



## Moderne bioanalytische Methoden für die schnelle Quantifizierung von Mikroschadstoffen und Pathogenen in Wasser

Günther Proll ([guenther.proll@reutlingen-university.de](mailto:guenther.proll@reutlingen-university.de)), Michael Seidel ([michael.seidel@mytum.de](mailto:michael.seidel@mytum.de)),  
Rudolf Schneider ([rudolf.schneider@bam.de](mailto:rudolf.schneider@bam.de))

### Abstract

Analytische Methoden für die Quantifizierung von Mikroschadstoffen (Synonym für Spurenstoffe) und Pathogenen im Wasser sind eine Grundvoraussetzung für die Umsetzung des Ziels Nr. 6 für Nachhaltige Entwicklung der UN, weltweit sauberes Wasser zur Verfügung zu stellen. Dafür sind schnelle, einfach zu bedienende und kostengünstige Überwachungssysteme notwendig. Antikörperbasierte Biosensoren haben das Potential, z.B. die Eliminationsleistung bezüglich kleiner organischer Moleküle durch die vierte Reinigungsstufe von Kläranlagen vor Ort zu überwachen. Darüber hinaus kommt modernen bioanalytischen Verfahren bei der Quantifizierung von Pathogenen eine immer wichtigere Rolle zu. Neben einer Bestandsaufnahme zu diesen Themen ist es das Ziel dieses Beitrags, die Anwendungsbarrieren von Biosensoren für die Wasseranalytik von Mikroschadstoffen abzubauen zu helfen und die Vorzüge moderner bioanalytischer Methoden für die Quantifizierung von Pathogenen aufzuzeigen.

### Einleitung

Globale Umweltprobleme wie die Verschmutzung von Gewässern durch Mikroschadstoffe stellen eine große Herausforderung für die moderne Gesellschaft dar. Laut Forschungsstrategie der Wasserchemischen Gesellschaft der GDCh (2023) [1] sind Verfahren zur Elimination von organischen Schadstoffen und Pathogenen in der Abwasserreinigung Gegenstand der aktuellen Forschung und werden zunehmend großtechnisch eingesetzt. Sauberes Wasser ist bei der UN als das Ziel Nummer 6 für Nachhaltige Entwicklung anvisiert, weswegen der Eintrag von Mikroschadstoffen und Pathogenen in die Umwelt vermieden werden soll [2]. Die Wasserqualität soll verbessert werden, indem Abwasserreinigungsverfahren optimiert und analytisch bewertet werden. Dabei beruht die analytische Bewertung auf der quantitativen Bestimmung der Entfernungseffizienz, indem definierte Mikroschadstoffe wie z.B. das Schmerzmittel Diclofenac, das Antiepileptikum Carbamazepin oder Antibiotika wie z.B. Clarithromycin in der Abwassermatrix vor der Behandlung und danach quantitativ bestimmt werden. HPLC gekoppelt mit massenspektrometrischen Verfahren (z.B. LC-HRMS) sind hierbei Stand der Technik. Diese Analyseverfahren sind jedoch reine Labormethoden und die Ausstattung und die Einzelanalyse sind teuer. Aus diesem Grund wird an Biosensoren geforscht, da diese eine Reihe von Vorteilen gegenüber herkömmlichen Analysemethoden bieten, wie z.B. niedrige Nachweisgrenzen, geringer Zeit- und Ressourcenbedarf, Echtzeit-Überwachung und die Möglichkeit zur simultanen Erkennung diverser Analyte (Mikroschadstoffe, Toxine, Pathogene). Darüber hinaus können sie auch vor Ort eingesetzt werden, was insbesondere für die Überwachung

von Flüssen und Seen oder bei der Prozesssteuerung von Kläranlagen, wie z. B. der vierten Reinigungsstufe, von Vorteil ist. Bei der Analyse von Pathogenen wurde bislang hauptsächlich auf Kulturmethode für Indikatorbakterien zurückgegriffen. Diese Methoden sind zwar so vom Gesetzgeber vorgeschrieben, aber Forschungsergebnisse zeigen, dass ein Teil der Mikroorganismen nach Anwendung eines Abwasseraufbereitungsverfahrens nur eine geringe Reduktion um 2 – 3 Logstufen erreicht und dass die Mikroorganismen in einen lebenden aber nicht-kultivierbaren Zustand (VBNC) übergehen können. Aus diesem Grund sollte heutzutage die Effizienz der Reduktion von Pathogenen bei einem Abwasseraufbereitungsverfahren über kulturunabhängige Methoden (z.B. Lebensfähigkeits-qPCR, Durchflussszytometrie oder Antikörperbasierte Biosensoren) quantitativ bestimmt werden.

