komplexen

mikrobiologischen Wasseranalyse. Es handelt sich um die Bestimmung der gesamten Mikrobenzahl (des sog. mikrobiellen Planktons), der heterotrophen Bakterien, der Indikatoren der fäkalen Verunreinigung des Wassers, der pathogenen Bakterien und einiger physiologischer Mikrobengruppen, die am Stoffkreislauf im Wasser beteiligt sind. Besondere Aufmerksamkeit widmen wir der Methode der mikroskopischen Direktzählung, die eine Vielzahl von Möglichkeiten für die Hydromikrobiologie bietet.

Schließlich bringen wir eine Bibliographie über die Verwendung von Membranfiltern und Filtration, die Filtergeräte in der Mikrobiologie des Wassers sowie über einige theoretische Arbeiten, die den interessierten Fachleuten zur Orientierung und gründlicheren Kenntnisnahme dienen soll. Wir mußten aus der großen Anzahl von Arbeiten, die bisher auf diesem Gebiet veröffentlicht wurden, eine Auswahl treffen. So ließen wir Publikationen aus, die einem allgemeinen Leserkreis nur schwer zugänglich sind, ebenso Veröffentlichungen, die mit anderen angeführten Arbeiten praktisch identisch sind.

Die Aufgabe einer umfassenden Interpretation einer bestimmten Thematik ist immer schwierig. Wir sind uns dessen bewußt, daß unsere Publikationen die Anwendung von Membranfiltern in der Hydromikrobiologie in der ganzen Breite nicht erfassen können und noch ergänzt und vervollkommen werden müssen. Das Werk soll vor allem ein Hilfsmittel für mikrobiologische und andere Laboratorien sein, sowie die weitere Verbreitung der Membranfiltertechnik anregen.

# 1. Historischer Überblick

Filtration und Ultrafiltration mit Hilfe von Filtermembranen sind nicht gänzlich neue Arbeitsmethoden. Ihre Geschichte beginnt um die Mitte des vorigen Jahrhunderts, doch finden wir Angaben über die Anwendung semipermeabler Membranen für die Dialyse, weniger für Osmose, bedeutend früher. Es waren dies vor allem Experimente mit semipermeablen Häuten tierischen Ursprungs (Réaumur 1714 – Zit. Mervart 1957) bzw. mit keramischen und Asbestplatten verschiedener Ausmaße und Konstruktion.

Die erste Erwähnung über den Vorgang, den wir heute als Ultrafiltration bezeichnen, stammt aus dem Jahre 1826 von Dutrecht. Zur Filtration benutzte er Fischblasen und bezeichnete diese als „Filter“. Ähnliche Angaben finden wir aus dem Jahre 1856 bei Schmidt, der beobachtete, daß nach der Filtration von Eiweißstoffen oder *Gummi arabicum* durch Membranen animalischer Herkunft das Filtrat weniger konzentriert war als die Ausgangslösung. Im gleichen Jahre führte Hoppe-Seyler ähnliche Versuche durch. Die erwähnten Filter organischer und anorganischer Herkunft sind als eine Entwicklungsphase der heutigen Ultrafiltration durch Membranfilter zu betrachten.

Im Jahre 1884 veröffentlichte Chamberland einen kurzen Bericht über einen kerzenähnlichen Filtrationsapparat aus unglasiertem Porzellan. Dieses Filter wurde bald darauf in vielen Laboratorien angewandt. Nähere Aufmerksamkeit widmete man diesem Filter namentlich im Laboratorium Pasteurs, wo das Gerät weiter vervollkommen wurde. Heute ist dieses Filter als *Pasteur-Chamberlandsche Kerze* bekannt.

Etwa zehn Jahre später begann man die Pasteur-Chamberlandsche Kerze mit einer 10%igen Lösung von Gelatine oder einem Gel der Kieselsäure zu imprägnieren. Durch Filter, die auf diese Weise präpariert wurden, trennte 1896 Martin Kolloide von Kristalloiden und beschrieb gleichzeitig die Technik der Ultrafiltration. Im gleichen Jahre trennte man so Lysine und Antily sine und 1913 die Enzyme Zymase und Kozymase. Außerdem wurde mittels dieser Filter erstmalig Schlangengift in zwei Fraktionen geteilt: die erste löste Erythrozyten auf, die zweite schädigte das Nervenzentrum. In der angeführten Modifikation wurden jedoch die Chamberlandschen Filter wenig angewandt, weil die Filtration einen Druck von 40 bis 50 atü erfordert.

