

Quantitative Bestimmung der Wirksamkeit von Stoffen zur Desinfektion in der Trinkwasseraufbereitung

Inhalt

Vorwort	2
Einleitung	2
1 Anwendungsbereich	2
2 Normative Verweisungen	2
3 Begriffsbestimmungen	3
3.1 Produkt	3
3.2 Wirkstoff	3
3.3 Desinfektionsmittel	4
3.4 Testorganismen	4
3.5 Kontaktzeit.....	4
4 Anforderungen	4
4.1 Bakterizide Anforderungen.....	4
4.2 Viruzide Anforderungen	4
5 Prüfverfahren	5
5.1 Prinzip	5
5.2 Materialien und Reagenzien	5
5.3 Geräte	7
5.4 Herstellung der Viren- Bakteriensuspension	7
5.5 Verfahrensablauf.....	8
5.6 Berechnung und Darstellung der Ergebnisse	10
5.7 Auswertung	11
5.8 Prüfbericht	12
Anhang A: Anlage zur Prüfung der Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln im Trinkwasser	13
1 Einleitung und Anlagenaufbau	13
1.1 Weitere technische Anforderungen	14
Anhang B: Ermittlung der Kontaktzeit zwischen Organismen / Viren und Desinfektionsmittel ...	15
1 Bestimmung der Aufenthaltszeit	15
2 Theoretische Berechnung der Kontaktzeit:	15
3 Experimentelle Bestimmung der Aufenthaltszeit (Tracerversuche)	15
3.1 Versuchsaufbau.....	16
3.2 Vergleich der Methoden zur Bestimmung der Aufenthaltszeit	20
Anhang C: Eignungskriterien für Desinfektionsmittel im Trinkwasser	21
Anhang D: Verwendung von Natriumthiosulfat zur Inhibition von oxidativen Chlorverbindungen	22
Anhang E: Exemplarische Darstellung der Ergebnisse	22

Vorwort

Das vorliegende Prüfverfahren wurde am Umweltbundesamt im Fachgebiet Trinkwasserressourcen und Wasseraufbereitung (FG II 3.3) in Zusammenarbeit mit dem Fachgebiet „Mikrobiologische Risiken (FG II 1.4) entwickelt. Das Verfahren ist der Trinkwasserkommission des Bundesministeriums für Gesundheit und dem zuständigen Arbeitskreis der Deutschen Vereinigung des Gas- und Wasserfaches e.V. vorgestellt worden. Beide Fachgruppen haben das vorliegende Prüfverfahren im Grundsatz akzeptiert.

Einleitung

Diese Prüfvorschrift beschreibt ein Simulationsverfahren zur Feststellung, ob ein Desinfektionsmittel, das für die in Abschnitt 1 beschriebenen Bereiche vorgeschlagen wurde, eine ausreichende bakterizide und viruzide Wirkung aufweist.

Dieses Verfahren wird als Laborversuch an einer halbtechnischen Anlage durchgeführt und simuliert praxisnahe Anwendungsbedingungen. Die gewählten Bedingungen spiegeln Parameter wieder, wie sie in der Praxis vorkommen. Liegt eine ausreichende Wirksamkeit vor, kann die geprüfte Konzentration des Desinfektionsmittels als ausreichend wirksame Konzentration bezeichnet werden. Jede ausreichend wirksame Konzentration, die aus dieser Prüfung resultiert, gilt streng genommen nur für die festgelegten experimentellen Bedingungen. Sie legt die generelle Eignung des Desinfektionsmittels zum Einsatz für die Trinkwasserdesinfektion fest. Eine Prüfung der Wirksamkeit unter allen in der Praxis vorkommenden Bedingungen ist nicht Ziel dieser Wirksamkeitsprüfung. Im praktischen Einsatz kann daher in Abhängigkeit von Indikation, Einsatzbedingungen und gesetzlichen Regelungen von der ausreichend wirksamen Konzentration abgewichen werden, um die Wirksamkeit sicher zu stellen.

1 Anwendungsbereich

Dieses Prüfverfahren legt Mindestanforderungen für die ausreichende bakterizide und viruzide Wirkung von Desinfektionsmitteln fest, die dem Wasser zur Trinkwassergewinnung oder dem Trinkwasser im Verteilungsnetz zugeführt werden.

Die Bestimmung einer bakteriziden oder viruziden Wirkung eines Desinfektionsmittels ist nur möglich, wenn der Stoff mit angemessenem Aufwand quantitativ messbar ist und sich seine Wirkung innerhalb kurzer Zeit neutralisieren (inhibieren) lässt (Anhang C).

Unter besonderen Bedingungen (siehe 5.7) können zusätzliche Prüfbedingungen benötigt werden, um eine abschließende Schlussfolgerung ziehen zu können.

2 Normative Verweisungen

Diese Prüfvorschrift enthält durch datierte oder undatierte Verweisungen Festlegungen aus anderen Publikationen. Diese normativen Verweisungen sind an den jeweiligen Stellen im Text zitiert, und die Publikationen sind nachstehend aufgeführt. Bei datierten Verweisungen gehören spätere Änderungen oder Überarbeitungen dieser Publikationen nur zu dieser Prüfvorschrift, falls sie durch Änderung oder Überarbeitung eingearbeitet sind. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe der in Bezug genommenen Publikationen.

DIN EN ISO 7899-1. Wasserbeschaffenheit - Nachweis und Zählung von intestinalen Enterokokken - Teil 1: Miniaturisiertes Verfahren durch Animpfen in Flüssigmedium (MPN-Verfahren) (ISO 7899-1:1998); Deutsche Fassung EN ISO 7899-1:1998

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

DIN EN ISO 9308-1 Wasserbeschaffenheit - Nachweis und Zählung von Escherichia coli und coliformen Bakterien - Teil 1: Membranfiltrationsverfahren (ISO 9308-1:2000); Deutsche Fassung EN ISO 9308-1:2000

DIN EN ISO 9308-3 Wasserbeschaffenheit - Nachweis und Zählung von Escherichia coli und coliformen Bakterien in Oberflächen- und Abwasser - Teil 3: Miniaturisiertes Verfahren zum Nachweis von E. coli (ISO 9308-3:1998); Deutsche Fassung EN ISO 9308-3:1998

DIN EN ISO 8199 Wasserbeschaffenheit - Allgemeine Anleitung zur Zählung von Mikroorganismen durch Kulturverfahren (ISO 8199:2005); Deutsche Fassung EN ISO 8199:2007

DIN EN 12671 Produkte zur Aufbereitung von Wasser für den menschlichen Gebrauch - Vor Ort erzeugtes Chlordioxid; Deutsche Fassung EN 12671:2009.

DIN EN ISO 7393-2 Wasserbeschaffenheit - Bestimmung von freiem Chlor und Gesamtchlor - Teil 2: Kolorimetrisches Verfahren mit N,N-Diethyl-1,4-Phenylendiamin für Routinekontrollen (ISO 7393-2:1985); Deutsche Fassung EN ISO 7393-2:2000.

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

DIN EN ISO 10705-2 Wasserbeschaffenheit - Nachweis und Zählung von Bakteriophagen - Teil 2: Zählung von somatischen Coliphagen (ISO 10705-2:2000); Deutsche Fassung EN ISO 10705-2:2001

Richtlinie 98/8/EG des Europäischen Parlamentes und des Rates vom 16. Februar 1998 über das Inverkehrbringen von Biozid-Produkten (Biozidrichtlinie)

3 Begriffsbestimmungen

Für die Anwendung in dieser Prüfvorschrift gelten folgende Begriffsbestimmungen.

3.1 Produkt

Es gilt die Definition von Biozid-Produkten gemäß Biozidrichtlinie:

„Wirkstoffe und Zubereitungen, die einen oder mehrere Wirkstoffe enthalten, in der Form in welcher sie zum Verwender gelangen, und die dazu bestimmt sind, auf chemischem oder biologischem Wege Schadorganismen zu zerstören, abzuschrecken, unschädlich zu machen, Schädigungen durch sie zu verhindern oder sie in anderer Weise zu bekämpfen.“

3.2 Wirkstoff

Es gilt die Definition von Biozid-Wirkstoff gemäß Biozidrichtlinie:

„Stoffe oder Mikroorganismen einschließlich Viren oder Pilze mit allgemeiner oder spezifischer Wirkung auf oder gegen Schadorganismen.“

3.3 Desinfektionsmittel

Produkt oder Wirkstoff (3.1 und 3.2).

3.4 Testorganismen

Die für die Durchführung in dieser Prüfvorschrift verwendeten Bakterien und Bakteriophagen (Viren).

3.5 Kontaktzeit

Einwirkzeit des Desinfektionsmittels auf den Testorganismus.

4 Anforderungen

Die erhobenen Anforderungen gelten nur in Verbindung mit dem im Abschnitt 5 zugrundeliegenden Prüfverfahren.

4.1 Bakterizide Anforderungen

Ein Wirkstoff oder Produkt kann für den Einsatz im Trinkwasser als ausreichend bakterizid wirksam bezeichnet werden, wenn folgende Kriterien erfüllt sind:
Fähigkeit eines Produktes oder Wirkstoffs eine Verminderung der Konzentration lebender, vegetativer Bakterienzellen der Referenzstämme *Escherichia coli* und *Enterococcus faecium* (5.2.1) unter den in dieser Prüfvorschrift festgelegten Bedingungen um mindestens 2 log₁₀-Stufen nach 10 Minuten und 4 Log₁₀-Stufen nach 25 Minuten Kontaktzeit zu erreichen.

