

### 3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN

#### 3.1 Material und Methoden

##### 3.1.1 Probenahmeort

Die Untersuchungen wurden auf dem Gestüt Röttgen, Zuchtstätte für Vollblüter, in Köln über einen Zeitraum von 12 Monaten, zwischen September 2004 und September 2005, durchgeführt. Dazu standen zwei örtlich voneinander getrennte Stallgebäude zur Verfügung.

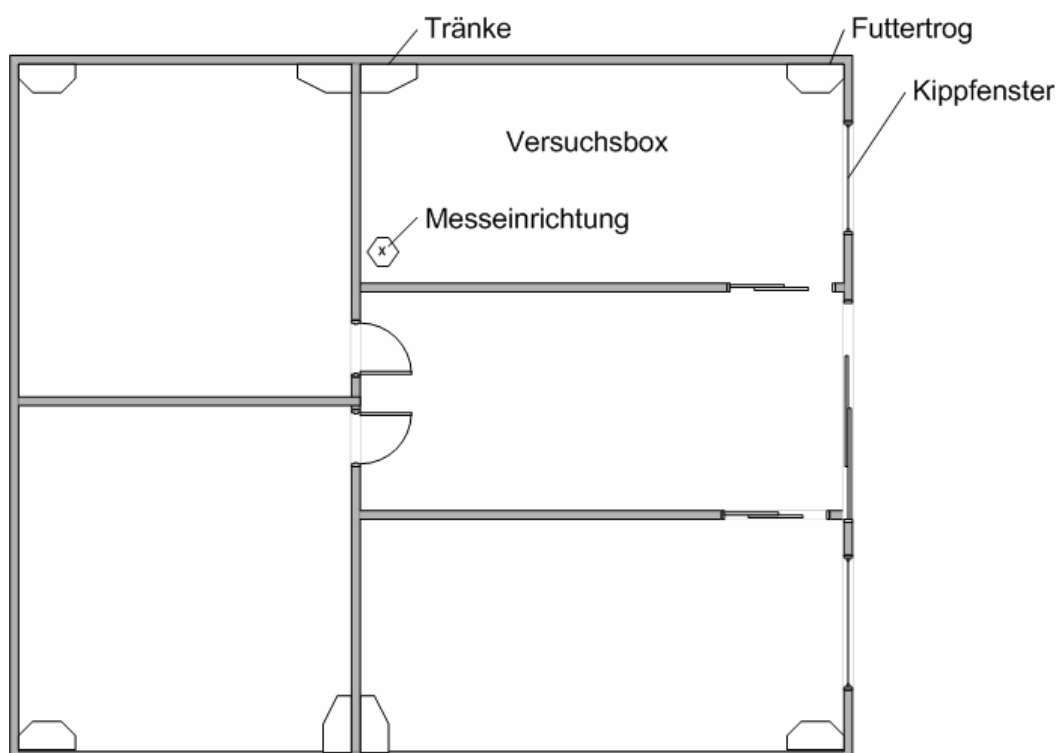
##### Stall 1

Der erste Teil der Messungen wurde auf dem „Durchhäuser Hof“ vorgenommen. Dieser Gutshof liegt außerhalb des umzäunten Gestütsgebietes und beherbergt vornehmlich Jährlinge, die sich tagsüber auf der Weide befinden und die Nacht in ihren Boxen verbringen. Das Gutsgelände wird von einem Vierkanthof gebildet, der mehrere Stalltrakte umfasst. Der zur Verfügung stehende Stall besteht aus vier gleichgroßen Boxen, die im Versuchszeitraum alle belegt waren. Die Tür zum Stalltrakt ist durchgehend geöffnet. In der Versuchsbox befand sich ein erkranktes Pferd, das aufgrund einer Beinverletzung auf Boxenruhe angewiesen war. Die Box ist bis auf die Tür und ein schmales Kippfenster rundum bis zur Decke hin gemauert. Die Abmessungen betragen ca. 2,5 x 4 x 5 m. Daraus ergibt sich eine Grundfläche von 20 m<sup>2</sup> und ein Luftvolumen von 50 m<sup>3</sup>. Der untere Teil der Tür ist halbhoch mit Holzbohlen versehen, die obere Hälfte besteht aus vertikal verlaufenden Eisenstangen. Ein schmales Kippfenster in der Außenwand mit den Maßen 120 cm breit x 40 cm hoch dient der Luftzufuhr und als Lichtquelle, letztere wird durch eine Glühbirne in der Deckenmitte der Box ergänzt. Der Boxentür gegenüberliegend befindet sich ein Futtertrog, die Tränke liegt der Außenwand gegenüber in der rechten Ecke.



**Abbildung 3.1** : Außenansicht der Versuchsbox auf dem Durchhäuser Hof

Der Tagesablauf beginnt mit der morgendlichen Fütterung um sieben Uhr. Anschließend werden die Pferde auf ein großes Paddock geführt. Das Entmisten und Einstreuen der Boxen mit Stroh erfolgt im Laufe des Vormittags. Von dem Auslauf werden die Pferde gegen 17 Uhr zurück in ihre Boxen gebracht und danach gefüttert. Die Fütterung besteht aus einer zweimaligen Gabe von Kraffutter, Raufutter wird einmal morgens vorgelegt. Die Wasserversorgung wird über Selbsttränken gewährleistet. Bei dem in der Box befindlichen Pferd handelt es sich um einen 1 jährigen Vollblut Hengst, dessen Temperament alters-, rasse- und geschlechtsbedingt, vor allem aber aufgrund der krankheitsbedingt verordneten Boxenruhe und der damit verbundenen fehlenden Bewegung, als lebhaft zu bewerten war.



**Abbildung 3.2:** Grundriss der Versuchsbox in Stall 1

## Stall 2

Der Stutenstall befindet sich unmittelbar auf dem Gestütsgelände und umfasst 16 Boxen, deren Größe mit einer Fläche von 16 m<sup>2</sup> auf die Unterbringung von Stuten und deren Fohlen ausgerichtet ist. Mit einer Grundfläche von 56 m<sup>3</sup> (3,5 m x 4 m x 4 m) gewährleisten sie einen ausreichenden Unterbringungsraum für lebhaft Vollblutfohlen.

