

Untersuchung der bioziden Wirkung von Monera Blue® auf Biofilme

LAGOTEC GmbH  
Niels-Bohr-Strasse 43  
39106 Magdeburg

## **Untersuchung der bioziden Wirkung von Monera Blue® auf Biofilme**

### **1. Zielsetzung**

In einem Parallelversuch wird die Wirksamkeit von Monera Blue® zur Abreinigung von Biofilm im Vergleich zu einer Nicht-Behandlung untersucht. Der Einsatz des Biozides erfolgt unter realitätsnahen Bedingungen (Trinkwasser) mit kontinuierlicher Dosierung einer täglich frisch präparierten Biozid-Lösung. Um repräsentative Aussagen über die biozide Wirkung von Monera Blue® zu treffen, ist der Biofilm aus einem breitem Spektrum an Mikroorganismen zu kultivieren.

## 2. Biofilmentwicklung

Die Bildung eines Biofilms erfolgt gewöhnlich wie in Abb.1 dargestellt. Bakterien, Pilzsporen, Algen und andere Mikroorganismen, welche durch die Umgebungsluft bzw. durch Roh- oder Hilfsstoffe eingetragen werden, etablieren sich zunächst vereinzelt auf der Oberfläche von Rohrsystemen. Nach der langsam anfänglichen Induktionsphase (Phase 1), folgt ein exponentielles Wachstum des Biofilms (Phase 2), in der sich Mikroorganismen stark vermehren. In der nachfolgenden stationären Phase (Phase 3) etabliert sich ein Gleichgewicht, das durch Abriss und Wiederaufwachsen von Biofilm gekennzeichnet ist. Äußere Faktoren, wie die Änderung der Strömungsbedingungen, mechanische Reinigung bzw. der Einsatz von Bioziden haben einen großen Einfluss in dieser Phase.

