Wirkungsgrad eines plasmaphysikalischen Verfahrens zur Minderung luftgetragener Keime in der Stallluft

Wirkungsgrad eines plasmaphysikalischen Verfahrens zur Minderung luftgetragener Keime in der Stallluft

Von der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover

> zur Erlangung des Grades Doktorin der Naturwissenschaften - Dr. rer. nat. -

> > genehmigte Dissertation

> > > von

Dipl. Biol. Heike Nieswandt

geboren am 07.01.1976 in Halle/Westf.

2006

Schlagworte: Plasma sterilisation, Stallluft, Ozon; plasma sterilization, piggery air, ozone

Referent: Koreferent: Tag der Promotion: Prof. Dr. T. Scheper Prof. Dr. J. Hartung 24.07.2006

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	8
Abstract	9
1. Einleitung und Zielsetzung	10

2. Theoretische Grundlagen

2.1 2.1.1 2.1.1	Qualität und Quantität der partikulären Emissionen aus der NutztierhaltungLCharakterisierung und Bedeutung ausgewählter Staubinhaltsstoffe2Gesundheitsgefährdung durch luftgetragene Mikroorganismen	.13 .14 .16
2.2 2.2.1 2.2.2 2.2.3 2.2.4	Messverfahren für die Bestimmung luftgetragener Mikroorganismen Sedimentation Impaktion Filtration Impingement.	.18 .19 .20 .22 .23
2.3	Stand der Technik von Maßnahmen zur Reduzierung von Partikeln in der Stall- luft	24
2.4	Stand der Sterilisationstechnik mittels des plasmaphysikalischen Verfahrens	.25
2.5	Funktionsprinzip der Plasmasterilisation	.26

3. Material und Methoden

3.1 Beschreibung der untersuchten Anlagen	30
3.1.1 Laboranlage am ITTN	32
3.1.1 Physikalisch-chemische Charakterisierung des Plasmaumfeldes	32
3.1.1.1 Wirkmechanismus Temperatur	32
3.1.1.2 Wirkmechanismus Ozon	32
3.1.1.3 Verifizierung des Wirkungsgrades Ozon	33
3.1.2 Ausmaß der mikrobioziden Wirkung des Plasmas anhand exponierter Ir	ndika-
torkeime	34
3.1.2.1 Überlebensrate vegetativer Zellen und Sporen von Bacillus subtilis.	34
3.1.2.2 Überlebensrate vegetativer Zellen vom Typ <i>B. subtilis</i> bei aktivem	
und inaktivem Plasma	34
3.1.2.3 Überlebensrate von Hefezellen nach Inaktivierung des Reaktors	35
3.1.2.4 Quantitative Abschätzung der mikrobioziden Wirkung des Plasmas	
und plasmabedingter Nebenprodukte auf Hefezellen	
3.1.4 Bypass-System im Modellversuch	
3.1.5 Verifizierung des Kofaktors Temperatur	38
3.1.6 Mikrobiozide Wirkung des Plasmas bei minimierter Entstehung	
von Ozon	

3.2	Untersuchungen unter praxisnahen Bedingungen 3.2.1 Technikumsanlage am FOSVWE	41 41
	 3.2.2 Untersuchungen an der Technikumsanlage mittels Filtration 3.2.3 Bypass-System am FOSVWE 	45 46
	3.2.4 Behandlung der gesamten Stallabluft mit reaktiven Gasen aus dem Reaktor	47
3.3	Verfahren zur Bestimmung der Luftkeimkonzentration	49
	3.3.1 Verwendete Probenahmesysteme	49
	3.3.2 Mikrobiologischer Nachweis von Keimen mit der Kultivierungsmethode.	50
	3.3.3 Verwendete Nährmedien	51
	3.3.4 Bestimmung der Gesamtzellzahl mit mikroskopischen Methoden	51
3.4	Art und Beschreibung der Versuchskeime für die Laboruntersuchungen	52
3.5	Verwendung der Durchflusscytometrie	54
3.6	Endotoxinbestimmung	55
3.7	Rasterelektronenmikroskopie	55
3.8	Allgemeine Auswertungs- und Berechnungsgrundlagen	56

4. Ergebnisse

4.1 Labore	rgebnisse am ITTN	58
4.1.1	Charakterisierung des Plasmaumfeldes	58
4.1.1.1	Wirkmechanismus Temperatur	58
4.1.1.2	Wirkmechanismus Ozon	60
4.1.1.3	Verifizierung des Wirkungsgrades von Ozon	62
4.1.2 A	usmaß der mikrobioziden Wirkung des Plasmas anhand exponierter Indi orkeime	ika- 64
4.1.2.1	Überlebensrate vegetativer Zellen von <i>B. subtilis</i>	64
4.1.2.2	Überlebensrate vegetativer Zellen von <i>B. subtilis</i> bei aktivem und inaktivem Plasma	65
4.1.2.3	Überlebensrate von Hefezellen nach Inaktivierung des Plasmas	66
4.1.2.4	Quantitative Abschätzung der mikrobioziden Wirkung des Plasmas und plasmabedingter Nebenprodukte bei Hefezellen	67
4.1.3 V S V	'ergleich direkter und indirekter Behandlung vegetativer Zellen und poren von <i>B. subtilis</i> sowie Hefezellen mit dem plasmaphysikalischen erfahren	68
4.1.4 V	erifizierung des Kofaktors Temperaturanhand exponierter Indikatorkeim	e70
4.1.5 M	1ikrobiozide Wirkung des Plasmas bei minimierter Entstehung von Ozon.	72
4.2 Versuo 4.2.1 V	hsreihen am FOSVWE ersuchsreihen am Teilluftstrom aus dem Stall Staubmessungen mittels des IAO Dust Monitor sowie die	75 75
1.2.1.1	mikrobiologische Aufarbeitung der Filter aus den Partikelzählgeräten.	75

	4.2.1.2 4.2.1.3 4.2.1.4	Impingermessungen am Teilstallluftstrom aus dem Stall Impingermessungen in den Messkassetten Bestimmung der Gesamtzellzahl auf Filterproben und in Impingerflüssigkeiten	.76 .77 77
	4.2.1.5 4.2.1.6	Bestimmung des Wirkungsgrades an der Technikumsanlage unter Einsatz der Filtrationsmethode Bypass-System am FOSVWE	.79 .83
4.3	Behandl	ung der gesamten Stallabluft mit reaktiven Gasen aus dem Reaktor	.85
4.4	Endotox	inbestimmungen	.88
4.5	Ozonme	essungen am FOSVWE	90
4.6	Rastere	lektronenmikroskopische Aufnahmen	93

5. Diskussion

5.1 !	Keimminderung durch Plasmatechnik 5.1.1 Wirkmechanismen des plasmaphysikalischen Verfahrens 5.1.1.1 Bedeutung der Temperatur im Zusammenhang mit	97 98
	plasmaphysikalischer Reinigung 5.1.1.2 Einfluss des Radikals Ozon	98 100
ļ	5.1.2 Untersuchungen am Bypass	101
5.2 I I	Kombination direkter und indirekter Behandlung der Abluft mit dem Plasmaphysikalischen Verfahren	103
5.3	Bedeutung der rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen	103
5.4	Endotoxinkonzentration	
5.5	Schwierigkeiten im Anlagenaufbau am FOSVWE	
5.6	Vergleich mit aktuellen Reinigungsverfahren	107
5.7	Anwendungsbereich des untersuchten Verfahrens	

6. Literaturverzeichnis	.0
-------------------------	----

7. Anhang	
7.1 Verwendete Geräte	122
7.2 Verwendete Puffer und Lösungen	123
7.3 Ergänzungen zum Teil 4 – Ergebnisse	
Erklärung	147

Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Erfassung von Daten, die eine Beurteilung ermöglichen, inwiefern die Behandlung von Abluft aus Nutztierställen mittels des hier angewendeten plasmaphysikalischen Verfahrens als Reinigungsmaßnahme einsetzbar ist. Dabei stand zunächst die Entwicklung geeigneter Anwendungsformen unter Einbezug von möglichen Messmethoden, im Vordergrund. Unter Berücksichtigung des vorhandenen Anlagenaufbaus sollte die Erfassung möglichst umfassender Analyseparameter zur Bestimmung der Wirkmechanismen des Verfahrens erfolgen. Zu diesem Zweck waren umfangreiche Umbaumaßnahmen zu einem Bypass-System nötig, dass eine Zuführung von Probenluft hinter den Plasmareaktor ermöglichten. Die direkte Behandlung der Schadluft wurde so durch eine indirekte Behandlungsform erweitert.

Die Untersuchungen fanden in verschiedenen Systemen mit Reaktoren unterschiedlicher Leistung statt. Zum einen wurden in Laboruntersuchungen am ITTN anhand von Modellkeimen der Wirkungsgrad bestimmter Betriebsparameter unter Berücksichtigung der Sekundäreffekte ermittelt. Zum anderen wurde am FOSVWE eine Technikumsanlage eingerichtet, mit der Luftuntersuchungen an Stallabluft mit einer Durchflussrate von 40-70m³/h ermöglicht wurden. Außerdem wurde das gesamte Abluftvolumen eines Versuchsstalles von 1500m³/h direkt und indirekt mit dem plasmaphysikalischen Verfahren behandelt.

Bevor anhand von Modellsystemen das Reduktionspotential sowie die daran beteiligten Einflussgrößen untersucht wurden, musste die grundsätzliche Einsetzbarkeit des Verfahrens für Keimminderungsversuche überprüft werden. Durch die Bestimmung der Abtötungsraten definierter Versuchskeime konnte eine starke Reduzierung vermehrungsfähiger Organismen bei direkter Behandlung festgestellt werden. Ohne Berücksichtigung passiv bedingter Verluste wurden vegetative Zellen von B. subtilis durch direkte Behandlung zu etwa 87%, Hefezellen zu 100% reduziert. Eine indirekte Behandlung der genannten Modellkeime ereichte jeweils eine 100%ige Abtötung. An der Technikumsanlage wurden Reduktionsraten von etwa 93% bei direkter und von etwa 17% bei indirekter Behandlung erreicht, wobei eine Beurteilung der Ergebnisse durch die starken Schwankungen und die schlechte Praktikabilität durch den Anlagenaufbau erschwert wird. Im Modellsystem wurden bei Kombination von direkter und indirekter Behandlung der Stallabluft Wirkungsgrade von 93,5% (1250W) und 95,9% (2500W). Unter Berücksichtigung passiv bedingter Verluste wurden Netto-Wirkungsgrade von 25% (1250W) bzw. 27,4% (2500W) erreicht. Die Temperaturen in der Laboranlage wurden im Verlauf der Versuche auf 50°C-70°C, in der Technikumsanlage auf 85°C reduziert. Schädigungen der Organismen durch Denaturierung oder Austrocknung können nicht verhindert werden. Die O₃-Konzentration der Probenluft lag in den Laborversuchen bei 270ppm, an der Technikumsanlage zwischen 5000ppm und 6000ppm und bei den Untersuchungen am Abluftschacht bei 160ppm (1200W) bzw. 270ppm (2500W). Die hohen O₃-Konzentrationen wurden zeitweise durch den Einsatz eines Katalysators reduziert. Dennoch ist eine Schädigung oder Inaktivierung der Organismen durch das Radikal auch in diesen Fällen nicht auszuschließen.

Der in der vorliegenden Arbeit untersuchte Prototyp erweist sich in vielerlei Hinsicht noch nicht als ausgereift. Ein Vergleich mit langjährig etablierten biologischen Reinigungssystemen kann derzeit noch nicht erfolgen. Es wird zwar eine deutliche Keimreduktion erreicht, doch kann diese nicht direkt auf praxisübliche Betriebe übertragen werden. Weiter sind die Rahmenbedingung nicht zufrieden stellend. Ein enormer Energieaufwand, und hohe Anschaffungskosten stellen in Verbindung mit der derzeit noch nicht ausgereiften Technik mit enormem Wartungspotential das größte Problem dar. Als vorteilhaft könnte sich eine Kombination kleiner Plasmaanlagen mit anderen Reinigungsverfahren darstellen. So würde beispielsweise ein Wäscher die Ozonkonzentration reduzieren, was einen Einsatz in empfindlichen Bereichen wie Krankenhäusern oder der Lebensmittelindustrie ermöglichen könnte.

Abstract

First explorations in plasmasterilisation of surfaces were made in the beginning 90th (Roth, 2001). Untill now it takes a variety of applications in processes of medizine sterilization. There are not jet examinations in plasmaphysical treatment of airsupported organisms. The emittant goods from animal houses in pig, poultry and swine produktion are supporting a variety of organic components, which are biological effective. Clark et al. (1983) and Seedorf et al. (1998) point poultries, piggeries and byres to strong emittants with a high concentration of microorganisms and dusts. Right now biofilters and bioscrubbers are ultimate tools to control odour emissions. These filters can remove airborne particles about 70%-80%, scrubbers just up to 22% (Siemers and van den Weghe, 1997; Seedorf and Hartung, 1999). The plasmaphysical technique could be an alternative for these applications. Weakly ionized plasmas are complex systems. In the simplest case they consist of neutral gas atoms and, to a lesser extant, electrons and positive ions. (Hippler et al., 2001). In the plasmafield many radicals were generated by elsatic and inelastic collisions of electrons with the heavy gas particles, atoms or molecules. These radicals oxidise for the organisms essential molecules, as DNA or proteins (Wisemann, Halliwell, 1996). As a consequence for the organisms a variety of modifications in essential molecules up to destroiing complex vital cellstructures appears (Kowalski et al., 1998). In principle airsupportet organisms offer a bigger and optimal surface for these attacs. Preliminary examinations of reducing bioaerosols with direct and indirect treatment of exhaust air form a small piggery with 12 swines last two mastperiods. The measurements of the at the drain installed nonthermal plasmaphysical system showed that the effectivity of purification can be raised up to 90% by quantitative investigations. Though this system is evident an alternative purification tool with a high effectivity, it is untill now insufficient in the application practice. Attention must be paid to the high consumption of energy and additional costs, caused by catalysts and more often needed cleaning of the system. Especially the temperature and the O₃-production must be pointed out. The tested prototype is not jet ready to use. The results can not be transferred 1:1 to regular animal houses, because the amount of air, witch is used in these buildings, is much higher and it is unknown if correspondent plasmaphysical systems will work economically enough. Nevertheless in future a combination of small plasmasystems and scrubbers, to minimize the O₃concentration, could be used e.g. in areas with a high disinfection standard, like food production or medicine institutes.

1. Einleitung und Zielsetzung

Belastungen der Umwelt mit unterschiedlichen Reststoffen und Abfallprodukten unserer Industriegesellschaft können zu einer Erschöpfung natürlicher Ressourcen, wie Boden, Wasser und Luft führen. Vor allem die Luft steht ständig in Wechselwirkung mit einer Vielzahl von Schutzgütern. Luftgetragene Emissionen von organischen und anorganischen Frachten aus der landwirtschaftlichen Nutztierhaltung spielen eine bedeutende Rolle. Umweltwirkungen, wie Eutrophierung von Oberflächengewässern, Versäuerung des Bodens oder Aerosolanreicherungen in der Atmosphäre, sollen vorrangig emissionalem Ursprungs sein. Bereits vor 40 Jahren hat die Entwicklung und der Einsatz von modernen, intensiven Haltungsverfahren begonnen. Auch heute noch werden auf Grund von Fortschritten in Tierzucht, Tierernährung, Stalltechnik und Management durch immer größere Produktionseinheiten Steigerungen in der Produktivität erzielt (J. SEEDORF, J. HARTUNG, 2002). Mit zunehmender Tierzahl kommt es zu einer Anreicherung von Schadgasen, wie Ammoniak oder Schwefelwasserstoff (J. SEEDORF, J. HARTUNG, 2002). Zusätzlich steigt auch die Menge der organischen Fracht, die größtenteils über die in der Stallabluft befindlichen Stäube in die Umwelt entlassen wird. Anreicherungen von diesen luftgetragenen Schadgasen, Stäuben und Mikroorganismen in der Stallluft tragen ganz wesentlich zum Emissionsaufkommen in der Landwirtschaft bei. Neben der gesundheitlichen Gefährdung für Tier und Mensch, die von den genannten Luftinhaltsstoffen in den landwirtschaftlichen Betrieben ausgehen können (LÜBBERT, 1986; MUHLHAUSEN, 1987; DON-HAM, 1989; OMLAND, 2002), ist bis heute weitestgehend unklar, wie groß die Belastung insbesondere durch partikuläre Emissionen für die Anwohner im Umfeld solcher Betriebe ist. Gemäß dem Vorsorgeprinzip hat der Gesetzgeber trotz dieser Bewertungsunsicherheit entsprechende Maßnahmen im Umweltrecht verankert. Jüngstes Beispiel stellt die novellierte TA Luft von 2002 dar, in der zum ersten Mal bei genehmigungsbedürftigen Anlagen auch Minderungsmöglichkeiten für Keime und Endotoxine zu prüfen sind.

Solche Minderungsmaßnahmen zur Verbesserung der Emissionssituation stellen Abluftreinigungsverfahren dar, wie beispielsweise Biofilter und Biowäscher. Diese Verfahren können nach SIEMERS und VAN DEN WEGHE (1997) für Stäube Abscheideleistungen von bis zu 85% und für Bakterien bis zu 70% erreichen. Trotzdem können reingasseitig Anreicherungen von Mikroorganismen und Endotoxinen festgestellt werden (SEEDORF UND HARTUNG, 1999; SEEDORF ET AL., 2000), da u.a. das in Rezirkulation geführte Prozesswasser stark mit Stallluftkontaminanten angereichert ist und somit als Quelle sekundärer Stoffausträge in das Reingas gelten kann. Eine stete Dekontamination oder Erneuerung des Prozesswassers mittels Frischwasser wäre daher für eine nachhaltige Wirkung der Reinigungsmaßnahmen erforderlich. Hinzu kommt, dass die enorme Nährstoffanreicherung im Prozesswasser auch entsorgungsrechtlich nicht unproblematisch sein kann, wenn die Grundsätze über die Anforderungen an die Kreislaufwirtschaft im Bereich der landwirtschaftlichen Düngung nicht einzuhalten sind. Es besteht damit die Notwendigkeit, Abluftreinigungsverfahren zu entwickeln, die einen solchen Reststoffanfall weitestgehend vermeiden und dabei jedoch eine höchstmögliche Effizienz im Reinigungsprozess der Abluft aufweisen.

Das, in der vorliegenden Arbeit untersuchte, plasmaphysikalische Verfahren, dass neben den gasförmigen Verunreinigungen der Abluft auch partikuläre Stoffe deutlich reduzieren soll, könnte eine viel versprechende Alternative zu den bisher eingesetzten Reinigungsverfahren in der Nutztierhaltung darstellen. Die Anwendung der Plasmasterilisation und dessen biozide Wirkung auf Mikroorganismen wurde Anfang der 90er Jahre nachgewiesen (ROTH, 2001). Bis heute wurde die Wirksamkeit des Verfahrens noch nicht an Stallluft überprüft.

Die Grundlagen für die vorliegende Forschungsarbeit wurden von der FA. ULTRAKAT GMBH & Co KG, GAGGENAU geschaffen. Der Betrieb verfügt über langjährige Erfahrungen beim Einsatz und der Herstellung von nichtthermischen, plasmatechnischen Geräten zur Abluft- und Abgasreinigung mittels Hochfrequenztechnik (Dielektrisch Behinderte Entladung, DBE). Die Fa. UltraKat hat <einen Plasmareaktor entwickelt, der für die Reinigung von Stallabluft geeignet sein sollte. Nach einigen zur Optimierung der Beprobungsroutinen dienenden Voruntersuchungen unter Laborbedingungen, sollten hieran anschließend Messungen in Form von Routinebeprobungen in Nutztierstallungen selbst erfolgen. Es zeigte sich jedoch bald, dass aufgrund einer besseren Standardisierbarkeit der Versuche und wegen der hohen, unter konventionellem Stallbetrieb nicht erschöpfend zu reinigenden Abluftströmen eine kontrollierte Versuchsdurchführung unter Labor- und Technikumsmaßstab vorteilhafter erschien. Darüber hinaus erfolgte eine fortschreitende Entwicklung der in der angewandten Plasmatechnik verwendeten Materialien.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es daher, zum einen Reduktionseffizienzen des hier eingesetzten plasmaphysikalischen Verfahrens auf in der Stallabluft vorkommenden Stäube und Mikroorganismen festzusetzen. Zum anderen soll, um Grundlagen über die Einsatzmöglichkeiten des Verfahrens zu schaffen, ausführliches, wissenschaftlich fundiertes Datenmaterial über die Rahmenbedingungen und die Wirkmechanismen des Verfahrens selbst erarbeitet werden. Die Forschungsarbeit gliedert sich in folgende Schwerpunkte:

Zunächst wurden am INSTITUT FÜR TIERHYGIENE, TIERSCHUTZ UND NUTZIERETHOLOGIE DER STIF-TUNG TIERÄRZTLICHE HOCHSCHULE HANNOVER (ITTN) umfangreiche Laboruntersuchungen an einer kleiner konzipierten Plasmaanlage der FA. ULTRAKAT, PLASMATECHNIK AG, durchgeführt, um eine physikalische und chemische Charakterisierung des Plasmaumfeldes zu erreichen. Darüber hinaus wurde mittels exponierter Indikatorkeime das Ausmaß der mikrobioziden Wirkung des Plasmas untersucht. So konnten, auf Grund des geringen Versuchsaufwandes und der guten Standardisierbarkeit der Untersuchungsmethoden, eine Vielzahl unterschiedlicher Parameter und Mechanismen untersucht werden und grundlegende Aussagen über Luftentkeimung mit dem plasmaphysikalischen Verfahren getroffen werden.

Die Beurteilung der Abbaubarkeit von Mikroorganismen und Stäuben aus der Stallabluft wurde am FORSCHUNGS- UND STUDIENZENTRUMS FÜR VEREDELUNGSWIRTSCHAFT WESER-EMS DER FAKUL-TÄT FÜR AGRARWISSENSCHAFTEN DER GEORG-AUGUST-UNIVERSITÄT GÖTTINGEN (FOSVWE) in Vechta untersucht. Das Forschungszentrum verfügt über einen Versuchsstall für 10-12 Mastschweine. Ein Teil der Stallluft wurde zunächst mit Hilfe eines Plasmareaktors, der in einer Technikumsanlage integriert wurde, behandelt. Anhand dieses Modellsystems werden wichtige Einflussgrößen und Reduktionsverhältnisse von direkter und indirekter plasma-physikalischer Behandlung von Stallabluft deutlich.

Im weiteren Verlauf wurde das gesamte Abluftsystem des Stalles direkt und indirekt mit dem plasmaphysikalischen Verfahren behandelt um eine Vergrößerung des Luftvolumens und der Keimmenge zu erreichen.