Mit Filtern aus ungebranntem Ton ist die bakterielle Filtration verbunden. Sie begann 1871 mit den Versuchen von Tiegel, der unter Verwendung dieser Filter und einer Bunsenpumpe den Erreger des *Anthrax* abfiltrierte. Ein Jahr später benutzte Eberth die gleiche Methode bei Versuchen mit *Coryne*

*bact. diphtheriae*. Pasteur und Joubert trennten Anthraxbakterien aus Dispersionen mittels Filter aus Gips.

Im Jahre 1891 führte Nordmayer als neues Filtermaterial gepreßte Infusorionterde ein. Nach dem Namen des Besitzers der Tonerdegrube, Berkefeld, nannte man dieses „Berkefeld-Filter“ (A System of Bact. in Relation to Medicine 1929).

Filtration und Ultrafiltration durch Membranen aus Nitrozellulose sind als Fortsetzung der Dialyse-Versuche anzusehen, welche hauptsächlich zur Abtrennung von Toxinen aus bakteriellen Kulturen durchgeführt wurden.

Der Bahnbrecher bei der Anwendung künstlicher semipermeabler Membranen, d. h. der Membranfilter im heutigen Sinne, war nach gleichlautenden Literaturangaben Fick (Bigelow und Gemberling 1907, Elford 1928, Taylor, Burman und Oliver 1953). In seiner Studie *Über Diffusion* aus dem Jahre 1855 beschreibt er Versuche mit solchen Membranen, die er selbst aus Kollodium in Säckchenform anfertigte. Diese Filter werden nach weiterer Vervollkommnung heute noch angewendet.

Fünf Jahre später, wahrscheinlich durch Ficks Arbeiten angeregt, beschrieb Schumacher die Herstellung säckchenförmiger Kollodiummembranen, welche häufig bei biologischen und medizinischen Forschungen verwendet wurden. In die bakteriologische Arbeit führte sie 1891 Sanarelli, gefolgt von Borrel und Malfitano, ein (Ferry 1936). Im Jahre 1896 bewiesen Metschnikow, Roux und Salimbeni unter Anwendung der angeführten Kollodiumsäckchen, welche sie interperitoneal Meerschweinchen einnähten, den Einfluß der Toxine des *Vibrio cholerae* (Tovarnickij und Glucharew 1951). Eichhoff filtrierte 1921 durch Kollodiumsäckchen Toxine von *Corynebacterium diphtheriae* und von Vibrionen sowie verschiedene Antitoxine usw. Er beobachtete, daß bei der Filtration einiger Mikroorganismen geringer Größenausmaße z. B. *B. prodigiosum*) ein steriles Filtrat nur für kurze Zeit erzielt werden konnte. Später gingen diese Bakterien allmählich in das Filtrat über. Diphtherie- und andere Toxine werden durch Membranfilter unverändert abgetrennt. Auch die Eigenschaften der Antitoxine werden durch Membranfilter nicht geändert und durch jene – im Gegensatz zu dem Berkefeldschen Filter – nur geringfügig absorbiert.

Die älteren Autoren widmeten bei ihren Versuchen – von einigen Ausnahmen abgesehen – der Struktur der Membranfilter, ihren physikalisch-chemischen Eigenschaften und den Faktoren, welche die Filtration beeinflussen, keine Aufmerksamkeit. Allerdings die Tatsache, daß gewisse Teilchen das Filter nicht passieren, obwohl ihre Ausmaße kleiner sind als die kleinsten Poren des Filters, war bereits bekannt. Durch ungenügende Kenntnisse über die Membranfilter und den Filtrationsvorgang sind die häufigen Irr-

tümer und die oft gegensätzlichen Ergebnisse der einzelnen Autoren erklärlich.

Im Jahre 1872 erschienen zwei bedeutsame Studien über die Eigenschaften von Filtrationsmembranen (Daubner 1960). Baranetzky lieferte in seiner Arbeit *Die osmotischen Untersuchungen* wertvolle Informationen über physikalisch-chemische Eigenschaften der Kollodiummembranen. Der Autor verfertigte solche selbst, und zwar mit einem Durchmesser von 5,0 cm. Er beobachtete, daß zur Erzielung der Permeabilität gegen Wasser die Membranen noch vor der gänzlichen Verflüchtigung des Lösungsmittels in Wasser gelegt werden müssen.