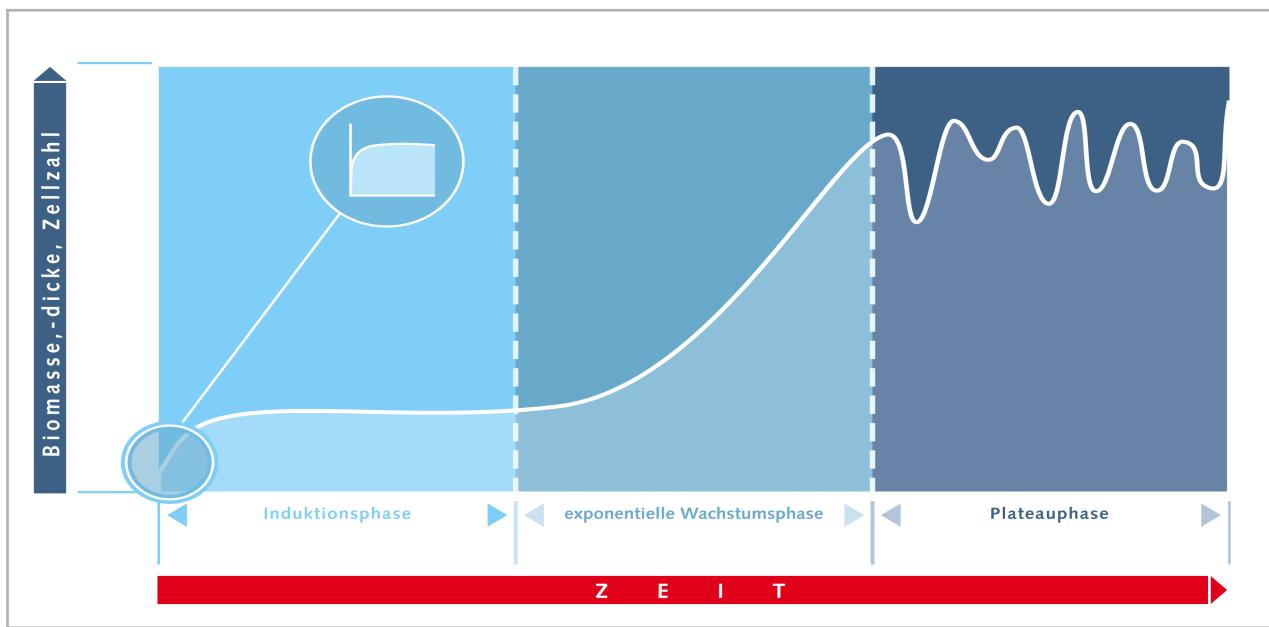


Abbildung 1: Zeitliche Entwicklung von Biofilmen

## 3. Methodik

Zur Bestimmung der Wirksamkeit von Monera Blue® zur Abreinigung von Biofilmen wurde ein Parallelversuch aus zwei identischen Rohreaktoren aufgebaut. Die Rohreaktoren wurden mit einer Mischkultur aus Belebtschlamm (Kläranlage Gerwisch) inkuliert und unter Zusatz einer definierten Nährlösung bis zur Bildung eines Biofilms unter gleichen Bedingungen inkubiert.

Nach einer 1-wöchigen Kultivierung und Erreichen der stationären Phase erfolgte der Versuchsbeginn zur Bestimmung der Wirksamkeit von Monera Blue®.

Hierzu wurde täglich eine 1 % Monera Blue®-Lösung frisch in Trinkwasser angesetzt und kontinuierlich mit einer Dosierleistung von 7 l/Tag in Reaktor 1 eingebracht. Als Referenz wurde parallel in Reaktor 2 Trinkwasser ohne Zusatz an Bioziden mit einer Dosierleistung von 7 l/Tag eingebracht.

Das Biofilmwachstum wurde während des gesamten Versuchsablaufs unter Verwendung von DEPOSENS®3-Sensoren messtechnisch überwacht und aufgezeichnet. Während der Untersuchungsphase wurde der Biofilm zusätzlich photographisch dokumentiert, sowie die Konzentration an freiem Chlor im jeweiligen Rohrreaktor ermittelt.

### 3.1 Versuchsaufbau und Kultivierung

Rohrreaktoren (Abb.2) eignen sich ideal zur Simulation von Biofilmen in Rohrsystemen. Durch diesen Versuchsaufbau können definierte Bedingungen für kritische Parameter wie Strömungsgeschwindigkeit, Sauerstoffgehalt, Temperatur, Nährstoffkonzentration eingestellt und über einen langen Zeitraum konstant gehalten werden.

Das Reaktorvolumen in diesem Versuchsaufbau betrug 1,6 l ( $V = 1,6$  l). Im Rohreaktor wurden DEPOSENS®-3-Sensoren und Glasrohrsegmente mit einem Durchmesser von 1 Zoll ( $d = 2,54$  cm) verwendet.

Während der Induktionsphase betrug die Austauschrate an Flüssigkeit 10 l pro Tag (10 l/d). Der Durchfluss ( $Q$ ) im Rohrreaktor wurde auf 600 l pro Stunde ( $Q = 600$  l/h) eingestellt, was einer turbulenten Strömung mit einer Reynoldszahl von 8355 ( $Re = 8355$ ) entspricht. Die Temperatur im Versuchsreaktor wurde mittels Thermostaten konstant bei 25°C gehalten.

Die Nährstoffversorgung während der Kultivierungsphase des Biofilms wurde mit einer Substratbelastung für Glucose ( $B_{A,Glucose}$ ) von 5 g pro  $m^2$  Aufwuchsfläche und Tag ( $B_{A,Glucose} = 5$  g/ $m^2 \times d$ ) sichergestellt. Zusätzlich erfolgte die Einspeisung einer gepufferten 5 %o Kaliumphosphat-Lösung ( $KH_xPO_4$ , pH 7) unter Zusatz einer definierten Lösung an Spurenelemente ( $H_3BO_3$ ,  $CoSO_4 \times 7 H_2O$ ,  $CuCl$ ,  $MnSO_4 \times H_2O$ ,  $MoNa_2O_4 \times 2 H_2O$ ,  $NiCl \times 6 H_2O$ ,  $ZnSO_4 \times 7 H_2O$ )