Die Versuche wurden in unterschiedlichen Reaktormaßstäben durchgeführt. Die Laboruntersuchungen und die Untersuchungen an der Technikumsanlage dienen in erster Linie zur Orientierung und zur analytischen Erfassung verschiedener Reaktorparameter. Dabei soll die Analyse nicht nur auf die jeweiligen Reduktionseffizienzen beschränkt bleiben, sondern auch die einzelnen Wirkmechanismen und Nebenprodukte des Plasmas betrachten.

Das untersuchte System wird im Anschluss durch die Behandlung der gesamten Abluft des Stalles unter nahezu realen Bedingungen überprüft. Aus diesen Ergebnissen sollen abschließend allgemeine Aussagen über die grundsätzliche Einsetzbarkeit des Verfahrens abgeleitet werden.

2. Theoretische Grundlagen

2.1 Qualität und Quantität der partikulären Emissionen aus der Nutztierhaltung

Mikroorganismen sind fast in allen Umweltbereichen zu finden und mitunter auch an extreme Lebensräume angepasst. Die Luft bietet den Organismen, die sich in ihr befinden weder Nährstoffe, noch die für Wachstum und Vermehrung nötige Feuchtigkeit und wird vornehmlich zum Transport genutzt (SALLE, 1948). Das Vorkommen von Mikroorganismen in der Luft ist seit langem bekannt. Ihre Entdeckung als luftgetragene Partikel wird mit Namen wie Appert, Hoffmann, Pasteur, Spallanzani und Lister verbunden. Eine Übertragung von Krankheiten durch luftgetragene Partikel vermutete Fracastoro bereits 1546. Auf Grund der Arbeiten von Pasteur begann Lister 1868 Wundinfektionen im Operationssaal durch Desinfektion der Luft zu bekämpfen. Erst als Robert Koch im Jahre 1882 feste Nährmedien einführte, gelang es luftgetragenen Mikroorganismen auf diesen, mittels des Koch 'schen Absetzverfahrens zu sammeln und zu zähl- und bestimmbaren Kolonien wachsen zu lassen (BOTZENHART, 1991).

Die meisten luftgetragenen Mikroorganismen haften an festen Teilchen, wie Staubpartikel, Hautschuppen, Pflanzen- oder Bodenteilen an. Einige, vor allem Pilzsporen kommen auch als isolierte Partikel vor. Flüssigkeitströpfchen, hier vor allem Körpersekrete, spielen als Träger von Partikeln eine große Rolle. Fast alle natürlich vorkommende Feuchtigkeit ist mikrobiell mit unterschiedlicher Keimdichte besiedelt. Die in der Umgebungsluft vorkommenden Mikroorganismen stammen vorzugsweise vom Boden oder von Pflanzen. Hier finden sich vor allem pigmentierte Kokken, coryneforme Bakterien, Bacillus-Arten, Schimmelpilze, Norcarda- und Streptomyces- Arten (BOZENHART, 1991). Allerdings ist das Spektrum von der natürlichen Besiedlung und der Überlebensfähigkeit der Keime in der Luft abhängig (KÄMPFER U. WEIßEN-FELS, 1997). Weiter können bereits sedimentierte Organismen, an organische oder anorganische Partikel angelagert, beispielsweise durch Luftbewegung, erneut in den luftgetragenen Zustand überführt werden ("reentrainment")(MÜLLER, 1987).

Die in der landwirtschaftlichen Nutztierhaltung emittierten Partikelfrachten bestehen zum einem aus Stäuben und Staubinhaltsstoffen, die sich u.a. aus organischen Grundbestandteilen wie Proteinen aber auch aus biologisch wirksamen Endotoxinen, Mykotoxinen und Milbenallergenen zusammensetzen können. Zum anderen haften dem Staub auch viele Mikroorganismen (Bakterien, Pilze, Viren, Protozoen) an. Zusätzlich kommen Futteranteile, Kot, Einstreu und Insektenfragmente vor (DONHAM, 1989; HARTUNG U. WHYTE, 1994). Die Gesamtheit all dieser typischerweise in der Stallluft anzutreffenden Partikelqualitäten wird auch mit dem Begriff "Bioaerosol" umschrieben. Diese Aerosole bestehen aus Partikeln biologischer Herkunft oder besitzen eine biologische Aktivität, die Lebewesen durch infektiöse, allergische, toxische, pharmakologische oder andere Prozesse angreifen können. Für die biologische Wirkung solcher Bioaerosole ist ihre Größenverteilung entscheidend. Der aerodynamische Durchmesser der Partikel variiert von ca. 0,5 µm bis 100 µm (HIRST, 1995). Besonders die alveolengängigen Partikelfraktionen mit Durchmessern von \leq 4 µm gelangen tief bis in das funktionelle Gewebe der Lunge und sind daher von besonderer gesundheitlicher Relevanz (BAUERNFEIND U. SHAH, 1995; HARTUNG, 1998). Nach CLARK ET AL. (1983) und SEEDORF ET AL. (1998) werden Geflügel- und Schweineställe als starke Emittenten mit hohen Konzentrationen an Mikroorganismen, Stäuben und Endotoxinen eingeschätzt.

2.1.1 Charakterisierung und Bedeutung ausgewählter Staubinhaltsstoffe

Die Mikroflora der Stallluft besteht hauptsächlich (ca. 80%) aus gram-positiven Organismen, wie Staphylokokken und Streptokokken. Gram-negative Bakterien können bis zu 5% der Gesamtzellzahl der kultivierbaren Keime ausmachen (ZUCKER *et al.* 2000). Trotz dieses verhältnismäßig geringen Anteils gram-negativer Bakterien sind die von ihnen stammenden Endotoxine in zum Teil hohen Konzentrationen zu finden. Darüber hinaus finden sich anteilig Pilze, Hefen, Sporenbildner, Bazillen, Pseudomonaden und Enterokokken. Genauere Angaben zur Keimflora der Stallluft finden sich bei CARLILE (1989) und HARTMANN (1980). Außer dem werden auch Endotoxine in der Stallluft gefunden.

Staphylokokken sind grampositive Bakterien mit einer Größe von etwa 1µm. Die in Trauben gelagerten Kokken sind unbeweglich, bilden keine Dauerformen und gehören zu den widerstandsfähigsten Formen der nicht sporenbildenden Bakterien (WIESMANN, 1976; ROLLE UND MAYR, 1993). Ihr Vorkommen wird auf Haut und Schleimhaut (vorwiegend im Nasenrachenraum) sowie den Darmtrakt beschränkt. Neben enzymatischer Aktivität können pathogene Staphylokokken auch Toxine bilden. Staphylokokken, hauptsächlich *S. aureus*, können lokale bis generalisierte Infektionen bei Mensch und Tier, mit für diese Erreger typischer Eiterbildung, verursachen. Staphylokokkeninfektionen können zu Furunkel, Karbunkel, Schweißdrüsenabszessen und Wundinfektionen führen. Weiter können an Schleimhäuten entstehende Entzündungen zu Conjunktivitis, Rhinitis, Nasopharyngitis u. a. führen (WEBER, 1997). Die ebenfalls gram-positiven 0,8-1,2µm großen, meist kugelig- oder eiförmigen Streptokokken sind zu Paaren oder Ketten unterschiedlicher Länge vereinigt und können für Mensch und Tier pathogen sein (WEBER, 1997). Wie bei den Staphylokokken kommen auch hier pathogene Arten vor, die Toxine oder Enzyme bilden und lokale oder generalisierte Infektionen hervorrufen können. Streptokokken können bei Wundbesiedelung, über die Schleimhäute oder die Geburtswege Infektionsherde bilden (WIESMANN, 1976; ROLLE UND MAYR, 1993).

Endotoxine sind Zellwandbestandteile gram-negativer Bakterien, die nach Absterben der Bakterien freigesetzt, sehr lange stabil und daher nachweisbar bleiben. Bei Inhalation wirken sie endzündungsfördernd und können chronische Lungenerkrankungen hervorrufen (NOWAK, 1994; BERGMANN UND MÜSKEN, 1994). Nach HARTUNG und SEEDORF (1999), werden den Endotoxinen weitere nachteilige Wirkungen auf den menschlichen Respirationstrakt zugewiesen. Hierzu zählen Entzündungen der Luftwege, Hyperreaktivität der Bronchien sowie eine Beteiligung an pulmonalen Erkrankungen wie COB (chronic obstuctive bronchitis), MMI (mucous membrane irritation), EAA (exogen-allergische Alveolitis) und vermutlich sogar Lungenfibrose. Allgemein kann eine Inhalation großer Mengen von Endotoxinen zu Krankheitsbildern mit influenzaähnlichen Symptomen führen, die dem "Organic Dust Toxic Syndrome" (ODTS) zugeordnet werden. Das ODTS, oft als allergische Erkrankung eingeordnet, wird den inhalativ verursachten Mykotoxikosen zugeordnet und zeigt Stunden nach der Expositon mit Schimmelpilzmycotoxinen oder Endotoxinen, enthalten im organischem Staub, Erscheinungen von Fieber, Husten und Atemnot (DASCHNER, 1995). HARTUNG und SEEDORF (1998) stellen starke Schwankungen in der Endotoxinbelastung von Nutztierställen fest. Die höchsten Konzentrationen konnten in der Hühnerhaltung, gefolgt von Schwein- und Rinderställen gemessen werden.

Pilze sind in der Natur weit verbreitet und besiedeln unterschiedliche Habitate, in denen sie auf Grund ihrer stoffwechselphysiologischen Vielseitigkeit maßgeblich an der Stoffumsetzung beteiligt sind. (MUNK, 2001). Pilzzellen können die 10 fache Größe von Bakterienzellen erreichen. Das Mycel der Schimmelpilze ist unterteilt in das für die Ernährung wichtige Substratmycel und das für die ungeschlechtliche Fortpflanzung wichtige Luftmycel, das die Fortpflanzungsorgane (Sporen oder Konidien) entwickelt. Die Sporen können vegetativ durch mitotische Teilung oder generativ durch Verschmelzung zweier haploider Zellen entstehen. Die ungeschlechtlichen Sporen werden als Konidien bezeichnet (BRANDIS, 1994). Die Sporen sind als Dauerformen gegenüber diverser Umwelteinflüsse extrem resistent. Das Refugium Fungi besteht aus eucaryotischen Mikroorganismen, von denen annähernd 120.000 Arten in der Literatur beschrieben werden (DöRFELT, 2001) und deren Gesamtartenzahl auf 1,5x10⁶ geschätzt wird (MUNK, 2001). Die in der Stallluft vorkommenden Schimmelpilze und Hefen sind in mehrerer Hinsicht medizinisch relevant. Von einer Reihe von Pilzsporen ist bekannt, dass sie beim Menschen Allergien auslösen können (LACEY und DUTTIEWICZ, 1994). Nach Bossow (1998) werden durch Schimmelpilzmycotoxine akute und chronische cyto- und neurotoxische Erkrankungen, aber auch immunsuppressive, mutagene, teratogene sowie carcinogene Effekte zugeordnet. Die ubiquitär verbreiteten Actinomyceten können bei Einatmung eine exogen allergische Alveolitis (EAA) hervorrufen (TRGS 908-14, 1998). Weiter können sie auch Auslöser des ODTS welches oft nicht von der EAA zu unterscheiden ist, sein. Darüber hinaus können sie aber auch als fakultative Parasiten beim Menschen und bei Säugetieren Mykosen hervorrufen (BRANDIS, 1994; DÖRFELT UND JENTSCHKE, 2001). Des Weiteren können Schimmelpilze wie *Aspergillus* spp. Mykotoxine wie die Aflatoxine bilden, die als toxisch und carzinogen gelten (PALMGREN U. LEE, 1986; WEBER, 1997).

Auf Grund der schwierigen Nachweisbarkeit luftgetragener Viren gibt es hierzu nur vereinzelt Berichte. Eine Übertragung findet fast ausschließlich durch ihre Bindung an Staub- oder andere Trägerpartikel wie Flüssigkeitstropfen statt. Aus der Tierseuchenhygiene ist bekannt, dass Erreger von Viruserkrankungen, wie beispielsweise die der Maul- und Klauenseuche, über viele Kilometer von einem Tierbestand zum nächsten übertragen werden können (Do-NALDSON ET AL., 1979 UND 1982; DAGGUPATY UND SELLERS 1990; SELLERS UND DAGGUPATY 1990). Hierbei wirken sich längere Perioden mit mäßiger aber einheitlicher Windrichtung und eine hohe Luftfeuchtigkeit in Verbindung mit niedriger Temperatur von 2°C - 5°C begünstigend aus (HILLIGER, 1991).

2.1.2 Gesundheitsgefährdung durch luftgetragene Mikroorganismen

Die biologische Stabilität eines Aerosols wird von JARNYCH (1976) als Fähigkeit aerodispers verteilter Mikroorganismen lebend und virulent zu bleiben, beschrieben. Diese ist von der physikalischen Stabilität eines Aerosols, die beispielsweise mit dem Absinken oder der Sedimentation von Teilchen oder Staubpartikeln verbunden ist, zu unterscheiden. Die Sedimentationsgeschwindigkeit hängt hier von der Partikelgröße ab.

Untersuchungen haben gezeigt, dass die Ausbreitung der Stäube und Keime, ausgehend von definierten Quellen über die atmosphärische Luft, abhängig von der Konzentration der mikrobiellen Fracht, der Windstärke und –richtung sowie dem klimatischen Einfluss ist.

MÜLLER UND WIESER (1987) gehen für Mikroorganismen von einer mittleren Verfrachtungsentfernung von 250 m aus. Orientierende Untersuchungen von HARTUNG (1990) lassen vermuten, dass Pilzsporen weiter verfrachtet werden, als Bakterien. Nach HILLIGER (1991) werden die Luftkeime eines Schweinestalles zu 80-90% lebensfähig in die Außenluft abgegeben. Tatsache bleibt, dass bestimmte Keime in der Außenluft rasch absterben. Zusätzlich zu dem Verdünnungseffekt der durch die Außenluft entsteht, soll nach BAUSUM ET AL. (1982) sichtbares Licht, vor allem am Tage, einen Einfluss auf luftgetragene Bakterien haben. Der von MAY ET AL (1969) beschriebene "open air effect" stellt die Summe der in der Außenluft auf Mikroorganismen wirkenden Faktoren dar (SPROCKHOFF, 1979). Er ist abhängig von Temperatur, relative Luftfeuchte, UV-Strahlung der Sonne, Ozongehalt oder andere Luftbeimischungen, wie CO, SO₂ oder Schwermetallverbindungen.

Weiter sind jahreszeitlich bedingte Schwankungen in der Keimdichte der Außenluft festzustellen. Die Zahl der KBE (Kolonie Bildende Einheiten) steigt im Herbst auf bis zu 10⁵ KBE/m³ Luft an. Nach BOTZENHART (1991) handelt es sich hierbei überwiegend um Schimmelpilze die durch verrottendes Laub entstehen. Auch meteorologische Faktoren spielen eine Rolle: hohe Temperaturen im Sommer führen zu hohen Vermehrungsraten der Mikroorganismen. Zusätzlich wird jetzt eine Verbreitung der mikroorganismenbeladenen Staubpartikel durch trockene Luftströmungen begünstigt (BOVALIUS et al., 1978). Andererseits werden bei Regen Partikel aus der Luft ausgewaschen und somit reduziert (BOVALLIUS et al., 1978). Unter einer geschlossenen Schneedecke können im Winter keine gebundenen Partikel freigesetzt werden (WEIßENFELS UND SCHERER, 1997). Erhebliche saisonale Schwankungen sind bei Pilzen und Gesamtbakterien zu erwarten, wobei die erreichten absoluten Keimzahlen vom Standort der Probenahme abhängig sind.

Auf Grund der ubiquitären Verteilung von Mikroorganismen, wie Bakterien, Pilze oder Viren sowohl in Wohn- und Arbeitsräumen, als auch an der Außenluft, wird das Immunsystem des Menschen stetig mit diesen konfrontiert. Bei intakter Immunabwehr stellt diese "normale" Belastung keine Gesundheitsgefährdung für einen gesunden Menschen dar. Trotzdem kann es im Fall dauerhafter hoher Konzentrationen oder durch verminderte Abwehrkräfte exponierter Individuen auch durch üblicherweise als ungefährlich einzustufende Mikroorganismen oder deren Bestandteile zu einer gesundheitlichen Beeinträchtigung von Mensch und Tier kommen.

Die Menge an Stallstäuben, Staubinhaltsstoffen und Mikroorganismen, die über das Lüftungssystem aus beispielsweise einem Mastschweinestall mit 1000 Tieren in die Umwelt emittiert wird, schätzt HARTUNG 1998 auf etwa 500 kg pro Jahr bei einer mittleren Konzentration von 2 mg/m³ einatembarem Staub und einer mittleren Luftrate von 200m³ pro Großvieheinheit (GVE, entspricht 500 kg Lebendgewicht). Unter Vorraussetzung von einem bakteriellen Gehalt von 106 KBE/ Gramm Staub, wird die Menge der potentiell freigesetzten Mikroflora aus dem Stall deutlich.

2.2 Messverfahren für die Bestimmung luftgetragener Mikroorganismen

Derzeit werden für lufthygienische Untersuchungen verschiedene Messverfahren und Geräte mit unterschiedlichen Sammelprinzipien eingesetzt. Wobei jedes Verfahren sowohl Vor- als auch Nachteile aufweist. Es existiert keine Methodik, die für jede Sammelsituation geeignet ist. Die erhobenen Keimzahlen sind immer relative Werte, die durch das angewandte Verfahren, Sammelort und –bedingungen (Dauer, Aerosolzusammensetzung,...) beeinflusst werden (BÖHM *et al.*, 1998). Darüber hinaus müssen wichtige Aspekte zur Beurteilung der Sammelgeräte, wie Abscheideeffizienzen, Nachweisgrenzen, Praktikabilität am Probenahmeort und der Verlust lebensfähiger Mikroorganismen durch Austrocknung, Sammelstress, Transport oder bei der Aufarbeitung der Proben, mit berücksichtigt werden.

Die Probenahmemethoden für luftgetragene Partikel lassen sich auf Grund ihrer physikalischen Eigenschaften zur Abscheidung von Stäuben und Keimen unterschieden. Hierbei lassen sich die vier verschiedenen Prinzipien Sedimentation, Impaktion, Filtration und Impingement trennen.

2.2.1 Sedimentation

Die Sedimentation ist das einfachste und älteste Verfahren zur Erfassung der Luftkeimzahl (BÖHM ET AL., 1998). Die passive Probenahme erfolgt durch einfaches Sedimentieren der Keime und Staubpartikel in der Luft und mit der Luftbewegung über einen definierten Zeitraum in eine mit Nährmedium gefüllte, offene Petrischale. Nach der Bebrütung können die gewachsenen Kolonien makroskopisch ausgezählt und gegebenenfalls mikrobiologisch weiter differenziert werden. Anwendung findet dieses Verfahren zur Feststellung von Oberflächenkontaminationen durch sedimentierte Partikel.

Darüber hinaus wird das Sedimentationsverfahren verwendet, um Hinweise auf Keimbelastungen und einen Überblick über das Spektrum der Luftkeimflora, beispielsweise in Reinräumen von Industrie, Krankenhäusern, Wohn- oder Laborräumen, zu erhalten (BIA ARBEITS-MAPPE 9410, 1995). Das beschriebene Koch'sche Plattenabsetzverfahren ist eine sehr einfache und preiswerte Methodik die an verschiedenen Standorten parallel eingesetzt werden kann. Zusätzlich können spezifische Nährmedien verwendet werden. Darüber hinaus ist der Sammelstress für die Mikroorganismen entsprechend gering. Allerdings kommt es innerhalb des Spektrums zu einer Anreicherung von größeren, schneller sedimentierenden Partikeln. Frei in der Luft dispergierende Organismen können nur schlecht erfasst werden (ROTTER, 1976). Weiter können Partikel mehrere Keime enthalten, aus denen aber nur eine Kolonie wächst. Darüber hinaus zeigt dieses Verfahren starke Abhängigkeiten von Strömungen und Turbulenzen in der Umgebungsluft, die beispielsweise von vorbeigehenden Personen ausgelöst werden können. Ein weiterer großer Nachteil des Verfahrens ist, dass es nur qualitativ arbeitet. Es lassen sich keine Aussagen über Luftkeimkonzentrationen, die auf ein Raumvolumen bezogen sind (Keime/m³) treffen. Somit sind Untersuchungen von Belastungen nur annähernd, vergleichend möglich (BIA ARBEITSMAPPE 9410, 1995; BÖHM ET AL., 1998). Weiter kann es bei niedrigen Luftkeimkonzentrationen durch lange Probenahmezeiten zu einem Austrocknen der Nährmedien kommen, was zu einer unrealistisch niedrigen Keimzahl führt (AB-DOU U. SCHIRK, 1982; DIEHL U. HOFMANN, 1996).

19

2.2.2 Impaktion

Die Impaktion ist eine aktive Probenahmemethodik, bei der eine bestimmte Luftmenge über Düsen oder Schlitze beschleunigt wird und die Staubpartikel gemäß physikalischer Trägheitsgesetze bei Strömungsrichtungsänderungen auf Oberflächen abgeschieden werden. In Abhängigkeit von der Trägheit der Partikel (Masse) können sie durch Variation der Strömungsgeschwindigkeit der Größe nach sortiert werden. Dieses Prinzip wird beispielsweise beim Anderson Sammler (Siebsammler) verwendet, der in sechs Stufen die Größe der Bohrungen seiner Siebe verringert und so den Luftstrom erhöht. Es werden also bis zur letzten Stufe immer kleinere Partikel auf den hinter den Sieben angebrachten Nährmedien abgeschieden. Mit demselben Prinzip, allerdings mit einer Reihe von Modifikationen, arbeiten Schlitzsammler (MÜLLER U. KÖSTERS, 1971; MÜLLER UND GÄRTNER, 1974). Die Partikel werden hier durch schlitzförmige Düsen angesaugt und auf ein rotierendes Nährmedium aufgebracht. Durch die Drehung des Mediums um 360° ist eine gleichmäßige Verteilung der Partikel auf der Oberfläche gewährleistet.

Die Größe der abgeschiedenen Partikel ist durch die Größe der Schlitze bestimmt, sodass eine Größeneinteilung der Gesamtpartikel nicht möglich ist. Der Automatic Bacteria Sampler – ABS ist ein neueres Schlitzsammelgerät, das mit einem Magazin mit 12 Agarplatten ausgestattet ist (PAHL ET AL. 1997). Dieses Modell kann automatisch programmierte Mehrfachbeprobungen mit Variation der Interwalle oder der Probenahmedauer der einzelnen Proben durchführen. Wobei sich bei diesem Gerät der Schlitzkopf des Sammelgerätes während der Probenahme um 360° über das Nährmedium dreht. Weiter stehen Zentrifugalsammler, wie der Reuter Centrifugal Sampler (RCS) zur Verfügung. Dieses handliche Messgerät saugt kurz Luft mit einem Flügelrad an. Durch die Rotation des Probenahmekopfes werden die Partikel den Zentrifugalkräften folgend auf einem ringförmig eingelegten Agarstreifen abgeschieden. Eine genaue Bestimmung der Luftmenge ist bei diesem Gerät nicht möglich (DASCHNER, 1995). Darüber hinaus ist der RCS bezüglich der Abscheidung von Feinstaubpartikeln (<5µm) offensichtlich mangelhaft (JENSEN ET AL., 1992; DASCHNER, 1995).