### Biosensoren für die Quantifizierung von Spurenstoffen in Wasser

Ein Biosensor ist ein Analysegerät, das biologische Komponenten wie Antikörper, Enzyme, Rezeptoren oder auch (z.T. gentechnisch veränderte) lebende Bakterien oder Zellen höherer Organismen als Erkennungsstruktur benutzt. In Kombination mit einem Transducer (welcher das biologische Signal registriert und in ein detektierbares Ausgangssignal umwandelt) und einer passenden Transduktionstechnologie entsteht so ein analytisches Werkzeug, das durch weitere Kopplung an eine automatisierte Mikrofluidik zu einem vollständig autonomen Biosensorsystem wird. Solche Biosensoren finden sich heute insbesondere im Bereich des Point-of-Care-Testings und ermöglichen diagnostische Labormessungen eines bestimmten Analysespektrums direkt vor Ort. Dabei erreichen kommerzielle Biosensoren, wie z. B. das Atellica® VTLi Immunoassay-Analysesystem Nachweisgrenzen im unteren ng/l-Bereich [3].

Der Einsatz von Biosensoren für organische Mikroschadstoffe in Umweltproben ist Gegenstand der Forschung, wobei sich über 40% der veröffentlichten Arbeiten auf Antikörper stützen [4], da diese aufgrund ihrer hohen Affinität und Stabilität als biologische Erkennungsstruktur besonders niedrige Nachweisgrenzen für Mikroschadstoffe ermöglichen. Für den Einsatzbereich in der Wasseranalytik besteht die Herausforderung, kleine organische Moleküle über Immunoassay-Protokolle in automatisierter Form mit hoher Nachweispmpfindlichkeit möglichst schnell und ohne Probenvorbereitung quantitativ zu bestimmen. Dabei stellt z. B. die aktuelle Novellierung („Recast“) der Urban Wastewater Treatment Directive [5] insbesondere hinsichtlich der wachsenden Anforderungen an die Prozessanalytik rund um die vierte Reinigungsstufe von Kläranlagen

ein wichtiges Handlungsfeld dar, das von neuen, z. B. Immunoassay-basierten, Biosensorkonzepten profitieren könnte.

Tabelle 1 gibt einen Überblick zum aktuellen Stand der Forschung und Entwicklung, wobei insbesondere solche Arbeiten aufgenommen wurden, die Mikroschadstoffe nachweisen, die in der KomS-Liste [6] aufgeführt sind.

**Tabelle 1: Beispiele von Biosensorverfahren für ausgewählte Spurenstoffe ohne aufwändige Probenaufkonzentrierung**

Einzelsubstanz	BG-Ablauf <sup>1)</sup> [µg/L]	Biosensorverfahren	Analytische Leistungsfähigkeit laut Referenz	Ref.
Ciprofloxacin	0,05	Immunoassay on Silica Optical Fiber	LOQ 0,01 ng/L	[7]
Carbamazepin	0,025	Lab-on-Valve (LoV)	LOQ 1 µg/L	[8]
		Suspension Array Fluorescence ImmunoAssay (SAFIA)	LOD 0,14 µg/L	[9]
Diclofenac	0,025	SAFIA	LOD 0,004 µg/L	[9]
		Quartz Crystal Microbalance (QCM)	LOD 0,002 µg/L	[10]
		Magnetic Bead-Basierter Immunoassay (MBBA)	LOD 0,4 µg/L	[11]
Hydrochlorothiazid	0,05	Zyklische Voltammetrie <sup>2)</sup>	LOD 148 µg/L	[12]
Ibuprofen	0,025	Chitosan über porous silicon optical transducer	LOD 1000 µg/L	[13]
Sulfamethoxazol	0,025	Immunoassay mit Oberflächenplasmonenresonanz (SPR)	LOD 0,1 µg/L	[14]
		Immunoassay Totale Interne Reflexionsfluoreszenz (TIRF)	LOD 0,007 µg/L	[15]
Estron	0,0001	TIRF	LOQ 0,0014 µg/L	[16]
Benzotriazol	0,05	Mikroalgenbiosensor	LOD 25 µg/L	[17]
		ISO-Referenztests (einzellige Algen und Leuchtbakterien)	LOD 10 µg/L	[18]

<sup>1)</sup> Werte für die Bestimmungsgrenze im Ablauf (BG Ablauf) der vierten Reinigungsstufe einer Kläranlage nach [6].