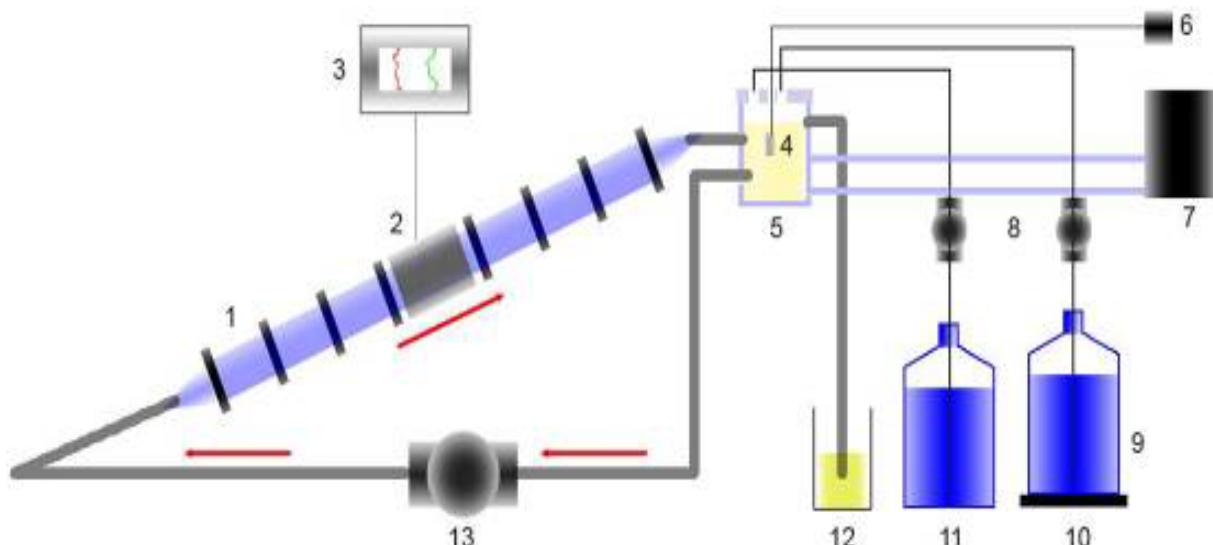


Abbildung 2: Schematischer Aufbau eines Versuchsrohreaktors

- |                         |                                |
|-------------------------|--------------------------------|
| 1- Rohrreaktor, Glas    | 8- Schlauchpumpen              |
| 2- DEPOSENS®-Sensor     | 9- Vorratsgefäß mit Nährlösung |
| 3- DEPOSENS®-Controller | 10- Rührer                     |
| 4- Belüftung            | 11- Vorratsgefäß mit Puffer    |
| 5- Mischgefäß           | 12- Überlauf                   |
| 6- Belüfterpumpe        | 13- Zahnradpumpe               |
| 7- Thermostat           |                                |

Nach Abschluss der Biofilmkultivierung wurde die Zugabe der Lösungen für Nährstoffe, Puffer- bzw. Spurenelementlösungen sowie die aktive Belüftung eingestellt. Anschließend wurde am Tag 07 die Austauschrate auf 7 l/d gesenkt, wobei in Reaktor 01 Trinkwasser mit Monera Blue® (1% Lösung) und in Reaktor 02 nur Trinkwasser dosiert wurde. Die 1% Monera Blue®-Lösung wurde volumetrisch durch Zugabe von 100 ml Monera Blue® in 9,9 l Trinkwasser erstellt.

### 3.2 Messmethoden

Die Konzentration an Freiem Chlor wurde spektrometrisch mittels einer auf DPD-basierenden Nachweisreaktion ermittelt. Dazu wurde täglich 10 ml der jeweiligen Probe pipettiert, und die Konzentration entsprechend der Handlungsanweisungen ermittelt. Während der Untersuchungsphase wurden Reaktoren 1 (R01) und Reaktoren 2 (R02), sowie die jeweiligen Vorlagebehälter (R01, R02) beprobt.