Eine Sammlung von Mikroorganismen mit dem Impaktionsverfahren erweist sich auf Grund der direkten Sammlung der Partikel auf Nährmedien als vorteilhaft, da eine weitere Aufarbeitung der Proben im Labor entfällt. Der Sammelstress der Organismen wird gering gehalten (BIA ARBEITSMAPPE 9410, 1995).

20

Der RCS bietet eine einfache Handhabung und durch das geringe Gewicht sowie einen netzunabhängigen Betrieb andere Vorteile. Vom Hersteller erzeugte Nährstreifen geben ein hohes Maß an Standardisierbarkeit der Methodik, die durch leere Streifen für gewünschte Spezialnährböden erweitert werden kann (BÖHM ET AL., 1998).

Die kaskadenartige Anordnung der Sieblochplatten des Anderson-Sammlers ergibt eine Größeneinteilung von Partikeln, die in ähnlicher Weise auch im menschlichen Atemtrakt erfolgt. Allerdings zeigt sich bei der Abscheidung von Partikeln <1µm auf der untersten Stufe eine Schädigung empfindlicher Mikroorganismen auf Grund der hohen Geschwindigkeiten von bis zu 100 km/h (JÖRG ET AL., 1997). Darüber hinaus können Mikroorganismen-Aggregationen mit bis zu mehreren hundert Einzelorganismen durch die hohen Strömungsgeschwindigkeiten und Verwirbelungen im Sammelgerät aufgebrochen werden. Der Anteil der kleinen Partikel wird dadurch erhöht (DASCHNER, 1995). Zusätzlich wachsen aus den Aggregationen, die auf den oberen Stufen abgeschieden werden nur Einzelkolonien.

Die Größenverteilung der Partikel ist folglich nicht repräsentativ, was zu Fehleinschätzungen bei der tatsächlichen Konzentration gesundheitlich relevanter Keime führen kann. Weiter kann es bei hoher Keimkonzentration, auch bei kurzer Probenahmedauer, schnell zu einer Überladung der Nährmedien kommen. Dadurch wird die Möglichkeit der Auswertung durch gegenseitige Wachstumshemmung oder Überwachsung relativiert. Bei niedriger Keimkonzentration kann es zu einem Austrocknen der Medien kommen, welche ebenfalls eine quantitative Auswertung unmöglich macht. Die Probenahmedauer sollte deshalb 30 Min. nicht überschreiten (BIA ARBEITSMAPPE 9410, 1995). Außerdem lässt sich für jede Einzelmessung, abhängig vom Medium nur ein Parameter bestimmen. Eine Beaufschlagung von Gelatinefiltern (BIA ARBEITSMAPPE 9410, 1995) erreicht durch die nachfolgende Aufarbeitung einen erhöhten Stressanteil. Zudem kann es beim Aufprall der Organismen auf das Sammelmedium zu möglichen Schädigungen kommen (MAY, 1969). Darüber hinaus kann es zu Ansammlungen von Organismen an Schlitzen und Lochbohrungen sowie zu einer elektrostatischen Aufladung der Partikel durch Kunststoffplatten der Nährmedien oder Folien kommen. Beides kann Einfluss auf die Quantität der Proben haben.

2.2.3 Filtration

Die Keimsammlung durch Filtration erlaubt eine fast vollständige Abscheidung von Partikeln aus der Probenluft (KIEFER, 1992). Hierfür wird über eine Unterdruckpumpe eine definierte Luftmenge durch einen Filter gesaugt. Abhängig von der Porengröße werden die in der Luft befindlichen Partikel auf dem Filter abgeschieden. Zum Einsatz kommen Membranfilter (Polycarbonat, Teflon, Polyamid, u. a.) oder Tiefenfilter (Cellulose, Gelatine oder Glasfasern). Membranfilter sind planar und besitzen definierte Porengrößen. Beaufschlagte Organismen können, in eine Lösung überführt, durch Schütteln oder mit Hilfe von Ultraschall vom Filter abgewaschen werden. Dies ist allerdings meist nicht quantitativ, da einige Partikel trotz der Behandlung dem Filter weiter anhaften. Die gelösten Partikel können, auch in Verdünnungsstufen, auf Nährböden aufgebracht und nach Bebrütung ausgezählt werden. Diese Art der Auswertung wird als indirekte Methode bezeichnet. Tiefenfilter können in einer Lösung komplett aufgelöst und ebenfalls in Verdünnungsstufen auf Nährmedien ausplattiert werden. Sie können allerdings auch im Anschluss an die Probenahme direkt auf ein Nährmedium aufgelegt werden (direkte Methode).

Der MD 8 (SARTORIUS AG, GÖTTINGEN) ist eins der meist verwendeten Keimsammelgeräte mit Filtrationstechnik. Er ist für verschiedene Filtertypen (z.B. Gelatinefilter) kompatibel und zeichnet sich durch hohe Sammelvolumina (1-8m³/h) aus, was beispielsweise einen Einsatz in Reinräumen im Krankenhaus ermöglicht (KANZ U. KANZ, 1986). Ein weiteres Gerät, das Personengetragene Probenahmesystem PGP (STRÖHNLEIN, KAARST) ist bezüglich der Ansaugcharakteristik dem menschlichen Atemsystem angepasst. Es hat sich speziell für den Einsatz an Personen im Rahmen von Messungen des Arbeitsschutzes etabliert. Bei diesem System kann ein Volumenstrom von 0,75-4,5l/min erzeugt werden (BÖHM ET AL., 1998).

Die Einsatzmöglichkeiten der Filtrationsmethode umfassen sowohl den Bereich niedriger, als auch den Bereich sehr hoher Keimdichte, wobei prinzipiell auch lange Probenahmezeiten möglich sind. Das Maß der mechanischen Zerstörung von Keimen ist durch die niedrigeren Aufprallgeschwindigkeiten der Partikel bei der Filtration wesentlich geringer als bei der Impaktion. Das System eignet sich darüber hinaus zum Nachweis von Pilz- oder Bakteriensporen. Die Handhabung der Geräte, personengetragen oder stationär, sowie der Transport der Proben erweist sich vorteilhaft. Viele Geräte sind bereits fest installiert und etabliert (BIA ARBEITSMAPPE 9410, 1995). Eine Problematik dieser Probenahmemethodik stellen vegetative Bakterien dar. Sie können durch Dehydrierung oder Sauerstoffstress im Luftstrom rasch geschädigt oder abgetötet werden (MÖRITZ ET AL., 1998). Die Probenahme sollte folglich wenige Minuten möglichst nicht überschreiten. Darüber hinaus stellt sich die Aufarbeitung der indirekten Methodik nicht quantitativ dar, weil die Organismen und Partikel trotz des Waschvorgangs dem Filter anhaften können. Zusätzlich ist bei diesem System zu beachten, dass eine Beaufschlagung des Filtermaterials eine Verringerung des Probenluftsoges zur Folge hat. Vakuumpumpen mit automatischer Nachregelung der Ansaugrate oder Gasuhren können verwendet werden, um das Ansaugvolumen möglichst genau bestimmen zu können.

2.2.4 Impingement

Das Abscheiden von Partikeln in einer Sammelflüssigkeit wird als Impingement bezeichnet. Dabei wird ein definiertes Luftvolumen/Zeit durch eine enge Kapillare mit hoher Geschwindigkeit durch phylogenetische Lösungen geleitet (DASCHNER, 1995). Hierbei können beispielsweise beim All-Glas-Impinger (AGI) Geschwindigkeiten von 265 km/h erreicht werden. Bei diesen Geschwindigkeiten werden Gasblasen in geringer Größe gebildet und es kommt zu einer hohen Abscheiderate von Partikeln im Sammelmedium (JÖRG et al., 1997). Auf Grund des starken Aufpralls auf und die Scherkräfte in der Waschflüssigkeit werden Mikroorganismencluster aufgebrochen, sodass die den Partikeln anhaftenden Organismen in kleinen Partikeleinheiten oder einzeln in der Lösung vorliegen und nach Ausplattierung erfasst werden können (WANNER U. DEUBER, 1968). Bei vergleichenden Messungen resultieren beim Impingement in der Regel höhere Keimkonzentrationen, als beispielsweise bei der Impaktion (JEN-SEN et al., 1992). Das verwendete Sammelmedium sollte die gesammelten Organismen physiologisch nicht schädigen. Weiter sollte die Aufarbeitung der Proben nicht durch Ausfällungen oder zu starke Schaumbildung gestört werden. BÖHM et al. (1998) schlagen physiologische Kochsalzlösungen als Sammelmedium vor. BRACHMANN et al. (1964) empfahl den All-Glass-Impinger (AGI) als Standardimpinger.

Mit dem Impingement kann ein weiter Luftkeimkonzentrationsbereich abgedeckt werden, da eine Herstellung von Verdünnungsreihen aus dem Sammelmedium möglich ist (indirekte Methode). Auch hier ist der Einsatz von verschiedenen, spezifischen Nährmedien möglich (BIA ARBEITSMAPPE 9410, 1995). Einer Dehydrierung von Organismen wird durch die Sammlung in einer Flüssigkeit vorgebeugt. Mit dieser Methodik können auch bereits subletal geschädigte oder nur in sehr geringer Zahl vorkommende Keime erfasst werden (DASCHNER, 1995).

2.3 Stand der Technik von Maßnahmen zur Reduzierung von Partikeln in der Stallluft.

Grundsätzlich ist bereits im Vorfeld eine prozessintegrierte Vermeidung der Belastung der stallseitigen Luft zu erreichen. Hierzu haben sich in den Haltungssystemen beispielsweise bei Fütterungs- und Fäkaltechnologien Variablen etabliert. Der richtige Umgang und die richtige Wahl der Einstreu oder die Kontrolle, die Lagerung und die Qualität aller benutzten und bewegten Materialien sind hier von Bedeutung. Häufig werden Schimmelpilzsporen oder andere Arten von Keimen mit der Einstreu in den Stall eingebracht. Weiterhin sind eine schnelle Entsorgung der Ausscheidungen und regelmäßig durchgeführte Reinigungsmaßnahmen von Vorteil. Auch die Art des Futters spielt eine lufthygienische Rolle. Anstelle von Trockenfutter können Pellets oder Feuchtfuttermittel verwendet werden, die weniger stauben und damit den Partikeleintrag in die Stallluft verringern. Solche Verfahren werden in den BESTEN VER-FÜGBAREN TECHNIKEN (BAT 2003) in Einklang zur IPPC-Richtlinie der EU (96/91/EG) zusammengestellt. Eine Ausnahme stellen Systeme dar, in denen aus Gründen des Tierschutzes zur tierartgerechten Aufstallung nicht auf Einstreu verzichtet werden kann.

In diesen Systemen sind häufig höhere Partikelaufkommen zu verzeichnen. Zur Minderung des Staubaufkommens in diesen Haltungssystemen können technische Hilfsmittel, wie das Versprühen von Öl-Wassergemischen verwendet werden. Sind die geschilderten Vermeidungsansätze erschöpft, helfen häufig nur noch Abluftreinigungsmaßnahmen, um den Belangen des Umweltschutzes genüge zu tun. Hinweise auf Reinigungsverfahren für Abluft finden sich u.a. in dem VDI/DIN HANDBUCH ZUR REINHALTUNG DER LUFT, BAND 2 – EMISSIONSMINDE-RUNG (1986).

Neben einer Reihe von Geruchsminderungsmaßnahmen, die z.B. für die Schweine- und Geflügelhaltung in den VDI-RICHTLINIEN 3471 (1986) und 3472 (1986) niedergelegt sind, haben sich als biologische Abluftreinigungsmaßnahmen Biofilter und Biowäscher etabliert. Diese sollen neben vielfältigen Einsatzmöglichkeiten in Industrie und Gewerbe auch geruchsstoffund ammoniakmindernd auf die Abluftströme landwirtschaftlicher Nutztierhaltungsanlagen wirken. Die VDI-RICHTLINIEN 3477 (2004) und 3478 (1996) beschreiben die Funktion und den Aufbau dieser Filter und Wäscher detailliert. Diese Art der biologischen Abluftreinigung ist bereits seit 1923 bekannt (LAURENZIS, 2000). Kombinationsanlagen mit Biofilter- und Wäscherfunktionen sind ebenfalls anzutreffen. Gemessen an dem Stand des Wissens über das Reduktionsvermögen gasförmiger Luftbestandteile in der Nutztierhaltung, sind die Kenntnisse über die Reduktionspotentiale für partikuläre Bestandteile vergleichsweise gering. SIEMERS UND VAN DEN WEGHE (1997) geben in einem Bericht eine Staubreduktion in einem Schweinestall von 85% mittels eines Biofilters an. Orientierende Untersuchungen von SEEDORF UND HARTUNG (1999) an zwei Schweinemastställen haben gezeigt, dass ein Biofilter die Partikelzahl zwischen 79% – 96% reduzieren kann. Dabei wurden mesophile Keime um 11% - 71% und Pilze um etwa 71% reduziert. Der ebenfalls von SEEDORF UND HARTUNG (1999) untersuchte Biowäscher reduzierte die Partikelmenge um ca. 22% allerdings wurde die Zahl der Endotoxine in der Abluft um das 3,8-fache und die der mesophilen Keime um das 2,7-fache erhöht. Diese Anreicherung von Endotoxinen und Keimen in der Abluft wurde durch Kontaminationen des in die Reinigungsanlage eingespeisten Prozesswassers erklärt. Weiter kommt hinzu, dass die ebenfalls auftretende Nährstoffanreicherung (C, N) im Prozesswasser entsorgungsrechtlich Probleme bereiten könnte, wenn die gesetzlich vorgeschriebenen Anforderungen im Bereich der Düngung nicht einzuhalten sind. Es besteht damit die Notwendigkeit, Abluftreinigungsverfahren zu entwickeln, die bei einem sehr geringen Reststoffanteil einen hohen Wirkungsgrad im Bereich der Abluftreinigung aufweisen. Derzeit ist die Entwicklung der biologischen Abluftreinigungsanlagen soweit fortgeschritten, dass Reduktionspotentiale für Ammoniak, Gerüche und Stäube von 70% bis 90% erwartet werden dürfen (GRIMM 2005).

2.4 Stand der Sterilisationstechnik mittels des plasmaphysikalischen Verfahrens

Bereits vor 150 Jahren hat Werner von Siemens die *dielektrisch behinderte Entladung* (dilectric barrier discharge, DBE), die auch "stille Entladung" genannt wird, entdeckt. In den Annalen der Physik (SIEMENS, 1857) beschreibt von Siemens eine "Lichterscheinung in einem gasgefüllten Raum innerhalb zweier mit Stanniol bedeckten Glasplatten". Das plasmaphysikalische Verfahren fand zunächst, Ende der 20iger Jahre, großtechnische Anwendung in der Ozon- und Acetylenherstellung. Heute finden sich plasmaphysikalische Großinstitute in den USA, der UdSSR, Japan, England, Frankreich, Holland, Italien und Deutschland, deren Forschungsschwerpunkt im Bereich der Kernfusion liegt. Darüber hinaus erfährt das plasmaphysikalische Verfahren mittlerweile, beispielsweise im Bereich der der Strahlungserzeugung (insbesondere UV-Strahlungsquellen) und der Plasmachemie (z.B. Ozonerzeugung, Schadstoffabbau) ein breites Anwendungsgebiet. Weiter kommt es in Plasmabildschirmen, bei Oberflächenbehandlungen oder als Anregungsquelle in Gaslasern zum Einsatz. Allerdings birgt die Plasmatechnik ein weitaus größeres Potential, zumal sie heute als Schlüsseltechnologie in vielen Bereichen der Industrie neue Herstellungsverfahren ermöglicht. Darüber hinaus hat sie sich in der Medizin bei Sterilisationsprozessen von Oberflächen bewährt.

2.5 Funktionsprinzip der Plasmasterilisation

Der prinzipielle Aufbau einer DBE ist unabhängig von ihrem Einsatzgebiet immer gleich. Sie besteht aus zwei Elektroden, zwischen denen sich mindestens ein Dielektrikum befindet. Als Dielektrikum können Gläser, Quarze, und Keramiken dienen. Der Elektrodenabstand kann zwischen einigen Hundert µm und wenigen cm variieren (KUNZE K., 2001). Auch für die Anordnung der Dielektrika gibt es verschiedene, planare oder auch zylindrische, Möglichkeiten. Plasmen sind komplexe Systeme, deren verschiedene Bestandteile interagieren. Plasma wird auch als 4. Aggregatzustand der Materie bezeichnet. Prinzipiell handelt es sich um ein gasförmiges Gemisch aus Ionen, Elektronen und soweit noch vorhanden, elektrisch neutralen Neutronen, das bestimmte Konzentrationen, Ladungen und Frequenzen aufweisen muss (JANZEN, 1992). Ein Plasmafeld kann beispielsweise als elektrische Gasentladung erzeugt werden. Als Vorraussetzung hierfür müssen zwischen zwei Elektroden geladene Teilchen vorkommen, an denen die elektrischen Felder angreifen und eine sprunghafte Vermehrung der Ladungsträger hervorrufen können. Freie Elektronen werden beschleunigt und können bei Überschreiten einer Schwellfeldstärke Atome oder Moleküle anregen und ionisieren. Freigesetzte Elektronen werden wiederum beschleunigt und es kommt zu einem lawinenartigen Anstieg der Elektronendichte. Bei Überlappung mehrerer Lawinen baut sich ein Entladungskanal mit hoher Leitfähigkeit auf, was zur Ausbildung eines Funkens oder Bogens führt. Derartige Entladungen führen bei Vorhandensein metallischer Elektroden im weiteren Verlauf des Stromflusses zu einer Aufheizung des Gases. Es entsteht ein Plasma im lokalen thermischen Gleichgewicht. Je nach Anwendung können reine Edelgase, Edelgas/Halogen-Mischungen oder Luft als Plasmagase eingesetzt werden (KUNZE K., 2001). Es können, abhängig von der Spannung, sehr verschiedene Plasmen erzeugt werden (JANZEN, 1992). Dabei spielen die Abstände der Ladungsträger eine entscheidende Rolle. Zwischen den Elektroden wird mittels Radiofrequenzen ein elektrisches Feld aufgebaut. Das Gas wird ionisiert und Elektronen sowie Ionen lagern sich an der Anode bzw. der Kathode an. Es entsteht eine Spannung, die der angelegten Spannung entgegengerichtet ist. Die daraus resultierende Gesamtspannung ist zu gering und das Plasma erlischt. Im nächsten Zyklus wird die angelegte Spannung umpolarisiert, sodass sie durch die induzierte Spannung verstärkt wird. Die Elektronen und Ionen lagern sich wieder an den Dielektrika an, die Spannung wird reduziert und das Plasma erlischt. Die Entladungszyklen werden solange aufrecht gehalten, wie Umpolarisierungen der Elektroden, erzeugt durch die angelegte Wechselspannung, stattfinden. Innerhalb von wenigen (1-10) ns werden Mikroentladungen mit der Elektrodenladung reduziert. Ein Plasma kann nur aufrechterhalten werden, wenn Ladungswechselwirkungen auftreten, also die Zahl der zufälligen, elastischen Stöße der Teilchen mit den Elektronen und Ionen stimmt. Treten keine Ladungswechselwirkungen auf, so erlischt das Plasma und ein Gas bleibt zurück (JANZEN, 1992).

Das von dem für die Untersuchungen von der FA. ULTRAKAT PLASMATECHNIK AG, GAGGENAU, zur Verfügung gestellten Plasmareaktor erzeugte Plasmafeld wird als Nicht Thermisches Plasma (NTP) bezeichnet. Durch das Vorhandensein mindestens einer dielektrischen Barriere im Gasraum wird das interne Feld, auf Grund von lokalen Anhäufungen von Ladungen an den Dielektrikoberflächen soweit reduziert, dass die Entladung wieder erlischt. Ein thermisch relaxierendes Plasma mit heißem Funken und Bogen bleibt aus. Die Energieeinkopplung in das Schadgas kann von außen durch Anlegen einer gepulsten Spannung über die Spannungsamplitude, Frequenz und Druck bestimmt werden. Die Tatsache des thermischen Nichtgleichgewichts ist für die Behandlung von Schadgasen sehr wichtig. So wird, bei geeigneter Kühlung, eine Behandlung nur wenig über Raumtemperatur möglich. Die bekannten Schwierigkeiten thermischer Verfahren bleiben daher aus (ULTRAKAT, 2005).

Seid Jahren wird die Plasmatechnik zur Beseitigung von Schadstoffen in der Gasphase erforscht. Die FA. ULTRAKAT hat insbesondere die Entwicklung und Anwendung von elektronischen Einheiten bis in den Kilowatt-Bereich eingeführt. Der zu untersuchende Reaktor erzeugt zwischen den Elektroden Spannungen von 1-10 kV mit Frequenzen von 2-30 kHz. Als Dielektrikum werden Keramikplatten verwendet. In Abb. 1 ist der Aufbau eines NTP-Plattenreaktors schematisch dargestellt.



Abb. 1: Schematischer Aufbau eines NTP Plattenreaktors mit Dielektrika und Elektroden. R. Kosch, Präsentation BTU, 2005

Der Abstand der Dielektrika der für die Untersuchungen verwendeten Reaktoren beträgt 5 mm. Die Anzahl der Reaktionskammern variiert zwischen 8 (Laborversuche) und 16 (Behandlung der gesamten Abluft), je nach Leistung, Durchflussvolumen und Erkenntnisstand in den jeweiligen Untersuchungsabschnitten. Die Entladungen werden im aktiven Reaktor durch Lichtbögen sichtbar (vgl. Abb.2).



(a)

(b)

Abb. 2: (a) Plasmaentladung im Plattenreaktor (Glimmentladungen); Homepage UlraKat Plasmatechnik (b) Aktives Plasmafeld eines NTP Plattenreaktors mit 400 W; R. Kosch, Präsentation BTU, 2005 Die Untersuchungen zum Wirkungsgrad der Plasmasterilisation und deren Anwendung zur Oberflächensterilisation begannen Anfang der 90iger Jahre (ROTH, 2001). Theorien und Beobachtungen besagen, dass die Plasmaaktivität zelluläre, lethal wirkende Veränderungen bei den Mikroorganismen hervorruft. Naheliegend ist hier zunächst, dass die hohe elektrische Feldstärke sowie die vom Plasmareaktor generierten freien Ionen und Elektronen eine mikrobiozide Wirkung hervorrufen. Zusätzlich entstehen aus dem Trägergas radikale Substanzen, wie atomarer Sauerstoff, Ozon und Stickoxide, die die für Organismen essentiellen Moleküle, wie Fettsäuren, DNA und Proteine direkt oxidieren (WISEMANN, HALLIWELL, 1996). Weiter werden als Folge chemischer Reaktionen mit plasmainduzierten Radikalen, leicht flüchtige Zellkomponenten freigesetzt. Ein weiterer Faktor ist die Zerstörung der Nukleinsäuren durch plasmainduziertes UV-Licht. (MOISAN, et al. 2001). Als Folgen für die Zelle treten devitalisierende bis lethale Modifikationen im molekularen Zellgefüge auf (KOWALSKI ET AL, 1998).