Die Versuchsbox hat mit 22 m<sup>2</sup> im Unterschied zu den anderen Boxen ein größeres Flächenmaß, da sie sich in der Ecke des Stallgebäudes befindet (siehe Abbildung 3.3). Sichtkontakt zu den benachbarten Pferden besteht aufgrund auch hier deckenhoch gemauerter Boxentrennwände nicht. Die Zuluft gelangt über kleine Kippfenster (1,5 m<sup>2</sup>) an der Außenwand der Boxen. Die Boxentüren haben eine Größe von 1,5 m x 2,5 m und sind vor einigen Jahren erneuert worden. Heute bestehen sie aus vertikal verlaufenden Eisenstangen, die auch für den Nachwuchs freie Sicht auf die Stallgasse erlauben. Der Futtertrog für die Stute ist an der Außenwand, der Boxentür gegenüber, in der linken Ecke angebracht, der des Fohlens in der rechten Ecke.

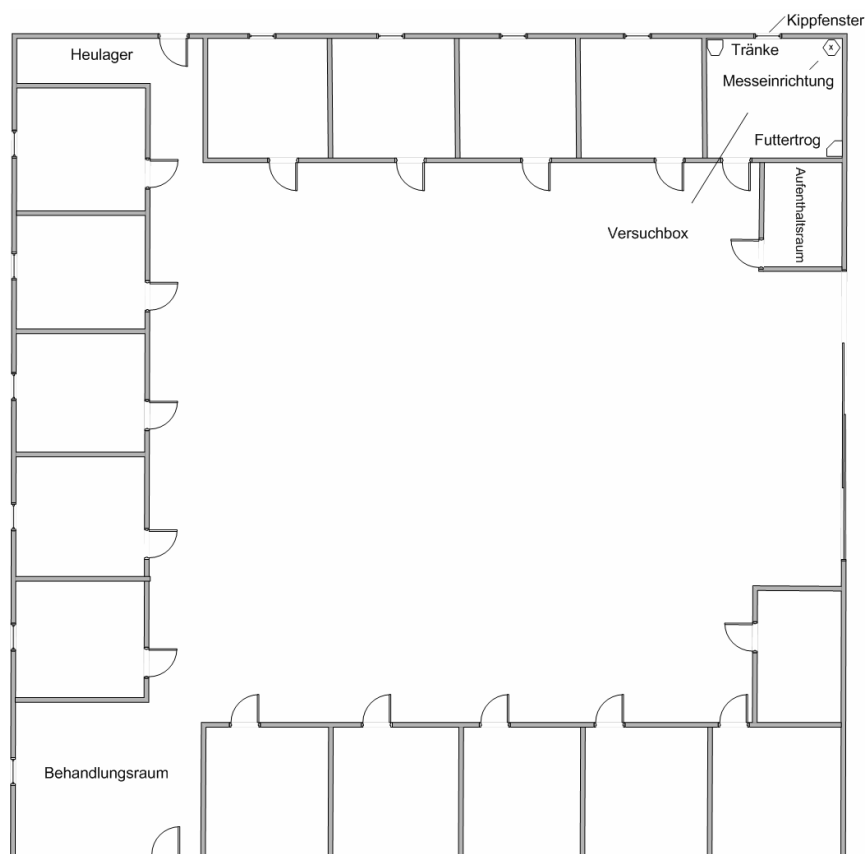


Abbildung 3.3: Grundriss der Versuchsbox in Stall 2

Nach der morgendlichen Fütterung um sieben Uhr wurden die Boxen gemistet und eingestreut, wobei die Pferde aufgrund von Schnee und vereisten Böden im Versuchszeitraum ganztägig in den Boxen gelassen wurden. Als Einstreu wird auch hier Stroh aus Quaderballen verwendet, welches im Wechselstreuverfahren zur Anwendung kommt.

Gefüttert werden die Stuten ebenfalls zweimal am Tag mit Kraft- und Raufutter. Auch hier erfolgt die Wasserversorgung über Selbsttränken.

Es handelt sich hier um eine Zuchtstute und ihr wenige Wochen altes Hengstfohlen.

### **3.1.2 Beschreibung verwendeter Messtechnik**

#### **3.1.2.1 Staubprobenahme**

##### ***GRIMM-Aerosolspektrometer***

Als Messgerät zur Bestimmung der Staubkonzentration in der Luft wurde ein Aerosolspektrometer, Modell-Nr. 1.108, der Firma Grimm Aerosol Technik, Ainring, verwendet. Es handelt sich bei diesem Gerät um ein transportables Gerät, welches wahlweise eine Bestimmung von Staub durch Ermittlung der Partikelmasse, als auch eine Erfassung der Partikelanzahlkonzentration pro m<sup>3</sup> Luft erlaubt.

Das Messprinzip beruht auf der so genannten Streulichtmessung, bei der ein Halbleiter als Lichtquelle dient (siehe Kapitel 2.5.2). Dabei wird das 90° Streulicht im Öffnungswinkel von etwa 60° über einen Spiegel auf eine Empfängerdiode gelenkt. Das Grimm-Aerosolspektrometer saugt die Probenluft über einen radialsymmetrischen Ansaugkopf über eine geregelte Pumpe mit einem Volumenstrom von 1,2 l/min ± 5 % an. Der Probenluftstrom wird im Gerät mit einem gereinigten Teilstrom der Abluft (0,3 l/min) verdünnt und aerodynamisch fokussiert. Durch die Verdünnung soll eine Detektion jedes einzelnen Partikels ermöglicht werden. Bei Eintritt des verdünnten Probevolumenstroms durchqueren Partikel den Laserstrahl und geben einen Lichtimpuls ab. Nach anschließender Verstärkung des Signals der Diode werden diese in verschiedene Größenklassen eingeteilt. Das Messgerät verfügt über 15 Messkanäle, die eine

## Eigene Untersuchungen

---

Partikelfraktionierung zwischen 0,3 µm und >20 µm ermöglichen (0.3-0.4; 0.4-0.5; 0.5-0.65; 0.65-0.8; 0.8-1.0; 1.0-1.6; 1.6-2.0; 2.0-3.0; 3.0-4.0; 4.0-5.0; 5.0-7.5; 7.5-10.0; 10.0-15.0; 15.0-20.0; >20.0 µm). Die letzte Größenfraktion beinhaltet alle detektierten Partikel über 20 µm und stellt die größte messbare Fraktion dar. Die Messergebnisse können online über eine serielle Schnittstelle ausgelesen werden. Aus der ermittelten Partikelanzahl ergibt sich die Partikelanzahlkonzentration. In Abhängigkeit der Zeit wird die größenabhängige Partikelkonzentration erfasst. Die mit dem verwendeten Aerosolspektrometer maximal messbare Partikelkonzentration liegt laut Hersteller bei  $2 \times 10^6$  Partikel pro Liter. Bei höheren Konzentrationen können Koinzidenzen auftreten. Bei zu hohen Konzentrationen wird vom Messgerät kein Fehler ausgegeben, sondern die Partikelzahl beim Auslesen auf Null gesetzt.