Referenzstämme	Reduktion Kontaktzeit	Reduktion Kontaktzeit
<i>Escherichia coli</i>	2 Log ₁₀ -Stufen 10 Minuten	4 Log ₁₀ -Stufen 25 Minuten
<i>Enterococcus faecium</i>	2 Log ₁₀ -Stufen 10 Minuten	4 Log ₁₀ -Stufen 25 Minuten

4.2 Viruzide Anforderungen

Ein Wirkstoff oder Produkt kann für den Einsatz im Trinkwasser als ausreichend viruzid wirksam bezeichnet werden, wenn folgende Kriterien erfüllt sind:
Fähigkeit eines Produktes oder Wirkstoffs eine Verminderung der Konzentration der Bakteriophagen (Viren) der Referenzstämme MS2 und PRD1 (5.2.1) unter den in dieser Prüfvorschrift festgelegten Bedingungen um mindestens 2 log₁₀-Stufen nach 10 Minuten und 4 Log₁₀-Stufen nach 25 Minuten Kontaktzeit zu erreichen.

Referenzstämme	Reduktion Kontaktzeit	Reduktion Kontaktzeit
Bakteriophage MS2	2 Log ₁₀ -Stufen 10 Minuten	4 Log ₁₀ -Stufen 25 Minuten
Bakteriophage PRD1	2 Log ₁₀ -Stufen 10 Minuten	4 Log ₁₀ -Stufen 25 Minuten

5 Prüfverfahren

5.1 Prinzip

Einem mit Testwasser durchströmten Rohr werden Testorganismen (Bakterien/ Viren) hinzugefügt und deren Konzentration im Testwasser bestimmt. Anschließend wird das zu prüfende Desinfektionsmittel dem Volumenstrom hinzugeführt. Dies markiert den Startzeitpunkt der Desinfektion. Nach drei definierten Kontaktzeiten von den Testorganismen mit dem Desinfektionsmittel werden Proben an dafür vorgesehenen Probenahmehähnen entnommen. Während der Probenahme wird der Desinfektionsvorgang in der Probe gestoppt und anschließend die Konzentration der Testorganismen bestimmt. Um die in dieser Prüfvorschrift gegebenen Wirksamkeitsanforderungen an ein Desinfektionsmittel zu erfüllen, muss eine definierte Reduktion der Testorganismen nach 10 und 25 Minuten erreicht werden.

5.2 Materialien und Reagenzien

5.2.1 Prüfkeime

Die bakterizide Wirkung muss unter Verwendung folgender Bakterien und Viren bewertet werden:

- a) *Escherichia coli* A3, erhältlich am Umweltbundesamt¹.
- b) *Enterococcus faecium*, erhältlich am Umweltbundesamt¹.
- c) Bakteriophage MS2 (DSM² 13767)
- d) Bakteriophage PRD1 (DSM² 19107)

Falls zusätzliche Stämme verwendet werden, müssen diese, wie auch die Prüfkeime, unter optimalen Wachstumsbedingungen (Temperatur, Atmosphäre) angezüchtet werden. Das genaue Vorgehen ist im Prüfbericht zu dokumentieren.

5.2.2 Wirtsbakterien für Bakteriophagen

Für die Bakteriophagen MS2 und PRD1 wird als Wirtstamm *Salmonella Typhimurium* WG49 (NCTC³ 12484) verwendet.

5.2.3 Kulturmedien und Reagenzien

5.2.3.1 Allgemeines

Im vorliegenden Prüfverfahren wird auf andere Normen verwiesen. Geräte für die Durchführung dieser zusätzlichen Normen sind nicht aufgeführt.

Die Reagenzien müssen der Qualität „analysenrein“ entsprechen und/oder für mikrobiologische Zwecke geeignet sein. Für die Herstellung von Kulturmedien können auch Fertigmedien mit gleicher Zusammensetzung verwendet werden, die nach den Anweisungen des Herstellers hergestellt werden.

5.2.3.2 Testwasser

Folgende Bedingungen müssen vom Testwasser erfüllt werden:

- Temperatur 15 °C ± 2 °C
- pH-Wert 7,5 ± 0,2
- gelöster organischer Kohlenstoff (DOC) 2,0 mg/L ± 0,3 mg/L

¹ Umweltbundesamt, FG II 1.4 Mikrobiologische Risiken, Corrensplatz 1, 14195 Berlin (Germany)

² DSMZ - Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH, Inhoffenstraße 7 B, 38124 Braunschweig (GERMANY)

³ Health Protection Agency Culture Collections, Health Protection Agency, Centre for Emergency Preparedness and Response, Porton Down, Salisbury, SP4 0JG (UK)

Der pH-Wert wird durch Zugabe von Salzsäure (HCl) bzw. Natriumhydroxid (NaOH) eingestellt. Nur natürlich im Wasser vorkommender DOC ist zu verwenden. Die Herstellung des Testwassers erfolgt in einem Vorratstank. Es ist auf eine vollständige Durchmischung zu achten.

5.2.3.3 Lactose-Pepton-Bouillon

Das Flüssignährmedium Lactose-Pepton-Bouillon wird für die Anzucht von *E. coli* verwendet.

Pepton aus Casein (Sifin TN 1403)	17,0 g/L
Pepton aus Sojamehl (Sifin TN 1419)	3,0 g/L
Lactose (Merck 1.07657)	10,0 g/L
Natriumchlorid (Merck 1.06404)	5,0 g/L
demin. Wasser	1000 ml

Die Substanzen in einem Kolben in demineralisiertem Wasser lösen (mit Magnetrührstäbchen auf einem Magnetrührer), pH-Wert auf $7,2 \pm 0,2$ bei 25°C einstellen, à 100 ml abfüllen, mit einem Zellstoffstopfen plus Alufolie versehen und 15 min bei 121°C autoklavieren.

5.2.3.4 Glucose-Bouillon

Das Flüssignährmedium Pepton-Bouillon wird für die Anzucht von *E. faecium* verwendet.

Pepton aus Casein (Sifin TN 1403)	15,0 g/L
Fleischextrakt (Sifin TN 1410)	4,8 g/L
D(+)-Glucose (Merck 1.08342)	7,5 g/L
Natriumchlorid (Merck 1.06404)	7,5 g/L
demin. Wasser	1000 ml

Die Substanzen in einem Kolben in demineralisiertem Wasser lösen (mit Magnetrührstäbchen auf einem Magnetrührer), pH-Wert auf $7,2 \pm 0,2$ bei 25°C einstellen, à 100 ml abfüllen, mit einem Zellstoffstopfen plus Alufolie versehen und 15 min bei 121°C autoklavieren.

5.2.3.5 Caso-Agar "Casein-Soja-Pepton-Agar"

Nachweis und Zählung von *Escherichia coli* und coliforme Bakterien (Trypton-Soja-Agar, TSA):

Casein (tryptisch verdaut)	15g
Sojapepton	5g, NaCl 5g
Agar (in Puder-oder Flockenform)	15g-25g abhängig von der Gelierstärke,
Destilliertes Wasser	1000ml

5.2.3.6 Neutralisationsmedium

Als Neutralisationsmedium oder auch (Desinfektions-)Inhibitor wird ein Stoff bezeichnet, der die Wirkung eines Desinfektionsmittels einschließlich entstandener Nebenprodukten stoppt. Um die Messergebnisse nicht zu verfälschen, muss diese Reaktion innerhalb von wenigen Sekunden abgeschlossen sein.

Die Inhibierbarkeit eines Desinfektionsmittels zählt zu den Eignungskriterien für Wirkstoffe und Produkte (Anhang C).

Beruhet die Wirkung auf oxidativ wirkenden Chlorverbindungen, kann Natriumthiosulfat als Inhibitor eingesetzt werden (Anhang D).

5.2.3.7 Chloroform

Für die Herstellung der Phagensuspension wird Chloroform (CHCl₃), 99 %, M = 119,38 g/mol verwendet (5.4.3).

5.3 Geräte

5.3.1 Allgemeines

Im vorliegenden Prüfverfahren wird auf andere Normen verwiesen. Geräte für die Durchführung dieser zusätzlichen Normen sind nicht aufgeführt. Normale Ausstattung eines mikrobiologischen Labors wird vorausgesetzt. Spezielle Geräte und Materialien die für die Anlage zur Prüfung der Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln benötigt werden sind in Anhang A aufgeführt.

5.3.2 Zentrifuge

Zentrifuge mit Zentrifugenröhrchen mit einem Volumen von 200 ml und einer Mindestumdrehungszahl von 6000 rpm.

Brutschrank auf $(44 \pm 0,5)$ °C thermostatisierbar

Brutschrank auf (37 ± 2) °C thermostatisierbar

Autoklav

zu betreiben bei (121 ± 3) °C und (115 ± 3) °C

Photometer

5.4 Herstellung der Viren- Bakteriensuspension

5.4.1 Allgemeines

Stammkulturen sind gemäß den Anforderungen nach EN12353 aufzubewahren.