## 4. Ergebnisse und Diskussion

Bei der Kultivierung zeigten sich zwischen beiden Reaktoren in der anfänglichen Kultivierungsphase (Tag 0 – 05) leichte Unterschiede im Verlauf der exponentiellen Wachstumsphase des Biofilms. Dabei wurde die stabile Plateauphase des Biofilms in Reaktor 01 bereits an Tag 04 erreicht, in Reaktor 02 jedoch erst am Tag 05. Des weiteren wurden geringfügige Unterschiede in der Dicke der etablierten Biofilme bei beiden Reaktoren festgestellt. Hier wurde für R01 eine Dicke von 65 Belagspunkten und für R02 eine Dicke von 55 Belagspunkten ermittelt.

Da in beiden Reaktoren sich ein stabiler Biofilm mit vergleichbarer Dicke etabliert hatte, wurde am Tag 07 mit der Dosierung einer 1% Monera Blue®-Lösung in Reaktor 01 begonnen. Die Konzentration der eingespeisten Monera Blue®-Lösung erwies sich als stabil über den Zeitraum des Versuchsverlaufs mit einer Konzentration an Freiem Chlor von  $c = 4,05 \pm 0,08 \text{ mg/l}$  (siehe Diagramm 3).

Anfänglich (Tag 07-12) konnte keine Veränderung in der Dicke des jeweiligen Biofilms oder der vorhandenen Konzentration an Freiem Chlor in den Versuchsreaktoren festgestellt werden. Beginnend am Tag 12 wurde in R01 eine minimale Abnahme, und in R02 eine leichte Zunahme des Biofilms festgestellt (siehe Diagramm 1 und 2). Am Tag 14 war erstmals Freies Chlor messtechnisch in Spuren in Reaktor 01 feststellbar ( $c = 0,02 \text{ mg/l}$ ). Die Dicke des Biofilms zeigte kontinuierlich minimale Abnahme bis zum 1sten Abrissereignis von Biofilm am Tag 18 (Diagramm 1, R01). Diese Beobachtung wurde durch die ebenfalls minimale Zunahme an Freiem Chlor in Reaktor 01 in der Zeit Tag 14-18 unterstützt (Diagramm 2, R01). Nach dem 1sten Abrissereignis wurde ein stufenartiger signifikanter Anstieg in der Konzentration an Freiem Chlor (R01) beobachtet, der mit der stark abnehmenden Dicke des Biofilms (R01) korreliert. So konnten in Folge mehrere unabhängige Abrissereignisse durch DEPOSENS®3 identifiziert werden, bis am Tag 22 kein Biofilm messtechnisch feststellbar war (Diagramm 1, R01). Dieses Ergebnis wurde durch ein rapides Ansteigen der Konzentration an Freiem Chlor (R01) begleitet, was mit der nicht vorhandene Zehrung des Biozides Monera Blue® erklärt werden kann. Die Abnahme des Biofilms war auch optisch eindeutig feststellbar (Tabelle 1, d20,22,24) und zeigte eine komplette Auflösung des Biofilms (Tabelle 1, d24). Im Vergleich wurde in der Behandlung ohne Biozidzusatz keine Abnahme oder Auflösung des Biofilms weder messtechnisch noch optisch beobachtet (Diagramm R 02; Tabelle 1, R 02).

## 5. Schlussfolgerung

Biofilme in Trinkwassersystemen sind häufig bereits etabliert und durch ihr langsames Wachstum relativ stabil. Aus diesem Grund wurden in dieser Untersuchung Biofilme unter praxisnahen Bedingungen kultiviert und erst anschließend mit einer Biozid-Lösungen behandelt.