<sup>2)</sup> Elektrochemisches Verfahren.

Neben Unterschieden in der erreichten analytischen Leistungsfähigkeit, die durch die Eigenschaften der gewählten Transduktionstechnologie und die gewählte Oberflächenchemie begründet ist, ist die Affinität der eingesetzten Erkennungsstrukturen von entscheidender Bedeutung. Da insbesondere Antikörper im kommerziellen Bereich der Biosensoren eine entscheidende Rolle spielen, konzentriert sich dieser Beitrag im Folgenden auf diese Klasse von Erkennungsstrukturen.

Gerade mit Hinblick auf die existierenden Anwendungs- bzw. Markteintrittsbarrieren stellt die Verfügbarkeit von geeigneten Antikörpern eine wesentliche Herausforderung dar. Darüber hinaus fehlen für die Wasseranalytik eine DIN-Norm für immunchemische Methoden, die es potentiellen Herstellern erlauben würde, ihre Entwicklungsarbeiten entsprechend zu benchmarken. Es ist daher notwendig, zunächst die Barrieren zu

adressieren, damit sich kommerzielle Biosensoren auf diesem Markt entwickeln bzw. etablieren können. Diese wären:

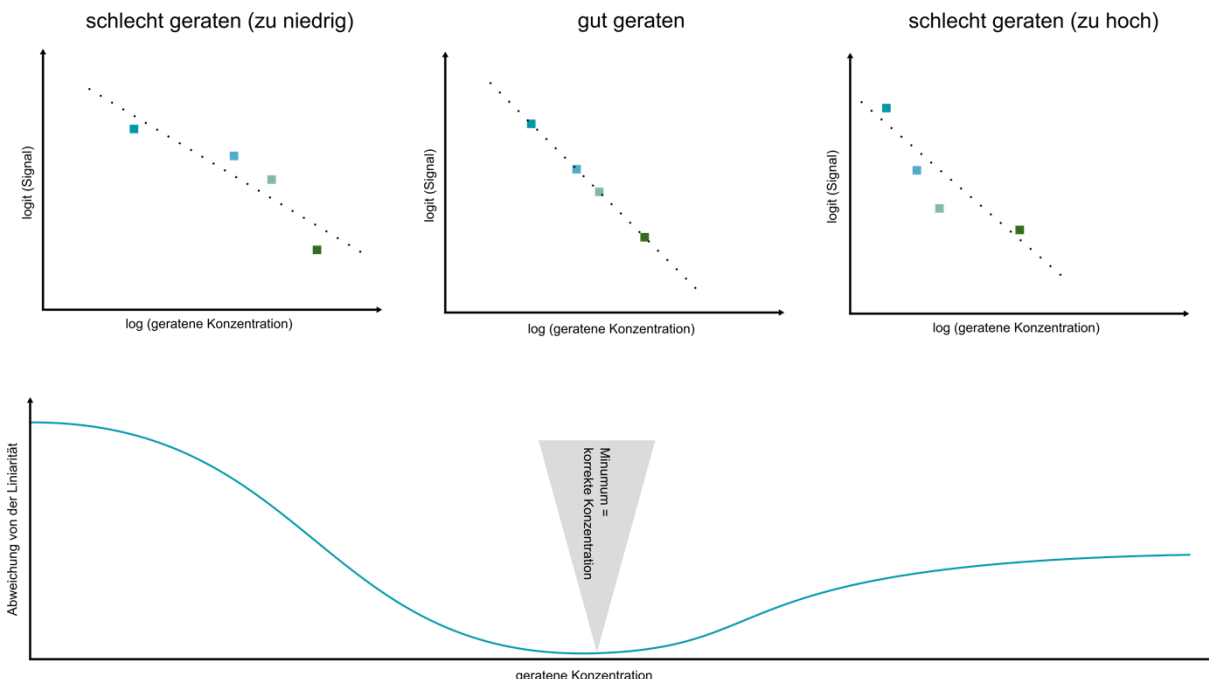
1. Antikörper mit validierter analytischer Performance in standardisierten Immunoassayformaten sind eine Grundvoraussetzung für die Entwicklung von marktfähigen Produkten. Diese Antikörper können von Anwendern auch als Benchmark eingesetzt werden.
2. Die Verfügbarkeit von geeigneten Antikörpern stellt für viele technisch ausgerichtete Analytikfirmen und Start-ups eine Markteintrittsbarriere dar. Es wäre daher wünschenswert, dass solche Antikörper von neutraler Stelle charakterisiert und allgemein verfügbar gemacht werden, da die zumeist technisch ausgerichteten Sensorfirmen keine Ressourcen u./o. Expertisen hierfür zur Verfügung haben.
3. Fehlende Normen auf dem beschriebenen Gebiet führen sowohl auf Herstellerseite als auch auf Anwenderseite zu

