

Abstract

Disinfectants in drinking water that are sufficiently effective can prevent the local prevalence of pathogens as well as epidemics. If there is a cause for concern that disinfection is the only way to provide safe drinking water, the use of disinfectants is necessary.

For the question of whether a disinfectant can be sufficiently effective for use in drinking water, a test was developed. This simulated use test, or "phase 2 step 2 test", is required by the European Union for the authorization of new disinfectants. The test was developed on an existing test rig operated in flow-through mode and the bacteria *Escherichia coli* and *Enterococcus faecium* as well as the bacteriophages (viruses) MS2 and PRD1. The active substances chlorine and chlorine dioxide used as reference were applied using a concentration in the lower limit of application. The contact time between the active substance and the test organism could be determined in the (disinfectant) test rig with a deviation of a few seconds. Efficacy criteria were determined based on the lowest reduction. Accordingly, for sufficient effectiveness, the bacterial and viral concentration must be reduced by at least 2 log₁₀ levels after 10 minutes and by 4 log₁₀ levels after 25 minutes.

Furthermore, the experiments showed that *Enterococcus faecium* is significantly more resistant to chlorine dioxide than the bacteriophage MS2. The enhanced resistance from *Enterococcus faecium* may be due to the hydroperoxide resistance regulator (OhrR). The bacteriophage PRD 1 and *E. coli* had comparable sensitivities. Based on the effectiveness against different organisms, the active substances could be identified and characterized.

The experiments revealed also that the influence of the DOC is most important, whereas the pH value and the temperature display smaller effects on the disinfection. With regard to temperature, an approximate duplication of effectiveness was observed by an increase in temperature of 10 °K. The efficacy of chlorine decreases at values below pH 7.5, while the efficacy of chlorine dioxide increases at higher pH values. However, the DOC has a direct influence on the active substance availability due to its consuming effect. With a DOC of 2 mg/l in the first 25 min, the effective concentration was only 50% of the dosing concentration, with a DOC of 5 mg/l even only 20%.

In the experiments, in addition to chlorine and chlorine dioxide, a catalytic disinfection process, the active substances bromine to use in pool water, ozone and the Inline electrolysis were tested for their effectiveness. No efficacy was found for the catalytic process, while the other active substances and the inline electrolysis were sufficiently effective. The devices used for the inline electrolysis were critical blocked by limescale. The devices revealed to be unsuitable for drinking water disinfection due the corresponding short operating times. The change in polarity of the electrodes as a measure for anti-scale protection also led to an unacceptable drop in active ingredient production.

Another test rig with real flow conditions was built to analyse the efficacy of disinfectants to fight biofilms. Biofilms we grown on 10 parallel pipelines with independent treatments. For quantitative analysis of the biofilms, culture methods and flow cytometry turned out to be hardly useful, since the biofilm could not be suspended sufficiently by mechanical methods (e.g. ultrasound, tube drive). Microscopy was much more suitable for quantification. These samples were taken from the Robbins Device and not from the test rig. However, according to a qualitative analysis of the biofilm in the test rig, an expected complete removal of biofilm by ozone treatment could not be observed.

However, experiments on conservation of stored water were successfully investigated by flow cytometry. By comparisons of this method with standard cultivation methods, the VBNC status of bacteria could be quantified. Silver chloride was not effective for conservation and silver nitrate did not reveal robust efficacy. Untreated stored water, on the other hand, passed into a possibly hygienically acceptable status after several weeks. Therefore, the benefit of chemical treatment of stored water for preservation is questionable.

All in all, the performed investigations showed that the efficacies of disinfectants can be adequately determined using the UBA test rigs and semi-technical setups that simulate realistic application conditions.

Zusammenfassung

Ausreichend wirksame Desinfektionsmittel im Trinkwasser können eine lokale Verbreitung von Krankheitserregern sowie Epidemien verhindern. Besteht die Besorgnis, dass nur durch eine Desinfektion ein einwandfreies Trinkwasser zur Verfügung gestellt werden kann, ist der Einsatz von Desinfektionsmitteln erforderlich.

Die Frage, ob ein Desinfektionsmittel für den Einsatz im Trinkwasser grundsätzlich ausreichend wirksam sein kann, kann mit dem in dieser Arbeit entwickelten Test beantwortet werden. Es handelt sich um einen Simulationstest oder auch „phase 2 step 2 test“, der für die Zulassung neuer Desinfektionsmittel europaweit gefordert wird. Für die Entwicklung wurden an einem bereits bestehenden und im Durchfluss betriebenen Teststand Wirksamkeitsuntersuchungen mit den Bakterien *Escherichia coli* und *Enterococcus faecium* sowie den Bakteriophagen (Viren) MS2 und PRD1 durchgeführt. Zum Einsatz kamen die als Referenz verwendeten Wirkstoffe Chlor und Chlordioxid in einer Konzentration im unteren erlaubten Anwendungsbereich und einem moderat bis schwer zu desinfizierenden Testwasser. Die Kontaktzeit zwischen Wirkstoff und den Testkeimen konnte im (Desinfektionsmittel-)Teststand mit einer Abweichung im Bereich weniger Sekunden bestimmt werden. Anhand der am geringsten gemessenen Reduktion der Testbakterien und -viren für die Referenzwirkstoffe Chlor und Chlordioxid wurden Wirksamkeitskriterien festgelegt, da dies die aktuell bestehende Mindestwirksamkeit für eine Desinfektion darstellt. Demnach muss für eine ausreichende Wirksamkeit die Bakterien- und Virenkonzentration nach 10 Minuten um mindestens 2 Log₁₀-Stufen und nach 25 Minuten um 4 Log₁₀-Stufen reduziert werden.