In einer weiteren Studie aus dem Jahre 1872 führte Guerout eine Methode zur Bestimmung von Porenweiten der Kollodiummembrane an. Seine Methode beruht auf der Voraussetzung, daß Membranfilter eine Summe vielzähliger Kapillaren sind, wobei diese lotrecht auf der Oberfläche der Membrane stehen, d. h., ihre Länge der Stärke der Membranen gleicht. Von dieser Tatsache ausgehend wandte Guerout auf die Membranfilter den Lehrsatz Poiseuilles über das Durchströmen des Wassers durch Kapillaren an. Diese Methode ermöglicht die Berechnung der mittleren Werte der Poren; sie wurde allgemein zur Berechnung der Porenweite benutzt. Die angeführte Methode verwendeten auch wir bei unseren experimentellen Arbeiten mit Membranfiltern; sie ist im Abschnitt über Kalibration der Membranen näher beschrieben.

Die Bezeichnung *Ultrafiltration* für Filtration durch Kollodiummembranen stammt von Bechhold 1906 (Ferry 1936, Daubner 1960). In langjähriger Arbeit studierte er die Eigenschaften der Membranfilter, ihre Herstellung und die Bestimmung der Porengröße. Es gelang ihm als erstem, Membranfilter unterschiedlicher Porosität herzustellen. Das erzielte er durch Sättigung von Filterpapier (*Schleicher-Schüll* No. 575) mit Gelatine bzw. einer Lösung von Kollodium verschiedener Konzentration in Eisessigsäure. Die Gelierung der Gelatine erreichte er durch Anwendung von Formaldehyd, des Kollodiums durch Verdrängung der Essigsäure durch Wasser. Bechhold beobachtete, daß die Permeabilität dieser Membranen von der Konzentration der imprägnierenden Lösungen abhängig ist: bei größerer Konzentration sinkt die Permeabilität und umgekehrt. In einer zusammenfassenden Publikation (1907) beschreibt er auch die Methode der Kalibration der Membranfilter durch Filtration von Farbstoffen bekannter Teilchengröße. Seine Membranfilter waren jedoch wegen der relativ großen Variabilität der Poren unzulänglich. Nach den Bestimmungen von Elford können die größeren Poren solcher Membranen das 10–20fache des mittleren Durchschnittswertes der Poren erreichen (Bauer und Hughes 1934).

Im Jahre 1907 veröffentlichten Bigelow und Gemberling eine Arbeit, die einen Fortschritt in der Technik der Herstellung von Ultrafiltrationsmembranen

bedeutet. Die Autoren weisen darauf hin, daß flache Membranen gleichmäßiger Stärke aus einer ätheralkoholischen Lösung des Kollodiums durch Aufgießen des Gels auf eine waagrechte Glasplatte oder auf die Oberfläche von Quecksilber herstellbar sind. Ihre Studie enthält gleichfalls wertvolle Angaben über den Einfluß der Schichtdicke und des Alterns auf die Permeabilität der Membranfilter. Außerdem ist in ihr eine umfassende Bibliographie der Ultrafiltration enthalten.

Mit der Frage der Herstellung und der Beeinflussung der Permeabilität der Membranfilter befaßte sich auch Schoep (1911). Er fand, daß die Permeabilität der ätheralkoholischen Membranen durch Zugabe von Glycerin in Mengen von 2 bis 10 ml auf 100 ml des Gemischs beeinflussbar ist und daß durch Zugabe von 4% Rizinusöl eine größere Elastizität der Membrane erreicht wird. Brown (1915) erzielte eine abgestufte Porosität der Kollodiummembranen durch unterschiedliche Verdünnung des Alkohols mit Wasser. Die Permeabilität der Membrane war der Alkoholkonzentration direkt proportional.

In den Jahren 1914–1918 befaßte sich der damalige Direktor des Institutes für Kolloidchemie in Göttingen, Zsigmondy und sein Mitarbeiter Bachmann mit der Herstellung von Membranfiltern. 1918 ließen sie eine Methode zur Fabrikation von Membranfiltern patentieren, wodurch die Grundlage zu ihrer industriellen Herstellung gegeben war. Diese übernahmen 1929 die *Sartorius-Werke* A. G. in Göttingen. Prinzipiell ähnelte die Fabrikation der gebräuchlichen Herstellung der ätheralkoholischen Membranen. Zsigmondys Membranfilter hatten eine eigenartige zellenförmige Struktur, die einer Bienenwabe ähnelte. Beim Abdampfen flüchtiger Lösungsmittel treten sogenannte *Barnardsche* Wirbel auf, welche die Entstehung wabenförmiger Gebilde bewirken (Bartell und Van Loo 1924), die Poren aber ungünstig beeinflussen, wie dies elektronenmikroskopisch durch Hansmann und Pietsch (1949) nachgewiesen wurde. Während sich die durchschnittlichen Porengrößen im Inneren der Zelle um die Werte 0,15–1,00  $\mu\text{m}$  bewegen, sind die durchschnittlichen Porengrößen in den Randbezirken infolge der Verdichtung bedeutend kleiner (0,04–0,05  $\mu\text{m}$ ). Die heutigen Erzeugnisse der *Sartorius-Membranfiltergesellschaft m. b. H.* in Göttingen weisen solche Struktur nicht mehr oder ganz abgeschwächt und unbedeutend auf. Ähnlich ist es auch bei anderen industriell hergestellten Filtern.