Prinzipiell gelten diese allgemein gültigen Wirkmechanismen auf Keime auch für luftgetragene Mikroorganismen. Sind die Mikroorganismen nicht an andere Partikel assoziiert, bieten sie sogar eine optimale Angriffsfläche, da ihre gesamte Oberfläche für die oxidierenden Moleküle frei zugänglich ist. Ein Großteil des Keimbestandes liegt in Zell-/Staubagglomeraten vor, die im Plasmafeld allerdings zerschlagen werden und somit eine Vereinzelung der Keime begünstigt wird. Somit wird eine Steigerung der Effektivität wahrscheinlich. Unterstützt wird diese Theorie durch Untersuchungen von HURY et al. (1998). Dieser stellte fest, dass geringere Oberflächendichten von immobilisierten *Bacillus subtilis*-Sporen effizienter zerstört wurden, als hohe Sporendichten, wenn die Zahl der exponierten Sporendichten in beiden Fällen gleich war.

Im Gegensatz zur Oberflächendesinfektion, die bereits konventionell angewendet wird (MECKE, 1992; BORNESS, FÄRBER, 1993), können Mikroorganismen bei der Luftentkeimung allein aus praktischen Gründen, beispielsweise im strömenden Gas des Abluftschachtes, oft nur kurzzeitig exponiert werden. Für eine effiziente Luftentkeimung ist jedoch die Expositionszeit der Organismen mit den bakteriziden Substanzen aus der Plasmaphase ausschlaggebend (KELLY-WINTERBERG, 1998).

3 Material und Methoden

Die Untersuchungen sind in zwei Aufgabengebiete gegliedert. Zum Einen wurden am ITTN Laboruntersuchungen zur Erfassung betriebstechnischer Spezifika während des Anlagenbetriebes durchgeführt. Das Minderungspotential der Anlage wurde dabei an Indikatorkeimen untersucht. Zum Anderen wurden an einer Technikumsanlage Messungen mit Stallluft am FOSVWE durchgeführt. Auf stete Anpassungen der angewendeten Methodiken konnte aufgrund des bis dato unbekannten Systems nicht verzichtet werden.

3.1 Beschreibung der untersuchten Anlagen

3.1.1 Laboranlage am ITTN

Die für die Laboruntersuchungen am INSTITUT FÜR TIERHYGIENE, TIERSCHUTZ UND NUTZTIER-ETHOLOGIE (ITTN) der STIFTUNG TIERÄRZTLICHE HOCHSCHULE HANNOVER verwendete Anlage wurde von der ULTRAKAT PLASMATECHNIK GMBH, GAGGENAU zur Verfügung gestellt. Der Reaktor besitzt eine Leistung von 600 Watt und kann mit und ohne Katalysator betrieben werden. Der Luftstrom durch die Messstrecke kann im ersten Teil der Versuchsreihen (4.1.1.1-4.1.2.5) über einen Ventilator (vgl. Abb.3) auf 10-40 m³/h, im späteren Verlauf, in Konformität zu den Versuchen an der Technikumsanlage, über einen Seitenkanalverdichter (4.1.3-4.1.4) auf 30-100 m³/h eingestellt werden. Die gefilterte Abluft wird über ein Leitungssystem etwa drei Meter über dem Erdboden in die Außenluft entlassen. Für die Untersuchungen werden mittels eines medizinischen Verneblers (PARI TIA S) Bioaerosole von Versuchskeimen erzeugt und vor dem Reaktor in den Probenluftstrom eingebracht. Die Probenahme erfolgt mit All-Glass-Impingern (AGI 30) zunächst an drei vorgesehenen Probenahmestellen (P1, P2 und P3, Abb.3). Der Versuchsaufbau der Anlage am ITTN zu Beginn der Messreihen (4.1.1) wird in Abbildung 3 dargestellt.



- Abb. 3: Versuchsanlage und ihre Bau- und Beprobungsvorrichtungen am ITTN in Hannover (mit Ventilator).
 - P1: Probenahmestelle vor dem Reaktor,
 - P2: Probenahmestelle hinter dem Reaktor,
 - P3: Probenahmestelle hinter dem Katalysator

Um die einzelnen Wirkmechanismen des plasmaphysikalischen Verfahrens, wie chemische Nebenprodukte oder Hitzeentwicklung zu untersuchen und um eine Analogie zu den Messungen an der Technikumsanlage am FOSVWE zu gewährleisten, wurden im Verlauf der Untersuchungen diverse Modifikationen an der Anlage vorgenommen. Hierzu zählt der Einbau von Probenahmekassetten für eine isokinetische Probenahme, sowie der Umbau der Anlage zu einem Bypass-System mit einem weiteren Zugang für Bioaerosole in den Bereich hinter dem Reaktor (vgl. Abb. 4). Es werden eine Reihe von Untersuchungen der Wirkmechanismen des plasmaphysikalischen Verfahrens durchgeführt. Dabei werden folgende Mechanismen besonders betrachtet:

- Luftgetragene Nebenprodukte aus der Plasmaphase
- Temperaturverlauf in der Messtrecke
- Ozonentwicklung

Zu den einzelnen Bereichen werden verschiedene Versuchsreihen mit stetig gleichen Bedingungen (Durchfluss, Reaktorleistung, Probenahmedauer) durchgeführt, die im Folgenden beschrieben werden. Änderungen der Versuchsdurchführung werden stets beschrieben.

3.1.1 Physikalisch-chemische Charakterisierung des Plasmaumfeldes

3.1.1.1 Wirkmechanismus Temperatur

Wie eingangs beschrieben besteht das Plasmafeld aus elektrischen Entladungsprozessen. Solche Prozesse sind im Allgemeinen mit einer Änderung der Temperatur verbunden. Bei starker Erhöhung kann sich eine desinfizierende Wirkung entfalten. Es lag daher nahe, die Temperaturveränderung im Umfeld des Plasmas zu charakterisieren. Dafür werden die in der Anlage, während der plasmaphysikalischen Aktivität entstehenden Temperaturen mittels eines Einstichthermometers der FA. CONRAD ELEKTRONIC ermittelt. Es wird die Temperaturentwicklung des Probenluftstromes durch die Anlage an P3 (Abb.3) bis 50 Minuten nach Aktivierung des Plasmas gemessen. Weiter wird am selben Messpunkt das Abkühlverhalten des Probenluftstromes nach 30 minütiger Aktivität des Reaktors ermittelt. In einer weiteren Versuchsreihe soll der Versuch unternommen werden, die Temperaturen im Inneren des Plasmafeldes zu messen. Dafür wurde die Frontplatte des Reaktors entfernt und nach 30 minütiger Aktivität mittels eines Thermometers aus der Großindustrie, dass bis 1500°C geeicht ist, die Temperaturen bis 30 Minuten nach Inaktivierung des Plasmas aufgenommen. Die Leistung des Reaktors betrug bei einem Durchfluss von 40m³/h jeweils 600W.

3.1.1.2 Wirkmechanismus Ozon

Weiter sollten die in dem Energiefeld des Plasmareaktors entstehenden Radikale (Nebenprodukte), die die Oberflächenstruktur der Organismen angreifen und diese dadurch zerstören können, untersucht werden. Zu den wichtigsten Nebenprodukten zählt das Ozon (O₃), da es, wie bereits eingangs erklärt zu den Hauptmerkmalen eines Plasmafeldes zählt. Ozon ist in der hier vorliegenden Form stark bakterizid einzustufen. Es soll zunächst eine Bestimmung des anfallenden Ozongehaltes der Probenluft und der Impingerflüssigkeiten während und nach der Messungen erfolgen. Die Untersuchung der Wirkungsmechanismen des Plasmas werden innerhalb der ersten 15 Minuten nach Aktivierung durchgeführt, um eine mögliche keimtötende Wirkung der ansteigenden Temperatur der Luft zu minimieren.

Die Ozonkonzentration der Probenluft wird am aktiven Plasmafeld (600W) in der mit 40m³/h aus dem Reaktor strömenden atmosphärischen Luft hinter dem Reaktor mit einem kontinuierlich messenden Ozonmeßgerät (Ozomat GM-6000-Pro; FA. PEUS) gemessen. Die Messungen werden zu verschiedenen Laufzeiten des Reaktors wiederholt. Zusätzlich erfolgt die Ermittlung der Ozonkonzentration der Impingerflüssigkeit nach verschiedenen Messungen mit dem SPEKTROQUANT OZON-TEST der FA. MERCK. Dabei reagiert Ozon in Gegenwart von Kaliumiodid in schwach saurer Lösung mit Dipropyl-pphenylendiamin (DPD) zu einem rotvioletten Farbstoff. Die Ozonkonzentration in der Lösung wird dann auf Grund der Farbintensität photometrisch bestimmt. Das Verfahren ist analog DIN 38408 G3 und wird entsprechend der beiliegenden Gebrauchsanweisung durchgeführt.

3.1.1.3 Verifizierung des Wirkungsgrades Ozon

Die Erkenntnisse der physikalisch-chemischen Charakterisierung weisen darauf hin, dass das in der Plasmaphase entstehenden Ozon mit dem Probenluftstrom in die Impingerflüssigkeit gelöst wird und kann dort nachhaltig biozid auf die gesammelten Organismen wirken. Außerdem sind durch das Sammelverfahren mittels Impingement die Indikatorkeime beim Aufschlag auf die Sammelflüssigkeit und während der Verwirbelung in dieser innerhalb der Beprobungsdauer von fünf Minuten messmethodisch mechanischem Stress ausgesetzt. Dieser kann ebenfalls devitalisierend wirken. In einer Versuchsreihe mit vegetativen Zellen und Sporen von B. subtilis sowie mit Hefezellen soll sowohl der Effekt der Ozonisierung der Impingerflüssigkeit, als auch die Praktikabilität des Impingements selbst überprüft werden. Ein Vergleich der nach Perkolation mit Luft aus der inaktiven und nach der Perkolation mit der Luft aus der aktiven Plasmaphase, ermittelten Überlebensraten der Versuchskeime soll Aufschluss über den jeweiligen Wirkungsgrad geben. Die Impinger werden jeweils mit 12 ml satter Zelllösung der Indikatorkeime befüllt. Zu Beginn jeder Versuchsreihe werden aus den jeweiligen Zelllösungen Verdünnungsreihen auf spezifischen Nährböden kultiviert. Ein Teil der Impinger wird nun mit der Luft aus der inaktiven Plasmaanlage, die übrigen werden mit der Luft aus der aktiven Plasmaanlage perkoliert, erneut ausplattiert und kultiviert. So kann eine mögliche Keimreduktion durch mechanische und chemische Faktoren bestimmt werden. Die Perkolationen an der aktiven Anlage erfolgen ohne eine vorherige Aktivierungszeit, sodass die Temperatur in der Anlage gering gehalten wird.

3.1.2 Ausmaß der mikrobioziden Wirkung des Plasmas anhand exponierter Indikatorkeime

Die Erkenntnisse aus der pysikalisch-chemischen Charakterisierung deuten darauf hin, dass neben dem Plasma selbst verschiedenste Einflüsse auf die Probenluft einwirken. Hierzu zählen unter anderem anlagenbedingt das Ozon oder messmethodisch der Sammelstress. Dieses multifaktorielle Gefüge ist allerdings, auf Grund der Unbeeinflussbarkeit in weiten Teilen, als Gesamtwirkspektrum des plasmaphysikalischen Verfahrens anzusehen, zumal sie späteren Untersuchungen an der Technikumsanlage ebenfalls nur ein Komplettbild der Wirkfaktoren darstellen. Es galt deshalb Untersuchungen zum Reduktionspotential der Plasmaanlage mit definierten Modellkeimen anzustellen. Die folgenden Untersuchungen bilanzieren vorwiegend roh- und reingasseitige Konzentrationsunterschiede kultivierbarer Keime.

3.1.2.1 Überlebensrate vegetativer Zellen und Sporen von Bacillus subtilis

Für die Bilanzierung werden wässrig dispergierte vegetative Zellen bzw. Sporen in einer Konzentration von etwa 10⁸ Zellen/ml mittels eines medizinischen Verneblers (PARI TIA S) aerolisiert und über ca. 4 Min. vor dem Reaktor in den Probenluftstrom eingebracht. Die Reaktorleistung beträgt 600 Watt, der Luftstrom durch die Messstrecke beträgt 40 m³/h. Die Probenahme erfolgt über 3 Min. mit AGI 30-Impingern an den Probenahmestellen P1 (Referenz), P2 (direkt hinter dem Reaktor, vor dem Katalysator) und P3 (hinter dem Katalysator)(vgl. Abb.3). Nach der Kultivierung können die Zellzahlen qualitativ verglichen werden.

3.1.2.2 Überlebensrate vegetativer Zellen vom Typ *B. subtilis* bei aktivem und inaktiven Plasma

In Variation zu der Bilanzierung der Keimzahlen vor und hinter dem Reaktor, werden vergleichende Untersuchungen an der aktiven und der inaktiven Anlage durchgeführt. Dabei soll die Nachhaltigkeitswirkung etwaig entstehender Nebenprodukte erneut Beachtung finden. Der Anlagenaufbau wird für diese Versuchsreihen durch den roh- (P1k) wie reingasseitigen (P2k) Einbau von Probenahmekassetten variiert (vgl. Abb. 4). Die Kassetten sind baugleich sodass identische Probenahmeverhältnisse gegeben sind. Die Anlage wird über 30 Minuten aktiviert (600W), damit die Umsetzung der in der Luft befindlichen Teilchen durch das Plasmafeld gut ist. Es werden Aerosole vegetativer Zellen von *B. subtilis* in den Luftstrom (40m³/h) durch die aktive Anlage vernebelt und parallel in der roh- und der reingasseitigen Probenahmekassette mittels Impingement über einen Zeitraum von jeweils fünf Minuten gesammelt. Im Anschluss daran wird der Reaktor deaktiviert und die vernebelten Aerosole passieren den inaktiven Reaktor, sind aber den Nebenprodukten, wie Anlagentemperatur und etwaige bioziden Substanzen in der Probenluft, weiter ausgesetzt. Erneut werden fünf Minuten lang, roh- und reingasseitig Impingerproben genommen. Kontrollmessungen, im Vorfeld der 30 minütigen Aktivierungsphase an der nicht aktiven, "kalten" Anlage sollen Aufschluss über sammeltechnische und impaktionsbedingte Verluste geben.

3.1.2.3 Überlebensrate von Hefezellen nach Inaktivierung des Reaktors

Die physikalisch-chemische Charakterisierung gab Hinweise darauf, dass neben der Wärmeentwicklung auch reaktive Substanzen entstehen können, die Einfluss auf die Überlebensfähigkeit von Mikroorganismen haben. In einer separaten Untersuchung wird die Überlebensrate von Hefezellen im Laufe der Zeit nach der Inaktivierung des Plasmafeldes betrachtet und so versucht zu prüfen, wie lange nach Inaktivierung eine Abtötung von Hefezellen durch die gasförmigen und somit leicht flüchtigen Nebenprodukte des Plasmas erreicht wird. Es wird bei diesem Versuch auf ein 30 minütiges Aufheizen der Anlage, wie bei den Untersuchungen zum Temperatureinfluss geschehen, verzichtet, um den Faktor Temperatur als Wirkungsquantum hier zu minimieren. Es wird eine kurze Aktivierungsphase von 10 Minuten vor Versuchsbeginn eingehalten, um optimale Plasmabedingungen zu erzeugen. Dazu werden Hefeaerosole in der bereits beschriebenen Form hergestellt und über einen Zeitraum von 20 Minuten in die Messstrecke vernebelt und reingasseitig mittels Impingement jeweils über die Dauer von fünf Minuten aufgesammelt. Es werden je Versuchsreihe eine Messung am aktiven Plasma und drei nach Inaktivierung durchgeführt. Über Kultivierung wird die Zahl der KBE/ml der einzelnen Impingermessungen ermittelt.

3.1.2.4 Quantitative Abschätzung der mikrobioziden Wirkung des Plasmas und plasmabedingter Nebenprodukte auf Hefezellen

Die bilanzierenden Ergebnisse aus den vorangegangenen Untersuchungen sollen durch quantitative Untersuchungen bestätigt werden. Um eine Abschätzung der mikrobioziden Wirkung des Plasmas zu erhalten, wurden Untersuchungen an Hefezellen mit Bestimmung der Gesamtzellzahl durchgeführt. Auch hier soll der Einfluss der multifaktoriellen Nebenprodukte Beachtung finden. Es werden Hefeaerosole mit einem Titer von 10⁸ Zellen/ml hergestellt und zunächst nach Vernebelung als Kontrolle bei inaktivem Plasma reingasseitig aufgefangen. Anschließend werden in Versuchsreihen bei aktivem Plasma (600W) und direkt nach Ausschalten des Plasmas über einen Zeitraum von jeweils fünf Minuten Keime im Impinger aufgefangen und die KBE/ml der Proben durch Kultivierung ermittelt. Für die quantitative Bestimmung wurde zunächst die Gesamtzellzahl der in den Impingern aufgefangenen Keime über eine fluoreszenzmikroskopische Auszählung bestimmt (vgl. 3.3.4). Von der Gesamtzellzahl wurden die bereits tot vernebelten Zellen subtrahiert (Diese Werte sind aus Kontrollmessungen ohne Plasma erhoben worden und werden prozentual abgezogen). Im Anschluss daran kann die prozentuale Überlebensrate errechnet werden.

3.1.4 Bypass-System im Modellversuch

Die bisherigen Erkenntnisse weisen auf die große Rolle der plasmabedingten Nebenprodukte (z.B. Wärmeentwicklung, Ozon) hin. Erneute Umbaumaßnahmen machen Untersuchungen mit steter indirekte Behandlung der Versuchskeime durch die Nebenprodukte aus der Plasmaphase über eine Art Bypass möglich. Die Organismen können über eine neue Öffnung (im Folgenden Bypass genannt) in die Luftführung hinter dem Reaktor eingebracht werden. Bei aktivem Plasma sind sie so stetig den etwaig bioziden Nebenprodukten ausgesetzt, ohne das Plasmafeld passieren zu müssen. Die für das Bypass-System notwendigen baulichen Veränderungen sind in Abbildung 4 dargestellt.


Abb. 4: Versuchsanlage mit Bypass am ITTN in Hannover (mit Ventilator). P2: Probenahmekassette reingasseitig,

Um einen Bypass zu erzeugen wurde zunächst der Katalysator entfernt. Das Gehäuse des Katalysators erhielt einen Zugang, der mit den verwendeten Rohrleitungen fest verbunden werden kann. Raumluft wird wie in den bisherigen Versuchen durch den Reaktor geleitet und in dem Plasmafeld aktiviert, sodass es reaktive Gase, wie Ozon mit sich führt. Über den Bypass ist es möglich, die von dem Vernebler erzeugten Bioaerosole der für diese Versuche verwendeten Hefezellen in den Luftstrom hinter dem Reaktor zu leiten. Die Zellen werden so mit der aktiven Luft verbunden und indirekt den, im Plasmafeld erzeugten, Nebenprodukten ausgesetzt. Die Keime werden mittels Impingement in der reingasseitigen Probenahmekassette gesammelt und aufgearbeitet. Durch die Ermittlung der Gesamtzellzahl mittels Fluoreszenzmikroskopie (vgl. 3.3.4) und die Zählung der KBE/ml nach Kultivierung der Zellen (vgl. 3.3.2) kann die jeweilige Abtötungsrate errechnet werden. Für eine Bilanzierung werden die unter 4.1.3 erhaltenen Abtötungsraten vegetativer Zellen vom Typ *B. subtilis* sowie von Hefezellen bei direkter und indirekter Behandlung an dem hier dargestellten Anlagenaufbau miteinander verglichen. Abbildung 5 zeigt den schematischen Aufbau des Bypass-Systems am ITTN.



Abb. 5: Schematische Darstellung der Versuchsanordnung mit Bypass-System am ITTN mit reingasseitiger Probenahmekassette.

3.1.5 Verifizierung des Kofaktors Temperatur mit Hefezellen

Wie bereits beschrieben sind die Indikatorkeime bei der Passage der Anlage multifaktoriellen Einflüssen ausgesetzt. Unter anderem wird durch das Plasmafeld eine Temperatuänderung induziert. Etwaige hohe Temperaturen können eine desinfizierende Wirkung entfalten. Es erscheint daher sinnvoll das Wirkspektrum auf die Variablen Temperaturerhöhung und Passage durch den Anlagenaufbau zu reduzieren, um den Wirkungsgrad der aus diesen Kofaktoren resultiert, zu untersuchen. Die Plasmaanlage wird mit Hilfe eines Haartrockners über den Bypass erhitzt. Die Hefezellen passieren die inaktive aber erhitzte Anlage und werden in der Probenahmekassette mittels Impingement gesammelt. Durch Ermittlung der Abtötungsrate aus Gesamtzellzahl und KBE/ml kann ein quantitativer Vergleich zwischen Passagestress und Passagestress in Verbindung mit Hitzestress angestellt werden. Die Ergebnisse sind in 4.1.4 dargestellt. Weitere Ergebnisse im Bereich der Temperaturmessung an der Anlage am ITTN finden sich in 4.1.1.1.

3.1.6 Mikrobiozide Wirkung des Plasmas bei minimierter die Entstehung von Ozon

Wie eingangs beschrieben stellt die Entstehung von Ozon eines der Hauptmerkmale des plasmaphysikalischen Verfahrens dar. Die biozide Wirkung des bei der Versuchsanordnung entstehenden Gases wurde in Untersuchungen bestätigt. In einem separaten Versuch soll der Ozongehalt der Probenluft herabgesetzt werden, um Ozon als wesentlichen Inaktivierungsfaktor für Mikroorganismen ausschließen zu können. Hierzu ist es notwendig den atmosphärischen Sauerstoff durch eine Art Schutzgas zu ersetzen, sodass kein Ozon mehr gebildet werden kann. Zu diesem Zweck wird die Probenluft größtenteils durch Stickstoff ersetzt. Es wird soviel Stickstoff beigemischt, bis hinter dem Reaktor mit dem Ozomat (Ozonmessgerät der FA. PEUS) kein Ozon mehr nachweisbar ist.

Aus den hiesigen Versuchen werden die KBE durch Ausplattieren auf spezifischen Nährböden, die Gesamtzellzahl und die Todzellzahl durch Färbung und Messung im Durchflusscytometer FACSCAN, BECTON DICKINSON, dargestellt. Die Versuchskeime wurden durch das Plasmafeld geleitet und in der hinteren Probenahmekasssette mit Impingern gesammelt. Für orientierende Untersuchungen wurden je Versuchskeim fünf Proben ohne Stickstoff und mit Plasma und fünf mit Stickstoff, Plasma und nicht nachweisbaren Ozongehalt in der Probenluft durchgeführt. Als Kontrollmessung wurden pro Versuchskeim jeweils zwei Vernebelungen ohne Stickstoff und ohne Plasma durchgeführt. Als Versuchskeime dienten auch in dieser Versuchsreihe vegetative Zellen und Sporen von *Bacillus subtilis* sowie Hefezellen. Die Ergebnisse sind in Abbildung 23 dargestellt.