Unsicherheiten, die hemmend auf notwendige F&E-Aktivitäten bzw. Innovationsprojekte wirken. Entsprechende Normungsaktivitäten von Fachvereinigungen sind hier dringend notwendig.

Aus analytischer Sicht besteht aber ein weiteres Problem, das bisher häufig nur unzureichend beachtet wurde. Bei einem Blick in die einschlägige Literatur fällt auf, dass die untersuchten Probenmatrices bei den einzelnen Biosensorverfahren zwar von Reinstwasser über Oberflächenwasser bis hin zu Abwasser reichen, selten aber ein Immunoassay für verschiedene Matrices ohne Anpassungen eingesetzt werden kann. Dies liegt üblicherweise darin begründet, dass ein Immunoassay möglichst in der Matrix kalibriert werden muss, die auch die untersuchte Probe aufweist, da die Matrixbestandteile sowohl die Aktivität als auch die Affinität der Antikörper beeinflussen kann. Es besteht nun grundsätzlich die Möglichkeit, jeweils eine solche geeignete Kalibrierung entsprechend zu hinterlegen oder ein Standardadditionsverfahren einzusetzen. Letzteres ist erst seit kurzer Zeit als robustes Verfahren für Immunoassays beschrieben und soll hier kurz erläutert werden.

Aufgrund der Tatsache, dass sich bei den meisten Immunoassays die Kalibrierkurve nichtlinear verhält, ist eine direkte

Übertragung des Standardadditionsverfahrens (wie es aus der klassischen Analytik bekannt ist) nicht möglich. Pang und Cowen schlugen 2017 [19] vor, die Standardadditionsmethode auf sigmoidale Kalibrierkurven mit einer neuartigen Bewertungsmethode zu übertragen. Durch eine Optimierung des dort verwendeten Algorithmus zur kalibrierungsfreien Konzentrationsbestimmung für Immunoassays, konnte eine Standardadditionsmethode entwickelt werden, die unter realistischen Einsatzbedingungen robuste Ergebnisse liefert [20]. Dabei werden der Probe mit unbekannter Konzentration bekannte Konzentrationen zugesetzt. Nachfolgend wird die unbekannte Konzentration geschätzt und die Summe des bekannten zugegebenen Standards und der unbekannt geschätzten Konzentration wird logarithmiert auf der x-Achse aufgetragen. Die logit-transformierten Signale sind die y-Koordinaten, und es wird eine lineare Regression durchgeführt. Die Abweichung von der Linearität dient zur Optimierung der geschätzten Probenkonzentration. Nun variiert man die geschätzte Probenkonzentration so lange, bis die beste Linearität gefunden ist, die die Probenkonzentration angibt. Es konnte gezeigt werden, dass dieser neuartige logit-log-Ansatz (s. Abbildung 1) auch bei quantitativen Immunoassays in komplexen Matrices hervorragend funktioniert und eine aufwändige Kalibrierung obsolet macht.



**Abb. 1:** Logit-log Standardadditionsverfahren für Immunoassays. Oben: Auftragung des  $\text{logit}(\text{Signal})$  eines Immunoassays gegen  $\text{log}(\text{geratene Konzentration})$  eines Analyten, beispielhaft für 3 verschiedene geratene Probenkonzentrationen (links: zu niedrig; Mitte: korrekt; rechts: zu hoch), jeweils mit linearer Regression, aus der die SSres-Werte bestimmt werden können. Unten: Die Bestimmung der Probenkonzentration erfolgt über das eingezeichnete Minimum, da hier die Linearität am besten gegeben ist.