Im Jahre 1922 veröffentlichte Meyeringh eine Studie, in welcher er die Anwendung der *Zsigmondy-Bachmannschen* Membranfilter zur Filtration der Bakterien beschreibt. Unter anderem stellte er fest, daß zur Abtrennung von Bakterien der Familie *Enterobacteriaceae* die Porengröße der Filter 1,2  $\mu\text{m}$  nicht überschreiten darf, wogegen *Vibrio cholerae* verläßlich durch Poren von 0,75  $\mu\text{m}$  abgetrennt wird. Als einer der ersten benutzte Meyeringh Mem-

branfilter zur Elimination von Mikroorganismen und zur Bestimmung der suspendierten Teilchen aus Wasser. Bei seinen Versuchen kam er zu der bemerkenswerten Erkenntnis, daß bei kontinuierlicher Filtration durch einen Membranfilter dieses am vierten Tage für Bakterien durchlässiger wird. Kruse (1952) beschreibt sogar, daß bei einer Keimzahl von  $5000/\text{cm}^2$  der Filterfläche das Filter gegen Bakterien nicht mehr undurchlässig ist. Das gleiche gilt auch bei kleinerer Keimzahl unter Anwendung eines höheren Druckes. Wichtig sind in dieser Beziehung die Arbeiten von Asheshov, Bjerrum und Manegold, Ferry, in denen die Herstellung gut reproduzierbarer Membranen aus ätheralkoholischem Kollodium und die Berechnung der Permeabilität beschrieben sind. Manegold publizierte außerdem eine interessante und umfangreiche Arbeit über die physikalischen Eigenschaften von Membranen (1932).

Weitere wertvolle Beiträge waren Publikationen von Grabar in Frankreich, Jander und Zakowski in Deutschland und Elford in England. Jander benützte die Membranfilter bei der quantitativen Analyse von Zink und Zinksulfid, womit er die bis dahin gebräuchliche Methode bedeutend vereinfachte. Dagegen verwendete Kruse Membranfilter zum Nachweis von Eisen im Trinkwasser. Hoffmann (1927) benutzte Membranfilter bei der chemischen Bodenanalyse, namentlich bei der Bestimmung des Gels der Kieselsäure.

Elford widmete sich dem Studium der Faktoren, welche die Ultrafiltration beeinflussen, und auch der Herstellung von Membranen. Er beobachtete, daß Amylalkohol und Aceton als Lösungsmittel der Nitrozellulose gegeneinander antagonistisch wirken. Die Zugabe kleiner Anteile von Eisessig zur Lösung des Kollodiums vermindert die Permeabilität der Membranfilter, wogegen die Zugabe von Wasser sie erhöht. Von diesen Tatsachen ausgehend beschrieb er die Technik der Herstellung von Kollodiummembranen abgestufter Porengröße (von  $10\ \mu\text{m}$  bis  $3\ \mu\text{m}$ ). Letztere werden noch heute unter der Bezeichnung „*Gradokolmembranen*“ (aus dem englischen GRADed COLLodion Membranes) verwendet. Aus der gleichen Zeit stammen auch die Arbeiten von Krueger und Ritter und die wertvolle Publikation von Bauer und Hughes (1934), in der Vorschriften zur Herstellung von Kollodiummembranen verschiedener Porengröße und zur Kalibration der Filter angegeben sind.

Zu Beginn der vierziger Jahre erschienen die ersten Mitteilungen über die Anwendung der Membranfilter bei der Wasseranalyse: 1932 publizierte Razumow eine Arbeit über die Anwendung der Nitrozellulosemembranen beim mikroskopischen Studium der Mikroflora des Wassers direkt auf dem Membranfilter. Im gleichen Jahre veröffentlichten auch Dianowa und Worošilowa ihre Studie. Sie beschreiben eine Methode zur Färbung der Bakterien auf dem Membranfilter nach der Filtration der Wasserprobe direkt im Filtrationsapparat. Gleichzeitig beschreiben sie eine interessante einfache Herstellung von Membranfiltern aus Filmmaterial.