Abb. 6 Versuchsanlage und ihre Bau- und Beprobungsvorrichtungen für die Untersuchungen mit Stickstoff am ITTN in Hannover. P2: Probenahmekassette reingasseitig Abbildung 6 zeigt den Aufbau der plasmaphysikalischen Laboranlage am ITTN für die Untersuchungen in Stickstoffatmosphäre. Der Anlagenaufbau wird in Abbildung 7 schematisch dargestellt.



Abb. 7 Schematische Darstellung des Anlagenaufbaus für die Untersuchungen mit Stickstoff am ITTN in Hannover.

Für die Versuchsreihen werden die Bauteile Reaktor und Bypass getauscht. Die Modifikation des Anlagenaufbaus ermöglicht so über den Bypass eine Zufügung der Bioaerosole in das Luftsystem hinter dem Reaktor. Sie werden in der reingasseitigen Probenahmekasssette (P2k, Abbildung 6) mit Impingern gesammelt. Der in Analogie zu den Versuchsreihen an der Technikumsanlage am FOSVWE eingebaute Seitenkanalverdichter wird auf eine Luftmenge von 40m³/h eingestellt. Über einen Luftschlauch wird der Stickstoff in die Luftzuführung des Seitenkanalverdichters eingeleitet. Dabei wird der Druck des ausströmenden Gases soweit erhöht, bis, bei aktivem Plasma, hinter dem Reaktor kein Ozon mehr messbar ist. Die Abluft wird nach wie vor in ca. 3 m über dem Erdboden in die Außenluft entlassen. Als Kontrollmessung werden Vernebelungen der Versuchskeime ohne Stickstoff und ohne Plasma durchgeführt. Die Ergebnisse sind in 4.1.5 dargestellt.

3.2 Untersuchungen unter praxisnahen Bedingungen

3.2.1 Technikumsanlage am FOSVWE

Praxisnahe Untersuchungen von Stallabluft konnten die unter weitestgehend standardisierten Laborbedingungen durchgeführten Untersuchungen ergänzen.

Hierzu wurden mittels einer Technikumsanlage am FORSCHUNGSZENTRUM FÜR VEREDLUNGSWIRT-SCHAFT WESER EMS (FOSVWE) der GEORG AUGUST UNIVERSITÄT GÖTTINGEN Untersuchungen durchgeführt. Hier wurde ein Plasmareaktor der Fa. ULTRAKAT PLASMATECHNIK GMBH, GAGGE-NAU mit einer Leistung von bis zu 1500 Watt installiert. Die Pumpleistung des verwendeten Seitenkanalverdichters konnte zwischen 30 und 100m3/h variiert werden. In dem Stall befanden sich in drei Durchgängen je zehn bis zwölf Mastschweine in den letzten vier Wochen der Mastperiode, in der sie ein Körpergewicht von je 80 kg bis 110 kg aufwiesen. Im Anschluss daran wurden drei komplette Mastdurchgänge durchgeführt. In diesen Durchgängen wurden zur besseren Vergleichbarkeit der Ergebnisse mikrobiologische Messungen nur in den letzten vier Wochen vorgenommen. Der Aufbau der Technikumsanlage für die ersten Versuchsreihen ist in Abbildung 8 dargestellt. Zunächst wurden Untersuchungen an einem Teilstallluftstrom durchgeführt. Dazu wurde direkt aus dem benachbarten Versuchsstall Probenluft über ein ca. acht Meter langes Leitungssystem aus PVC-Druckrohr mit einem Innendurchmesser von 33mm zur der Anlage geführt (vgl. Abb. 10). Im weiteren Verlauf wurden an diesem Teilstallluftstrom Untersuchungen mit einem Bypasssystem durchgeführt. Schließlich wurde das System an den Abluftschacht angeschlossen und die Behandlung der gesamten Stallabluft untersucht. Die einzelnen Versuchsaufbauten werden im Folgenden mit den notwendigen Umbaumaßnahmen eingehend beschrieben.



Abb. 8: Aufbau der plasmaphysikalischen Anlage am FOSVWE. Die Probenahmestellen vorm und hinterm Reaktor sind durch P1 (Rohgas) und P2 (Reingas) gekennzeichnet.

In dem ersten Versuchsteil an der Technikumsanlage am FOSVWE wurde ein Teilluftstrom von 40 – 100 m³/h aus dem Stall durch den Reaktor geleitet. Die mikrobiologischen Untersuchungen wurden zunächst an den dafür vorgesehenen Probenahmestellen direkt vor (P1, Abb. 8 und Abb. 9) und hinter (P2, Abb. 8 und Abb. 9) dem Reaktor mit dem AGI 30 – Impinger vorgenommen. Dabei wurden pro Messdurchgang jeweils zwei Impinger parallel mit derselben Pumpe betrieben, was eine Bilanzierung der roh- und reingasseitigen Proben ermöglicht. Die Pumpleistung der verwendeten Doppelhubpumpe beträgt 11,5l/Min. Die gesammelten Proben werden durch Kultivierung auf spezifischen Nährböden ausgewertet (vgl. 3.3.2). Ergebnisse der mikrobiologischen Erfassung des Keimspektrums werden in 4.2.1 dargestellt. Parallel zu der mikrobiologischen Untersuchung sollen Staubmessungen der Probenluft vorgenommen werden. Hierfür werden roh- und reingasseitig mit Staubmessgeräten (IAQ DUST MONITOR, 1.109 DER FA. GRIMM AEROSOLTECHNIK GMBH, AINRING) in dafür vorgesehenen Probenahmekassetten Staubmessungen vorgenommen werden. Die in den Anlagenaufbau integrierten Probenahmekassetten haben einen Durchmesser von 0,14m und sind 1m lang. Der Aufbau der Versuchsanlage ist in Abbildung 9 schematisch dargestellt.



Abb. 9: Schematische Darstellung des Aufbaus der plasmaphysikalischen Anlage am FOSVWE zu Beginn der mikrobiologischen Untersuchungen. Die Probenahmestellen vorm und hinterm Reaktor sind durch P1 (Rohgas) und P2 (Reingas) gekennzeichnet.

Es traten bei der Luftprobenahme diverse Schwierigkeiten auf, da an den vorgesehenen Probenahmestellen keine Isokinetik erreicht werden konnte. Der von der Pumpe erzeugte Sog durch die Impinger reichte nicht aus, um Partikel oder Keime aus dem Probenluftstrom zu ziehen. Aufgrund dieser Schwierigkeiten bei der mikrobiologischen Probenahme wurde diese in die Messkassetten, die für die Staubmessung vorgesehen waren, verlegt (im Folgenden P1k, rohgasseitig; P2k, reingasseitig), da hier durch das größere Raumvolumen geringere Strömungsstärken auftreten. Weiter wird der provisorische Kühlschlauch (Abb. 8) durch einen Wasserkühler ersetzt, der die in der Anlage entstehenden Temperaturen reduzieren soll (vgl. Abb. 9).

Die Probenahme in den Messkassetten wird zunächst mit den Sonden der Partikelzählgeräte durchgeführt. Um allerdings eine isokinetische Probenahme mittels der AGI 30-Impinger und der damit vorgegebenen Sauggeschwindigkeit zu gewährleisten, sind Glastrichter angefertigt worden, die für verschiedene Strömungsgeschwindigkeiten eingesetzt werden können. Die Probenahme erfolgt parallel roh- und reingasseitig. An sechs Messtagen wurden über jeweils 30 min insgesamt 22 Messungen durchgeführt. Die Reaktorleistung betrug zwischen 1200 W und 1400 W und der Volumenstrom der Stallluft durch den Reaktor 50 - 80 m³/h. Es wurden insgesamt sechs Kontrollmessungen im Stall durchgeführt.

Die Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen der Impingerflüssigkeiten, die in den Messkassetten der Technikums-anlage mit Teilstallluft betrieben worden sind in 4.2.1.3 dargestellt.

Insgesamt stellt sich dieses System aus mikrobiologischer Sicht von Anfang an als fragwürdig dar. Der Aufbau der Anlage ist zwar für physikalische Messungen geeignet, für mikrobiologische Untersuchungen ist allerdings bereits die Luftzuführung hinderlich. Der größte Teil führt über Kunststoffrohre mit einem Innenurchmesser von 0,033 m. Der Luftstrom durchfließt vor dem Eintritt in den Plasmagenerator sechs Bögen mit einem Winkel von jeweils 90° (vgl. Abb.10b). An diesen Bögen kann es strömungsbedingt zu Ablagerungen des Stallstaubes und den darin inkorporierten Mikroorganismen kommen. Allein dieser Vorgang schöpft einen Teil der aus dem Stall herausströmenden Keime. Solche vormals im Rohrsystem der Anlage impaktierten Keime können später durch strömungsmechanische Kräfte als Keimcluster abgelöst werden, was zu einem nicht zu vorhersehenden Anstieg der Keimausbeuten während der Probenahme führen kann. Dieser Vorgang kann zu deutlichen Variationen der Gesamtkeimkonzentrationen aus den rohgasseitigen Parallelmessungen führen, auch wenn die Rahmenbedingungen der Einzelversuche ansonsten einheitlich eingestellt wurden. Zusätzlich kann es auf Grund der Größenunterschiede der einzelnen Bauteile zusätzlich zu Verwirbelungen der Probenluft kommen, die eine gleichförmige Probenahme erschweren. Auf Grund der Leistung des Reaktors, der einer bestimmten Durchsatzrate bedarf, kann die Strömungsgeschwindigkeit in dem Leitungssystem nicht weiter gesenkt werden, was eine isokinetische Probenahme deutlich erschwert sodass Variationen in der Keimausbeute zu erwarten sind.



Abb. 10: Anlagenaufbau im Nebenraum des Versuchsstalles mit den Bauteilen (von rechts): Seitenkanalverdichter, vordere Probenahmekassette, Reaktor, Katalysator, Kühler und hinterer Probenahmekassette (a). Rohrleitungssystem aus dem benachbarten Versuchsstall zur Technikumsanlage (unten links im Bild) (b).

Trotz dieser Schwierigkeiten im Anlagenaufbau wird davon ausgegangen, dass auf Grund der durchgeführten Veränderungen im Aufbau des Messsystems und der hohen Gesamtkeimzahl im Stall, auch quantitative Aussagen über eine Reduktion durch das hier eingesetzte plasmaphysikalische Verfahren getroffen werden können.

3.2.2 Untersuchungen an der Technikumsanlage mittels Filtration

Um die Sammeleffizienz der hier in erster Instanz gewählten Impingermethode besser einschätzen zu können, werden Vergleichsmessungen mittels der in 3.3.1 beschriebenen Filtrationsmethode durchgeführt, indem Beprobungen in den roh- und reingasseitigen Messkassetten am aktiven und inaktiven Plasma erfolgen.

Neben der bereits geschilderten Probenahmetechnik für das Impingement wird nunmehr in den Probenahmekassetten (P1k und P2k) je eine IOM-Kapsel, bestückt mit einem Polycarbonatfilter (Porengröße von 0,8 µm), befestigt. Die Ansaugöffnung der IOM-Kapsel wird parallel zum Luftstrom in den Kassetten ausgerichtet, wobei sich eine Ansauggeschwindigkeit von 0,05 m/sec bei einer IOM-Flussrate von 2,5 l/min einstellt. Wie für das Impingement, werden parallele Roh- und Reingasmessungen mit der Filtrationsmethode vorgenommen. Insgesamt wurden an sechs Versuchstagen 18 Messungen mittels Filtration auf Polycarbonatfiltern durchgeführt. Pro Versuchstag wurde jeweils eine Kontrollmessung am inaktiven Plasma gesammelt. Zunächst wurde die Keimausbeute dieser Sammelmethodik in Vorversuchen an roh- und reingasseitiger Position überprüft. Dafür wurden Messungen bei 70m³/h bzw. 31m³/h und einer Reaktorleistung von 560 W für die Dauer von jeweils 90 Min. durchgeführt. Messungen mit geringerer Dauer erbrachten im Vorfeld keinen mikrobiologischen Keimnachweis durch Kultivierung auf Nährböden. Es schlossen sich zwei Messtage an, bei denen die Generatorleistung des aktiven Plasmas auf 1200 W erhöht und die Durchflussgeschwindigkeit roh- und reingasseitig zwischen 40m³/h und 70m³/h variiert wurde. Weiter wurde eine Kontrollmessung über die Dauer von 120 Minuten durchgeführt. Die gesammelten Partikel werden anschließend, wie in 3.3.2 beschrieben in Lösung gebracht und durch Kultivierung auf Nähragarplatten ausgewertet. Die Ergebnisse sind in 4.2.1.5 dargestellt.

3.2.3 Bypass-System am FOSVWE

Die Erkenntnisse aus den Laboruntersuchungen haben gezeigt, dass die Nebenprodukte des plasmaphysikalischen Verfahrens (z.B. Wärmeentwicklung, Entstehung von Ozon) eine zentrale Rolle bei der Inaktivierung von Mikroorganismen spielen. Um zu untersuchen wir groß die abtötende Wirkung des Plasmafeldes (direkte Wirkung), bzw. die der darin entstehenden Substanzen (indirekte Wirkung), auf die Mikroorganismen ist, wurde in Analogie zu den Laborversuchen ein Bypass-System entwickelt (vgl. Abb. 11). Hierzu wurde zunächst der Katalysator entfernt und an das leere Gehäuse ein Luftzuleitungsstück angebracht. Über ein Ventilsystem kann über die bisher verwendete Zuleitung (Zuluft 1, Abb. 11) Frischluft durch den Reaktor geleitet werden, die im Plasmafeld oxidiert wird. Hinter dem Reaktor kann an der neu angebrachten Zuleitung (Zuluft 2, Abb. 11) durch einen weiteren Seitenkanalverdichter, Stallluft beigemengt werden, die dann mit der oxidierten Frischluft reagiert und so indirekt mit dem plasmaphysikalischen Verfahren behandelt wird. Die Probenahme erfolgt in den Probenahmekassetten. Die eingeleiteten Luftmengen und -arten können so variiert werden, dass auch Messungen an Stallluft, die über Zuluft 1 durch den Reaktor geleitet wird, erfolgen können. Ihr wird dann über Zuluft 2 Frischluft im Bypass zugeführt. Der Aufbau des Bypass-Systems ist in Abbildung 11 schematisch dargestellt.



Abb. 11: Schematische Darstellung des Aufbaus des Bypass-Systems am FOSVWE. Es kann jeweils durch Zuluft 1 und Zuluft 2 zwischen Frischluft und Stallluft variiert werden.

Es ist bei der Variation von Stallluft und Frischluft darauf zu achten, dass stets dieselbe Luftmenge durch das System geleitet wird. Es wird eine Gesamtdurchflussrate von 70m³/h angestrebt, die sich auf 30m³/h im Reaktor und 40m³/h im Bypass verteilt. Die jeweils verwendeten Luftmengen müssen bei der Berechnung der Ergebnisse berücksichtigt werden. Die Messdauer beträgt, bei einer Reaktorleistung von 560 W, in allen Fällen 30 Minuten. Es werden Kontrollmessungen im Stall sowie eine Beprobung der Frischluft vorgenommen. Neben der Bestimmung der KBE/m³ wird auch die Gesamtzellzahl/m³ über Färbung mit PI und Auszählung unter dem Fluoreszenzmikroskop bestimmt. Diese Verfahren werden 3.3.2 und 3.3.4 beschrieben. Die Ergebnisse sind in 4.2.1.6 dargestellt.

3.2.4 Behandlung der gesamten Stallabluft mit reaktiven Gasen aus dem Reaktor

In einem weiteren Untersuchungsabschnitt wird die gesamte Stallabluft direkt und indirekt mit dem plasmaphysikalischen Verfahren behandelt. Das Abluftsystem des Stalles leitet durch einen Ventilator, der sich im Ansaugbereich des 0,5m breiten Abluftschachtes befindet, Stallluft über diesen in den Außenbereich. Der Abluftkanal verläuft dabei ca. 2,5m durch den Stall, daran schließen sich zwei 45° Biegungen an, die die Abluft schließlich an der Fassade des Gebäudes entlang in ca. 1m über Dachhöhe (in insgesamt ca. 9m Höhe) in die Außenluft abgeben. Der gesamte Abluftkanal hat eine Länge von ca. 13 Metern.

Die Leistung des Ventilators ist automatisch geregelt und kann bis zu 1500m³/h erreichen. Der Versuchsaufbau und die Luftwegführung sind in Abbildung 12 schematisch dargestellt.



Abb. 12: Schematische Darstellung der Versuchsanordnung für die Beprobung der gesamten Stallabluft.

Messungen direkt am Abluftschacht haben den Vorteil, dass weniger strukturierte Hindernisse im Strömungsverlauf auftauchen und daher mit einer geringeren Einflussnahme durch Impaktion oder Verwirbelungen auf die partikulären Luftinhaltsstoffe gerechnet werden kann, so dass die gezeigten deutlichen Unterschiede zwischen den Keimkonzentrationen der Stallluft und der stalllufthaltigen Rohluft zum Plasmareaktor weniger deutlich ausgeprägt sein sollten. Die Messungen wurden sowohl mit den AGI 30 Impingern als auch mit der Filtrationsmethode (IOM-Kapseln) durchgeführt. Zur Kontrolle werden Roh- und Reingasproben ohne Betrieb des Plasmareaktors genommen. Die Wirksamkeit des Reaktors wurde bei zwei Leistungsstufen (1250 W und 2500 W) untersucht. Im Stall selbst werden zudem Referenzmessungen durchgeführt.

Für die Untersuchungen wird ein Reaktor mit 2x1500 Watt an das Abluftsystem des Versuchsstalles angeschlossen. Über ein Rohrsystem werden ca. 500m³/h Probenluft direkt aus dem vorderen Bereich des Abluftschachtes herausgesogen und durch den Reaktor geleitet. Die behandelte Luft wird direkt im Anschluss wieder der Abluft zugegeben (vgl. Abb.12, rote Linie). Der Reaktor wird, um lange Wegstrecken der Probenluft zu vermeiden, im Nebenraum des Stalles auf gleicher Höhe des Abluftschachtes montiert. Die Probenahme erfolgt an zwei Messpunkten roh- und reingasseitig. Der Bereich des Abluftkanals hinter dem Ventilator ist durch starke Turbolenzen gekennzeichnet. Zusätzlich werden durch die Ansaugung (ca. 0,7m hinter dem Ventilator) der Luft, die durch den Reaktor geleitet wird, weitere Strömungen erzeugt, sodass rohgasseitig nur im Ansaugbereich des Ventilators bei konstanter Strömungsgeschwindigkeit der Luft Messungen erfolgen können (vgl. P1, Abb.10). Reingasseitig wurden etwa 1m unterhalb des Luftauslasses des Abluftschachtes in ca. 8 Metern Höhe mit Hilfe von Probenahmesonden in Form von Glastrichtern isokinetische Proben genommen (vgl. P2, Abb.10). Die Ergebnisse zu der direkten und indirekten Behandlung von der gesamten Stallabluft werden in 4.3 dargestellt.

3.3 Verfahren zur Bestimmung der Luftkeimkonzentration

3.3.1 Verwendete Probenahmesysteme

Als Messverfahren wurden aktive Probenahmemethoden gewählt. Von den am häufigsten verwendeten Verfahren, Impaktion, Impingement und Filtration wurden die beiden letztgenannten verwendet. Bei diesen Methoden kann eine definierte Luftprobenmenge pro Zeiteinheit bestimmt werden.

Das Messverfahren des Impingement, Abscheidung der luftgetragenen Bakterien, Sporen und Partikel aus der Luft in eine Sammelflüssigkeit, wird mittels des seit den 60iger Jahren häufig verwendeten All-Glass-Impinger (AGI 30) (BRACHMANN ET AL., 1964), durchgeführt. Die Luftmenge ist durch die Düsenöffnung der Impinger vorgegeben. Die Geschwindigkeit der Partikel im Luftstrom führt zu einer Abscheidung des überwiegenden Teiles der Partikel (JÖRG ET AL. 1997). Nach JENSEN ET AL. (1992) werden Aggregationen von Mikroorganismen durch die Geschwindigkeit und die Scherkräfte der Flüssigkeit auseinander gerissen, so dass bei vergleichenden Messungen beim Impingement in der Regel höhere Keimkonzentrationen resultieren als beispielsweise bei der Impaktion. Diese Methode erlaubt es auf Grund der Sammlung in einer Flüssigkeit auch austrocknungsgefährdete Keime aufzunehmen. Die Probename erfolgt nach VDI RL 4252 (2004) und sollte 30 Min. nicht überschreiten. Die Keimsammlung durch Filtration scheidet nahezu alle Partikel aus der Luft ab (KIEFER, 1992). Neben den hier verwendeten Polycarbonatfiltern mit 0,8µm Porengröße kommen auch Gelatinefilter oder Zellulosefilter bei der Keimsammlung zum Einsatz. Die gefilterte Luftmenge wird auch bei diesem Verfahren durch die Pumpleistung bestimmt, die je nach Filter variiert und kontrolliert werden kann. Die in den hier beschriebenen Untersuchungen verwendeten SKC Pumpen wurden mit einem Volumenstrom von 2,5 l/Min betrieben, der durch die als Filterhalter fungierenden IOM-Kapseln gesogen wird. Nachteilig bei der Filtrationsmethode ist die hohe Gefahr der Austrocknung von Keimen. Hier sind besonders vegetative Zellen gefährdet weshalb sich die Probename auf wenige Minuten beschränken sollte. Für die Endotoxinbestimmung ist auf Grund der Verdünnung durch das Impingement die Verwendung von Filtern allerdings von Vorteil.

Eine isokinetische Probenahme nach VDI 2066 konnte in den zur Auswertung herangezogenen Messungen erreicht werden.

3.3.2 Mikrobiologischer Nachweis von Keimen mit der Kultivierungsmethode

Die Bestimmung der Keimkonzentration wurde nach den Technischen Regeln Biologische Arbeitsstoffe (TRBA 430, BUNDESARBEITSBLATT, 1997) durchgeführt. Die dort beschriebene Vorgehensweise der indirekten Bestimmung von Schimmelpilzkonzentrationen können auch auf andere Keimarten übertragen werden.

Aus den Impingerflüssigkeiten werden direkt nach der Probenahme jeweils 0,1 ml Suspension auf die gewählten Nährmedien pipettiert, ausplattiert und bebrütet. Die Filterproben werden zunächst in 5 ml 0,9% ige Kochsalzlösung gegeben und im auf 37°C temperierten Wasserbad 30 Minuten lang geschüttelt. Anschließend werden die noch verbliebenen Stäube und Mikroorganismen durch 4-minütiges Schütteln auf dem Vortexer von den Filtern abgelöst. Aus der so erhaltenen Lösung werden je 0,1 ml auf den Nährmedien ausplattiert und entsprechend bebrütet. Abhängig von der Keimkonzentration wurden die Stammlösungen beider Probenahmemethoden auch einer dezimalen Verdünnungsreihe unterworfen.