### 3.1.2.2 Luftkeimsammlung

#### **6-stufige Andersen-Sammler**

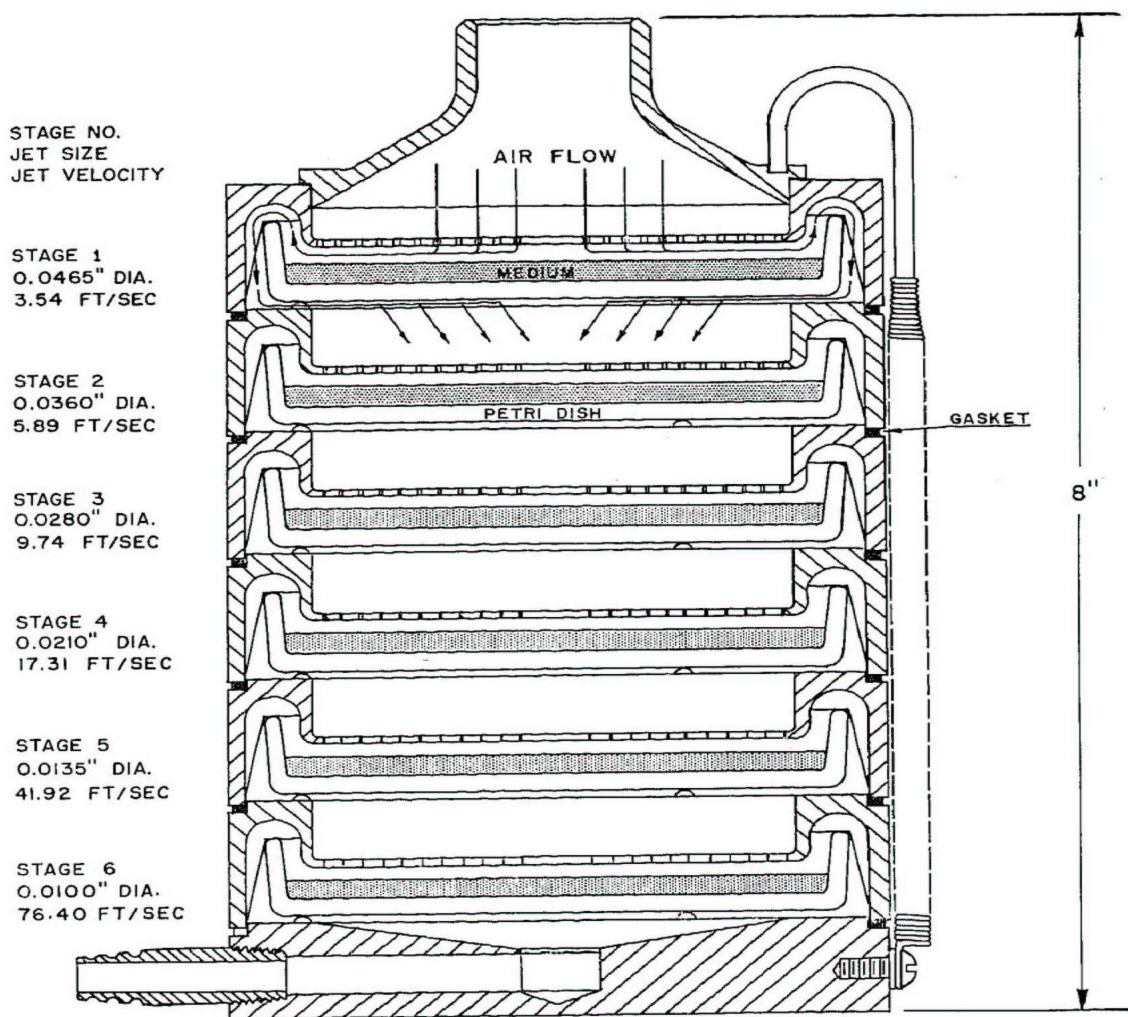
Um das Gefährdungspotential partikelförmiger Stoffe auf die Gesundheit von Mensch und Tier besser erfassen zu können, ist eine Fraktionierung in einzelne Größenklassen hilfreich, da es entsprechend ihres aerodynamischen Durchmessers zu unterschiedlichen Ablagerungsorten im Atemtrakt kommt. Dieser Anforderung trägt der sechsstufige Kaskadenimpaktor nach ANDERSEN (1958) Rechnung, der die Abscheidung von Partikeln im menschlichen Atemtrakt simuliert. Der Andersen Sammler arbeitet nach dem Impaktionsprinzip und unterteilt die Partikel in sechs verschiedene Größenklassen (siehe Kapitel 2.5.1). Darüber hinaus ist eine aufwendige Bearbeitung der Proben im Labor nicht notwendig, da die Probensammlung unmittelbar auf einen Nährboden erfolgt, der anschließend nur noch einer Kultivierung unterzogen werden muss.

Die verschiedenen Stufen sind übereinander mit jeweils 400 gleichgroßen Löchern angeordnet, die sich von oben nach unten im Durchmesser verkleinern. Jede Stufe wird mit einer mit Nährmedium gefüllten Petrischale bestückt. Mit Hilfe einer Vakuumpumpe wird die Probenluft (28,3 l/min) von oben angesaugt und durchströmt die hintereinander geschalteten Siebböden. Durch die Verengung der Löcher kommt es zu einer Beschleunigung der Probenluft und zu einem Aufprallen dieser auf das Nährmedium der entsprechenden Stufe. Die Luft wird auf die nächste Stufe abgelenkt, dadurch abgebremst und die Partikel werden gemäß ihrer Größe und ihrer Masseträgheit abgeschieden oder auf die nächste Stufe weitergetragen.