5.4.2 Bakteriensuspension

5.4.2.1 *E. coli* A3

Aus einer bei -80 °C (± 2 °C) eingefrorenen Arbeitskultursuspension wird der *E. coli* Stamm A3 auf Caso-Agar (5.2.3.5) "Casein-Soja-Pepton-Agar" fraktioniert ausgestrichen und $8 \text{ h} \pm 1 \text{ h}$ bei $36 \text{ °C} \pm 2 \text{ °C}$ bebrütet. Die auf dem Agar gewachsene Kultur wird mit einer Impföse geerntet und zur Beimpfung (Volumen einer Impföse) von 100 ml Lactose-Pepton-Bouillon (5.2.3.3) verwendet. Die angeimpfte Kultur wird $20 \text{ h} \pm 4 \text{ h}$ bei $36 \text{ °C} \pm 2 \text{ °C}$ bebrütet und anschließend Zentrifugation (6000 rpm, 15 min). Der Überstand wird nach der Zentrifugation verworfen und mit sterilem Testwasser bei 6000 rpm, 15 min gewaschen. Das gewaschene Pellet wird in 100 ml sterilem Testwasser aufgenommen. Die hergestellte Bakteriensuspension ist bei $4 \text{ °C} \pm 2 \text{ °C}$ aufzubewahren und nach spätestens 2 h in das vorbereitete Vorratsgefäß am Prüfstand einzuimpfen (5.5.1).

5.4.2.2 *E. faecium* Teltow 11

Aus einer eingefrorenen Arbeitskultursuspension wird der *E. faecium* Stamm Teltow 11 auf Caso-Agar ausgestrichen und $7 \pm 2 \text{ h}$ bei $36 \text{ °C} \pm 2 \text{ °C}$ bebrütet. Die auf dem Agar gewachsene Kultur wird mit einer Impföse geerntet und zur Beimpfung von 100 ml Glucose-Bouillon (5.2.3.4) verwendet. Die Kultur wird $20 \text{ h} \pm 4 \text{ h}$ bei $36 \text{ °C} \pm 2 \text{ °C}$ bebrütet und durch Zentrifugation geerntet (6000 rpm, 15 min). Der Überstand wird nach der Zentrifugation verworfen und mit sterilem Testwasser bei 6000 rpm, 15 min gewaschen. Das gewaschene Pellet wird in 100 ml sterilem Testwasser

aufgenommen. Die hergestellte Bakteriensuspension ist bei $4\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$ aufzubewahren und nach spätestens 2 h in das vorbereitete Vorratsgefäß am Prüfstand einzuzimpfen (5.5.1).

5.4.2.3 *Salmonella typhimurium* Stamm WG49

Die Stamm- und Arbeitskulturen werden nach DIN EN ISO 10705-1 hergestellt.

5.4.3 Bakteriophagensuspension

Zur Herstellung der Test-Bakteriophagensuspension wird der Wirtstamm *Salmonella Typhimurium* WG49 (15 ± 2) h im Thermoschüttler (80 rpm; 20 ± 4) h; $(36 \pm 2)\text{ °C}$) kultiviert. Als Flüssigmedium wird TYGB verwendet (5.4.2.3).

Es werden 25 ml TYGB in einem 300-ml-Erlenmeyerkolben auf Raumtemperatur vorgewärmt und mit 0,25 ml der (15 ± 2) h beimpft und im Thermoschüttler für 90 min bei $(36 \pm 2)\text{ °C}$ bebrütet.

Aus einer Stamm-Phagensuspension werden Phagen hinzugeben, so dass eine Endkonzentration an plaquebildenden Einheiten (pfu) von ca. $10^6 - 10^8$ / ml erreicht wird. Im Anschluss wird die Suspension 4 bis 5 h bebrütet (s.o.). Anschließend werden 2,5 ml Chloroform (5.2.3.7) unter dem Abzug hinzugegeben und gut eingemischt. Nach dem Verschließen wird der Kolben (15 ± 2) h, mindestens jedoch für 4 h bei $(5 \pm 3)\text{ °C}$

aufbewahrt. Die wässrige Phase wird in ein Röhrchen übertragen und mit 6000 rpm 20 min zentrifugiert. Der Überstand wird vorsichtig abpipettiert.

Zur Titerbestimmung wird eine dezimale Verdünnungsreihe hergestellt und im Plaquetest (5.5.2.2) untersucht. Das hergestellte Bakteriophagenlysat wird bis zum Versuch bei $(5 \pm 3)\text{ °C}$ bis zu 28 Tage aufbewahrt oder in Portionen von 5 ml in Kryoröhrchen bei $(80 \pm 10)\text{ °C}$ eingefroren. Um den Eintrag von gelösten organischen Kohlenstoff DOC, der zu einer erhöhten Zehrung des Desinfektionsmittels führen könnte zu begrenzen, werden nicht mehr als 10 ml der Phagensuspension zugegeben (5.4.3).

5.5 Verfahrensablauf

5.5.1 Vorbereitung der Prüfanlage

- a) Der Vorratsbehälter wird mit Testwasser (5.2.3.2) befüllt.
- b) Es wird ein Volumenstrom von 400 Liter pro Stunde ($\pm 20\text{ L/h}$) eingestellt.
- c) Die Aufenthaltszeit des Testwassers ist wie folgt konstant einzustellen:
 - i. Probenahmeahn 1 = $25\text{ s} \pm 10\text{ s}$ (Validierungsmesswert, 5.7.1)
 - ii. Probenahmeahn 2 = $10\text{ min} \pm 30\text{ s}$ (Prüfwert 1)
 - iii. Probenahmeahn 3 = $25\text{ min} \pm 60\text{ s}$ (Prüfwert 2)

Die Bestimmung der Aufenthaltszeit des Testwassers im Desinfektionsmittelprüfstand ist in Anhang B beschrieben.

- d) Die Testorganismen werden wie in Kapitel 5.4 beschrieben hergestellt und in den Vorlagebehälter des Prüfstandes gegeben. Es werden zunächst die Bakteriensuspensionen (*E. coli*, *Enterococcus faecium*) zusammen mit dem Bakteriophagen MS2 vorgelegt. Die Untersuchung für den Test-Bakteriophagen PRD1 erfolgt in einem separaten Versuchsansatz. Im Vorratsbehälter der Keimsuspension muss die Konzentration der Bakteriophagen ($1 \times 10^9 - 1 \times 10^{11}$) pfu /100 ml und der Bakterien ($1 \times 10^8 - 5 \times 10^9$) KBE/ 100 ml liegen. Die Testorganismen werden in einem Verhältnis 1:1000 dem Testwasser zugeführt, so dass in der Anlage (Hahn 0) die Konzentration ($1 \times 10^5 - 5 \times 10^6$) KBE/ 100 ml bzw. ($1 \times 10^6 - 1 \times 10^8$) pfu /100 ml beträgt.
- e) Die gewünschte Desinfektionsmittelkonzentration wird zudosiert. Am Prüfstand müssen für einen Zeitraum von mindestens 60 min die geforderten physiko-chemischen Parametern eingehalten werden, bevor eine Probenahme erfolgen kann.

- f) In die sterilen Probenahmegefäße wird der Inhibitor für das Desinfektionsmittel (5.2.3.6) vorgelegt.

5.5.2 Prüfverfahren zur Festlegung der bakteriziden und viroziden Wirkung eines Wirkstoffs oder Produktes

Beginnend bei Probenahmehahn 3 bis Hahn 0 (Anhang A) wird ein 50-ml-Probenahmegefäß unter den Hahn gehalten und unter Schwenken bis etwa zur 50-ml-Markierung befüllt. Das Schwenken soll eine gute Verteilung des Inhibitors (Neutralisationsmittel) in der Probe gewährleisten. Direkt nach Befüllen der Röhren werden diese zügig fest verschlossen, zwei- bis dreimal kräftig geschüttelt und umgehend auf einen schnellen Mischer (Strudelbildung) gestellt. Auf eine gute Durchmischung der Probe mit dem Inhibitor ist zu achten (tiefe Strudelbildung). Anschließend wird die Probe ein zweites Mal kräftig geschüttelt.

Werden größere Probenvolumina benötigt, wird eine 1-L-Glasflasche unter den entsprechenden Hahn gehalten und unter Schwenken befüllt. Die 1-L-Glasflasche nicht vollständig befüllen, sondern ein größeres Luftvolumen frei lassen. Nach den Probenahmen wird die Flasche sofort verschlossen und kräftig geschüttelt.

Die Proben werden bis zur Analyse im Kühlschrank bei $(5 \pm 3) ^\circ\text{C}$ aufbewahrt.

Nach jeder mikrobiologischen Beprobung der Hähne 1 – 3 wird unmittelbar die Konzentration des Desinfektionsmittels gemessen, sodass man über die Zeit die Zehrung eines Desinfektionsmittels ablesen kann.

Die Konzentration des Desinfektionsmittels zum Zeitpunkt Null wird aus der Konzentration des Vorlagebehälters und dem sich im Testwasservolumenstrom ergebenden Verdünnungsfaktor berechnet.

Vor den Probenahmen muss von jedem Probenahmehahn der Durchfluss bestimmt werden. Anhand der Durchflussmessung ist die genaue Kontaktzeit zwischen Testorganismen und Desinfektionsmittel unter Berücksichtigung des Korrekturfaktors (siehe Anhang B) zu berechnen. Liegen die Kontaktzeiten außerhalb der Vorgaben (5.5.1c) muss der Durchfluss entsprechend angepasst werden.

Es werden 3 wiederholende Probenahmen in einem Abstand von 30 bis 60 min durchgeführt.

5.5.2.1 Kontrolle der Neutralisation des Desinfektionsmittels

Für jeden Versuch wird ein zusätzliches Probenahmegefäß mit Neutralisationsmedium (Inhibitor) vorbereitet und an Hahn 1 eine Probe entnommen. Die Probe wird auf reaktive Rückstände des Desinfektionsmittels überprüft. Es darf kein Desinfektionsmittel nachgewiesen werden, da ansonsten das Neutralisationsmedium nicht vollständig gewirkt hat. Nur im Fall einer vollständigen und schnellen Neutralisation des Desinfektionsmittels kann die Reduktion der Testorganismen über die Zeit genau bestimmt werden.