3.3.3 Verwendete Nährmedien

Sowohl für die in den Laborversuchen verwendeten Organismen, als auch für die Bestimmung von Organismengruppen aus der Stallabluft, wurden zur Anzucht der Keime spezifische Nährböden verwendet. Der Streptokokken-Agar wurde von der FA. BECTON DICKINSON, HEI-DELBERG (BBL) bezogen. Alle anderen verwendeten Medien wurden von der FA. OXOID (WESEL) bezogen und nach vom Hersteller empfohlener Anleitung hergestellt.

Organismengruppe	Nährmedium	Inkubationsbedingungen
Gesamtkeimzahl	Blutagar-Basis No.2 (CM 271)	36°C, 2 Tage
Pilze und Hefen	Dichloran-Glycerin (DG 18)-Agar (CM 729)	21°C, 4 Tage
Enterobacteriaceae	Endo Nährboden-Basis (CM 479)	36°C, 2 Tage
Staphylokokken	Staphylokokken-Agar (CM 85)	36°C, 2 Tage
Streptokokken	Streptosel Agar	36°C, 2 Tage
	(Becton Dickinson, Heidelberg)	
Bacillus subtilis	Glucose-Casein-Pepton-Agar (CM 75)	36°C, über Nacht

Tabelle 1:	Liste der	verwendeten	Nährmedien
------------	-----------	-------------	------------

Für die Bestimmung der Zahl an Pilzsporen in der Stallluft wurde Dichloran-Glycerin (DG 18)-Agar (Oxoid, Wesel) verwendet. Dieser Nährboden eignet sich zur Bestimmung von Schimmelpilzen aus der Luft sehr gut (TRBA 430, 1997). Das im Medium enthaltene Chloramphenicol hemmt besonders das Wachstum von Gram-negativen Bakterien. Die Ausbreitung besonders schnell wachsender Pilze, wie beispielsweise Zygomyceten, wird durch Dichloran effektiv gehemmt. Die Bebrütungszeit betrug 3-5 Tage bei 24°C. Die Kultivierung der anderen Keime wurde bei 36°C über zwei bis drei Tage vorgenommen. Nur *B. subtilis* kann über Nacht kultiviert werden.

3.3.4 Bestimmung der Gesamtzellzahl mit mikroskopischen Methoden

Die Ermittlung der Gesamtzellzahl der gesammelten Mikroorganismen kann zur Kontrolle der verwendeten Methodik herangezogen werden, wenn keine Keime durch Kultivierung nachweisbar sind. Vor allem aber ist sie für quantitative Aussagen unerlässlich.

Um die Gesamtzellzahl der mittels Impingement gesammelten Zellen zu überprüfen, wird die Impingerflüssigkeit zunächst 5 Min. gevortext, um eine homogene Verteilung der gesammelten Zellen zu erreichen. Im Anschluss werden je 1 ml Zellsuspension 100µl "working solution", mit einer Konzentration von 100µg Propidium Iodid (PI) (OMNICHEM) pro ml, hinzugegeben. Nach einer Inkubationszeit von 5 Minuten bei RT wird die Suspension in FORTUNA OPTI-MA Spritzen pipettiert und durch einen Polycarbonatfilter (WHATTMANN, UK) mit 0,8µm Porengröße filtriert. Die Spritzen und der Filter werden zweimal mit 1 ml PBS gewaschen. Der Filter wird anschließend vorsichtig mit einer Pinzette aus der Halterung und mit seiner Reinseite direkt auf ein sauberes Filterpapier gezogen. Nach einer kurzen Trocknungszeit wird der Filter mit der partikelbeladenen Seite nach Oben auf einen Objektträger gelegt, mit einem Deckgläschen abgedeckt und mit Tesafilm fixiert. Der Filter kann im Fluoreszenzmikroskop betrachtet werden und die fluoreszierenden Zellen bei 1000facher Vergrößerung ausgezählt werden. Dabei werden 3-5 durch das Okularmikrometer festgelegte Flächen ausgezählt und der Durchschnitt der Zellzahl auf die Flächen des gesamten Filters bezogen. Ebenso wurde mit den Polycarbonatfiltern (Filterproben) verfahren, die zum Vergleich zur Impingermessung herangezogen worden sind. Sie wurden zunächst wie in 3.3.2 beschrieben in Lösung gebracht mit PI gefärbt, filtriert und ebenfalls im Fluoreszenzmikroskop ausgezählt. Ebenfalls mit diesem Verfahren wurden auch die jeweiligen Transportkontrollen überprüft.

Die Färbung von den in den Laborversuchen verwendeten Hefezellen wurde mit dem Farbstoff Mycoval (UBA-Geigy AG) vorgenommen. Dabei werden 100µl frisch filtrierte Mycoval Stammlösung in 10 ml Impingerflüssigkeit gegeben und 10 Minuten im dunklen inkubiert. Die Lösung wird, wie oben beschrieben filtriert und unterm Fluoreszenzmikroskop unter Verwendung des GYN-Filters bei 400-facher Vergrößerung identifiziert und ausgezählt.

3.4 Art und Beschreibung der Versuchskeime für die Laboruntersuchungen

Ziel des Teilvorhabens am ITTN ist es eine Quantifizierung des Inaktivierungseffektes des Plasmafeldes auf spezifische luftgetragene Mikroorganismen unter definierten Rahmenbedingungen vorzunehmen. Hierzu wurden die Effekte an aerosolisierten Mikroorganismen vom Typ *Bacillus subtilis* (Sporen und vegetativen Zellen) und Hefen unter dem Einfluss verschiedener Betriebsparameter geprüft. Die für die Laboruntersuchungen verwendeten Sporen von *B. subtilis* wurden von der FA. MERCK bezogen (Ch.-B./Lot. VM241149 412 und VM 938548 230). Die vegetativen Zellen wurden aus der Sporensuspension über Nacht bei 36°C in Peptonwasser angereichert. Die Hefezellen wurden jeweils aus einem frischen Würfel Bäckerhefe entnommen und gegebenenfalls über Nacht bei 24°C in Zuckerwasser angereichert.

Beschreibung der verwendeten Modellkeime:

Bacillus subtilis:

Der auch als gemeiner Heubacillus bekannte *B. subtilis* ist ein gram-positives, aerobes Bakterium, dass nicht pathogen ist. Es gehört taxonomisch zu den Eubakterien und wird der Klasse der Bacillen und Clostridien zugeordnet. Die phylogenetische Nähe zu Pathogenen wie Staphylokokken, Listerien, Mykobakterien und Mycoplasmen macht *B. subtilis* besonders für die molekularbiologische und –medizinische Forschung interessant (BERNHARDT, 2000).

Da *B. subtilis* ubiquitär vorkommt kann er aus Wasser, Luft, Boden und Komposterde gut isoliert werden. *B. subtilis* ist chemoorganoheterotroph und besiedelt die Rhizosphäre und die oberen Bodenschichten. Er besitzt eine Stäbchenform und hat bei einer Länge von 2µm einen Durchmesser von 0,8µm. Seine peritriche Begeißelung macht ihn beweglich. Das Zellwachstum in geeigneten Anreicherungsmedien wie beispielsweise als Heuaufguss oder in Peptonwasser wird als schnell eingestuft. Die Vermehrung erfolgt über Sporenbildung. Die Dauer der Sporulation beträgt etwa 8 Stunden. Aufgrund der hohen Hitzeresistenz der *B. subtilis* Sporen werden diese auch als Indikator bei entsprechenden Sterilisationsprozessen in Pharmazie, Medizin und Lebensmittelindustrie eingesetzt (BERNHARDT, 2000).

Hefezellen:

Die als Versuchskeime verwendeten Hefezellen wurden jeweils aus frischen Backhefeblöcken entnommen. Diese Hefezellen gehören der Gattung Saccharomyces an, die auch als Zuckerpilz bezeichnet wird und zehn Arten umfasst, die kosmopolitisch verbreitet sind. Sie gehören taxonomisch zu den Ascomyceten und ihre Zellvermehrung erfolgt durch multilaterare Sprossung, wodurch weder Sprossmycelien noch Pseudomycelien, sondern Zellhaufen entstehen. Die in der technischen Mikrobiologie als Rassen bezeichneten, zum Teil auch mit Namen belegten, Hefen sind als (züchterisch) veränderte Stämme mit besonderen Leistungen zu verstehen. *Saccharomyces cerevisiae* besitzt einen oxidativen und fermentativen Stoffwechsel. Mehr als 20 Stämme ("Rassen") mit speziellen Leistungen werden zur Herstellung von Backwaren, Bier, Wein, Sekt u.s.w. eingesetzt. *Saccharomyces cerevisiae* vergärt Galactose, Glucose, Maltose, Raffinose und andere Zucker. Die Art ist ein wichtiges Objekt der physiologischen, genetischen und molekularbiologischen Grundlagenforschung und Gentechnik (Dörfelt, 2001).

3.5 Verwendung der Durchflusscytometrie

Die Messung im Durchflusscytometer, verwendet wurde das FACSCAN[™] (FACS = FLUORESCEN-CE ACTIVATED CELL SORTER) von BECTON DICKINSON, Heidelberg, erlaubt eine zuverlässige und schnelle Charakterisierung von Zellen auf Grund ihrer Streulicht- und Fluoreszenzeigenschaften. Das Durchflusscytometer besitzt dazu ein Flüssigkeitssystem, ein optisches System mit einem 488nm Argon-Laser, Signaldetektoren und Konverter sowie die dazugehörige Computereinheit.

Mittels der Durchflusscytometrie ist eine schnelle qualitative und quantitative Analyse sowohl morphologischer als auch immunologischer Zelleigenschaften möglich (CAMPANELLA ET. AL., 2002). Das System findet derzeit beispielsweise in der Medizin zur Bestimmung von Leukozyten Anwendung. 1997 beschreibt LANGE ET. AL. eine Anwendung für die Detektion luftgetragener Bakterien, gesammelt mit dem AGI-30 Impinger, mittels Fluoreszenzfarbstoffen im Durchflusscytometer. Das in dieser Arbeit verwendete Farbstoffsystem BD[™] CELL VIABILITY KIT (Katalog Nr. 349480; Ch.-B./Lot. 82200, Ch.-B./Lot. 82193, Ch.-B./Lot. 82994) von BECTON DICKINSON, HEIDELBERG, verspricht eine schnelle und rentable Methodik zur guantitativen Analyse der Vitalität von eukaryotischen und prokaryotischen Zellsuspensionen. Das Kit beinhaltet die Fluoreszenzfarbstoffe Thiazole Orange (TO) und Propidium Iodid (PI). TO ist ein dauerhafter Farbstoff, der alle Zellen färbt und durch den Argon-Laser angeregt eine Fluoreszenz von 530 nm zeigt. Lebende Zellen besitzen intakte Membranen, die für DNA-Farbstoffe wie PI undurchlässig sind. Deshalb kann PI nur an tote Zellen binden. Es ist aber zu berücksichtigen, dass es auch Zellen gibt, die zwar tot sind, aber noch eine intakte Membran besitzen und deshalb nicht oder nur gering gefärbt werden können, weil der Farbstoff nicht an die innerhalb der Zelle befindliche DNA gelangt. PI fluoresziert im orangen Bereich des Spektrums bei 617nm.

3.6 Endotoxinbestimmung

Die Bestimmung der Endotoxinkonzentration erfolgt jeweils roh- und reingasseitig aus den mikrobiologischen Proben (Filtration und Impingement) heraus.

Ein gängiges Verfahren zum Nachweis von Endotoxinen stellt der Limulus-Amöbozyten-Lysat-Test (LAL-Test) dar (BIOWHITTAKER, MARYLAND, USA). Das Detektionsprinzip beruht auf dem chromogen-kinetischen Limulustest.

Die Hämolymphe des Pfeilschwanzkrebses *(Limulus polyphemus*) enthält ein inaktives Proenzym, dass bei Anwesenheit von Endotoxinen in ein aktive Enzym überführt wird. Die Reaktion des aktiven Enzyms mit einem zugesetzten Farbindikator kann photometrisch gemessen werden. Die Geschwindigkeit des Farbumsatzes ist hierbei proportional zu der vorhandenen Endotoxinkonzentration. Das verwendete Kontroll-Standard-Endotoxin wurde am Referenz-Standard-Endotoxin von E.coli-6 der amerikanischen Food an Drug Administration kalibriert. Weitere Einzelheiten des LAL-Tests können aus der BIA-ARBEITSNMAPPE 9450 (2002) entnommen werden.

Es wird die 1994 vom Niedersächsischen Sozialministerium beschriebene Methodik für die Endotoxinbestimmung verwendet. Dabei werden die Filterproben in 10 ml pyrogenfreies Wasser (pH 7-8) überführt und durch 60 minütiges Schütteln bei 21°C auf einem Horizontalschüttler extrahiert. Die Lösung wird im Anschluss daran 10 min. bei 1000g zentrifugiert. Der Überstand wird einer dezimalen Verdünnungsreihe unterworfen. Jeweils 100µl jeder Verdünnungsstufe werden in einer Mikrotiterplatte mit 100µl Lysat versetzt und geschüttelt. Die Farbstoffbildung wird im Vergleich mit Standard-Endotoxin (E.coli) und Kontrollansätzen ohne Endotoxin bestimmt. Die Maßanalyse erfolgt in Endotoxin Units (EU) und kann mit Hilfe des Standards in ng/m³ umgerechnet werden. Dabei kennzeichnet EU die Aktivität des Endotoxins. Auf Grund der weiten Verbreitung wird die Massenkonzentraion von Endotoxinen, trotz ihrer Umstrittenheit, in der vorliegenden Arbeit benutzt.

3.7 Rasterelektronenmikroskopie

Die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen (REM) konnten mit freundlicher Unterstützung der Arbeitsgemeinschaft für Elektronenmikroskopie des Fachbereiches Zellbiologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover, Bünteweg 17 d, 30559 Hannover, durchgeführt werden.

Probenvorbereitung:

Für die Aufnahmen am Rasterelektronenmikroskop ist eine große Zellmenge erforderlich um einen zügigen Nachweis durch das Mikroskop zu gewährleisten. Es werden Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen vegetativer Zellen vom Typ *Bacillus subtilis* sowie von Hefezellen hergestellt. Es werden zur Kontrolle Zellen nach ihrer Anreicherung direkt aus der frischen Lösung entnommen. Weiter werden Zellen, die ebenfalls aus der jeweils frisch angesetzten Lösung stammen, dem Plasma ausgesetzt, indem sie, um die benötigte Zellzahl zu gewährleisten, auf einen Objektträger getropft, für 5 sec. in das Plasmafeld geschoben werden. Anschließend werden die Tropfen in ein Eppi überführt und die Fixierung der Zellen mittels Osmium nach LEHMANN UND SCHULZ, 1982, durchgeführt. Es schließt sich eine Entwässerung über Aceton an. Die präparierten Zellen werden auf ein zuvor beidseitig mit Gold bedampftes Deckglas getropft. Nach der Trocknung werden sie erneut mit einem Sputter (TECHNICS) mit Gold bedampft (Schichtdicke 33nm) und schließlich im Rasterelektronenmikroskop untersucht und photographisch dokumentiert. Aussagekräftige Fotos sind in 4.6 dargestellt.

3.8 Allgemeine Auswertungs- und Berechnungsgrundlagen

Die Zusammenfassung der Daten erfolgte hauptsächlich eine deskriptive Statistik und schloss Mittelwertsbildung und die Bestimmung von Streuungsbreiten mit ein. Entsprechend der Erfüllung einer Normalverteilung der Ergebnisse wurde der Mittelwert oder der Median bestimmt. Die graphische Darstellung der Ergebnisse erfolgte häufig, auch bei vorliegender Normalverteilung durch Box-und-Whisker-Plots. Diese Darstellungsform verdeutlicht die Verteilung der Ergebnisse sehr gut. Als häufigste Form der Analyse wurde, auf Grund der geringen Stichprobenzahl, die Bilanzierung der roh- und reingasseitigen Proben verwendet. Für die der Arbeit zugrunde liegenden Signifikanztests wurde das Statistikprogramm STATISTICA 5.1 (StatSoft Inc., USA) sowie Berechnungen und Tabellen aus "BIOMATHEMATIK STATISTIK UND DOKUMENTATION"; V. HARMS, 1998; "ANGEWANDTE STATISTIK"; L. SACHS, 2000. Für die Tabellenkalkulation MICROSOFT EXCEL 2003 (Microsoft Corporation, USA) verwendet. Zur Berechnung des verfahrenstechnischen Wirkungsgrades η wurde folgende Gleichung angewandt:

$$\eta = \frac{\mathbf{C}_{\text{Rohgas}} - \mathbf{C}_{\text{Reingas}}}{\mathbf{C}_{\text{Rohgas}}}$$

wobei *C* für die Konzentration des jeweiligen Messparameters steht. Als Rohgas wird die mit Keimen versetzte bzw. die natürlicherweise mit Keimen belastete Stallluft bezeichnet, die als Zuluft zum Reaktor geleitet wird. Die Abluft, die aus dem Plasmafeld strömt und somit vermeintlich als von Keimen gereinigt emittiert wird, wird als Reingas bezeichnet.

- 4. Ergebnisse
- 4.1 Laborversuche am ITTN
- 4.1.1 Charakterisierung des Plasmaumfeldes
- 4.1.1.1 Wirkmechanismus Temperatur

Für die Charakterisierung der Temperaturentwicklung im Bereich des Plasmafeldes werden verschiedenen Parameter betrachtet. Die durchschnittlichen Ergebnisse aus den Messreihen an aktivem und inaktivem Plasma sind in den folgenden Abbildungen dargestellt. Zunächst wird der Verlauf des Temperaturanstieges in der Plasmaanlage hinter dem Reaktor betrachtet.



Abb. 13: Verlauf der Lufttemperatur hinterm Katalysator. Durchschnittlicher Verlauf der Erhitzung der durch das Messsystem transportierten Luft nach Einschalten des Plasmas (n=5). Dargestellt sind auch die jeweiligen Minima und Maxima.

Der in durchschnittliche Verlauf der Erhitzung der Lufttemperatur hinter dem Katalysator zeigt in den ersten 10 Minuten nur einen geringen Anstieg um 5°C. Im weiteren Verlauf steigt die Temperatur im Messsystem um durchschnittlich 7°C alle fünf Minuten und erreicht 50 min nach Aktivierung des Plasmas etwa 89 °C.

Die Veränderung der Ablufttemperatur nach Inaktivierung des Plasmafeldeswird in Abbildung 14 dargestellt. Das Plasmafeld war zuvor 30 Minuten lang aktiv.



Abb. 14: Temperaturverlauf vorm Plasma und hinterm Katalysator bis 20 Minuten nach Ausschalten der Plasmaphase (n = 5). Die obere Messreihe beschreibt die Temperatur innerhalb der Messstrecke. Die untere Messreihe beschreibt die Temperatur der in die Messstrecke einströmenden Luft. Dargestellt ist auch das jeweilige Minimum und Maximum.

Im zeitlichen Verlauf der Messungen wird, ausgehend von einem ähnlich hohem Temperaturniveau (78°C), eine stete Abkühlung verzeichnet. Bei einer durchschnittlich konstant mit 20°C in das Messsystem einströmenden Luft, sinkt die Temperatur hinter dem Katalysator innerhalb eines Zeitfensters von bis zu 10 Minuten nach Ausschalten des Reaktors durchschnittlich auf etwa 64°C. Nach 20 Minuten Inaktivierung des Plasmas werden durchschnittlich noch 57°C gemessen. Die Ergebnisse aus den Messungen der Versuche zur Erfassung der Temperatur im Inneren der DBE nach Inaktivierung des Plasmas werden in Abbildung 15 dargestellt.



Abb. 15: Durchschnittlicher Temperaturverlauf der durchströmenden Luft im Reaktor bis 20 Minuten nach Inaktivierung des Plasmareaktors (n = 6). Die Darstellung erfolgt mit Angabe der Minima und Maxima.

Die Temperaturmessung im Inneren der DBE zeigt anfänglich etwa 350 °C (vgl. Abb. 8). Allerdings erweisen sich diese Messwerte im Inneren des Plasmas auf Grund der physikalischen Eigenschaften in der Plasmaphase als fragwürdig. Eine definierte Messung war auf Grund der Technik nicht möglich. Unmittelbar im Anschluss der Inaktivierung des Plasmas wurden immer noch Temperaturen von über 100°C gemessen. Deshalb wird davon ausgegangen, dass die Temperaturen im aktiven Plasmafeld deutlich über dem Siedepunkt liegen. Im weiteren Verlauf der Temperaturmessungen sind bis 15 Minuten nach Inaktivierung in der DBE immer noch über 50°C zu verzeichnen.

4.1.1.2 Wirkmechanismus Ozon

Zur Charakterisierung des hier verwendeten Plasmafeldes wird auch das von ihm gebildete, chemisch reaktive Ozon betrachtet. Hierzu wurden nach einer Aufwärmphase von 30 Minuten und bei einem Volumenstrom von ca. 40m³/h in der Anlage hinter dem Reaktor die Ozonkonzentrationen protokolliert.

Abbildung 16 zeigt die in der Anlage bei aktivem Plasma, nachdem der Reaktor ausgeschaltet wurde und nach weiteren fünf Minuten Inaktivität, festgestellten Ozonkonzentrationen. Das Ozon, das während der Messung in die Sammelflüssigkeit der Impinger aufgenommen wurde, muss gesondert betrachtet werden, da es sich aus der Flüssigkeit nur schwer verflüchtigt. Die durchschnittlichen Ozongehalte der Impingerflüssigkeiten sind in Abbildung 17 zusammenfassend dargestellt.



Abb. 16: Ozongehalt der Probenluft nach 30 bzw. 35 Min. aktiviertem Plasma, sowie zum Zeitpunkt der Inaktivierung und fünf Minuten nach der Inaktivierung. Gemessen an P2 (hinterm Plasmareaktor); (jeweils n = 10).

Die Ozonkonzentrationen der Probenluft am ITTN zeigen nach einer 30- und 35-minütigen Betriebsdauer des Plasmas ein Plateau, dass nach 30 Min. von einer mittleren Konzentration von 278 ppm O₃ gekennzeichnet ist. Die Werte, die bei aktivem Plasma gemessen worden sind (30 Min. aktiv und 35 Min. aktiv), stellen sich im t-Test mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit a von 0,0001 bei FG = 18 mit einem t von 0,226 als nicht signifikant verschieden dar. Direkt nach Ausschalten des Plasmagenerators ist ein deutlicher Einbruch des Ozongehaltes in der Probenluft um ca. 84% zu beobachten. Innerhalb der ersten fünf Minuten ist, auf Grund der stetigen Frischluftzufuhr in die Anlage, in der Probenluft kein Ozon mehr zu detektieren. Ein Vergleich der Proben bei aktivem Plasma und derer bei Inaktivierung zeigt im t-Test einen signifikanten Unterschied. Die Irrtumswahrscheinlichkeit für diesen Test liegt bei a unter 0,0001%. Auch der Vergleich der Werte fünf Minuten nach Inaktivierung mit denen zur Zeit der Inaktivierung sind im t-Test bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von a = 0,01% signifikant verschieden. Es kann also nicht von einer nachhaltigen Wirkung des Ozons nach Inaktivierung des Plasmas in der Probenluft ausgegangen werden.



