

Risultati delle indagini dell'effetto disinfettante  
dell'Anolyte prodotto dal dispositivo Enviolyte EL-900  
delle Enviolyte Industries International Ltd. di Legionella

Istituto per l'Igiene e l'ambiente  
Steinstraße 10, D-33457 Lollar, Germania  
Luglio 2001  
Dr. J. Prucha

Cliente:  
Enviolyte Industries International Ltd., Tallinn

Data dell'ordine:

Relazione Nr. G01-0480.doc  
Lollar, 12.07.2001

## Introduzione e scopo della relazione

Nell'ambito di questa perizia si vuole esaminare l'effetto disinfettante per mezzo di reattori diaframmatici all'interno dello strumento Enviolyte dell'Enviolyte Industries International Ltd. del dato Anolyte di legionella.

## Produzione dell'Anolyte neutrale

L'apparecchio ENVIOLYTE EL-900 produce Anolyte neutro. Nella serie di esperimenti la corrente è stata regolata a circa 30 ampere. Dopo un tempo di funzionamento di più di un'ora, l'Anolyte neutro è stato rimosso per ulteriori indagini.

- cloro libero: 300 mg/l
- valore di pH: 8,20
- conducibilità elettrica: 11.700  $\mu$ S/cm
- Potenziale di riduzione: 790mV

## Realizzazione degli esperimenti

Per effettuare i test abbiamo ricevuto in dotazione dal Signor van Schaik il dispositivo Enviolyte EL-900. Il materiale per la prova di produzione dell'Anolyte aveva una concentrazione di cloro libero di 300 mg/l.

L'organismo batterico utilizzato per gli esperimenti

- Legionella pneumophila

è stato fissato in un terreno di Legionella.

Mediante la diluizione della sospensione risultante con acqua del rubinetto della città di Lollar, sono state preparate le soluzioni batteriche necessarie per gli esperimenti.

Ogni volta gli esperimenti sono stati realizzati con 100 ml di acqua di rubinetto e una concentrazione batterica di 300 UFC/ml.

Per determinare quando si verifica un effetto disinfettante con l'aggiunta dell'Anolyte, sono state preparate diverse concentrazioni di cloro libero che andavano da 20 mg/l a 80 mg/l.

Poi, dopo

- 1 minuto,

- 5 minuti,
- 10 minuti,
- 30 minuti e
- 60 minuti

sono stati prelevati 10 ml di soluzione, che sono stati trattati con tiosolfato di sodio, un reagente che distrugge il cloro libero, per evitare che il cloro libero potesse rimanere efficace anche dopo il prelievo del batterio.

Ogni volta, infine, sono stati posti 0,05 ml in agar per Legionella e incubate per una settimana a 36° C.

Approccio: 2 colonie in 5 ml di terreno di Legionella, tutte le diluizioni sono state eseguite con acqua di rubinetto sterile.

### Test con soluzione Anolyte e test del batterio Legionella pneumophila

Gli esperimenti sono stati eseguiti con 100 ml di acqua di rubinetto e

- 0,1 ml di sospensione batterica stock.

Per gli approcci sperimentali sono state preparate delle concentrazioni di cloro libero nelle seguenti quantità:

- 20 mg/l
- 40 mg/l
- 60 mg/l
- 80 mg/l

Poi, dopo

- 1 minuto,
- 5 minuti,
- 10 minuti,
- 30 minuti e
- 60 minuti

sono stati prelevati 10 ml di soluzione che sono stati trattati con tiosolfato di sodio, un reagente che distrugge il cloro libero, per evitare che il cloro libero potesse rimanere efficace anche dopo il prelievo del batterio.

Ogni volta, infine, sono stati posti 0,05ml di soluzione in agar per Legionella e incubati per una settimana a 36° C.