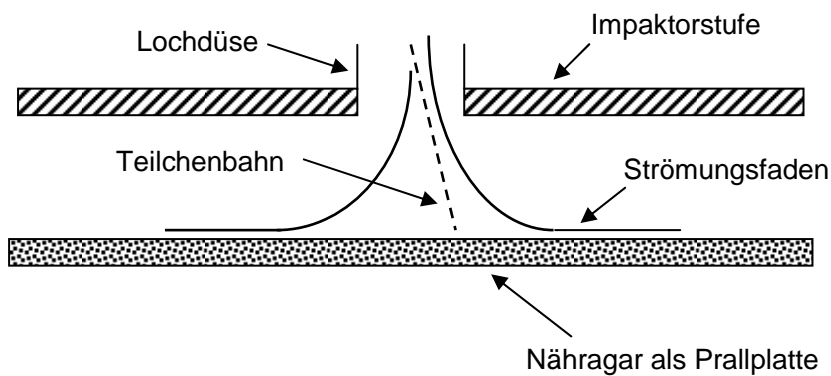
Der Cut-Off-Wert, auch Abscheidegrad genannt, eines Luftkeimsammlers gibt den kleinsten Durchmesser kugelförmiger Partikel mit der Einheitsdichte  $1000 \text{ kg/m}^3$  an, die mit einer Wahrscheinlichkeit von 50 % von dem Sammler aus der Probenluft abgeschieden wird. Bei einem Volumenstrom  $< 28,3 \text{ l/min}$  verschlechtert sich der Abscheidegrad.

Um einen konstanten Luftvolumenstrom von  $28,3 \text{ l/min}$  zu gewährleisten, wird zwischen dem Kaskadenimpaktor und der Vakuumpumpe ein Luftvolumenstromregler geschaltet. So kann an der Pumpe selbst mit Hilfe eines Rädchens unter Sichtkontrolle die Leistung reguliert werden.

Ursprünglich wurde der Andersen Sammler zur Anwendung mit Glaspetrischalen konzipiert, von denen zwei Sätze im Gerätekofter mitgeliefert werden. Am häufigsten gelangen heute Einmal-Petrischalen mit einem Durchmesser von 85 mm aus Kunststoff zur Anwendung, die man gebrauchsfertig bestellen kann.



**Abbildung 3.4:** Schematische Darstellung des 6-stufigen Andersen Sammlers (ANDERSEN 1958)



**Abbildung 3.5:** Schematische Darstellung der Wirkungsweise einer Impaktorstufe (nach MÜLLER und WIESER 1987)

**Tabelle 3.1:** Kennwerte des sechsstufigen ANDERSEN Sammlers  
(ANDERSEN 1958; KIEFER 1992)

Impaktorstufe	Lochdurchmesser	Luftgeschw.	Partikelgröße
1	1,181 mm	1,079 m/s	>8,2 $\mu\text{m}$
2	0,941 mm	1,795 m/s	5,0-10,4 $\mu\text{m}$
3	0,711 mm	2,969 m/s	3,0-6,0 $\mu\text{m}$
4	0,523 mm	5,276 m/s	2,0-3,5 $\mu\text{m}$
5	0,343 mm	12,777 m/s	1,0-2,0 $\mu\text{m}$
6	0,254 mm	23,287 m/s	<1,0 $\mu\text{m}$

**8-stufige Andersen-Sammler**

Überlegungen hinsichtlich der Möglichkeit einer fraktionierten Luftkeimmessung über einen längeren Zeitraum haben dazu geführt, den 8-stufigen Andersen Sammler als Luftkeimsammelgerät in Betracht zu ziehen.

**Tabelle 3.2:** Cut off Durchmesser der einzelnen Impaktorstufen des Andersen Sammlers

Impaktorstufe	Cut-off Durchmesser
1	> 11,0 $\mu\text{m}$
2	7,0-11,0 $\mu\text{m}$
3	4,7-7,0 $\mu\text{m}$
4	3,3-4,7 $\mu\text{m}$
5	2,1-3,3 $\mu\text{m}$
6	1,1-2,1 $\mu\text{m}$
7	0,65-1,1 $\mu\text{m}$
8	0,43-0,65 $\mu\text{m}$

Der 8-stufige Andersen Sammler wurde ursprünglich zur gravimetrischen Staubprobennahme entwickelt. Das Funktionsprinzip ist mit dem 6-stufigen identisch, statt der Petrischalen werden Metallplatten, respektive Glasplatten auf die Stützen gesetzt. In der Tabelle 3.2 sind die „cut-off“ Durchmesser angegeben. Das heißt die Abscheidung in den



einzelnen Stufen erfolgt mit einer Rate von ca. 50 %, so dass die Partikel einer bestimmten Größe nicht in einer Stufe abgeschieden werden, sondern sowohl in niedrigeren als auch höheren Stufen zu finden sind.

### ***PGP-System***

Das Personenbezogene Gefahrenstoff-Probenahmesystem (PGP) mit Gesamtstaub- (GSP) und Feinstaubsammlkopf (FSP) wurde zur personengetragenen und -bezogenen Messung von Stäuben, Gasen, Fasern und Dämpfen in der Luft am Arbeitsplatz entwickelt und für die Sammlung von Mikroorganismen adaptiert (HOFMANN et al. 1999). Es wurde von der BIA (Berufsgenossenschaftlichen Institut für Arbeitsschutz) in Bonn lizenziert und entsprechend der BIA-Arbeitsmappe 2004 empfohlen. Das Gerät arbeitet nach dem Prinzip der Filtration (siehe Kapitel 2.5.1). Entsprechend der zu untersuchenden Staubart kann man zwischen einem Sammelkopf für Feinstaub und Gesamtstaub wählen. Ein Schlauch verbindet den Sammelkopf mit der Pumpe. Das vorliegende Pumpenmodell PP5-Ex/HFS 513 A der Firma Gilian hat bei einer Größe von 12,8 x 11,7 x 4,7 cm ein Gewicht von 1,7 kg. Durch diese Eigenschaften hat es den Vorteil einer personengetragenen Probenahme, welches besonders in der Arbeitsmedizin zur Erfassung von Luftverunreinigungen am Arbeitsplatz vielfach Anwendung findet. Standardgemäß beträgt der Luftdurchfluss für den GSP- (Gesamtstaub) Probenahmekopf 3,5 l/min und für den FSP (Feinstaub) 2,5 l/min. Anhand eines Rotameters kann man die Durchflussrate zu jeder Zeit der Messungen überprüfen.