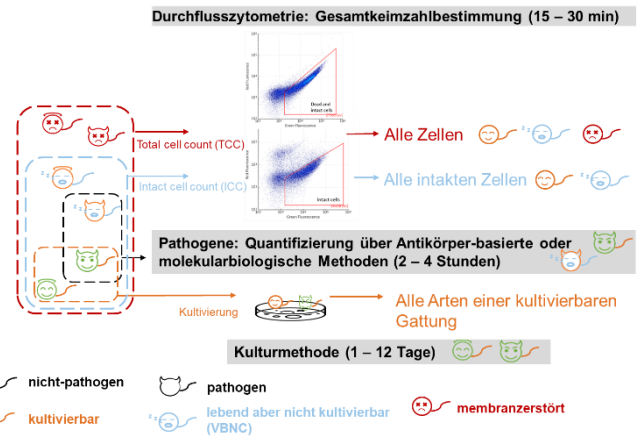
## Bioanalytische Messsysteme für die Quantifizierung von Pathogenen in Wasser

Pathogene sind Mikroorganismen, Toxine und Viren, die eine Erkrankung beim Menschen hervorrufen können. Eine schnelle Analyse der mikrobiologischen Wasserqualität ist im Rahmen des von der WHO etablierten One-Health-Konzepts wichtig,

wenn Tiere oder Menschen mit der Umwelt in Bezug stehen. Pathogene sollten im Rohwasser und Trinkwasser, aber auch in Prozess- und Abwässern in so geringen Konzentrationen enthalten sein, dass keine gesundheitliche Gefahr für Mensch und Tier besteht. Allerdings gelangen Pathogene regelmäßig in bedeutenden Anteilen über kommunale und industrielle Klär-

anlagen in Gewässer. Weitere Gründe für den Eintrag sind der direkte Eintrag bei Extremwetterereignissen über Regenüberlaufbecken, marode Infrastrukturen oder über Landwirtschaftsflächen. Nicht zu vernachlässigen ist außerdem der direkte Eintrag über Trinkwasserleitungen oder Wasseruhren bei *Pseudomonas aeruginosa* [21], oder der Bioaerosolaustrag von *Legionella pneumophila* aus Trink(warm)wasser und Verdunstungskühlanlagen [22].

In den letzten Jahren hat sich das Spektrum an bioanalytischen Methoden zur Bestimmung von Mikroorganismen und Viren rasant weiterentwickelt. Vorteile liegen darin, kulturunabhängig in kurzer Zeit nicht nur die Quantität an definierten Pathogenen, sondern gleichzeitig die Vitalität bzw. Aktivität oder die Diversität zu bestimmen [23]. Die qPCR ist mittlerweile für Forschungsinstitutionen im Bereich der mikrobiellen Wasserqualität eine etablierte molekularbiologische Methode. Die aktuelle Herausforderung liegt darin, die gesamte bioanalytische Methode von der Probenvorbereitung bis hin zur Analyse, Auswertung, Statistik und Bewertung so zu vereinheitlichen, dass sie in der Routine angewendet werden kann. Eine Standard-Additionsmethode kann auch hier angewendet werden, um quantitative Ergebnisse ohne Kalibrierung mit genomischer DNA in sehr komplexen Matrices durchzuführen [24]. Alternative und oftmals komplementäre Methoden basieren auf immunanalytischen Methoden. Membrandurchlässige DNA-interkalierende Farbstoffe oder Enzymsubstrate dienen der Unterscheidung zwischen lebenden und membranzerstörten Bakterien. Als Analyseplattformen dienen ELISA-Mikrotiterplatten, Biosensoren oder eine Kopplung von immunomagnetischer Separation mit der Durchflusszytometrie (IMS-DFZ). Mit einer kulturunabhängigen Quantifizierung von *Legionella pneumophila* in Verdunstungskühlanlagen soll es zukünftig möglich sein, dass der Betreiber einer Anlage den Erfolg einer Maßnahme zur Reduktion unterhalb eines definierten Maßnahmenwertes von 10.000 KBE *Legionella pneumophila* / 100 mL innerhalb 2- 4 h erfassen kann [25]. Dies ist sowohl mit der Lebensfähigkeits- bzw. Integritäts-qPCR als auch über IMS-DFZ möglich [26]. Mit Hilfe von Lebendstandards wurde die Leistungsfähigkeit mit realen Proben evaluiert. Es zeigte sich für die IMS-DFZ, dass quantitative Ergebnisse mit einem Filtrat von 100 mL Prozesswasserprobe ab ca. 100 *Legionella pneumophila* / 100 mL möglich sind. Des Weiteren lassen sich *Legionella pneumophila* auch in Prozesswasser aus Verdunstungskühlanlagen bestimmen, welche aufgrund der bioziden Wirkung kulturnegativ sind. Über einen Chemilumineszenz-Microarray-Immunoassay konnte nach der IMS-DFZ und Kultur sogar eine Subtypisierung auf der Analyseplattform LegioTyper durchgeführt werden.