5.5.2.2 Analyse der mikrobiologischen Proben

Die Proben (5.5.2), die an den einzelnen Hähnen genommen wurden und die eine Reduktion der Testorganismen anzeigen, werden möglichst umgehend, spätestens aber nach 4 h auf die bakteriologischen und spätestens nach 36 h für die virologischen Parameter untersucht. Die Proben müssen kühl $(5 \pm 3) ^\circ\text{C}$ gelagert werden.

Folgende Nachweisverfahren sind für die Testorganismen anzuwenden:

- a) *E. coli* A3 (DIN EN ISO 9308-1 und -3)

- b) *E. faecium* Teltow 11 (DIN EN ISO 7899-1 und -2)
- c) MS2 (DIN EN ISO 10705-1:2001)
- d) PRD1 (DIN EN ISO 10705-2:2001)

Je nach zu erwartender Konzentration werden für den Nachweis der Testbakterien die Membranfiltrationsverfahren (DIN EN ISO 9308-1 oder DIN EN ISO 7899-2) oder die MPN-Verfahren (DIN EN ISO 9308-3 oder DIN EN ISO 7899-1) mit entsprechenden Verdünnungsstufen eingesetzt. Bei der Membranfiltration werden mindestens zwei Platten pro Probe angesetzt.

5.6 Berechnung und Darstellung der Ergebnisse

5.6.1 Berechnung der Bakterienkonzentration

Bei den MPN-Verfahren wird das Ergebnis direkt als MPN/ml oder MPN/100 ml erhalten. Die Berechnung der Ergebnisse bei Membranfiltrationsverfahren erfolgt nach DIN EN ISO 8199 in KBE/ 100 ml.

5.6.2 Berechnung der Bakteriophagenkonzentration

Sofern vorhanden, Platten mit vorzugsweise mehr als 30 gut voneinander getrennten Plaques auswählen. Wenn die Anzahl stets unter 30 je Platte beträgt, solche Platten auswählen, die mit dem größten Probenvolumen beimpft wurden. Platten unter 10 Plaques je Platte können nicht für eine quantitative Bestimmung verwendet werden. Anhand der Anzahl der gezählten Plaques die Anzahl X der Plaque-bildenden Einheiten somatischer Coliphagen in 1 ml der Probe wie folgt berechnen:

$$X = \frac{N}{(n_1 V_1 F_1) + (n_2 V_2 F_2)}$$

X die Anzahl Plaque-bildender Einheiten somatischer Phagen je Milliliter (pfu/ml)

N die Gesamtanzahl von gezählten Plaques aller Platten

n_1, n_2 die Anzahl der Parallelbestimmungen, bezogen auf jede Verdünnung F_1, F_2 ;

V_1, V_2 die im Test eingesetzten Probenvolumen in Millilitern, bezogen auf F_1, F_2 ;

F_1, F_2 der Verdünnungs-(oder Konzentrations-)faktor, bezogen auf V_1, V_2

($F = 1$ für eine unverdünnte Probe, $F = 0,1$ für eine zehnfache Verdünnung, $F = 10$ für eine zehnfache Konzentration usw.).

Wenn nur eine Verdünnung/Konzentration ausgezählt wird, vereinfacht sich die Formel zu:

$$X = \frac{N}{nVF}$$

Beispiel:

Eine Probe wurde unverdünnt und 1:10 verdünnt mit je zwei Parallelen untersucht.

Die Auszählung ergab:

Verdünnung	Ergebnis pfu
unverdünnt	98; 91
-1	10; 5

Berechnung des Ergebnisses:

$$N = 98 + 91 + 10 + 5 = 204$$

Probemenge $V_1 = 1$ ml, Anzahl der Parallelbestimmungen $n_1 = 2$, Faktor $F_1 = 1$, weil unverdünnt, Probemenge $V_2 = 1$ ml, Anzahl der Parallelbestimmungen $n_2 = 2$, Faktor $F_2 = 0,1$, weil 1:10 verdünnt,

$$X = \frac{204}{(2 \cdot 1 \cdot 1) + (2 \cdot 1 \cdot 0,1)}$$

Ergebnis: 93 pfu/ml oder $9,3 \cdot 10^2 / 100$ ml

5.6.3 Angabe der Ergebnisse

Die Ergebnisse der mikrobiologischen Messungen müssen tabellarisch und grafisch dargestellt werden. Die grafische Darstellung umfasst die Ergebnisse der einzelnen Messreihen und den Mittelwert in Abhängigkeit von der Kontaktzeit (Anhang E). Die Nachweisgrenze ist anzugeben. Angaben in der Einheit pfu je 100 ml bzw. KBE je 100 ml.

Die Konzentrationsbestimmungen des Desinfektionsmittels an den Hähnen 1 bis 3 sind tabellarisch in mg/L anzugeben. Zusätzlich ist die Konzentration im Vorratsbehälter des Desinfektionsmittels und die berechnete Konzentration im Volumenstrom in mg/L anzugeben. Die Messdaten der Durchflussmessung und die genauen Kontaktzeiten (nach Korrektur) sind anzugeben (Anhang B).

5.7 Auswertung

Werden bei der Anwendung des vorliegenden Prüfverfahrens die in Kapitel 4 definierten Anforderungen erfüllt, kann von einer prinzipiell ausreichenden Wirkung des Desinfektionsmittels in der eingesetzten Konzentration ausgegangen werden.

Werden bei der Anwendung des vorliegenden Prüfverfahrens die in Kapitel 4 definierten Anforderungen nicht erfüllt, ist das Desinfektionsmittels in der eingesetzten Konzentration nicht zur Trinkwasserdesinfektion geeignet.

Da die Referenzkonzentration⁴, die aus diesem Prüfverfahren resultiert, festgelegten experimentellen Bedingungen entspricht, muss das Desinfektionsmittel in Wässern mit anderen physiko-chemischen Eigenschaften (pH-Wert, DOC, Temperatur) ggf. in seiner Konzentration angepasst werden.

Für den Einsatz des Desinfektionsmittels unter besonderen Bedingungen, die stark von den Testbedingungen abweichen (chemische Zusammensetzung des Testwassers, Wassertemperatur) können zusätzliche Prüfbedingungen benötigt werden, um eine abschließende Schlussfolgerung über eine ausreichende Wirksamkeit ziehen zu können.

⁴ Konzentration des Desinfektionsmittels die benötigt wird um die Testanforderungen zu erfüllen

5.7.1 Validierungsmesswert

Der Validierungsmesswert liefert zusätzliche Informationen über die Geschwindigkeit in der ein Wirkstoff oder Produkt seine Wirkung erzielt (5.5.1c). Er wird durch eine Probe am Hahn 1 nach einer Kontaktzeit mit dem Desinfektionsmittel nach $25 \text{ s} \pm 10 \text{ s}$ gemessen.

Eine sehr große Wirksamkeit im Prüfverfahren zu diesem Zeitpunkt, deutet auf eine möglicherweise zu hohe eingesetzte Konzentration hin. Auch können Messfehler und Messunsicherheiten genauer betrachtet werden.

5.8 Prüfbericht

Der Prüfbericht muss auf diese Prüfvorschrift verweisen.

Der Prüfbericht muss mindestens folgende Angaben enthalten:

- a) Identität des Prüflaboratoriums und des Auftraggebers
- b) Identifizierung der durchgeführten Prüfung:
 1. Produktbezeichnung, Wirkstoffbezeichnung
 2. Chargennummer und Endverbrauchsdatum (falls vorhanden)
 3. Hersteller / Lieferant Anlieferungsdatum (falls vorhanden)
 4. Lagerbedingungen
 5. vom Hersteller empfohlenes Verdünnungsmittel für die Anwendung des Produkts
 6. Wirksubstanz und deren Konzentration;
- c) Untersuchungsbedingungen:
 1. Datum (Daten) der Prüfung (Analysezeitraum)
 2. physiko-chemische Angaben über das Testwasser (5.2.3.2)
 3. Wirkstoff- oder Produktkonzentration
 4. die Bildung jeglicher Ausfällungen oder Ausflockungen wird dokumentiert
 5. Bebrütungstemperatur
 6. Verwendetes Neutralisationsmedium / Inhibitor (5.2.3.6)
 7. Identität der zusätzlich verwendeter Bakterien- und Virusstämme, zusammen mit den verwendeten Verfahren für die Anzucht.
- d) Prüfergebnisse:
 1. Es sind alle Ergebnisse, die in Kapitel 5.6.3 aufgeführt werden, anzugeben
 2. Referenzkonzentration
 3. Bewertung der bakteriziden und virozyden Wirkung
 4. Anzahl der Wiederholungen je Testorganismus
 5. besondere Bemerkungen
 6. Schlussfolgerung
 7. Ort, Datum, Unterschrift.

Anhang A: Anlage zur Prüfung der Wirksamkeit von Desinfektionsmitteln im Trinkwasser

1 Einleitung und Anlagenaufbau

Der für die vorliegende Prüfanweisung erforderliche Desinfektionsmittelprüfstand ist im Durchflussbetrieb zu betreiben.

Der Prüfstand ermöglicht die Entnahme von Wasserproben an vier Probenahmehähnen (Hahn 0 bis Hahn 3) (Abbildung 1). Diese sind so konzipiert, dass folgende Aufenthaltszeiten / Kontaktzeiten realisiert werden:

Hahn 0 = Testorganismen ohne Desinfektionsmittel (Start der Desinfektion)

Hahn 1 = 25 s ± 10 s (Validierungsmesswert, Kapitel 5.7.1)

Hahn 2 = 10 min ± 30 s (Prüfwert 1)

Hahn 3 = 25 min ± 60 s (Prüfwert 2)

Die genaue Berechnung und experimentelle Bestimmung der Kontaktzeiten ist in Anhang B beschrieben.