Der filtrierte Staub wird in den Filterköpfen auf sterilisierte Polycarbonatfilter mit einem Porendurchmesser von 0,8 µm abgeschieden.

### 3.1.2.3 Temperatur und Luftfeuchtemessung

Die Klimadatenerfassung erfolgte mit Hilfe eines kapazitiven Feuchtefühlers FHA 646-R und eines Datenloggers Almemo 2590-9 der Firma Ahlborn Mess- und Regelungstechnik GmbH, Holzkirchen. Der Sensor erfasst kombiniert sowohl die relative Feuchte, als auch die Temperatur. Der Messbereich des Fühlers liegt zwischen 5 % und 98 % relativer Luftfeuchtigkeit und zwischen 0 °C und 70 °C. Der Fehler bei einer Temperatur von 25 °C liegt bei  $\pm 2$  % relativer Luftfeuchtigkeit und  $\pm 0,1$  K.

### 3.1.3 Voruntersuchungen

Messgeräte zur Sammlung von luftgetragenen Staubpartikeln und Schimmelpilzsporen sind ursprünglich für Innenräume konzipiert worden, in denen im Vergleich zu Tierställen geringere Belastungen herrschen. Vor diesem Hintergrund müssen die Messgeräte einer Reihe von Probemessungen unterzogen werden, die reproduzierbare Ergebnisse auch bei hohen Aerosolkonzentrationen in Tierställen gewährleisten und eine Beständigkeit vor allem im Hinblick auf Langzeitmessungen garantieren.

Es wird von mehreren Autoren darauf hingewiesen, dass bei Luftkeimmessungen mit dem 6-stufigen Andersen Sammler auf eine Überbelegung der Nährböden aufgrund von hohen Keimkonzentrationen der Stallluft zu achten sei (BRACHMANN et al. 1999). Voruntersuchungen sollen die Eignung des 6-stufigen Andersen Sammlers auf einen Einsatz im Pferdestall prüfen, sowie die maximale Probezeit ermitteln, bei der eine Auswertung nach Kultivierung noch möglich ist. Gegebenfalls sollen alternative Möglichkeiten in Betracht gezogen, respektive einer experimentellen Untersuchung unterzogen werden.

#### Versuchsdurchführung

Der sechsstufige Andersen Sammler wurde unter keimarmen Bedingungen in einer Lamina Airflow mit Plastiknährböden bestückt und der Ansaugkopf mit Aluminiumfolie abgedeckt, um eine Kontamination während des Transportes zum Probenahmeort zu vermeiden.

Der Kaskadenimpaktor wurde in einer 3,5 x 3,5 m großen Pferdebox in Kopfhöhe des Pferdes (1,20 m) installiert und jeweils 20, 25 und 30 sec betrieben. Als Nährböden wurden DG 18 und MEA 2 % verwendet.

Um ein Austrocknen der gesammelten Keime zu verhindern, wurden die Petrischalen unmittelbar nach der Probennahme verschlossen und auf direktem Weg in das Labor

transportiert. Eine Inkubation der Proben erfolgte bei 25 °C und 37 °C über einen Zeitraum von 7 Tagen in einem Brutschrank.

### 3.1.4 Hauptversuche

#### 3.1.4.1 Langzeitmessungen

##### Stall 1

Auf eine Holzplatte zur Aufhängung der Messgeräte wurden vormontierte Rahmen installiert, um den Geräten genügend Schutz vor Tritten und Bissversuchen des Pferdes zu gewährleisten (Abbildung 3.6). Die Stromkabel wurden in einem von der Holzplatte nach oben abgehenden Eisenrohr untergebracht, so dass die Möglichkeit des Durchbeißen auch hier nicht gegeben war.



**Abbildung 3.6:** Vorrichtung zur Installation der Messgeräte in der Versuchsbox

Die Messgerätehalterung wurde in einer Höhe von 1,20 m gegenüber der Außenwand angebracht (siehe Abbildung 3.2), was in etwa der Kopfhöhe des Pferdes entspricht. Der Temperatur- und Luftfeuchtefühler wurde zusammen mit dem Luftkeimsammelgerät in den Andersen Behälter eingebracht, das Klimadatenmessgerät an der Hinterseite der Holzplatte aufgehängt. Die Videokamera wurde über dem Kippfenster installiert und zu Beginn der ersten Fütterung zwischen 7.00 und 7.15 Uhr mit den anderen Messgeräten eingeschaltet und fortlaufend über einen Messzeitraum von acht Stunden, das Grimm Staubmessgerät und die Videokamera an einigen Tagen über 24 Stunden, betrieben. Zur Erfassung der Schimmelpilze wurde der achtstufige Andersen Sammler verwendet, der über die Probenahmezeit den impaktierten Staub auf der Metallplatte einer jeweiligen Stufe abschied. Die Staubkonzentration wurde mit dem Aerosolspektrometer der Firma

Grimm (Ainring) ermittelt, der in 1-Minuten Intervallen die Partikelanzahlkonzentration pro  $\text{m}^3$  Luft aufzeichnete.

### Stall 2

Die Messapparaturen wurden so installiert, dass sie dem Fohlen keine Verletzungsmöglichkeiten boten. Hierzu wurde eine Gitterbox angefertigt, die über dem Fohlentrog, ebenfalls in einer Höhe von 1,20 m, an die Boxenwand angeschraubt wurde. Der Trog wurde zu dieser Zeit von dem Fohlen nicht genutzt und konnte, zur Vermeidung von Verletzungen aufgrund scharfer Ecken, mit Stroh aufgefüllt werden. Die Messgeräte wurden zur morgendlichen Fütterung um 7:30 Uhr installiert. Die Videokamera wurde in diesem Stall über der Boxentür angebracht und auch hier zeitgleich mit den anderen Messgeräten in Betrieb genommen. Zu Abfohlzeiten, in denen das Personal Nachtwache halten musste, kam es vor, dass die Pferde bereits früher gefüttert wurden.