Barsow veröffentlichte 1932 eine von ihm ausgearbeitete zuverlässige Methode zur Bestimmung von koliformen Bakterien mittels Membranfilter, die im Prinzip in mehreren Standardmethoden zur Wasseranalyse aufgenommen wurde.

Um 1939 und in den Jahren nach 1939 wurden viele neue Methoden zur schnellen, wirtschaftlichen und quantitativen Bestimmung von Bakterien der Unterfamilie *Escherichiae* (Koligruppe) und anderer, besonders pathogener *Enterobacteriaceae* im Wasser, ausgearbeitet. Vor allem nach 1945 wurde die Herstellung und Anwendung von Membranfiltern außergewöhnlich verbreitet. In mehreren Staaten wurde die Methodik der Anwendung von Membranfiltern in die offiziellen Standardmethoden zur Untersuchung des Wassers und der Luft aufgenommen. Das bedeutet, daß viele Laboratorien und Institute, welche sich mit der angeführten Problematik befassen, routinemäßig mit den Membranfiltern zu arbeiten begannen. In Deutschland benutzte Müller Membranfilter zum Nachweis von Helminthen bei Proben aus Schwimmbädern und Abwässern. Kruse wandte erstmalig Membranfilter bei der Bestimmung der Keimzahl in der Luft an. Nach Durchsaugen eines bestimmten Volumens von Luft durch Membranfilter kultivierte er diese bei 22° C 24 Stunden auf Schrägagar (Müller 1952, Daubner 1960).

Die allgemeine Anwendung der Membranfiltertechnik wurde durch die ausreichende Belieferung mit qualitativ hochwertigen Membranen der gewünschten Porengröße und Ausmaße erleichtert. Es handelte sich namentlich um Erzeugnisse der *Sartorius-Werke* in Göttingen, die in dieser Beziehung die größte Tradition haben. Auch die Erforschung der Membranfilter erfuhr eine bedeutsame Entwicklung. Dem Studium der Membranporen und des Mechanismus der Filtration wurde erhöhte Aufmerksamkeit geschenkt. Das wurde hauptsächlich durch Anwendung des Elektronenmikroskopes ermöglicht. Gründliche Forschungen führten in dieser Richtung namentlich Beutelspacher, Helmcke, Maier u. a. durch. Auf Grund vieler Untersuchungen der Oberfläche und Querschnitte der Membrane beschrieben sie deren Ultrastruktur, den Mechanismus der Filtration und die Faktoren, welche diesen Vorgang beeinflussen.

Die Anwendung der Membranfilter ist seit 1950 Standardmethode der Wasseranalyse auch in der UdSSR. Anknüpfend an die richtungweisenden Arbeiten Barsows und Razumows erscheinen Studien mehrerer Autoren, die sich hauptsächlich auf die allgemeine Anwendung der Membranfilter bei der Wasseranalyse beziehen. Die fabrikmäßige Herstellung der Membranfilter in der UdSSR führt die Experimentelle Fabrik für Ultrafilter in Mytišči bei Moskau durch.

In den USA machte sich um die Verbreitung der Membranfilter Goetz verdient, der mit der Technik ihrer Herstellung und den Methoden ihrer An-

wendung kurz nach dem zweiten Weltkrieg auf seiner Studienreise durch Deutschland bekannt wurde. Seitdem werden auch in den USA Membranfilter allgemein verwendet. In der 10. Auflage der amerikanischen *Standardmethoden* (1955) wird bereits eine Membranfiltermethode, wenn auch nur als Versuchsmethode – Tentative Method –, ausführlich beschrieben (Es handelte sich um eine zweistufige Methode der Kultivierung von koliformen Bakterien – Coliform Group). In der 11. Auflage (1960) ist die vereinfachte Membranfiltermethode schon offiziell angeführt. Der Frage der Anwendung vom Membranfiltern, namentlich bei Wasseruntersuchungen, wandten Clark, Geldreich, Jeter, Kabler, Matney, Thomas und andere große Aufmerksamkeit zu. In ihren Arbeiten vergleichen sie hauptsächlich die Ergebnisse der Untersuchungen verschiedener Wasserproben, die sie unter Anwendung der Membranfilter und der Methode der wahrscheinlichen Anzahl (MPN) erzielten. In den USA stellt die Firma *Millipore Corp.* Bedford (Mass.) Membranfilter her.

Seit 1950 beobachtet man auch in England eine breitere Anwendung der Membranfilter. Um ihre Entwicklung machten sich Taylor, Burman, Oliver (1953) und andere verdient, welche die Arbeitstechnik vor allem bei Wasseruntersuchungen genau beschrieben. Anfangs benutzten sie deutsche und amerikanische Filter und Filterapparate. Heute produziert in England die Firma *OXOID* Membranfilter verschiedener Art und spezielle Nährböden für ihre Verwendung.