Nach Abschluss der Untersuchung und anhand unserer Messergebnisse und Photodokumentation kann hiermit eindeutig belegt werden, das Monera Blue® eine biozide Wirkung auf Biofilme hat. Die kontinuierliche Dosierung einer 1% Monera Blue®-Lösung führte im Verlauf des Versuches innerhalb von 14 Tagen zu einer kompletten Abreinigung des kultivierten Biofilms.

Im direkten Vergleich führte eine Behandlung des Biofilms ohne Zusatz eines Biozides nicht zur Abnahme, sondern zeigte statt dessen eine langsame, aber stabile Weiterentwicklung des Biofilms.

## Untersuchung der bioziden Wirkung von Monera Blue® auf Biofilme

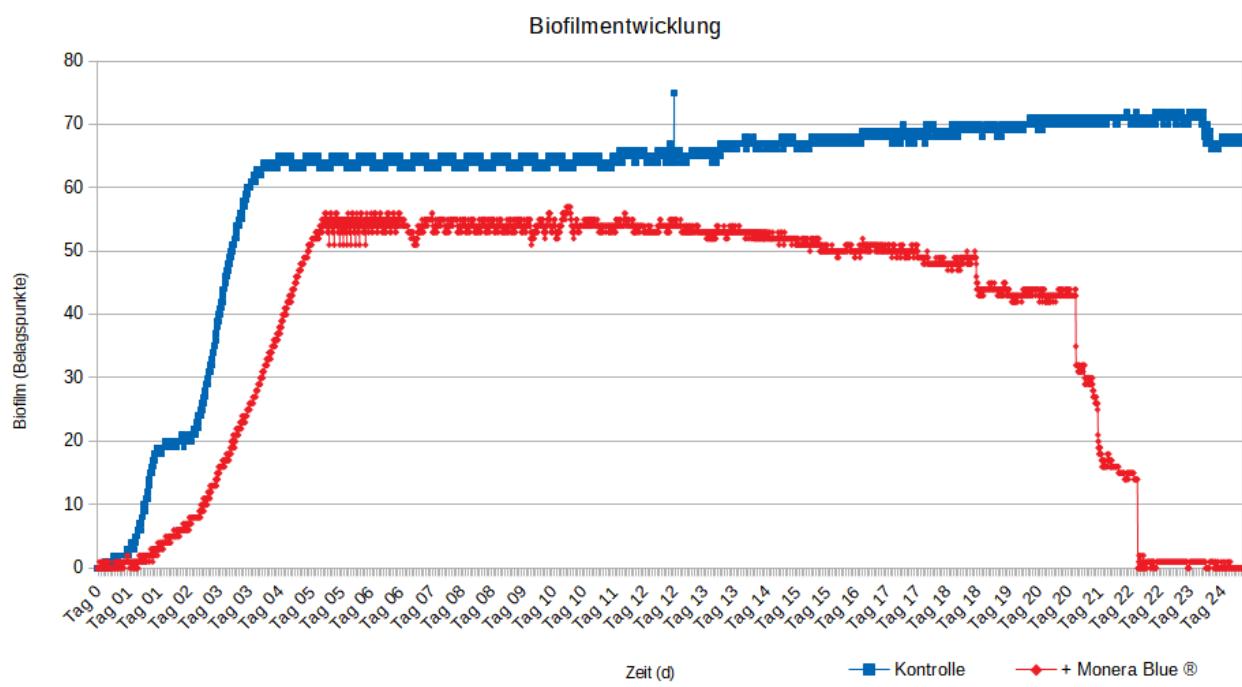


Diagramm 1: Biofilmentwicklung

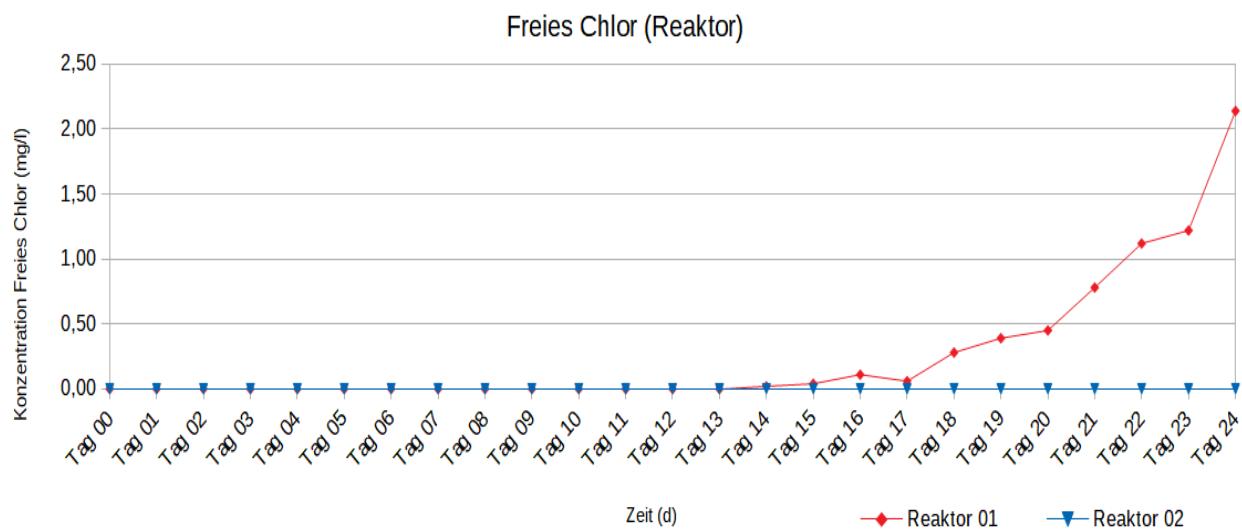


Diagramm 2: Konzentration Freies Chlor im Reaktor

## Untersuchung der bioziden Wirkung von Monera Blue® auf Biofilme

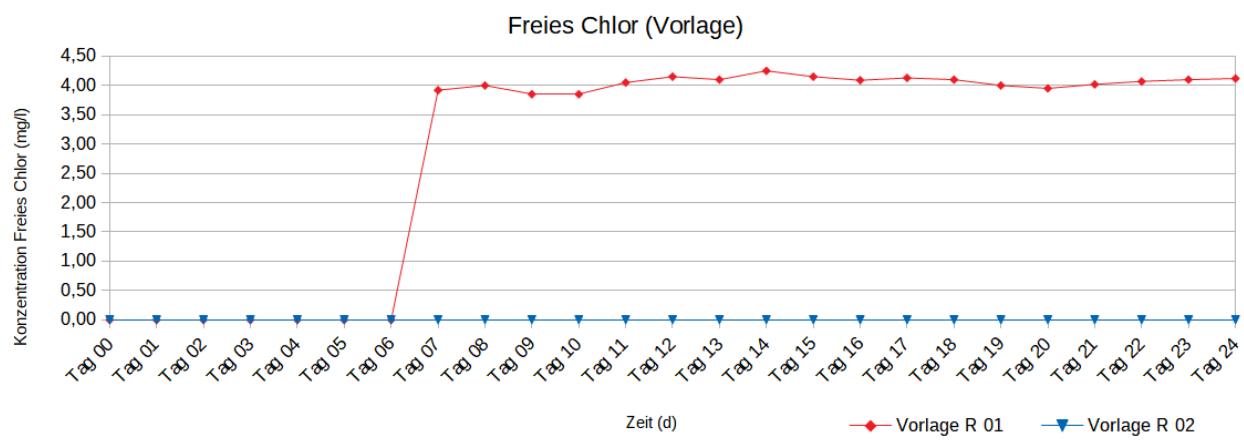


Diagramm 3: Konzentration Freies Chlor in Vorlage

Untersuchung der bioziden Wirkung von Monera Blue® auf Biofilme

Zeit (d)	Reaktor 01 + Monera Blue® (1% Lösung in Trinkwasser )	Reaktor 02 (Trinkwasser )
05		
10		
15		
20		
22		
24		