**Abbildung 3.7:** Gitterbox zur Unterbringung der Messgeräte im Mutterstall

### **3.1.4.2 Punktmessungen**

Langzeitmessungen haben nach ersten Analysen einen Hinweis auf die Staubbelastung der Stallluft im Tagesverlauf gegeben. Gezielte Betrachtungen ließen erkennen, dass am Vormittag, zu Zeiten des Ausmistens und Einstreuens mit frischem Stroh, die höchsten Staubbelastungen herrschten. In den Nachtstunden bei niedriger Tieraktivität hingegen sank der Staubgehalt auf ein Minimum ab. Anhand dieser ersten groben Auswertungen wurden zu den aktivitätsarmen und -reichen Tageszeiten in Stall 2 Punktmessungen vorgenommen. Aufgrund arbeits- und zeitintensiver Laborarbeiten nach Luftkeimmessungen mit dem achtstufigen Andersen Sammler wurde versucht, durch Reduktion der Größenklassifizierung auf Fein- und Grobstaubpartikel, den Aufwand zu minimieren.

Ziel dieser Punktmessungen war es, zwei Extremsituationen auf eine mögliche Korrelation zwischen Staubpartikeln und Schimmelpilzsporen hin zu untersuchen. Hierzu wurden die Messungen erneut im Mutterstall durchgeführt. Neben dem Grimm Aerosolspektrometer und dem Klimadatenmessgerät kam das PGP Staubmessgerät zur Anwendung mit dem Ziel, den filtrierte Staub anschließend im Labor anhand einer dezimalen Verdünnung auf Schimmelpilzsporen zu untersuchen. Der Gesamtstaub wurde mit dem GSP-, der Feinstaub mit dem FSP-Messkopf gesammelt. Die Spitzenbelastungen wurden am Vormittag verursacht. In diesem Zeitraum wurde über eine Zeit von 2 Stunden gemessen.

### **3.1.4.3 Untersuchungen mit dem Staubfreisetzungswürfel**

Untersuchungen unter standardisierten Bedingungen hatten zum Ziel, unter konstanten Randbedingungen den Arbeitsvorgang im Stall zu simulieren, der die höchste Staubfreisetzung verursacht. Dabei sollte eine möglichst homogene Staubfreisetzung geschaffen werden.

Ein weiterer zentraler Aspekt war die Fragestellung, inwieweit sich die Beziehung zwischen Staubpartikeln und Schimmelpilzsporen unter Veränderung des Keimgehaltes des Probenmaterials Heu entwickelt. Zu diesem Zweck wurde am Institut für Landtechnik eine Vorrichtung konzipiert, welche einen staubfreisetzenden Vorgang simulieren sollte. Hierzu wurde der Einstreuprozess von Heu in Pferdestallungen gewählt, der im Tagesverlauf für eine hohe Staubfreisetzung verantwortlich ist. Das Simulationsgerät ist eine quaderförmige Holzkonstruktion mit einer Seitenlänge von 62 cm und einer Tiefe von 52 cm, die zentrisch aufgehängt um ihre eigene Achse gedreht wird. Diese Aufhängung kann mit Hilfe eines Elektromotors bei einer Frequenz von 9 U/min bewegt werden.

Die Vorderseite der Kiste wurde aus Aluminium gefertigt und der Innenraum mit Aluminiumfolie ausgekleidet, damit sich emittierte Partikel nicht elektrostatisch aufladen und somit eine Anhaftung dieser an den Kontaktflächen verhindert wird. Runde Öffnungen mit einem Durchmesser von 3,5 cm in der Mitte der Vorderseite, der beiden angrenzenden Seitenwände und der Oberseite der Kiste, dienen der Einführung von Sonden der Messgeräte, damit durch den Vorgang des Einbringens der Sedimentationsprozess der Staubpartikel nicht gestört wird. Das Grimm Staubmessgerät wurde durch Zuhilfenahme eines Stativs auf entsprechende Höhe gebracht und der radialsymmetrische Ansaugkopf mit Hilfe einer Verlängerung durch einen Kunststoffschlauch über die Öffnung der Vorderseite eingeführt. Die Einführung der PGP Geräte mit jeweils einem Messkopf zur Gesamtstaub- (GSP) und Feinstaubmessung (FSP) erfolgte über die Seitenwände rechts und links. Die Sonde des Ahlborn Temperatur- und Luftfeuchte Messgerätes wurde über die Oberseite der Kiste eingebracht.



**Abbildung 3.8:** Staubfreisetzungswürfel mit PGP-GSP und –FSP Sammelköpfen, sowie dem Ahlborn Klimamessgerät

Wie in Abbildung 3.8 ersichtlich, wurden für die Messköpfe des PGP ebenfalls Verlängerungen verwendet, die eine Einbringung bis in die Mitte der Kiste gewährleisten sollten. Vor jeder erneuten Befüllung der Kiste mit Probenmaterial erfolgte eine gründliche Reinigung, um eine möglichst „staubfreie“ Ausgangssituation zu schaffen. Da eine „Staubfreiheit“ nicht vollständig erreicht werden konnte, wurde vor jeder Messung eine

fünfminütige Leermessung vorgenommen. Diese gab die Hintergrundkonzentration in der Kiste an, welche von dem Messwert der Probe anschließend subtrahiert wurde. Durch diese Korrektur konnte bei jeder Messung von gleich bleibenden Bedingungen ausgegangen werden.