Abb. 17: Ozonkonzentration in der Impingerflüssigkeit an P1 und P3, jeweils nach 5 minütiger Perkolation (n = 22).

Beim Betrieb der Impinger an der aktiven Plasmaanlage ist eine deutliche Anreicherung von Ozon in der Sammelflüssigkeit zu verzeichnen. Während vor dem Reaktor kein Ozon nachweisbar ist, werden, trotz Reduktion durch den Katalysator, an P3 durchschnittlich noch $0,051 (\pm 0,016) \text{ mg/l O}_3$ nachgewiesen. Dieses Ozon kann nachhaltig auf die Organismen in der Sammelflüssigkeit wirken.

4.1.1.3 Verifizierung des Wirkungsgrades von Ozon

Es wurde untersucht, ob das Sammelverfahren durch die Impinger oder die durch das Plasma entstehenden reaktiven Substanzen, die in der Sammelflüssigkeit gelöst werden, eine biozide Wirkung haben. In Abbildung 18 sind die jeweiligen Überlebensraten von Hefezellen, vegetativen Zellen und Sporen von *B. subtilis* nach Perkolation mit Luft aus dem inaktiven und aus dem aktiven Plasma dargestellt. Durch eine Bilanzierung der KBE/ml vor und nach der jeweiligen Behandlung von Modellorganismen kann rechnerisch auf die Überlebensrate der Zellen geschlossen werden. Die durchschnittliche Lufttemperatur in der Anlage beträgt während der Versuchsreihen 23,2°C.



Abb. 18: Durchschnittliche Überlebensrate von Hefezellen, vegetativen Zellen und Sporen von *B. subtilis* (jeweils n=10) bei Perkolation am inaktivem und am aktiven Plasma dargestellt.

Das Sammelverfahren zeigt bei der Perkolation mit der Luft aus dem System am inaktiven Plasma (helle Balken; Abb.18), durch die mechanischen Stressfaktoren, eine Reduktion aller Keimarten, die zwischen 5% und 20% liegt. Im Vergleich zu den Ausgangswerten reduzierten sich die durchschnittlichen, relativen Überlebensraten von Hefezellen auf 80,6%, die vegetativer Zellen des Typus Bacillus subtilis auf 94,8% sowie die dessen Sporen auf 84,7%. Bei Perkolation mit der Luft aus dem System bei aktivem Plasma (dunkle Balken; Abb. 18), wird durch die zusätzlichen chemischen Faktoren eine deutliche durchschnittliche Verringerung der Hefezellen auf 6,8%, der vegetativen Zellen von B. subtilis auf 0,4% und der Sporen auf 48,5% erreicht. Eine Abtötung erfolgt somit nicht nur durch die Passage des Plasmas, sondern kann auch durch die luftgetragenen Substanzen, die aus dem Plasma resultieren hervorgerufen werden. Es kommt allein auf Grund der chemischen Faktoren zu einer Abtötung von 73,9% für Hefezellen, 94,4% für vegetative Zellen und 35,8% für Sporen von B. subtilis. Allerdings muss einschränkend erwähnt werden, dass nicht nur mechanisch bedingt, sondern auch durch Reaerosolisierungseffekte im Impinger Verluste denkbar sind, wodurch Zellen dem Druckgefälle im Sammelsystem folgend der Impingerflüssigkeit entzogen werden. Diese Art der Verluste werden allerdings nicht gesondert aufgeführt, sondern zu den mechanischen Verlusten gezählt.

4.1.2 Ausmaß der mikrobioziden Wirkung des Plasmas anhand exponierter Indikatorkeime

4.1.2.1 Überlebensrate vegetativer Zellen und Sporen von *Bacillus subtilis*

Die Untersuchungen der Gesamtreduktionsrate aller Faktoren der plasmaphysikalischen Anlage wurde zunächst an vegetativen Zellen und Sporen von *B. subtilis* durchgeführt. Es wurden mittels Impingern parallel an P1 und P2 bzw. P3 (vgl. 3.1.1, Abb.3) Proben genommen. Es soll eine Bilanzierung der nach Kultivierung roh- und reingasseitig erhaltenen KBE/ml erstellt werden, die die Überlebensrate der Organismen nach Passage des Plasmas darstellt.

Tabelle 2: Prozentualer Anteil noch vermehrungsfähiger Keime hinter dem Plasmareaktor (P2) und dem Katalysator (P3) bei aktiviertem und inaktiviertem Plasma. Vergleich mit den Referenzproben an P1.

Probenahme- position	Plasma- reaktor	n	vegetative Zellen	n	Sporen	
P3	inaktiv	8	63,9	8	82,4	
P2	aktiv	4	16,1	-	n.d.	
P3	aktiv	16	24,2	17	74,3	

n.d.: nicht durchgeführt

Zunächst zeigt die Bilanzierung der Keimgehalte vegetativer Zellen, wie Sporen bei inaktivem Plasma deutlich passiv bedingte Verluste innerhalb der Wegstrecke. Für vegetative Zellen wurden an P3 noch etwa 64% vermehrungsfähiger Keime und noch etwa 82% der Sporen der ursprünglich an P1 nachgewiesenen Keimzahlen erreicht. Bei aktivem Plasma tritt eine deutliche Verringerung der Zahl vermehrungsfähiger Keime ein. Die Zahl der vegetativen Zellen verringert sich an P2, direkt hinter dem Reaktor gemessen, auf etwa 16% und an P3, hinter dem Katalysator, auf etwa 24,2%. Der Anteil vermehrungsfähiger Sporen reduziert sich an P3 in Folge der Aktivierung um etwa 13% auf 74,3%. Leider weisen die Ergebnisse aus diesen Versuchsreihen sehr hohe Standardabweichungen auf, die zu einer Relativierung der Aussagen führen. Beispielsweise werden an P3 bei aktivem Plasma im Mittel 4322,6 (±708,8) KBE/ml (Min.:212; Max.:2145) gemessen. Für Sporen werden bei selbiger Messung im Mittel 988 (±641,3) KBE/ml (Min.:212; Max.:2145) nachgewiesen. Die starke Streuung in Kombination mit der geringen Stichprobengröße führen dazu, dass keine Normalverteilung der Stichproben vorliegt.

Im U-Test konnte nur für eine Messung (vegetative Zellen, P3, aktiv) mit U = 17 (K=16) ein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Allerdings verliert der Test auf Grund der unterschiedlichen Verteilung der jeweiligen Stichproben an Bedeutung. Die hier gewonnenen Erkenntnisse können allenfalls als orientierend gelten.

4.1.2.2 Überlebensrate vegetativer Zellen von *B. subtilis* bei aktivem und inaktivem Plasma

Die Überlebensrate vegetativer Zellen von *B. subtilis* wurde bei aktivem Plasma und direkt nach Inaktivierung des Plasmas untersucht, um das Maß etwaige biozider Einflüsse plasmabedingter Nebenprodukte zu definieren. Versuchsreihen mit **kaltem** inaktiven Plasma dienen der Feststellung, wie hoch die sammeltechnischen und impaktionsbedingten Verluste in der Anlage selbst sind (Referenz). Messungen mit **aktivem** (600W) und direkt nach Abschalten des Plasmas (**inaktiv**) werden zur Bilanzierung herangezogen. Die prozentuale Überlebensrate nach Passage der DBE, kann aus den in den Probenahmekassetten vor dem Reaktor (P1k) und hinter dem Katalysator (P2k, Abb. 3) gesammelten KBE/ml errechnet werden. Bei der Berechnung wird angenommen, dass die rohgasseitige Anzahl KBE/ml 100% der nachzuweisenden Keime entspricht.



Abb. 19: Überlebensrate vegetativer Zellen von *B. subtilis* vor (P1k) und hinter dem Plasmafeld (P2k) bei variierenden Versuchsbedingungen.

Entgegen den passiv bedingten Verlusten von etwa 64% aus den vorangegangenen Versuchen zwischen P1 und P3 werden bei den Messungen an P2k (hintere Probenahmekassette) nur 36,5% der ursprünglich freigesetzten und in P1k (vordere Probenahmekassette) nachgewiesenen Keime gefunden. Die höheren passiven Verluste (z.B. Impaktion) sind auf die jetzt längere Wegstrecke zwischen den Probenahmestellen zurückzuführen. Erwartungsgemäß erbrachte die Passage bei aktivem Plasmafeld eine Reduktion auf etwa 25%. Direkt nach Inaktivierung des Plasmafeldes steigt der Anteil vermehrungsfähiger Keime nur gering auf 28%. Allerdings ist die Streuung der Ergebnisse sehr groß, sodass die hier genannten Reduktionsraten mit Unsicherheiten behaftet sind. Trotzdem weist das Ergebnis auf eine nachhaltige biozide Wirkung von Nebenprodukten aus der Plasmaphase hin. 10 Minuten nach Ausschalten des Reaktors waren noch 64°C zu verzeichnen, ein Temperaturbereich, der auch bei Pasteurisierungeprozessen genutzt wird.

4.1.2.3 Überlebensrate von Hefezellen nach Inaktivierung des Plasmas

In Konformität zu den Untersuchungen an *B. sutilis* wurden Untersuchungen an Hefezellen durchgeführt. Die im Plasma entstehenden, etwaig bioziden Substanzen sind bis auf die Temperatur gasförmig und somit auf Grund des ständigen Luftstromes leicht flüchtig. Bei diesen Versuchen sollte die Entwicklung der Überlebensrate von Hefezellen bei fortschreitender Vernebelung nach Abschalten des zuvor aktiven Plasmas untersucht werden. Der Anteil vermehrungsfähiger Keime in den Impingerflüssigkeiten wurde durch Kultivierung bestimmt. Es wurden zehn Versuchsreihen über einen Zeitraum von jeweils 15 Minuten durchgeführt. Für jede Versuchsreihe wurden, wie in 3.1.2.3 beschrieben, fünf Impinger, die jeweils über eine Dauer von fünf Minuten in der hinteren Probenahmekassette Zellen aufsammeln, verwendet.



Dargestellt sind die Lebendzellzahlen aus zehn Versuchsreihen. Zu sehen sind die ZellzahlenAbb. 20:aus der Kontrollmessung bei kaltem Plasma, aus Messung mit aktivem Plasma sowie aus
Messungen bis 5, 10 und 15 Minuten nach Inaktivierung des Plasmafeldes.

Der Anteil vermehrungsfähiger Hefezellen wird durch das aktive Plasmafeld aber auch innerhalb der ersten 5 Minuten nach Inaktivierung gegen Null reduziert. Bei den Messungen bis 10 und bis 15 Minuten nach Inaktivierung ist ein stetig steigender Trend zunehmender Überlebensfähigkeit der Zellen zu beobachten. Die gemessenen Temperaturen lagen bis 15 Minuten nach Inaktivierung noch zwischen 40°C bis 50°C. Es zeigt sich deutlich, dass die Temperatur der Probenluft eine stark nachhaltige biozide Wirkung auf die Mikroorganismen hat.

4.1.2.4 Quantitative Abschätzung der mikrobioziden Wirkung des Plasmas und plasmabedingter Nebenprodukte bei Hefezellen

Versuche haben gezeigt, dass auch die in dem Plasma entstehenden Substanzen eine Abtötung von Keimen hervorrufen können. Es stellte sich heraus, dass Hefezellen am empfindlichsten reagieren. Aus diesem Grund wurden sie als Versuchskeim für eine quantitative Bestimmung des Abtötungseffektes durch die Gaszusammensetzung hinter dem Plasma ausgewählt. Entsprechend der Versuchsbeschreibung unter 3.1.2.4 konnte ein quantitativer Vergleich der Überlebensrate der Hefezellen bei Vernebelung durch das aktive Plasma und der bei Vernebelung durch das inaktive Plasma, dass noch reaktive Substanzen in der Luft mit sich führt, erfolgen. Die eingesetzte Zellmenge beträgt zwischen 50.000 – 100.000 Zellen/ml Impingerflüssigkeit. In Tabelle 3 sind die quantitativen Lebendzellzahlen der Hefen (KBE/ml Impingerflüssigkeit) in Prozent dargestellt. Der Anteil nicht vermehrungsfähiger Keime in der Ausgangslösung wurde durch Kontrollmessungen an der kalten Anlage bestimmt und prozentual von der Gesamtzellzahl abgezogen.

Tabelle 3: Prozentualer Anteil noch vermehrungsfähiger Hefezellen in der hinteren Probenahmekassette (P2k) bei aktiviertem und direkt inaktiviertem Plasma. Vergleich mit der Gesamtzahl lebensfähiger Hefen in der Impingerflüssigkeit.

Probenahme- position	Plasma- reaktor	n	Hefe- zellen	
P2k	aktiv	18	0,1	
P2k	inaktiv	16	0,2	

Es geht hervor, dass die Inaktivierung des Plasmas selbst nur eine geringe Auswirkung auf die prozentuale Überlebensrate hat. In 87 % aller Vernebelungen am aktiven und in 23 % der Vernebelungen am inaktiven Plasma starben alle Zellen ab. Die Zahl der Fälle, bei denen eine Absterberate von 100% erreicht wurde sinkt folglich um 64%. Statistisch zeigt sich im t-Test mit FG = 21 und einem t-Wert von 9,06, dass die Proben der inaktiven und der aktiven Plasmaanlage signifikant verschieden sind. Gleiches gilt mit einem t-Wert von 8,43 und FG = 19 für die Proben am Plasma mit reaktiven Gasen. Die Abtötungsrate von den mit aktivem Plasma und von den mit reaktiven Gasen behandelten Proben, sind bei t = -0,5 und FG = 32 nicht signifikant verschieden. Eine Keimreduktion erfolgt in beiden Fällen in gleichem Ausmaß.

4.1.3 Vergleich direkter und indirekter Behandlung vegetativer Zellen und Sporen von *B. subtilis* sowie Hefezellen mit dem plasmaphysikalischen Verfahren

Aufbauend auf den Erkenntnissen der bisherigen Versuche wird untersucht, ob eine stete indirekte Behandlung der Indikatorkeime mit den Sekundäreffekten des Plasmas, eine ähnlich biozide Wirkung hat, wie das Plasma selbst. In separaten Versuchen wurden Hefezellen und vegetative Zellen von *B. subtilis* über einen Bypass hinter der aktiven DBE in den Luftstrom eingebracht und in der dahinter befindlichen Probenahmekassette mittels Filtration gesammelt.

Die Sammlung erfolgte jeweils über 2,5 Minuten. Der Volumenstrom durch den Reaktor betrug 40m³/h. Es wurden in dieser Versuchsanordnung je Keimart drei Messreihen durch den aktiven Reakor sowie eine Referenzmessung durch den inaktiven Reaktor durchgeführt. Sechs Messreihen je Keimart, zuzüglich je zwei Referenzmessungen, wurden durch den Bypass durchgeführt. Die durchschnittlichen Ergebnisse der Bestimmung der KBE durch Ausplattieren auf Nährmedien und der durchflusscytometrischen Analyse der Gesamtzellzahl (vgl. 3.5) sind in Abbildung 21 zusammengestellt.



Abb. 21: Durchschnittliche Konzentration an vermehrungsfähigen Hefezellen, sowie vegetativen Zellen der Art *B. subtilis* nach der Vernebelung durch den Reaktor (n=3) und über den Bypass jeweils bei aktiven und inaktivem Plasma (n=9).

Der Vergleich der quantitativen Untersuchungen mit Vernebelung über einen Bypass hinter den Reaktor mit der Vernebelung durch den Reaktor jeweils bei aktivem und inaktivem Plasma zeigt, dass in beiden Versuchsanordnungen eine Abtötung der Versuchskeime erfolgt. Allerdings ergeben sich doch deutliche quantitative Unterschiede. Die mit Hilfe der Durchflusscytometrie ermittelte Gesamtzellzahl lag für die Proben der Hefezellen in der Größenordnung von 5*10⁴ Zellen/ml. Nur die Zellzahl bei Vernebelung mit aktivem Bypass liegt mit 1,7*10⁵ höher. Die Gesamtzellzahl der gesammelten Zellen von *B. subtilis* lag bei den Versuchen zur Vernebelung durch den Reaktor bei 10⁴ und den Bypassversuchen bei 10⁵.

Bei den Kontrollversuchen am inaktiven Plasma ist auffällig, dass die Überlebensrate der durch den Reaktor vernebelten Hefezellen etwa 16% höher (91,19% aller Keime), als bei den durch den Bypass vernebelten Zellen ist. Im Bypass werden im Schnitt mit einer Standardabweichung von \pm 19,19 etwa 77% der gesammelten Keime durch Kultivierung nachgewiesen. Die Zahl der vermehrungsfähigen vegetativen Zellen von *B. subtilis* nach Vernebelung durch den Bypass beträgt etwa 1/3 derer, die durch den Reaktor vernebelt worden sind. Im Bypass-Versuch können auch bei inaktivem Reaktor nur 8% (SD \pm 3,52) aller Keime kultiviert werden.

Die Versuche am aktivem Plasma zeigen für Hefezellen nach Vernebelung durch den Reaktor eine Reduktion um 100% (SD \pm 0), im Bypass-System wird eine Reduktion von 99,99% (SD \pm 0,003) der Zellen erreicht. Auch statistisch sind diese Proben bei FG = 7 im T-Test mit t = 0,683 mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,001 nicht signifikant verschieden. Für vegetative Zellen von *B. subtilis* können nach der Passage durch den Reaktor noch 7,91% (SD \pm 3,52) der insgesamt gesammelten Zellen als KBE durch Kultivierung nachgewiesen werden. Eine Vernebelung über den Bypass erreicht jedoch eine Abtötung von 100% (SD \pm 0,013). Mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von a = 0,01 sind behandelte und unbehandelte Proben von *B. subtilis* im T-Test signifikant verschieden (t = 6,734; FG = 6). Der Versuch mit aktivem Plasma zeigt für Hefezellen in beiden Varianten eine Abtötungsrate von 100%. Statistisch sind die behandelten Hefeproben mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von a = 0,001 nicht signifikant verschieden (t = -3,01; FG = 7).

Für Hefezellen lag die Temperatur während der Versuchsreihen zwischen 62°C und 75°C. Bei den Versuchen mit den vegetativen Zellen von *B. subtilis* wurden zwischen 50°C und 84°C erreicht. In dem Bereich (Vernebelung durch den Reaktor) indem keine Abtötungsrate von 100% erreicht wurde, lagen Temperaturen um 50°C vor. Eine statistische Auswertung dieser Ergebnisse, unter Berücksichtigung des Kofaktors Temperatur zum Zeitpunkt der Probenahme, ist aufgrund der geringen Strichprobengröße leider nicht möglich.

4.1.4 Verifizierung des Kofaktors Temperatur anhand exponierter Indikatorkeime

Die Untersuchung des zentralen Faktors Temperatur in der sich stetig aufheizenden Versuchsanlage, wurde in einem separaten Versuch betrachtet. Die Versuchsanordnung wurde hierfür, wie in 3.1.4 beschrieben, mittels eines Haartrockners erhitzt und insgesamt 45 Versuchsreihen durchgeführt. Je Keimart wurden fünf Referenzmessungen an der nicht erhitzten Anlage durchgeführt. Es wurden die KBE/ml der mittels Filtration gesammelten Organismen und jeweils die Gesamtzellzahl sowie die Zahl der toten Zellen durchflusscytometrisch ermittelt. Die Vernebelung erfolgte mit einer Zelldichte von ca. 10⁸ Zellen /ml. Die Ergebnisse sind in Abbildung 22 zusammengestellt.



Abb. 22: Prozentuale Zahl der vermehrungsfähigen Hefezellen, vegetativen Zellen und Sporen von *B. subtilis* nach Passage der Anlage in den Variationen ohne Erhitzung (kalt) und mit Erhitzung mittels eines Haartrockners (erhitzt). Dargestellt sind jeweils das arithmetische Mittel sowie die Standardabweichungen.

Die geschilderten orientierenden Untersuchungen zeigen, dass die Erhitzung der Probenluft mittels eines Haartrockners sehr unterschiedliche Reaktionen der Testkeime hervorruft. Hefezellen weisen bei den Kontrollversuchen im Mittel eine prozentuale Überlebensrate von 58% (SD \pm 34,2) der Gesamtzellen auf. Bei zusätzlicher Erhitzung der Anlage mittels eines Haartrockners überleben rund 53% (SD \pm 29,2). Der Versuch einer statistischen Auswertung der annähernd normal verteilten Stichproben zeigt eine Gleichheit der Varianzen. Bei der Betrachtung der Spannweite zwischen Minimum bei den Hefezellen 30% bei kalter bzw. 10% bei erhitzter Anlage) und Maximum (96% bei kalter und erhitzter Anlage) wird deutlich, warum im t-Test (t = 0,26; FG = 10; a 0,001) kein signifikanter Unterschied zwischen den Proben erreicht wird (p=0,79). Die Temperaturen, die während der Versuchsreihen mit Hefezellen erreicht wurden, liegen im Schnitt bei 57,7°C (Min: 41°C, Max: 68°C; SD \pm 9,06).

Für vegetative Zellen sind Überlebensraten von 5,6% (SD \pm 5,6) bei kalter und 3,1% (SD \pm 2,9) der Gesamtzellzahl bei erhitzter Anlage festgestellt worden. Die Reduktionsrate mittels Temperaturerhöhung konnte um durchschnittlich 65% erhöht werden, doch auch hier zeigt sich auf Grund der geringen Nachweisbarkeit der Organismen nach Passage der Anlage statistisch kein signifikanter Unterschied zwischen den Proben (p=0,33). Allerdings liegt in diesem Fall die Irrtumswahrscheinlichkeit bei 20%, sodass für genaue Aussagen eine Erhöhung der Stichprobengröße unumgänglich wäre. Die während dieser Versuchsreihen erreichte Temperatur schwankt um im Mittel 58,4°C (Min: 43°C, Max: 72°C; SD \pm 10,44).

Nach Passage der kalten Anlage sind ca. 15% (SD \pm 5,8) der Sporen als KBE nachweisbar. Infolge der Erhitzung und der Luft der Anlage auf Temperaturen um 58,6°C (Min: 41°C; Max: 75°C; SD = 10,5) konnte bei Sporen eher ein gegenläufiger Effekt, prozentual eine Erhöhung der KBE, beobachtet werden. Die hitzeresistenten Sporen wurden wahrscheinlich auf Grund eines "Aktivierungseffektes" im Bereich gemäßigter Temperaturen (um 41°C) zur Vermehrung angeregt, sodass es im Vergleich mit den Proben an der nicht erhitzten Anlage zu einer Vergrößerung der Streuung der Werte in dieser Richtung kam. Auch in diesem Fall kann statistisch kein signifikanter Unterschied zwischen den Proben festgelegt werden (t = -1,1; FG = 10; a = 0,001).