**Abb. 2:** Schematische Darstellung zur quantitativen Bestimmung von lebenden, lebenden aber nicht kultivierbaren und membranzerstörten Bakterien mit Hilfe von kulturunabhängigen Methoden.

Die Gesamtkeimzahlbestimmung über Durchflusszytometrie ist im Bereich der Qualitätsbestimmung von Trinkwasser mittlerweile eine etablierte bioanalytische Methode. Innerhalb weniger Minuten lässt sich die Anzahl intakter Bakterien und die Gesamtbakterienzahl bestimmen. Die Methode eignet sich sehr gut für das Prozesswassermonitoring und zur Erfassung bakteriologischer Veränderungen in Verteilungsnetzen. Die Anwendbarkeit auf andere Wässer, wie zum Beispiel Prozesswasser aus Verdunstungskühlanlagen, ist ebenso gegeben.

## Ausblick

Eine umfassende und schnelle Bestimmung der Wasserqualität im urbanen Wasserkreislauf hinsichtlich Mikroschadstoffen und Pathogenen ist von enormer Bedeutung. Zukünftig sollen im Rahmen eines holistischen Wassermonitorings chemische und mikrobiologische Parameter mit den genannten modernen bioanalytischen Methoden über einen definierten Zeitverlauf und Probenahmen an mehreren Standorten gemeinsam erfasst werden, um potentielle Eintragsquellen besser identifizieren zu können und Maßnahmen zur Verminderung direkt überwachbar zu machen. Eine Verknüpfung mit ökotoxikologischen Daten sollte die Bewertung der Wasserqualität noch weiter verbessern.

## Referenzen

1. [https://wasserchemische-gesellschaft.de/images/PDFs/Downloads\\_und\\_Infos/Forschungsstrategie\\_Broschure\\_Layout%20final.pdf](https://wasserchemische-gesellschaft.de/images/PDFs/Downloads_und_Infos/Forschungsstrategie_Broschure_Layout%20final.pdf)
2. Hube, S. and B. Wu, *Mitigation of Emerging Pollutants and Pathogens in Decentralized Wastewater Treatment Processes: A Review*. Science of the Total Environment, 2021, **779**, 146545.
3. <https://www.siemens-healthineers.com/de/cardiac/cardiac-systems/atellica-vtli>
4. Herrera-Domínguez, M., et al., *Optical Biosensors and Their Applications for the Detection of Water Pollutants*. Biosensors-Basel, 2023, **13**(3), 370.