Die Versuche zeigen auch, dass das Bakterium *Enterococcus faecium* deutlich resistenter gegenüber Chlordioxid ist als z.B. der Bakteriophage MS2. Diese erhöhte Resistenz von *Enterococcus faecium* könnte auf den Hydroperoxid-Resistenzregulator (*OhrR*) zurückzuführen sein, der das Enzym Hydroperoxid-Reduktase bzw. das Gen *Ohr* reguliert, das bei einer Infektion vom Wirt gebildetes Wasserstoffperoxid neutralisiert (Pande *et al.* 2018). Der Bakteriophage PRD 1 war annähernd so sensitiv wie *E. coli*. Da die Wirksamkeiten von Chlor und Chlordioxid gegenüber den jeweiligen Testorganismen deutliche Unterschiede aufweisen, können die Wirkstoffe Chlor und Chlordioxid hierdurch identifiziert werden.

Des Weiteren wurde in den in dieser Arbeit durchgeführten experimentellen Untersuchungen deutlich, dass der Einfluss des DOC im Wasser von herausragender Bedeutung ist, während der pH-Wert und insbesondere die Temperatur vergleichsweise geringe Auswirkungen auf die Desinfektion haben. Für den Einfluss der Temperatur während der Desinfektion wurde eine annähernde Verdoppelung der Wirksamkeit mit einem Temperaturanstieg von 10 °K beobachtet. Bei pH-Werten unter pH 7,5 nimmt die Wirksamkeit von Chlor deutlich ab, wohingegen die Wirksamkeit von Chlordioxid bei höheren pH-Werten deutlich ansteigt. Der DOC hat dabei durch seine zehrende Wirkung einen direkten Einfluss auf die Wirkstoffverfügbarkeit. So stehen bei einem DOC von 2 mg/l in den ersten 25 min effektiv nur 50 % des Wirkstoffs zur Verfügung, bei einem DOC von 5 mg/l sogar nur 20 %.

In den Experimenten wurden neben Chlor und Chlordioxid ein katalytisches Verfahren, die Wirkstoffe Brom (für den Einsatz im Badebeckenwasser), Ozon und das Verfahren der Inline Elektrolyse auf ihre Wirksamkeit hin untersucht. Dabei konnte keine Wirksamkeit für das katalytische Verfahren festgestellt werden, während die anderen Wirkstoffe und die Inline Elektrolyse ausreichend wirksam waren. Die für die Inline Elektrolyse verwendeten Anlagen zeigten sich aufgrund der Verkalkung der Elektroden und der damit einhergehend kurzen Betriebszeiten als ungeeignet für die Trinkwasserdesinfektion. Die Umpolung der Elektroden als Maßnahme zum Kalkschutz führte zudem zu einem unannehmbaren Absinken der Wirkstoffproduktion.

Für Untersuchungen der Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln zur Bekämpfung von Biofilmen, die mit Pathogenen besiedelt waren, wurde am Umweltbundesamt ein weiterer Teststand mit realitätsnahen Strömungsverhältnissen errichtet. An den insgesamt 10 unabhängig behandelbaren Rohrstrecken bildeten sich gleichförmige Biofilme aus. Für die quantitative Analyse der Biofilme stellten sich Kulturnachweise und die Durchflussszytometrie als kaum brauchbare Nachweismethoden heraus, da der Biofilm mit mechanischen Verfahren (z.B. Ultraschall oder dem Homogenisier-System Tube Drive) nicht ausreichend suspendiert werden konnte. Erfolgreicher für eine quantitative Analyse der Wirkung von Desinfektionsmitteln waren mikroskopische Untersuchungen, jedoch stammten die dafür verwendeten Proben aus Versuchsansätzen mit dem Robbins Device. Eine qualitative Analyse im Biofilmteststand konnte eine erwartete vollständige Entfernung des Biofilms nach Ozonbehandlung nicht bestätigen.

Die Durchflussszytometrie eignete sich dagegen sehr gut um die Konservierung von gespeichertem Wasser zu untersuchen. Im Vergleich mit Kultivierungsverfahren konnten dabei auch VBNC-Zustände von Bakterien quantitativ erkannt werden. Silberchlorid erwies sich für die Konservierung als unwirksam. Für Silbernitrat wurde eine schwankende z.T. hohe Wirksamkeit festgestellt. Unbehandeltes gespeichertes Wasser ging dagegen nach mehreren Wochen in einen möglicherweise hygienisch vertretbaren Gleichgewichtszustand über, sodass der Nutzen einer chemischen Behandlung von gespeichertem Wasser zur Konservierung insgesamt zu diskutieren ist.

Insgesamt zeigten die durchgeführten Wirksamkeitsuntersuchungen unter realitätsnahen Anwendungsbedingungen in den UBA-Testständen und halbtechnischen Versuchsaufbauten, dass klare Aussagen darüber getroffen werden können, ob grundsätzlich eine ausreichende Wirksamkeit eines Desinfektionsmittels vorhanden ist.