In der Tschechoslowakei haben Membranfilter gleichfalls eine gewisse Tradition. In den zwanziger Jahren dieses Jahrhunderts fertigte Kučera Membranfilter aus Kollodium an und führte mit ihnen Versuche durch (Sedlák 1955). Zu einer breiteren Anwendung, zu der vor allem Šerý (1954), Mucha (1956) u. a. beitrugen, kam es erst vierzig Jahre später, anfänglich unter Verwendung von Membranen deutscher oder sowjetischer Fabrikation resp. im Laboratorium selbst hergestellter Membranen. Sie wurden bei verschiedenen Wasseruntersuchungen erfolgreich eingesetzt. Ihrer Verbreitung waren jedoch, wie bis heute in vielen Staaten, quantitativ Grenzen gesetzt. Das änderte sich, als 1960 die Firma *Synthesia* in Pardubice die industrielle Herstellung aufnahm. Die Produktion hat sich in den nachfolgenden Jahren sehr gesteigert, so daß heute bereits Membranfilter exportiert werden (Dostál und Vostatek 1967).

Gegenwärtig verwendet man die Membranfiltertechnik in der Routine, bei Forschungsaufgaben und bei der Einführung neuer hydromikrobiologischer Methoden. Die Aufnahme dieser Technik in die Standardmethoden ist teils schon realisiert, teils in Vorbereitung. Sie wurde sogar in die internationalen Einheitsverfahren eingereiht (Häusler und Pokorný 1965). Allmählich fanden Membranfilter ihren Weg in die Laboratorien vieler Staaten, so daß es heute

unmöglich und vielleicht auch nicht notwendig ist, alle im einzelnen zu erwähnen. Wir erachteten es jedoch für erforderlich, wenigstens jene Länder anzuführen, in denen Membranfilter eine gewisse Tradition haben und industriell hergestellt werden.

## 2. Filtration durch permeable Membranen

Ultrafilter und semipermeable Membranen wurden anfänglich als einfache mechanische Siebe betrachtet, deren Permeabilität nur eine Funktion der Porengröße und der filtrierten Teilchen ist. Verschiedene Autoren (Duclaux, Errera u. a.) korrigierten übereinstimmend die Ansichten über die Durchlässigkeit der Membranen und den Vorgang der Ultrafiltration. Sie stellten fest, daß der grundlegende und auch der günstigste Mechanismus der Ultrafiltration ein Durchsieben ist. Dieses wird durch Adsorption, Blockierung, Viskosität des filtrierten Materials, Druckunterschied, Zeit der Druckwirkung, elektrostatische Ladung der Membrane und des dispergierten Systems beeinflusst.

Im Unterschied zu Dialyse und Diffusion, bei denen die Penetration durch die Membrane nur durch die Bewegung der Molekel erfolgt und eine quantitative Abtrennung eines gewissen Teiles der dispersen Phase zur Folge hat, ist die Ultrafiltration ein bedeutend komplizierterer Vorgang. Ein Grund dafür liegt in dem Verhältnis zwischen der Länge der Poren und ihrer Breite einerseits und zwischen Porenoberfläche und ihrem Querschnitt andererseits. Dies ist z. B. daraus ersichtlich, daß das Virus des Gelbfiebers mit Ausmaßen von 12–15 bzw. 8–27 nm durch ein 0,15 mm starkes Membranfilter mit einer mittleren Porenweite von 50 nm tritt. Beim Vergleich des Durchschnittes der Poren mit ihrer Länge – 150.000 nm – erhalten wir das Verhältnis 1 : 3000. Dieser Wert kann bei Ultrafiltern noch höher liegen. Nach Elford (1928, 1930) variiert das Verhältnis zwischen Länge und Breite des Filtrationskanals von 100–10 000. Wenn man die Oberflächen- und Kapillarkräfte abwägt, die hier wirken und die im Hinblick auf die mikroskopischen Ausmaße der Durchschnitte der mittleren Porengröße – gemeinsam mit weiteren Faktoren – eine bedeutende Beeinflussung bei der Filtration bilden, ist es klar, daß die Teilchen, welche diese Strecke überwinden sollen, um vieles kleiner sein müssen als der Porendurchschnitt. Auf Grund seiner Versuche mit Filtration von Partikeln bekannter Größe vertritt Elford die Auffassung, daß bei Membranen von mittlerer Porenweite (10–100 nm) die Öffnungen 2–3mal größer sein müssen als die Teilchen, die durch sie hindurchtreten sollen. Bei Membranen mit mittlerem Porendurchschnitt unter 10 nm oder größer als 100 nm tritt eine Verminderung dieser Verhältniszahl auf (Bauer und Hughes 1934). Bechhold (1908) führt sogar an, daß zur Filtration von Partikeln die Porengröße das 15fache des Durchmessers der zu filtrierenden Teilchen betragen soll.