5. [https://environment.ec.europa.eu/topics/water/urban-wastewater\\_en](https://environment.ec.europa.eu/topics/water/urban-wastewater_en)
6. KomS\_Handlungsempfehlung\_Stand\_07.2018\_korrigiert.pdf [https://koms-bw.de/cms/content/media/KomS\\_Handlungsempfehlung\\_2018.pdf](https://koms-bw.de/cms/content/media/KomS_Handlungsempfehlung_2018.pdf)
7. Lamarca, R.S., et al., *Label-Free Ultrasensitive and Environment-Friendly Immunosensor Based on a Silica Optical Fiber for the Determination of Ciprofloxacin in Wastewater Samples*. Analytical Chemistry, 2020, **92**(21), p. 14415-14422.
8. Ramos, I.I., et al., *Automated Lab-on-Valve Sequential Injection ELISA for Determination of Carbamazepine*. Analytica Chimica Acta, 2019, **1076**, p. 91-99.
9. Carl, P., et al., *Wash-Free Multiplexed Mix-and-Read Suspension Array Fluorescence Immunoassay for Anthropogenic Markers in Wastewater*. Analytical Chemistry, 2019, **91**(20), p. 12988-12996.
10. Mazouzi, Y., et al., *Design and Analytical Performances of a Diclofenac Biosensor for Water Resources Monitoring*. ACS Sensors, 2021, **6**(9), p. 3485-3493.
11. Ecke, A., et al., *A Rapid Magnetic Bead-Based Immunoassay for Sensitive Determination of Diclofenac*. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2022, **414**(4), p. 1563-1573.
12. Zaimbashi, R., et al., *Simultaneous Electrochemical Sensing of Methyl dopa and Hydrochlorothiazide Using a Novel ZnO/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> Nanocomposite Modified Screen Printed Electrode*. Analytical and Bioanalytical Electrochemistry, 2017, **9**(8), p. 1008-1020.
13. Sciacca, B., et al., *Chitosan-Functionalized Porous Silicon Optical Transducer for the Detection of Carboxylic Acid-Containing Drugs in Water*. Journal of Materials Chemistry, 2021, **21**, p. 2294-2302.
14. Snopok, B.A., et al., *Effect of the Local Environment and State of the Immobilized Ligand on its Reaction With A Macromolecular Receptor*. Theoretical and Experimental Chemistry, 2006, **42**, p. 217-223.
15. Tschmelak, J., et al., *Biosensor for Seven Sulphonamides in Drinking, Ground, and Surface Water With Difficult Matrices*. Analytical Letters, 2004, **37**(8), p. 1701-1718.
16. Tschmelak, J., G. Proll, and G. Gauglitz, *Immunosensor for Estrone With an Equal Limit of Detection as Common Analytical Methods*. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2004, **378**(3), p. 744-745.
17. Varelas, I., *Microalgae as Bioindicators for Water Quality Analyses*. Repositório da Universidade de Lisboa, 2017, <http://hdl.handle.net/10451/36032>
18. Wang, H.Y., et al., *Syntheses of Molecularly Imprinted Polymers and Their Molecular Recognition Study for Benzotriazole*. Reactive & Functional Polymers, 2006, **66**(10), p. 1081-1086.
19. Pang, S. and S. Cowen, *A Generic Standard Additions Based Method to Determine Endogenous Analyte Concentrations by Immunoassays to Overcome Complex Biological Matrix Interference*. Scientific Reports, 2017, **7**, 17542.
20. Conrad, M., et al., *(R)evolution of the Standard Addition Procedure for Immunoassays*. Biosensors-Basel, 2023, **13**(9), 849.
21. Göpfert, L., et al., *Macroporous Epoxy-Based Monoliths for Rapid Quantification of Pseudomonas Aeruginosa by Adsorption Elution Method Optimized for qPCR*. Analytical and Bioanalytical Chemistry, 2020, **412**(29), p. 8185-8195.
22. Berney, M., et al., *Rapid, Cultivation-Independent Assessment of Microbial Viability in Drinking Water*. Water Research, 2008, **42**(14), p. 4010-4018.
23. Seidel, M., et al., *Anwendungsfelder für moderne bioanalytische Methoden zur Bestimmung von Pathogenen im Bereich Wasser*. Wasser 2024, Limburg, 6.-9.5.2024.
24. Schwaiger, G., et al., *Standard Addition Method for Rapid, Cultivation-Independent Quantification of Cells y qPCR in Biotrickling Filters*. Analyst, 2024, **149**(10), p. 2978-2987.
25. VDI Richtlinie 4250 Blatt 2
26. Streich, P., et al., *Culture-Independent Quantification of Legionella pneumophila in Evaporative Cooling Systems Using Immunomagnetic Separation Coupled With Flow Cytometry*. Applied Microbiology, 2024, **4**, p. 284-296.

## Korrespondenzadresse

Prof. Dr. Günther Proll  
Hochschule Reutlingen  
Fakultät Life Sciences  
Alteburgstr. 150  
72762 Reutlingen  
Email: guenther.proll@reutlingen-university.de