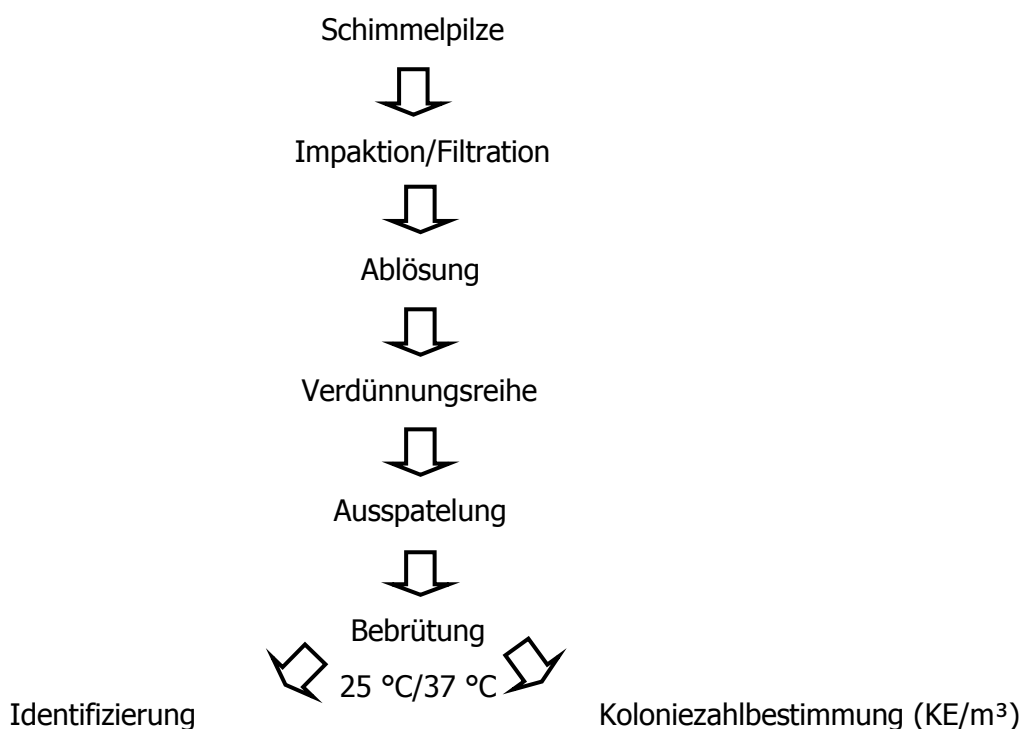
Bei dem zu untersuchenden Probenmaterial handelte es sich um Heu, welches von Rundballen entnommen wurde. Zur Untersuchung kamen zwei verschiedene Chargen. Bei Charge Nr. 1 handelte es sich um normales Heu, schimmeliges Heu wurde durch Charge Nr. 2 repräsentiert. Im Gegensatz zur Charge 1, der unbehandelten Probe, wurde Charge 2 in Behälter mit einer Höhe von 20 cm und einem Durchmesser von 8 cm verbracht und mit 10 ml Wasser befeuchtet. Mit Hilfe einer Spritzflasche konnte eine homogene Verteilung der Flüssigkeit erzielt werden. Anschließend wurden die Behälter verschlossen, geschüttelt und für zehn Tage ruhen gelassen.

Von jeder Charge wurden je drei Proben auf 100 g abgewogen und untersucht. Dazu wurden die einzelnen Proben in die Mitte des Würfels verbracht und eine Minute lang der Rotation des Staubfreisetzungswürfels ausgesetzt. In unmittelbarem Anschluss wurden die Messköpfe der vorbereiteten Geräte durch die Öffnungen in den Würfel eingebracht und fünfzehn Minuten lang gemessen.

### **3.1.5 Probenaufbereitung im Labor**

Die beaufschlagten Metallplatten des Andersen Sammlers wurden unter der Lamina flow mit einer dreiarmligen Greifzange vorsichtig in ein mit 0,9 % NaCl/ 0,01 % Tween Lösung gefülltes Becherglas extrahiert. Eine derartige Konstruktion konnte eine stabile, waagerechte Verbringung der Staubproben gewährleisten, ohne Verluste einzubüßen. Für die Verdünnung der Stufen 1-6 wurden jeweils 50 ml Lösungsmittel verwendet. Aufgrund der geringen Beaufschlagung der Stufen 7 und 8 benötigte man mit 25 ml hier nur die Hälfte. Die weitere Verarbeitung der Proben erfolgte gemäß DIN 4252. Um eine quantitative Ablösung des Staub-, Schimmelpilzgemisches und eine Homogenisierung der Lösung zu erreichen, wurde die Suspension mit Hilfe eines Schüttlers 20 min bearbeitet und danach für 5 min intensiv auf einen Exenterschüttler (Vortexer) suspendiert. Daran anschließend wurde eine dekadische Verdünnungsreihe angelegt, bei der 1 ml der Ausgangslösung mit einer Pipette in ein mit 9 ml gefülltes Reagenzglas mit NaCl-Tween Lösung überführt wurde. Der Grad der Verdünnung richtete sich nach der erwartenden Zahl koloniebildender Einheiten (KE). Die Ausbringung des Homogenisates erfolgte ausgehend von der höchsten Verdünnungsstufe. Dabei wurden 0,1 ml der jeweiligen

Stufe ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ) auf drei Platten des ausgewählten Nährbodens gegeben und mit einem Drigalski-Spatel in kreisenden Bewegungen einheitlich auf dem Nährboden ausgespatelt. Die aerobe Bebrütung erfolgte in Abhängigkeit der verwendeten Nährböden anschließend bei 25 °C und 37 °C. Die Nährmedien wurden entsprechend der nachzuweisenden Keime ausgewählt. Die Vorgehensweise bei der Ablösung des filtrierte Staubes von den Polycarbonat Filtern der PGP-GSP und –FSP Staubsammelköpfe verläuft gemäß dem oben beschriebenen Verfahren. Statt der Greifzange wurden die Filter mit Hilfe von zwei Pinzetten in waagerechter Position in 50 ml Lösungsmittel verbracht.



**Abbildung 3.9:** Aufbereitung der Proben im Labor (modifiziert nach RIEGER 2001)

Die Auszählung der Keime erfolgte erstmalig nach 48 Stunden, weitere Auszählungen fanden in ein bis zweitägigen Abständen bis zum einschließlich siebten Tag statt. Die Kolonien wurden auf der Rückseite der Petrischalen mit einem wasserfesten Stift markiert und am Rand notiert, so dass bei Auszählungen nach fortgeschrittener Zeit die Unterscheidung zwischen bereits gezählten und neu gewachsenen Kolonien erleichtert wurde. Nach Auszählung der Kolonien erfolgte zunächst die Berechnung des Mittelwertes derjenigen Verdünnungsstufe, mit den am besten auswertbaren Koloniezahlen. Der optimale Auswertungsbereich einer 85 mm-Nährbodenplatte liegt zwischen 5-200 Kolonien. Die Keimkonzentrationen der Luft werden im Anschluss über die Zahl der