## 2.1 Struktur des Membranfilters

Soweit es sich um die Struktur der Poren des Membranfilters handelt – falls man das komplizierte dreidimensionale schwammförmige System (Abb. 1) als Poren bezeichnen kann –, so ist diese Struktur um vieles diffiziler, als sie frühere Autoren beschrieben haben (Vergleich mit einem Sieb).

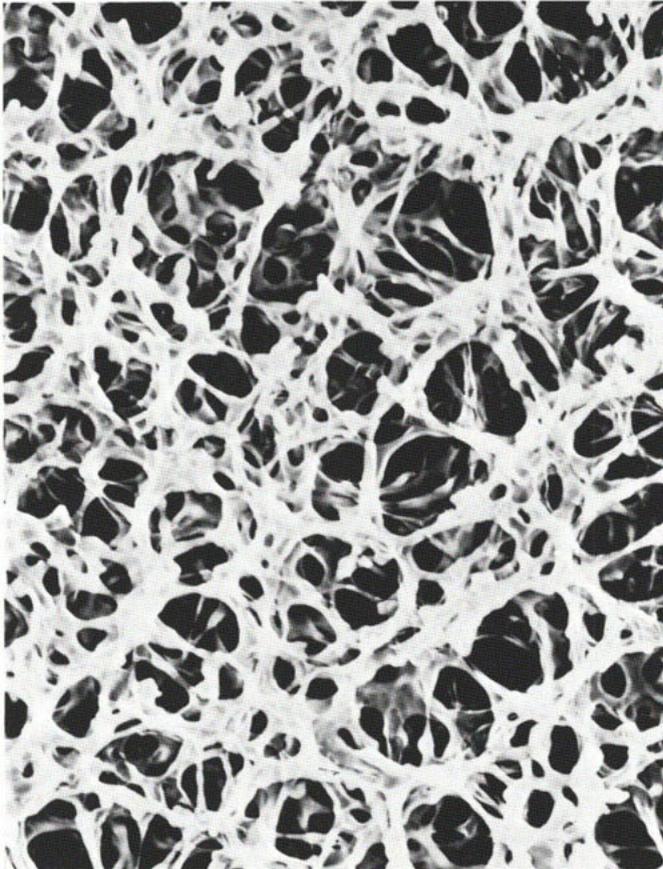


Abb. 1: Dreidimensionale, schwammförmige Struktur des Membranfilters (Vergr. 15 000 X; Abb. 1, 2, 6, 20 und 21 von der *Sartorius-Membranfiltergesellschaft*, Göttingen)

Das einfachste Modell der Struktur der Membrane ist eine Fläche, durchweht mit Poren, in Form von regelmäßigen Zylindern, deren Öffnungen senkrecht auf die Oberfläche der Membrane orientiert sind. In diesem Fall kann man

den Vorgang einer Filtration mit dem Durchströmen der Flüssigkeit durch zylinderförmige Kapillaren vergleichen. Diese Auffassung bildete die Grundlage zur Kalibration von Membranen. Wegen seiner Einfachheit wie auch wegen der Erleichterung der mathematischen Interpretation ist dieses Modell der Struktur der Poren zur Berechnung ihrer Zahl oder ihrer mittleren Größe gut geeignet.

Eine mögliche Porenstruktur bearbeitete Manegold (1930, 1932, 1937): Er unterschied ein kanalförmiges System mit zusammenhängender fester Phase von der sogenannten verzweigten Struktur mit unzusammenhängender fester Phase, die durch ein dichtes unregelmäßiges Gewebe von Zellulose gebildet ist. Dieser Typ ist für Membranfilter des Geltypus wahrscheinlicher.

Für die kanalförmige Struktur unterschied Manegold 6 Formationen:

1. Poren im waagerechten Querschnitt, mit senkrecht auf die Oberfläche der Membrane führenden Öffnungen;
2. Poren, von denen sich ein Drittel in einer der drei senkrecht aufeinander orientierten Flächen befinden;
3. Poren mit beliebiger zufälliger Orientierung ohne Verästelung;
4. Spalten im Querschnitt, deren Öffnungen senkrecht auf der Oberfläche der Membrane stehen;
5. Spalten, von denen ein Drittel ohne gemeinsame Verbindung durch eine der drei rechtwinklig aufeinander orientierten Flächen geht;
6. Spalten mit unregelmäßiger Orientierung.