In Phasen in denen die Anlage nicht genutzt wird, mindestens jedoch drei Wochen vor einer Desinfektionsmittelprüfung, muss die Anlage mit einem geringen Volumenstrom Trinkwasser durchströmt werden.

Die Dosierung des Testwassers erfolgt drucklos in einer Übergabestation aus welcher das Wasser in die Anlage gepumpt wird. In der Übergabestation sind die Messung der physikochemischen Parameter pH-Wert, Leitfähigkeit und Redoxspannung und Temperatur durchzuführen, so dass eine Charakterisierung des Testwassers im Zulauf möglich ist. Weiterhin sind Messungen von Druck und Gesamtdurchfluss im Prüfstand vorzunehmen. Der Druck in der Anlage darf nicht unter 2 bar liegen und sollte 3 bar betragen.

Die Dosierung mikrobiologischer Testorganismen erfolgt direkt im Ansatz der Rohrstrecke der Übergabestation über eine Schlauchpumpe. Das eigentliche Desinfektionsmittel wird direkt in die Rohranlage dosiert. Es muss eine schnelle und vollständige Einmischung stattfinden. Vor der Dosierung wird am Probenahmehahn „0“ die Konzentration der Testorganismen ohne Desinfektionsmittel bestimmt. Am Hahn Null ist eine Konzentration an Testorganismen von 10^4 - 10^6 KBE oder pfu je 100 ml einzustellen.

Im Ablauf der Messstrecke sind ebenfalls die physikochemischen Parameter pH-Wert, Redoxspannung, Leitfähigkeit und Temperatur des Testwassers zu erfassen.

Die im Zu- und Ablauf bestimmten physikochemischen Parameter (s.o.) werden kontinuierlich „online“ aufgezeichnet (z.B. Memograph).

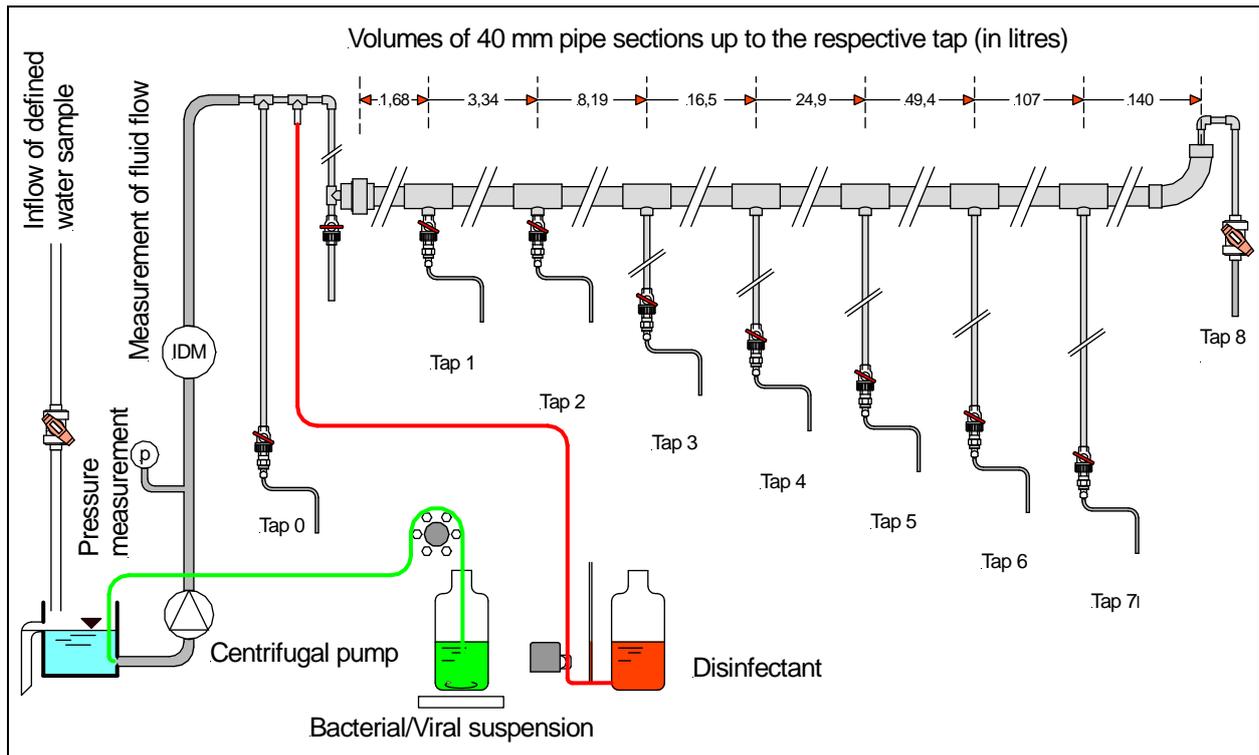


Abbildung 1) Beispiel für eine Desinfektionsmittelprüfanlage (schematische Übersicht). Für die in dieser Vorschrift geforderte Wirksamkeitsuntersuchung (Kapitel 4) werden nur Hahn 0, Hahn 1 und zwei weitere Hähne benötigt, die die vorgeschriebenen Kontaktzeiten einhalten (5.5.1c).

1.1 Weitere technische Anforderungen

- Das Verhältnis aus Rohroberfläche (innen) und Rohrvolumen muss zwischen 0,55 und 0,65 liegen.
- Eine Fließgeschwindigkeit muss zwischen 0,016 m/s und 0,097 m/s eingestellt werden
- Im Vorratsbehälter der Keimsuspension muss die Konzentration der Bakteriophagen ($1 \times 10^9 - 1 \times 10^{11}$) pfu /100 ml und der Bakterien ($1 \times 10^8 - 5 \times 10^9$) KBE/ 100 ml liegen. Die Testorganismen werden in einem Verhältnis 1:1000 dem Testwasser zugeführt, so dass in der Anlage (Hahn 0) die Konzentration ($1 \times 10^5 - 5 \times 10^6$) KBE/ 100 ml bzw. ($1 \times 10^6 - 1 \times 10^8$) pfu /100 ml beträgt.
- Die Testorganismen werden in einem Verhältnis 1:1000 dem Testwasser zugeführt, so dass in der Anlage (Hahn 0) die Konzentration zwischen 5×10^4 und 1×10^7 bzw. pfu /100 ml liegen.
- Vor der ersten Durchführung einer Desinfektionsmittelprüfung muss untersucht werden, dass die Testorganismen innerhalb der Anlage nicht reduziert werden. Dazu werden von allen Hähnen Proben genommen und auf die Testorganismen untersucht.
- Das Probenvolumen muss mindestens 50 ml betragen und sollte innerhalb von 20 - 40 s entnommen werden können.
- Der anliegende Wasserdruck innerhalb der Anlage muss zwischen 2 und 5 bar betragen.

Anhang B: Ermittlung der Kontaktzeit zwischen Organismen / Viren und Desinfektionsmittel

1 Bestimmung der Aufenthaltszeit

Zur Beurteilung der Wirksamkeit eines Desinfektionsmittels ist die Aufenthaltszeit / Kontaktzeit ein entscheidender Parameter.

Im Vorfeld der eigentlichen mikrobiologischen Tests muss daher ein Verfahren entwickelt werden, mit welchem eine Bestimmung der jeweiligen Aufenthaltszeit am entsprechenden Probenahmeort möglich ist.

Die Bestimmung der Aufenthaltszeit erfolgt in zwei voneinander unterschiedlichen Verfahren, die sich ergänzen. Zum einen wird sie anhand der Durchflüsse und den Rohrdurchmessern berechnet, zum anderen wird sie experimentell durch Tracerversuche bestimmt.

Die Prüfung auf Übereinstimmung beider Verfahren anhand eines geeigneten Vergleichskriteriums, sowie die Erprobung einer Möglichkeit zur schnellen und möglichst einfachen Bestimmung der Aufenthaltszeit an jedem Probenahmeort ist für den experimentellen Ablauf nötig.

2 Theoretische Berechnung der Kontaktzeit:

Für die theoretische Berechnung der Kontaktzeit in der Prüfanlage werden die einzelnen Rohrabschnitte vermessen. Zusammen mit einem vorgegebenen Durchfluss (der sich an dem vorliegenden Prüfverfahren orientiert) wurde die Kontaktzeit $t_{K,ber}$ nach Formel (1) berechnet. Diese Formel (1) basiert auf der indirekten Proportionalität zwischen Kontaktzeit und Durchfluss. Eine Verringerung des Durchflusses führt demnach zu einer längeren Kontaktzeit und umgekehrt. Damit ist es möglich, durch Veränderung der Durchflüsse gezielt die Kontaktzeit einzustellen.

$$t_{K,ber} = \sum t_x + t_y + t_z = \sum \left(\frac{(r_x^2 \cdot \pi) \cdot l_x}{Q_x} \right) + \frac{(r_y^2 \cdot \pi) \cdot l_y}{Q_y} + \frac{(r_z^2 \cdot \pi) \cdot l_z}{Q_z} \quad (1)$$

$t_{K,ber}$: Kontaktzeit berechnet [min]

t_x : Kontaktzeit in Teststrecke [min]

t_y : Kontaktzeit in Teilstrecke zwischen Teststrecke und Probenhahn [min]

t_z : Kontaktzeit im Probenhahn [min]

r : Innenradius der Rohre [m]

l : Länge der Teilstrecke [m]

Q : Volumenstrom [l/h]; mit $Q_y = Q_z$

3 Experimentelle Bestimmung der Aufenthaltszeit (Tracerversuche)

Zur Bestimmung der Aufenthaltszeit mittels Tracerversuche wird eine Salzlösung (NaCl) impulsartig in die Prüfanlage eingebracht und die jeweiligen Leitfähigkeitsänderungen an den Probenahmeorten im Durchfluss gemessen. Für eine statistische Auswertung der Ergebnisse sind pro Probenahmeort (Hahn 1 bis Hahn 3) jeweils mindestens 10 Salzdosierungen erforderlich. Der Gesamtdurchfluss vor Eintritt in die Teststrecke ist den Bedingungen im

Prüfverfahren anzupassen. Die Einzeldurchflüsse aller Hähne sind zwischen 5 L/h und 15 L/h zu wählen.