### Risultato delle indagini

Approccio sperimentale con 0,1 ml di sospensione batterica in 100 ml di acqua di rubinetto a diverse concentrazioni di cloro

Concentrazione batterica iniziale del lotto: 300 UFC/ml = 30.000 ufc/100 ml

0,7 ml Analyte : 20 mg/l cloro libero

dopo X minuti	KBE/ml	KBE/100ml
1	> 20.000	> 2.000.000
5	> 20.000	> 2.000.000
10	> 20.000	> 2.000.000
30	> 20.000	> 2.000.000
60	> 20.000	> 2.000.000

1,3 ml Analyte : 40 mg/l cloro libero

dopo X minuti	UFC/ml	UFC/100ml
1	n.a.	n.a.
5	> 20.000	> 2.000.000
10	> 20.000	> 2.000.000
30	80	8000
60	0	0

2,0 ml Analyte : 60 mg/l cloro libero

dopo X minuti	UFC/ml	UFC/100ml
1	n.a.	n.a.
5	280	28.000
10	100	10.000
30	60	6000
60	0	0

n.a. = non dato/percepito/rilevato

2,6 ml Anolyte : 80 mg/l cloro libero

dopo X minuti	UFC/ml	UFC/100ml
1	0	0
5	0	0
10	0	0
30	0	0
60	0	0

### Valutazione

Nell'ambito di questi test, dell'Anolyte, che era stato prodotto da un dispositivo Enviolyte EL-900, è stato diluito con diverse concentrazioni di cloro da 20 a 80 mg/l.

Le soluzioni diluite di Anolyte così preparate sono state quindi inoculate con Legionella pneumophila.

Poi, a determinati intervalli di tempo da 1 a 60 minuti sono stati prelevati campioni per verificare l'effetto disinfettante delle varie concentrazioni di cloro.

La concentrazione dei batteri di Legionella pneumophila in questa serie di esperimenti è stata di 30.000 UFC/100 ml.

A questa concentrazione batterica relativamente bassa è stato osservato un effetto di riduzione del batterio solo ad una concentrazione di cloro di 40 mg/l, e tempo di reazione di 30 min.

Con l'aumentare della concentrazione di cloro e l'aumentare della durata della sperimentazione, la concentrazione batterica iniziale può essere tanto ridotta che a una concentrazione di cloro di 80 mg/l non erano rilevabili batteri.

Dr. J. Prucha

Dr. W. Schulz

**Ergebnisse der Untersuchung  
des Desinfektionseffektes des Anolytes vom Ge-  
rät Envirolyte EL-900 der Envirolyte Industries  
International Ltd.  
auf Legionellen**

Institut für Hygiene und Umwelt,  
Steinstraße 10, D-33457 Lollar, Germany  
Juli 2001  
Dr. J. Prucha

**Auftraggeber:  
Envirolyte Industries International Ltd., Tallinn**

**Auftragsdatum:**

**Gutachten Nr. G01-0480.doc  
Lollar, 12.07.2001**

## **Einführung und Ziel des Gutachtens**

Im Rahmen dieses Gutachtens soll die desinfizierende Wirkung mittels Diaphragmatischen Reaktoren innerhalb des Gerätes Envirolyte<sup>1)</sup> der Envirolyte Industries International Ltd. hergestellten Anolytes auf Legionellen überprüft werden.

## **Herstellung des neutralen Anolyts**

Das Gerät ENVIROLYTE EL-900 produziert einen neutralen Anolyt. Bei der Versuchsreihe wurde eine Stromstärke von ca. 30 A eingestellt. Nach einer Laufzeit von mehr als einer Stunde wurde der neutrale Anolyt für weitere Untersuchungen entnommen.

- freies Chlor: 300 mg/l
- pH-Wert: 8,20
- el.Leitfähigkeit: 11.700  $\mu$ S/cm
- Redoxpotential: 790mV

## **Durchführung der Versuche**

Zur Durchführung der Versuche wurde uns von Herrn van Schaik das Gerät Envirolyte EL-900 zur Verfügung gestellt. Der frisch für die Versuche produzierte Anolyt hatte eine Konzentration von freiem Chlor von 300 mg/l.

Der für die Versuche verwendete Testkeim

- Legionella pneumophila

wurde in Legionellen-Medium angesetzt.

Durch Verdünnung der so erhaltenen Keim-Stammsuspension mit sterilem Leitungswasser der Stadt Lollar wurden daraus die für die Versuche benötigte Keim-Lösung hergestellt.

Die Versuche wurden mit jeweils 100 ml Leitungswasser und einer Keimkonzentration von 300 KBE/ml durchgeführt.

Um festzustellen, wann ein Desinfektionseffekt auftritt, wurden durch die Zugabe des Analytes verschiedene Konzentrationen an freiem Chlor im Bereich von 20 mg/l bis 80 mg /l eingestellt.