Bei seinen Experimenten mit äther-alkoholischen Kollodiummembranen gelangte Manegold zu der Auffassung, daß die wahrscheinlichste Struktur der Membranfilter die sechste ist. Diese Annahme würde durch spätere Untersuchungen über die Struktur von Membranfiltern mittels Elektronenmikroskopie (Abb. 1–3) bestätigt.

Elford verwandte 1930 bei seinen Versuchen äther-alkoholisches Kollodium und eine Lösung von Kollodium in Essigsäure (sog. Essigkollodium); er unterschied 2 Typen der Struktur dieser Membrane:

1. Eine *Mikrogelestruktur*, deren Zwischengebilde (Interstitium) mikroskopische Ausmaße aufweisen. Diese Struktur ist sehr unregelmäßig, die Poren haben unterschiedliche Durchschnitte. Sie bildet sich bei der Herstellung von Membranen aus verdünntem Essigkollodium, das in Wasser koaguliert wurde, oder aus äther-alkoholischem Kollodium, das noch vor Erreichen des Gelstadiums in Wasser submergiert wurde.
2. Eine *Ultragelstruktur*, die für Membranfilter erwünscht ist. Es handelt sich um eine feine, gleichmäßige Porosität, die nur im Ultramikroskop sichtbar ist. Dieser Typ des Gels bildet sich, wenn bei äther-alkoholischem Kollodium

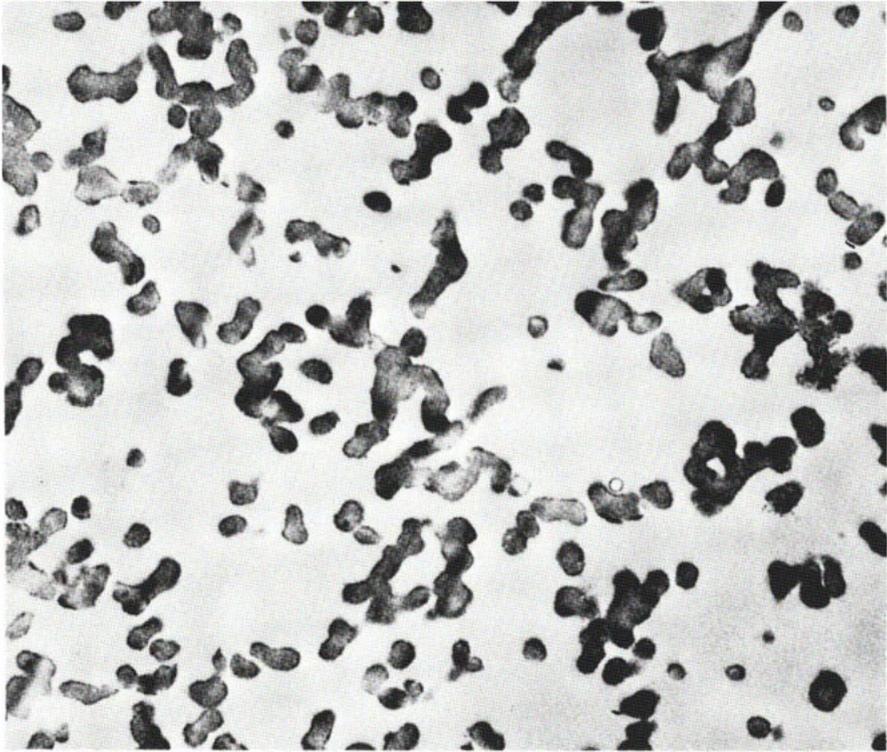


Abb. 2: Elektronenmikroskopische Darstellung eines Sartorius-Membranfilters (seitlicher Schnitt; Vergr. 2 900  $\times$ )

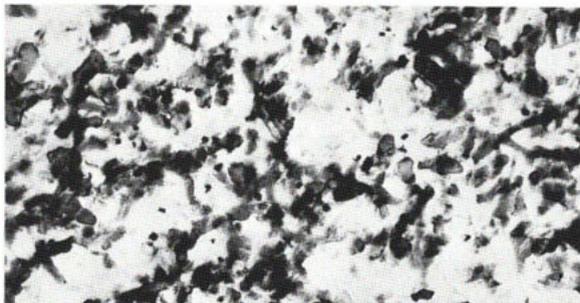


Abb. 3: Elektronenmikroskopische Darstellung eines Synpor-Membranfilters (seitlicher Schnitt; Vergr. 3 300  $\times$ )