Ein Vergleich zwischen theoretischer Aufenthaltszeit und gemessener Aufenthaltszeit (Tracerversuche) ermöglicht eine robuste Berechnung der tatsächlichen Kontaktzeiten. Um aussagekräftige Vergleichskriterien zu erhalten werden hierzu die aufgezeichneten Tracerkurven auf die Zeitwerte des Maximums der Leitfähigkeit, sowie des 50%-igen Durchsatzes (50. Perzentil) bestimmt.

3.1 Versuchsaufbau

Die Dosierung der Salzlösung erfolgt mithilfe einer Membranpumpe aus einem Vorratsbehälter. Zur impulsartigen Dosierung dient ein Magnetventil mit elektrischer Pulsansteuerung. Über ein Regelsystem können die zeitlichen Abstände, sowie die Länge der Magnetventilöffnung stufenlos eingestellt werden (

Abbildung 2).

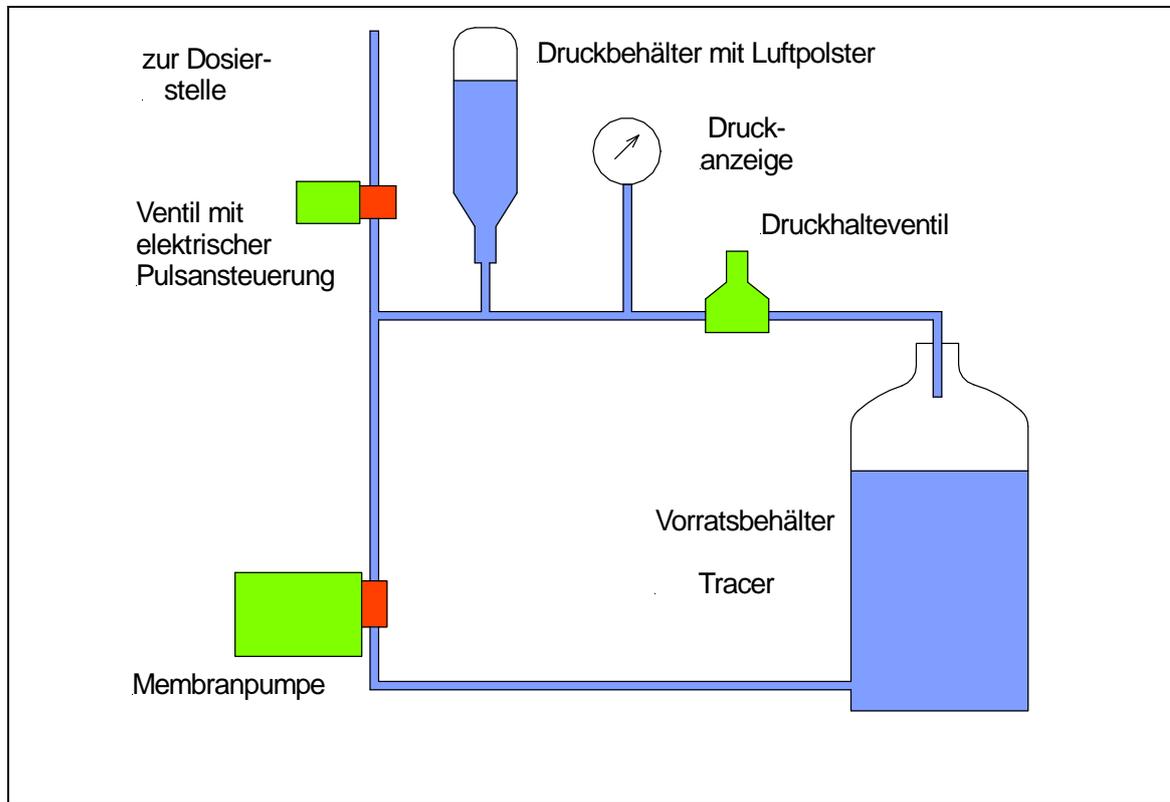
Damit die komplette Leitfähigkeitskurve erfasst werden kann, müssen demnach die Zeitintervalle, bei Zunahme der Aufenthaltszeit von Hahn zu Hahn, bis zur nächsten Dosierung verlängert werden.

Um auch bei Hähnen mit längerer Aufenthaltszeit auswertbare Messsignale zu erhalten, werden die Zeitspannen der Magnetventilöffnungen erhöht.

Tabelle 1) Längen und Intervalle der elektrischen Pulsansteuerung des Magnetventils

Messstelle	Länge Impulssignal [s]	Impulsintervall [min]
Hahn 1	0,02	0,5
Hahn 2	0,2	10
Hahn 3	1,0	25

Abbildung 2) Beispiel für Versuchsaufbau zur Dosierung des Tracers in die Teststrecke:



3.1.1 Messung und Datenaufzeichnung

Nachdem die Salzlösung gemäß

Abbildung 2 in die Testanlage dosiert wurde, können die jeweiligen Leitfähigkeiten am gewählten Probenahmeort gemessen werden.

Die Änderung der Leitfähigkeit wird mit zwei Elektroden gemessen. Die Erfassung der Messsignale erfolgte mithilfe eines Messumformers. Pro Sekunde ist ein Wert für die Leitfähigkeit aufzuzeichnen (Abbildung 3).

Die aufgezeichneten Messsignale werden nicht kalibriert, da zur Bestimmung der Zeiten der jeweiligen Vergleichsparameter (Maximum, 50. Perzentil) nur die jeweiligen Leitfähigkeitsänderungen in Bezug auf ein Grundsignal ausgewertet werden und im Ergebnis nur die jeweiligen Zeitwerte nötig werden.

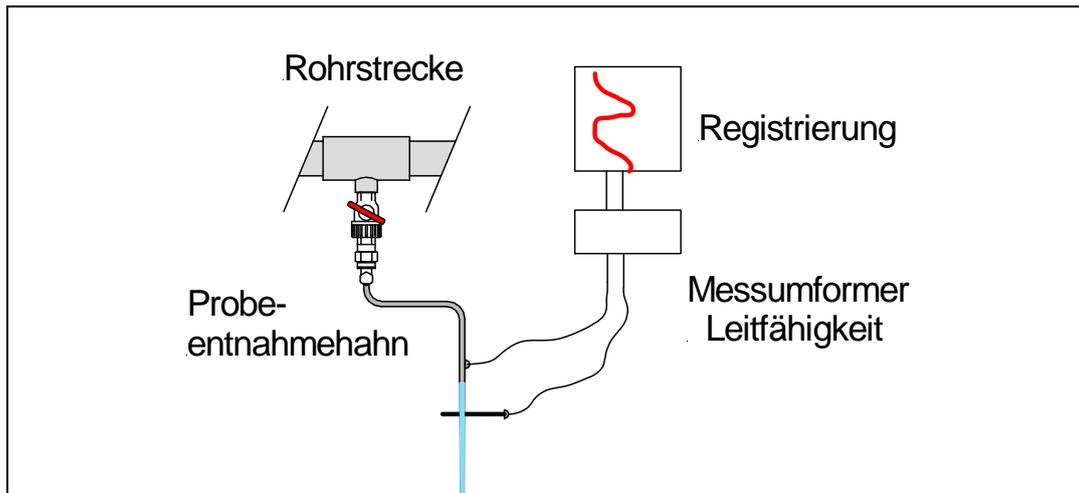


Abbildung 3) Aufbau der Messung und Datenaufzeichnung

3.1.2 Datenauswertung und Visualisierung

Zur grafischen Veranschaulichung werden die aufgezeichneten Leitfähigkeitswerte über der Zeit abgetragen. Als Startzeit wird der Zeitpunkt der Dosierung des Tracers in die Teststrecke gewählt. Im Diagramm ergibt sich eine Verteilungskurve der Leitfähigkeiten (Abbildung 4).