Anschließend wurden jeweils nach

- 1 Minute,
- 5 Minuten,
- 10 Minuten,
- 30 Minuten und
- 60 Minuten

dem Ansatz 10 ml entnommen und sofort mit Natriumthiosulfat, ein freies Chlor vernichtendes Reagenz, versetzt, um auszuschließen, daß das freie Chlor noch nach Probeentnahme weiterwirken kann. Anschließend wurden davon jeweils 0,05 ml auf Legionellen-Agar gebracht und über eine Woche bei 36°C bebrütet.

Ansatz : 2 Kolonien in 5 ml Legionellen- Medium, alle Verdünnungen erfolgten mit sterilem Leitungswasser.

## **Versuchsdurchführung mit Anolyt-Lösung und Testkeim Legionella pneumophila**

Die Versuche wurden mit jeweils 100 ml Leitungswasser und

- 0,1 ml der Keim-Stammsuspension

durchgeführt.

Für die Versuchsansätze wurden freie Chlor-Konzentrationen in folgenden Bereichen eingestellt:

- 20 mg/l
- 40 mg/l
- 60 mg/l
- 80 mg/l

Anschließend wurden jeweils nach

- 1 Minute,
- 5 Minuten,
- 10 Minuten,
- 30 Minuten und
- 60 Minuten

dem Ansatz 10 ml entnommen und sofort mit Natriumthiosulfat, ein freies Chlor vernichtendes Reagenz, versetzt, um auszuschließen, daß das freie Chlor noch nach Probeentnahme weiterwirken kann. Anschließend wurden davon jeweils 0,05 ml auf Legionellen-Agar gebracht und über eine Woche bei 36°C bebrütet.

## Ergebnis der Untersuchungen

### Versuchsansatz mit 0,1 ml Keim-Stammsuspension in 100 ml Leitungswasser bei verschiedenen Chlor-Konzentrationen

Anfangs-Keimkonzentration im Ansatz: 300 KBE/ml = 30.000 KBE/100 ml

0,7 ml Analyt : 20 mg/l freies Chlor

nach X Minuten	KBE/ml	KBE/100ml
1	> 20.000	> 2.000.000
5	> 20.000	> 2.000.000
10	> 20.000	> 2.000.000
30	> 20.000	> 2.000.000
60	> 20.000	> 2.000.000

1,3 ml Analyt : 40 mg/l freies Chlor

nach X Minuten	KBE/ml	KBE/100ml
1	n.a.	n.a.
5	> 20.000	> 2.000.000
10	> 20.000	> 2.000.000
30	80	8000
60	0	0

2,0 ml Analyt : 60 mg/l freies Chlor

nach X Minuten	KBE/ml	KBE/100ml
1	n.a.	n.a.
5	280	28.000
10	100	10.000
30	60	6000
60	0	0

n.a. = nicht angesetzt

2,6 ml Analyt : 80 mg/l freies Chlor

nach X Minuten	KBE/ml	KBE/100ml
1	0	0
5	0	0
10	0	0
30	0	0
60	0	0

## Beurteilung

Im Rahmen dieser Versuche wurde ein Anolyt, der von einem Enviolyte-Gerät EL-900 frisch hergestellt wurde, so verdünnt, daß verschiedene Chlorkonzentrationen im Bereich von 20 bis 80 mg/l eingestellt wurden. Die so hergestellten verdünnten Anolyt-Lösungen wurden danach mit *Legionella pneumophila* inokkuliert. Anschließend wurden in bestimmten Zeitabständen von 1 bis 60 Minuten Proben entnommen, um den Desinfektionseffekt bei den verschiedenen Chlorkonzentrationen zu überprüfen.

Die Keimkonzentration an *Legionella pneumophila* bei dieser Versuchsreihe lag bei 30.000 KBE/100 ml . Bei dieser relativ niedrigen Keimkonzentration konnte ein Keimreduzierender Effekt erst bei einer Chlorkonzentration von 40 mg/l und einer Einwirkzeit von 30 min festgestellt werden.

Mit steigender Chlorkonzentration und mit zunehmender Versuchsdauer konnte die Anfangs-Keimkonzentration so deutlich reduziert werden, daß bei einer Chlorkonzentration von 80 mg/l keine Keime mehr nachweisbar waren.

Dr. J. Prucha

Dr. W. Schulz