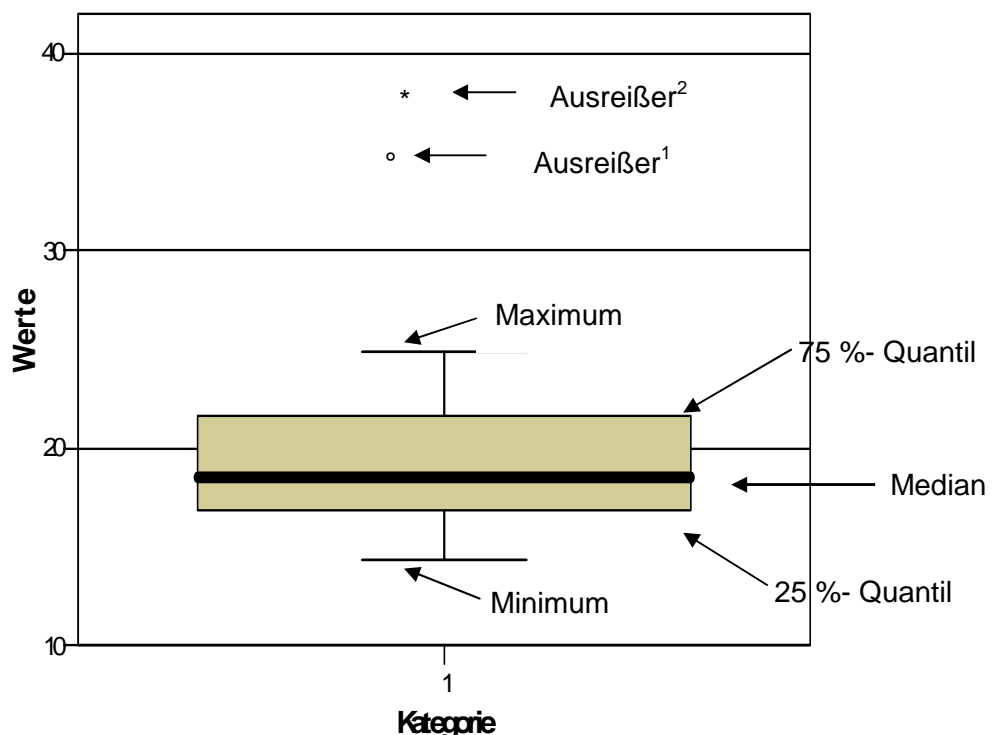
gewachsenen Kolonien und das Volumen der angesaugten Luft errechnet. Die Umrechnung in koloniebildenden Einheiten pro m<sup>3</sup> Luft erfolgt demnach gemäß folgender Formel:

$$KE/m^3 = \frac{G \cdot x \cdot 1000l}{\text{Probenahmenvolumen}(l)}$$

G= Koloniemittelwert x Verdünnungsstufe x Probenahmenvolumen x 100

### 3.1.6 Statistische Auswertung der Ergebnisse

Die Ergebnisse der Messungen an luftgetragenen Schimmelpilzen in Kapitel 4.2.1.2 wurden als so genannte Boxplots (Box-Whisker-Plot) dargestellt, ein auf John W. Tukey zurückgehendes Diagramm zur einfachen graphischen Darstellung einer Verteilung. Boxplots umfassen die grafische Analyse eines Datensatzes und geben Auskunft über die Lage des Medians, der 25 %- und 75 %- Quantile (oberes und unteres Quartil) und der Extremwerte bzw. Ausreißer.



**Abbildung 3.10:** Beschreibung der Darstellungsweise eines Boxplots

Der Datensatz bildet eine „Box“, deren Median durch eine Linie angegeben wird. Die obere bzw. untere Begrenzung der Box ist durch das untere bzw. obere Quartil gegeben.

Die äußeren Striche der Box gelten als der kleinste und der größte beobachtete Wert, insofern es sich nicht um Ausreißer und Extremwerte handelt. Liegen die beobachteten Werte zwischen 1.5 und 3 Box-Längen vom unteren bzw. oberen Rand der Box entfernt, handelt es sich um so genannte Ausreißer, welche durch 'o' gekennzeichnet sind. Extremwerte charakterisieren Datenpunkte, die mehr als 3 Box-Längen vom unteren bzw. oberen Rand der Box entfernt liegen und werden durch '\*' wiedergegeben (TOUTENBURG et al. 1998).

Unter Anwendung von SPSS® für Windows Version 12.0 wurden die Ergebnisse der Staubpartikel- und Schimmelpilzmessung einer Regressionsanalyse unterzogen. Die lineare Regression wurde mit allen 15 Staubpartikelgrößen durchgeführt, dabei gilt die Schimmelpilzsporenkonzentration als die abhängige Variable, die Konzentration der Staubpartikel als die unabhängige Variable. Anhand der Steigung einer Regressionsgeraden der Form  $y = ax + b$  wird die Beziehung zwischen den beiden genannten Parametern ausgedrückt bzw., kann man aus der unabhängigen Variablen den dazugehörigen mittleren Wert der abhängigen Variablen schätzen. Stehen  $x$  und  $y$  in diesem Zusammenhang, so spricht man von linearer Regression von  $y$  auf  $x$ . Das Merkmal  $y$  heißt der Regressand oder Response,  $x$  heißt der Regressor oder Einflussgröße. Das Merkmal  $x$  ist bekannt. Das Merkmal  $y$  wird zu vorgegebenem  $x$  beobachtet und weist im Allgemeinen eine natürliche Streuung auf. Die Werte von  $y$  werden aus diesem Grund nicht exakt auf der Geraden liegen. Man bezieht deshalb ein Fehlerglied oder Residuum  $e$  in den linearen Zusammenhang mit ein:  $y = ax + b + e$ , der die Schwankung um die Regressionsgerade angibt (TOUTENBOURG et al. 1998). Der Standardfehler des Schätzers (SE) quantifiziert die Güte der Schätzung durch einen (standardisierten) Vergleich zwischen den beobachteten Werten  $y$  und den anhand der Gleichung geschätzten Werte  $y^*$ . Es handelt sich hierbei um einen Fehlerausdruck, dessen Höhe etwas über die Streubreite und die Vorhersagekraft der Regressionsgleichung aussagt. Dieser Wert wird bei der Regressionsanalyse unter Anwendung von SPSS® zusammen mit dem Korrelationskoeffizienten ( $r$ ) und dem Bestimmtheitsmaß ( $R^2$ ) in der Modellzusammenfassung wiedergegeben.