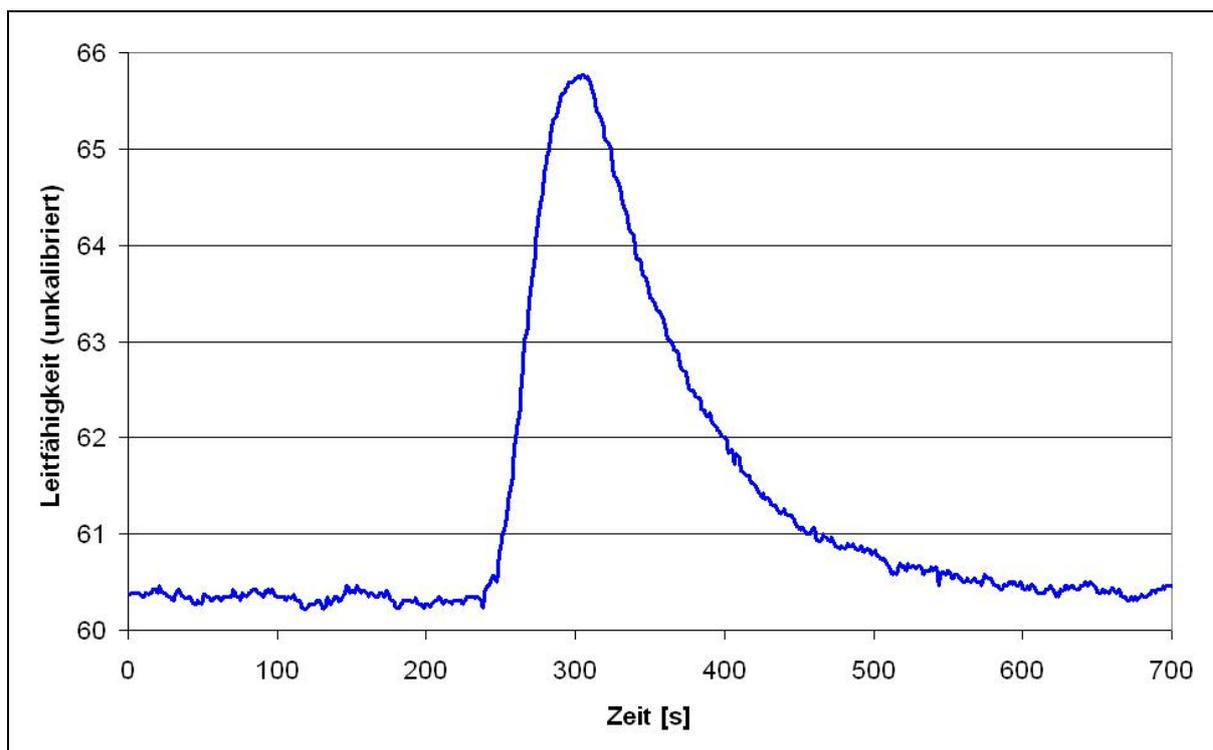


Abbildung 4) Beispiel: Grafische Auswertung Tracerversuche

Diese Kurve weist, in Abhängigkeit von den jeweiligen Probenahmehähen, ein charakteristisches Maximum der Leitfähigkeit auf, welchem aus den Rohdaten ein genauer Zeitwert zugeordnet werden kann.

Zur weiteren Auswertung dieser Leitfähigkeitsänderungskurve muss zunächst die Nulllinie, d.h. das Grundsignal der Leitfähigkeit erfasst werden. Hierzu wird ein Mittelwert aus den Leitfähigkeiten vor dem Beginn des Peaks gebildet.

Nun konnten mithilfe einer Differenzbildung die Abweichungen der gemessenen Leitfähigkeit von diesem Grundsignal bestimmt werden.
Alle Abweichungen addiert ergaben die Fläche des gesamten Peaks.
Halbiert man diesen Flächenwert, so erhält man denjenigen Wert, an dem 50% der Salzlösung durchgesetzt wurden (50. Perzentil). Diesem Wert konnte aus den Rohdaten ebenfalls ein Zeitwert zugeordnet werden.
Die nachfolgende Abbildung vermittelt ein Bild von den beiden zum Vergleich herangezogenen Parametern.

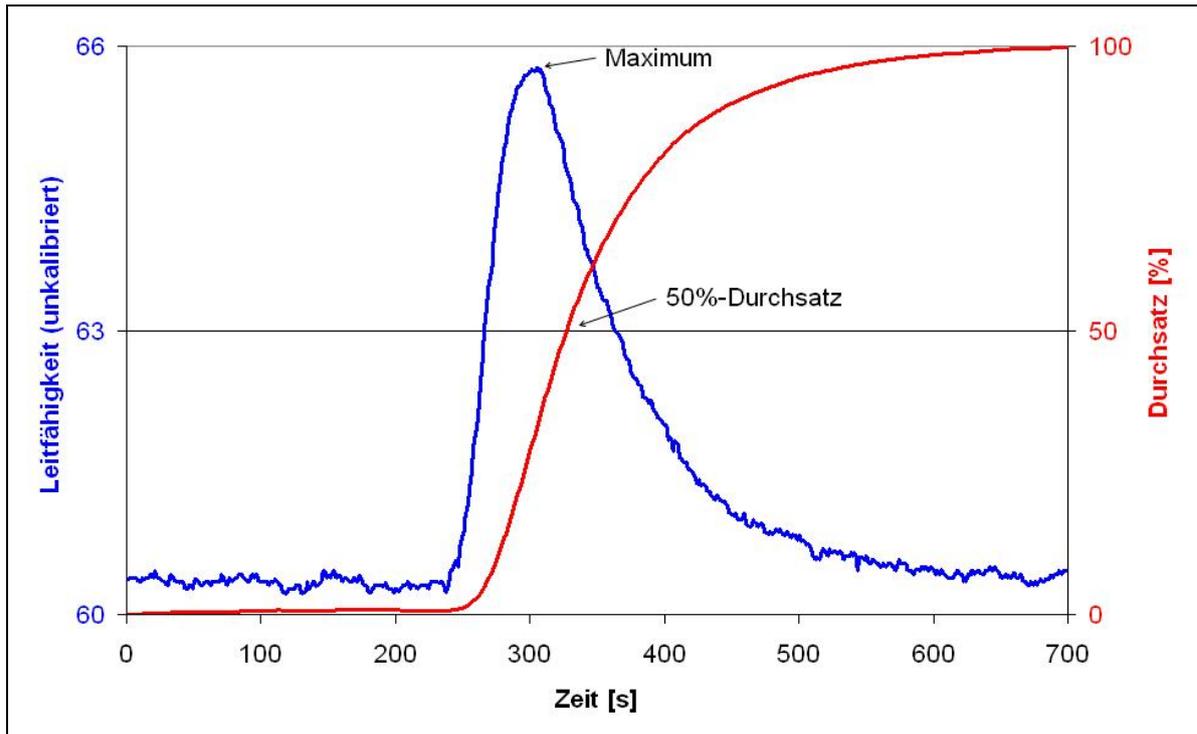


Abbildung 5) Beispiel: Grafische Auswertung Tracerversuche. Blaue Kurve: Leitfähigkeitsänderungen mit Maximum (linke Achse); Rote Kurve: Summenkurve mit 50. Perzentil (rechte Achse)

Um die jeweiligen Leitfähigkeitsänderungen, vor allem in Hinblick auf den Wert des 50. Perzentils auch bei langen Aufenthaltszeiten aussagekräftig auswerten zu können, wird eine Trendlinie in das Diagramm eingefügt (Abbildung 6, rote Linie). Damit kann über eine Geradengleichung mit negativem Anstieg für jeden Zeitpunkt ein individueller Wert der Leitfähigkeit ermittelt werden. Die Geradengleichung dient praktisch als Normierung.
Anschließend wird nach dem oben beschriebenen Verfahren der Zeitwert des 50. Perzentils bestimmt.

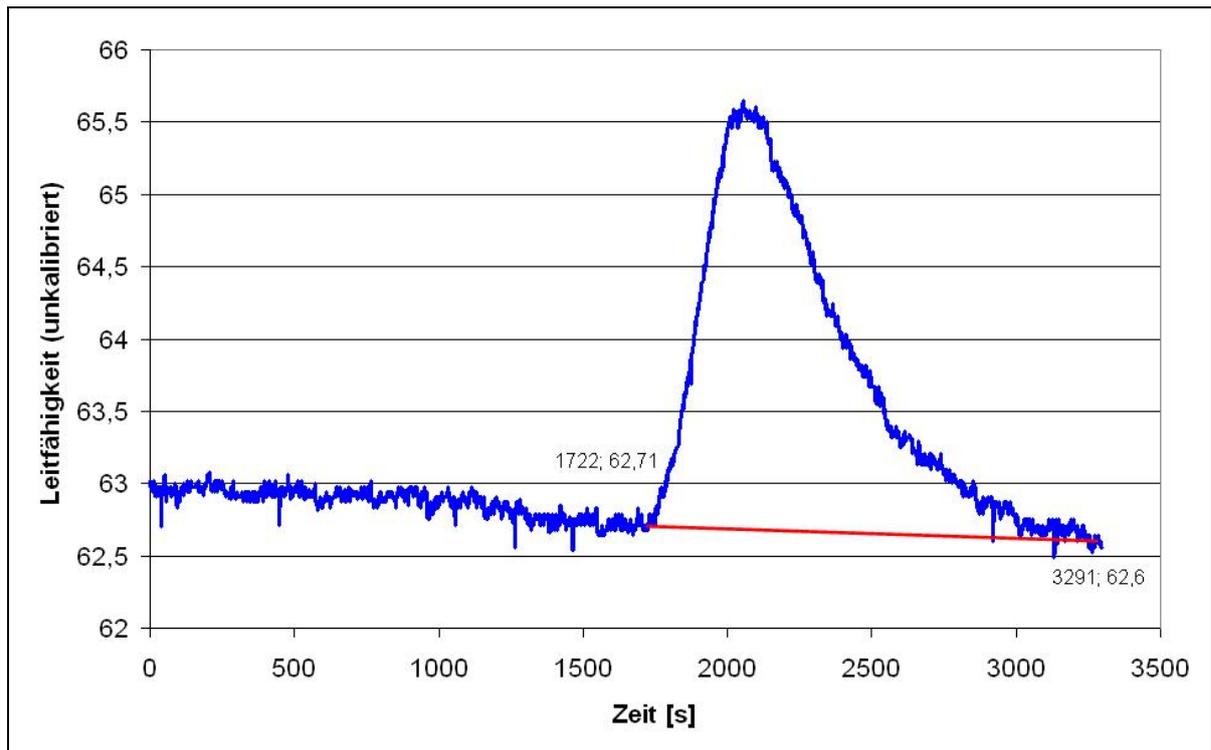


Abbildung 6) Beispiel: Grafische Auswertung Tracerversuche

Da jeder Peak einzeln ausgewertet werden muss und für jeden Hahn mindestens 10 Salzdosierungen vorgenommen werden, wird der Mittelwert aller an einem Hahn und für einen Parameter berechneten Zeitwerte gebildet. Um gute Vergleiche zwischen den Vergleichsparametern ziehen zu können, sind die jeweiligen Standardabweichungen immer zusätzlich anzugeben.

3.2 Vergleich der Methoden zur Bestimmung der Aufenthaltszeit

3.2.1 Messergebnisse

Die verschiedenen Ergebnisse für die berechneten ($t_{\text{berechnet}}$) und durch die Tracerversuche experimentell gemessenen (t_{gemessen}) Aufenthaltszeiten sind für die Vergleichsparameter des Maximums und des 50. Perzentils des Tracers in (Tabelle 2) dargestellt. Die Standardabweichungen (s) ergaben sich für die gemessenen Zeitwerte aus den jeweils 10 bis 15 vorgenommen Salzdosierungen pro Hahn.

Tabelle 2) Beispiel: Ergebnisse der Tracerversuche für die beiden Vergleichsparameter

Messstelle	Durchfluss [l/h]	$t_{\text{berechnet}}$ [min]	Maximum		50. Perzentil	
			t_{gemessen} [min]	s [s]	t_{gemessen} [min]	s [s]
Hahn 1	400	0,5	0,488	29,3	0,62	37,5

Hahn 2	400	10,0	10,00	600,5	10,58	634,9
Hahn 3	400	25,0	24,97	1498,3	26,17	1570,7

3.2.2 Interpretation und Korrekturfaktoren

Um für die Prüfanlage verlässliche Aussagen über die tatsächlichen Aufenthaltszeiten treffen zu können, ohne aufwändige Tracerversuche vor jedem Experiment wiederholen zu müssen, wird für jede Probenahmestelle ein Korrekturfaktor k eingeführt (Formel 2), welcher multipliziert mit der anhand der Durchflüsse berechneten Aufenthaltszeit die reale Aufenthaltszeit (t_{real}) entspricht (Tabelle 3).

$$k = \frac{t_{\text{gemessen}}}{t_{\text{berechnet}}} \quad (2)$$

Die Korrekturfaktoren für das 50. Perzentil, als diejenigen Faktoren angenommen, welche multipliziert mit der theoretisch berechneten Aufenthaltszeit die reale Aufenthaltszeit für jeden Probenahmehahn am besten wiedergeben.

Tabelle 3) Beispiel: Berechnung der realen Aufenthaltszeit für jeden Probenahmehahn

Messstelle	Ermittlung der realen Aufenthaltszeit
Hahn 1	$t_{\text{real,Hahn1}} = 1,118 \cdot t_{\text{berechnet,Hahn1}}$
Hahn 2	$t_{\text{real,Hahn2}} = 1,176 \cdot t_{\text{berechnet,Hahn2}}$
Hahn 3	$t_{\text{real,Hahn3}} = 0,852 \cdot t_{\text{berechnet,Hahn3}}$

Zur Beurteilung der Wirksamkeit an der Prüfanlage ist die Kontaktzeit als Parameter nötig. Im Vorfeld der eigentlichen Prüfung muss daher für jede zu untersuchende Anlage eine Kontaktzeitbestimmung vorgenommen werden. Da während der Wirksamkeitsprüfung keine direkte Kontaktzeitbestimmung möglich ist, musste diese rechnerisch ermittelt werden. Da die berechnete Kontaktzeit einen schwer kalkulierbaren Fehler beinhaltet, wird ein Korrekturfaktor eingeführt. Dazu werden die Kontaktzeiten in zwei voneinander unabhängigen Verfahren ermittelt. Zum einen wird anhand der Durchflüsse und der Rohrdurchmesser ein theoretischer (rechnerischer Wert) ermittelt, zum anderen wird die Kontaktzeit experimentell durch Tracerversuche bestimmt. Durch den Vergleich beider Verfahren werden die Korrekturfaktoren ermittelt, um eine schnelle und einfache Bestimmung der Aufenthaltszeiten zu ermöglichen. Schließlich kann während eines Versuchs, nachdem der Durchfluss an jedem Hahn gemessen wurde, anhand der im Kapitel 2 beschriebenen Methode die Kontaktzeit an jedem Hahn schnell berechnet werden.

Anhang C: Eignungskriterien für Desinfektionsmittel im Trinkwasser

Neben der Wirksamkeit müssen Desinfektionsmittel in der Trinkwasseraufbereitung weitere Eigenschaften erfüllen. Diese Eignungskriterien dienen der Betriebssicherheit und schaffen Grundlagen für die Durchführbarkeit der Wirksamkeitsprüfung.

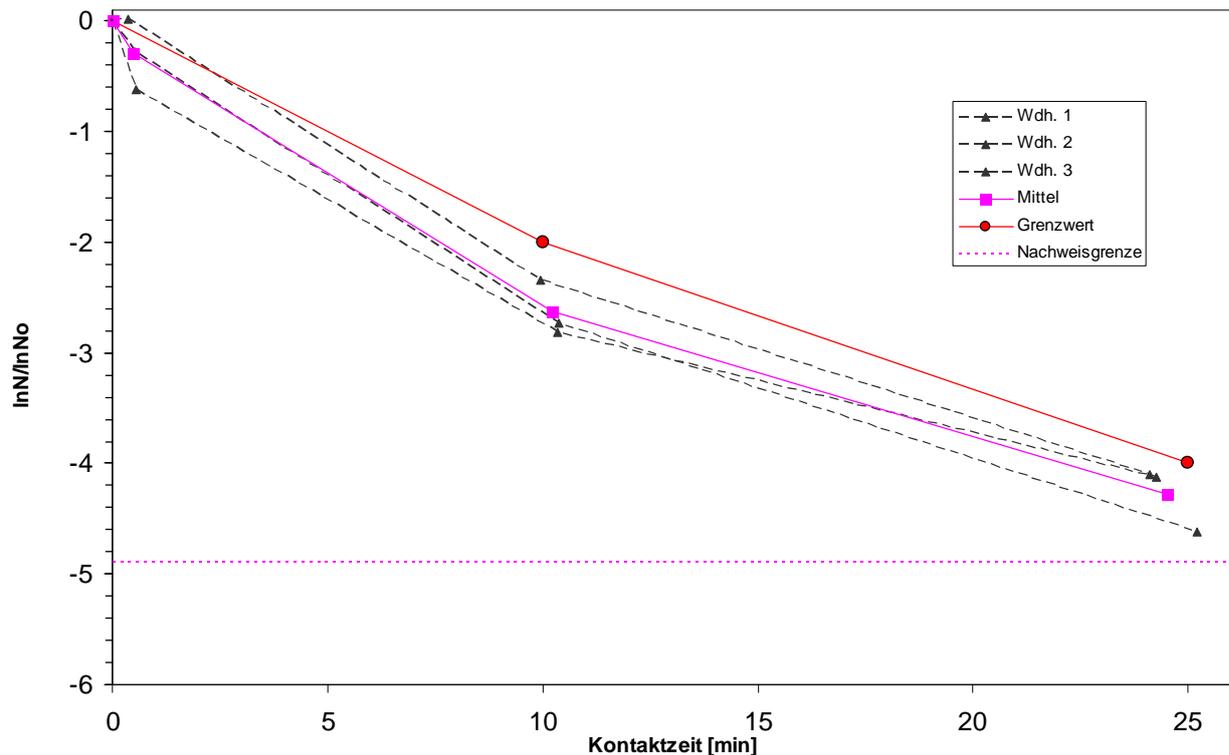
- a) Inhibierbarkeit
- b) Vorort-Messbarkeit
- c) Keine C-Quelle
- d) toxisch relevante Desinfektionsnebenprodukte müssen bekannt sein
- e) Einfache Dosierbarkeit
- f) Stabile Wirksamkeit
- g) Stabile Dosierlösung

Anhang D: Verwendung von Natriumthiosulfat zur Inhibition von oxidativen Chlorverbindungen

Bei einem Probenvolumen von 50 ml werden 40 µl der 10 %igen Natriumthiosulfatlösung in die Röhrcchen vorgelegt. Dadurch erhält man eine Endkonzentration von ca. 0,08 bzw. 0,15 mg/l Natriumthiosulfat.

Analog zu einem Probenvolumen von 50 ml werden bei 1 L Probenvolumen 300 µl einer 50 %igen Natriumthiosulfatlösung in das Probenahmegefäß vorgelegt.

Anhang E: Exemplarische Darstellung der Ergebnisse



Die Abbildung zeigt einen typischen Verlauf eines Wirkstoffes oder Produktes das im Prüfverfahren die minimale Wirksamkeit für einen der vier Referenzorganismen erreicht (Kapitel 4). Die vorgeschriebenen Kontaktzeiten werden eingehalten. Die erzielte Reduktion liegt unterhalb der vorgeschriebenen 2 bzw. 4 Log-Stufen. Die ersten Messwerte nach ca. 30 s sind Validierungsmesswerte (Kapitel 5.7.1).