Bei der Betrachtung muss berücksichtigt werden, dass systematische Fehler wie die Probenahme selbst oder auch nicht beherrschbare Impaktionsvorgänge in der gesamten Versuchsstrecke die Keimausbeuten sehr variabel machen können. Ein Indiz hierfür sind allein schon die Streubreiten bei den Kontrollversuchen, die von 2% bis zu 96% vermehrungsfähiger Keime der Gesamtzellzahl für unterschiedliche Keimarten schwanken sowie die damit verbundenen, hohen Standardabweichungen der einzelnen Versuchsreihen. Hinzu kommt, dass der hier gewählte Versuchsaufbau eine genaue und vor allem statische Temperatureinregulierung nicht erlaubte und somit Temperaturschwankungen zwischen 75°C und 41°C in Kauf genommen werden mussten.

4.1.5 Mikrobiozide Wirkung des Plasmas bei minimierter Entstehung von Ozon

Diese Versuchsreihe sollte erste Einblicke in den Wirkungsgrad des Plasmasfeldes selbst geben. Der Ozongehalt der Probenluft wurde, durch Zugabe von Stickstoff, herabgesetzt, um Ozon als wesentlichen Inaktivierungsfaktor für Mikroorganismen ausschließen zu können (vgl. 3.1.5).
Die Ergebnisse der orientierenden Untersuchungen von Vernebelungen mit und ohne Zugabe von Stickstoff, jeweils bei aktivem und inaktivem Plasma sind in Abbildung 23 dargestellt. Kontrollmessung wurden ohne Stickstoff und ohne Plasma durchgeführt.



Abb. 23: Durchschnittliche Konzentrationen an vermehrungsfähigen Keimen nach der Vernebelung in Stickstoffatmosphäre im Vergleich mit Umgebungsluft unter Berücksichtigung verschiedener Versuchsparameter (jeweils n=5; Kontrolle n=2).

Die Untersuchungen des aktiven Reaktors ohne nachweisbares Ozon zeigten, dass die Abtötungsrate des Plasmas ohne Ozon bei Hefezellen, vegetativen Zellen und Sporen nur sehr geringe Unterschiede im Vergleich zu den Messungen mit Ozon in der Probenluft, aufweist. Im Vergleich zu den Laborversuchen am Bypass werden in diesem Versuch auch für die Sporen nur sehr geringe Keimmengen nach Passage des Plasmas erreicht. Hefezellen werden sowohl mit, als auch ohne Ozon in der Probenluft zu 100% abgetötet. Nur ein minimaler Anstieg der vermehrungsfähigen vegetativen Zellen von 0,23% (SD = 5,05) auf 2,3% (SD = 0,53) und der Sporen von 3,6% (SD = 1,59) auf 4,7% (SD = 1,2) der jeweiligen Gesamtzellzahl ist zu verzeichnen. Trotz der geringen Stichprobenzahl wurde der Versuch einer statistischen Auswertung der Ergebnisse vorgenommen. Dabei zeigte sich im t-Test kein signifikanter Unterschied der Proben mit und ohne Stickstoff (Hefezellen: t = 1,45 mit FG = 8; vegetative Zellen von *B. subtilis* : 0,89 mit FG = 8; Sporen: 1,26 mit FG = 8). Auffällig ist, dass bei den Kontrollversuchen, bei denen der Probenluft Stickstoff zugesetzt wird, eine deutliche Steigerung der durch Kultivierung nachweisbaren Zellen aller Keimarten zu verzeichnen ist (Werte hier nicht dargestellt; vgl. Anhang). Hier kam es, bezogen auf die Gesamtzellzahl zu einer Erhöhung des Nachweises von im Schnitt etwa 60% bei Hefezellen, von 86,7% bei vegetativen Zellen, aber von nur rund 12% bei Sporen. Eine Erklärung hierfür gibt es derzeit noch nicht.

4.2. Versuchsreihen am FOSVWE

4.2.1. Versuchsreihen am Teilluftstrom aus dem Stall

Aufgrund der großen Variationen innerhalb des Messsystems an der Versuchsanlage in Vechta, die sich durch Umbaumaßnahmen, wie beispielsweise den Einbau von Probenahmekassetten und Kühlelementen oder durch den Einsatz von Reaktoren mit unterschiedlicher Leistung ergaben, sind die jeweiligen Ergebnisse der Versuchsreihen vor (rohgasseitig) und hinter (reingasseitig) der DBE nicht in allen Fällen miteinander vergleichbar (vgl. 3.2). In 87% aller Fälle war kein mikrobiologischer Nachweis durch Kultivierung auf Nährmedien möglich, oder die Keimzahl war unterhalb der Nachweisgrenze von < 5 KBE/ml. Aus diesem Grund werden hier alle Ergebnisse in die jeweiligen Versuchsabschnitte unterteilt und einzeln dargestellt.

4.2.1.1 Staubmessungen mittels IAQ DUST MONITOR sowie die mikrobiologische Aufarbeitung der Filter aus den Partikelzählgeräten

Zur Erfassung von Stallstäuben wurden am FOSVWE kontinuierlich messende Partikelzählgeräte eingesetzt. Bereits nach wenigen Versuchen haben sich Korrosionen des Messkanals in den Geräten eingestellt. Die Validität der erhobenen Messdaten konnte daher nicht zweifelsfrei angenommen werden, da nicht auszuschließen war, dass die Messkammer selbst in Mitleidenschaft gezogen wurde, sodass trotz Datenanzeige und –speicherung nunmehr dejustierte Messungen erfolgten.

Auch die Ergebnisse der mikrobiologischen Aufarbeitung der für die Messungen verwendeten Backup-Filter waren nicht verwertbar, da selbst ein kultureller Nachweis von Mikroorganismen aus der normalerweise hoch mikrobiell angereicherten Rohluft nicht gelang. Vermutlich hat das ständige Anströmen der Backup-Filter mit Probenluft zur Austrocknung und zu übermäßig langen Expositionen gegenüber mikrobioziden Stoffen (z.B. Reaktionsprodukte aus der Plasmaphase) geführt, wodurch ein Verlust der Vermehrungsfähigkeit der bereits auf dem Filter beaufschlagten Keime verursacht wurde. Auch die Endotoxinbestimmungen lagen unter der Nachweisgrenze. Aufgrund der mangelnden Nachweiseffizienz belebter und unbelebter Stoffe mit Hilfe der Backup-Filter und der materialschädigenden Wirkung der Probenluft auf die Messgeräte wurde diese Art der Messungen vorzeitig eingestellt.

4.2.1.2 Impingermessungen am Teilluftstrom aus dem Stall

Zur Untersuchung der Teilstallluft wurden parallel rohgasseitig direkt vor und reingasseitig hinter (vgl. Abb. 8 und Abb.9) dem Reaktor 32 Messreihen an der Technikumsanlage (bei 560 W Plasmaleistung und einem Volumenstrom von 70m³/h) durchgeführt. Zusätzlich wurden Kontrollmessungen der Stallluft direkt im Stall gezogen. Die Untersuchung des Teilluftstromes erbrachten nur unbefriedigende Ergebnisse.

Die Kontrollmessungen in der Stallluft in Vechta zeigten bei einer Stichprobengröße von n = 8 durchschnittlich folgende Konzentrationen an Mikroorganismen:

- Gesamtkeime 4,2 * 10⁶ KBE/m³ (± 783.500)
 Pilze 6,2 * 10⁴ KBE/m³ (± 23.600)
- Streptokokken $1,5 * 10^{6}$ KBE/m³ (± 800.500)
- Staphylokokken 1,2 * 10⁶ KBE/m³ (± 428.600)

Obwohl es sich bei dem Stall um einen Versuchsstall mit vergleichsweise wenigen Tieren (10-12 mit je 80 – 100 kg Lebendmasse) handelt, entsprach die Keimausbeute, zum Teil mehr als 10⁶ KBE/m³, Verhältnissen, wie sie auch in kommerziell genutzten Schweinehaltungsbetrieben angetroffen werden. Damit sind Grundvoraussetzungen, eine realitätsnahe Überprüfung des mikrobiellen Reduktionsvermögens der Plasmaanlage durchführen zu können, erfüllt.

Trotzdem erbrachte die Auswertung der Impingerflüssigkeiten, der aus dem Teilluftstrom des Stalles genommenen Proben, in keinem Fall einen Nachweis vermehrungsfähiger Organismen durch Kultivierung auf Nährböden. Auch Modifikationen in der Messstrategie, wie die Variation der Probenamedauer oder des statischen und dynamischen Drucks im Rohrsystem der Technikumsanlage in dessen Folge eine verbesserte Sogwirkung seitens der Impinger erhofft wurde, erbrachten genauso, wie eine Aufkonzentration der in den Impingern gesammelten Keimmenge durch Zentrifugation und erneutem Eluieren in einer geringeren Flüssigkeitsmenge, nicht den gewünschten Erfolg eines verbesserten Nachweises.

4.2.1.3 Impingermessungen in den Messkassetten

Die Ergebnisse der mikrobiologischen Aufarbeitung (mesophile Gesamtkeime, Staphylokokken, Streptokokken) der Impingerflüssigkeiten aus insgesamt 22 Messreihen sind im Anhang dargestellt. Die Kontrollmessungen im Stall erfolgten bei 20,0°C - 21,2°C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 51% - 53%. Es gelang nur einmal ein positiver Nachweis von mesophilen Pilzen im Stall mit 660 KBE/m³. Versuche auch *Enterobacteriaceae* und Endotoxine in den Proben nachzuweisen, waren unter den hier gewählten Versuchsbedingungen vergebens.

In 86,4% der Rohgasproben und 59,1% der Reingasproben konnten Gesamtkeime bestimmt werden. Rechnerisch ergibt sich, bilanzierend aus dem arithmetischen Mittel der Stichproben, ein Wirkungsgrad von 67,5%. Es erscheint sinnvoll die als "nicht nachweisbar" (n.n.) deklarierten Befunde auszuschließen, da sonst reingasseitig auf Grund der hier generell sehr geringen Keimzahl vermeintlich zu geringe Mittelwerte erreicht werden. Diese hätten eine Verschiebung des Wirkungsgrades zur Folge (52,5%). Auffallend war, dass die mikrobiologische Aufarbeitung der Impingerflüssigkeiten der rohgasseitigen Proben eine stets um zwei bis drei Zehnerpotenzen geringere Zahl an KBE/m³ aufwies (quantitativ weniger, als 1%) als die Kontrollmessungen im Stall. Diese Anflutung geringer Keimzahlen im Probenahmesystem hatte wahrscheinlich zur Folge, dass nach Plasmapassage der wenigen Keime reingasseitig sehr häufig keine Keimnachweise mehr getätigt werden konnten. Dieser Umstand führte dazu, dass in 74 % aller Reingasproben keine Mikroorganismen kulturell bestimmbar waren. Weiter können zum Teil deutliche Variationen der Gesamtkeimkonzentrationen aus den rohgasseitigen Parallelmessungen (Einzelmessungen siehe Anhang) festgestellt werden. Beispielsweise werden am Messtag 5 Schwankungen von 88,7% verzeichnet, obwohl die Rahmenbedingungen der Einzelversuche ansonsten einheitlich eingestellt wurden. Das zeigt, welchen Schwankungen die reingasseitigen Proben zusätzlich ausgesetzt sind.

4.2.1.4 Bestimmung der Gesamtkeimzahl auf Filterproben und in Impingerflüssigkeiten

Auf Grund der geringen Keimdichte bei den Messungen mittels Impingement wurden als Variation der Messstrategie Filterproben gezogen. Für einen Vergleich der Methoden an der hier untersuchten Anlage, wurden in Analogie zu den bisherigen Versuchsreihen, jeweils fünf Messungen mittels Impingement und mittels Filtration in den Probenahmekassetten durchgeführt. Die Proben wurden wie in 3.3.2 beschreiben aufgearbeitet und durch Kultivierung auf Nährböden ausgewertet. Zusätzlich wurde die Gesamtzellzahl der gesammelten Keime aus Impingerproben und Filtrationsproben bestimmt (vgl. 3.3.4), da die Vermehrungsfähigkeit der Keime nicht vollends vorausgesetzt werden konnte. Die Ergebnisse der fluoreszenzmikroskopischen Auszählung der Gesamtzellzahl ist in Abbildung 24 für Impingerund Filterproben dargestellt.



Abb. 24: Gesamtzellzahlen aus fluoreszenzmikroskopischer Auszählung von rohgasseitigen und reingasseitigen Proben aus Impinger- und Filtermessungen an der inaktiven Technikumsanlage am FOSVWE. Dargestellt ist der Median sowie die Quartile mit Minimum und Maximum.

Erkennbar ist, dass die Filtrationsmethode höhere Konzentration der Gesamtzellzahl (GGZ) liefert, als das Impingement (Rohgas: 44193 GGZ/M³ vs. 18084 GGZ/m³ und Reingas: 39941 GGZ/m³ vs. 8213GGZ/m³). Bei einer Bilanzierung des Wirkungsgrades ergibt sich bei Verwendung des Impingements eine Rückhalteeffizienz der Gesamtzellzahl von 54,6%, bei Filtration jedoch nur eine von 9,6%.

In der statistischen Auswertung können über die Mittelwertdifferenz die annähernd norma verteilten Stichproben beim Impingement zwischen Roh- und Reingas signifikant unterschieden werden (t = 2,94; FG = 8; a =). Ein Vergleich der Methoden Impaktion und Filtration zeigt für die Filtration in einigen Fällen eine größere Gesamtzellausbeute. Statistisch ist allerdings, auf Basis eines t-Testes für unabhängige Stichproben kein signifikanter Unterschied zwischen der Keimausbeute der beiden Probenamemethoden festzustellen.

Gründe hierfür liegen in der großen Streuung der Werte in Verbindung mit der geringen Stichprobengröße. Ein Indiz dafür ist die hohe Standardabweichung. Bei den Impingerproben liegt diese bei SD \pm 6627 für Rohgas- und SD \pm 3520 für Reingasproben. Die Streuung der Filterproben ist rohgasseitig mit SD \pm 43.923 und reingasseitig mit SD \pm 43.901 um das 10fache höher. Trotzdem sind die Proben normal verteilt.

Die Gründe für diese außerordentliche Streubreite können vielfältig sein. Beispielsweise können Keimcluster, die sich vom Rohrleistungssystem ablösen, oder bereits als Keimagglomerat aus dem Stall bis zur Probenvorrichtung strömen und im Messsystem impaktieren zu Unsicherheiten bei der Befundung beitragen. Weiter können sich durch strömungsbedingte Bewegungen der IOM-Kapseln auftreten. Trotz Fixierung des Kapselhalters konnten Drehbewegungen des Filterhalters auf Grund der Trägheitskräfte nicht vermieden werden. Es kann zu einer zusätzlichen Beaufschlagung der Filter kommen, wenn die Öffnung der Kapsel in Strömungsrichtung verschoben worden ist. Zu einer Minderbeaufschlagung kann es im umgekehrten Fall, der Drehung entgegengesetzt der Luftströmung, kommen. Weitere mögliche Fehlerquellen finden sich im Bereich der Zellaufarbeitung. Während die Impingerflüssigkeit, in der die Zellen auf Grund der Probenahmemethodik bereits einzeln vorliegen, direkt verwendet werden kann, müssen die Zellen und Zellagglomerate von der Filteroberfläche eluiert werden. Die Ergiebigkeit einer solchen Elution variiert je nach Art und Umfang der Wechselwirkungen zwischen Filteroberfläche und beaufschlagten Partikeln, sodass die befundeten Gesamtzellzahlen nicht unerheblich divergieren können.

4.2.1.5 Bestimmung des Wirkungsgrades an der Technikumsanlage unter Einsatz der Filtrationsmethode

Bei dem in 4.2.1.4 angestellten Vergleich der Keimsammelmethoden an der inaktiven Plasmaanlage stellte sich die Filtration, trotz der hohen Variabilität innerhalb der Ergebnisse, in Bezug auf durch Kultivierung nachweisbare KBE/ml, als ergiebiger dar. Deshalb wurden in einem weiteren Untersuchungsabschnitt zusätzlich zu der bisher verwendeten Keimsammelmethode (Impingement) Messungen mittels Filtration durchgeführt. Durch den Einsatz von den für die Impinger konstruierten Probenamesonden bei den Messreihen mit 1200 W Reaktorleistung wurde versucht die Keimausbeute insgesamt zu erhöhen. Im Folgenden sind die roh- und reingasseitig gesammelten Gesamtzellzahlen für verschiedene Reaktorleistungen aufgeführt. Auf Grund der nur seltenen Nachweise von Staphylokokken und Streptokokken wird teilweise auf eine graphische Auswertung dieser Spezies verzichtet. Sie werden allerdings im Anhang mit aufgeführt.



Abb. 25: Mittlere, roh- wie reingasseitige Ausbeute vermehrungsfähiger, mesophiler Gesamtkeime aus dem Teilstallluftstrom an der Technikumsanlage am FOSVWE mittels Filtration unter Berücksichtigung der Reaktorparameter "inaktiv" (0W) und "aktiv" (560W). Dargestellt ist trotz einer Normalverteilung der Ergebnisse jeweils der Median mit Minimum und Maximum sowie die Quartile.

Die Keimausbeute der Filterproben an der Technikumsanlage ist grundsätzlich mit durchschnittlich 2061 KBE/m³ mesophiler Gesamtkeime deutlich geringer, als die aus dem Stall (durchschnittlich 37996 KBE/m³ Gesamtkeime; 29373 KBE/m³ Staphylokokken; 36153 KBE/m³ Streptokokken; Werte im Anhang). Allerdings entspricht ihre Zahl, auch bei inaktivem Plasma, etwa den Ergebnissen der ersten Impingermessungen. Auch hier können weder mesophile Pilze noch Enterobacteriaceae nachgewiesen werden.

Es können zunächst auf Grund der geringen Stichprobenzahl der als orientierend geltenden Versuchsreihen nur Tendenzen zwischen dem Verhältnis aus roh- und reingasseitiger Messung angestrebt werden. Diese zeigen, trotz der großen Streuungen der Werte mit Standardabweichungen von beispielsweise \pm 1183 für Rohgas bei 560W, reingasseitig allerdings eine eindeutige Verringerung der durch Kultivierung nachweisbaren Gesamtkeimzahl.

Bei 560 W Reaktorleistung erfahren die Keime eine deutliche Reduktion. Während der Versuchsreihen wurden nur geringe Luftkeimgehalte von 4578 KBE/m³ (mesophile Gesamtkeime) und Streptokokken (2378 KBE/m³) gefunden. Diese erfahren durch die Plasmapassage eine deutliche Reduktion, sodass Wirkungsgrade von 83,9% bzw. 97,2% erreicht werden. Die statistische Auswertung der annähernd normal verteilten Befunde ergab nur für mesophile Gesamtkeime einen signifikanten Unterschied roh- und reingasseitiger Proben (t-Test für unabhängige Stichproben; p<0.043). Ein Nachweis von Staphylokokken aus den Luftproben gelang nicht.

Trotz des Einsatzes von Probenahmesonden bei den Versuchen mit 1200 W Reaktorleistung unterlagen die Befunde einer großen Streuung und waren nicht alle normal verteilt. Deshalb werden in Abbildung 26 die mediane Verteilung der roh- und reingasseitigen Messungen bei 1200 W im Vergleich zu den Messungen bei 0W dargestellt.



Abb. 26: Roh- wie reingasseitige Ausbeute vermehrungsfähiger, mesophiler Gesamtkeime aus dem Teilstallluftstrom an der Technikumsanlage am FOSVWE mittels Filtration und Verwendung von Probenahmesonden. Reaktorleistung 0W; 1200W. Dargestellt ist jeweils der Median sowie die Minima und Maxima.

Auf Grund der, durch Herausnahme der nicht nachweisbaren Proben aus dem Ergebnispool, geringen Stichprobengröße auf Seiten der Reingasproben, ist eine statistische Auswertung in diesem Fall (1200 W) nicht möglich. Optisch zeigt sich jedoch reingasseitig eindeutig eine Reduktion auf im Mittel 162,5 KBE/m³ (Stall: 11552). Bei dem Versuch einer Bilanzierung dieser geringen Messwerte kann einen Wirkungsgrad von 96,5% der Gesamtzellzahl erreicht werden. Der theoretische Wirkungsgrad dieser Versuche für 0 W beträgt 50,9 %.



Abb. 27: Roh- wie reingasseitige Ausbeute vermehrungsfähiger, Staphylokokken und Streptokokken aus dem Teilstallluftstrom an der Technikumsanlage am FOSVWE. Aufgenommen mittels Filtration unter Verwendung der Probenahmesonden. Reaktorleistung 0W; 1200W. Dargestellt ist jeweils der Median sowie die Minima und Maxima.

Die in Abbildung 27 dargestellten nachgewiesenen Keimzahlen von Staphylokokken und Streptokokken können allenfalls als orientierend gelten. Da ein reingasseitiger Nachweis dieser Spezies nur ein- bzw. zweimal gelang. Bei der Oberflächlichen Betrachtung kann allerdings auch hier eine deutliche Reduktion erkannt werden. Wird versucht einen Wirkungsgrad zu ermitteln, so beträgt dieser für Staphylokokken 98,1% und für Streptokokken 95,9%. Allerdings sind diese Werte auf Grund der zu geringen Stichprobengröße nicht aussagekräftig.

Allgemein ist bei den Filterproben zu beachten, dass bereits bei inaktivem Plasma (0W) eine Reduktion um etwa 51% erfolgt. Dies kann den Wirkungsgrad des Plasmas selbst erneut relativieren. bezogen auf die Gesamtkeimzahl kann auf eine Minderung der vermehrungsfähigen Keimzahlen durch die Aktivität des Plasmas von 33% (560 W) bzw. 45,6% (1200 W) geschlossen werden. Bedenklich bleibt allerdings die zu geringe Anzahl an Keimnachweisen insgesamt. Im zweiten Versuchsteil wird deutlich, dass auch der Einsatz der Probenamesonden in Verbindung mit der Filtrationsmethode keine bessere Keimausbeute liefert. Die Gesamtzellzahl der Rohgasproben liegt sowohl mit als auch ohne Sonde zwischen 7*10⁴ und 9*10⁴ Zellen/m³. Die Gesamtzellzahl der Reingasproben liegt bei beiden Varianten im Bereich von 3,5*10⁴ Zellen. Allerdings erscheinen die Zellzahlen der Referenzprobe im Vergleich zu den Zellzahlen der Proben sehr gering. Dies könnte ein Hinweis auf die in 3.2 beschriebenen Schwierigkeiten der Messmethodik sein.

4.2.1.6 Bypass-System am FOSVWE

Um zu untersuchen, in wieweit die im Plasmafeld entstehenden Substanzen eine abtötende Wirkung auf die Mikroorganismen haben, wurde ein Bypass-System entwickelt (vgl. Abb. 11). An vier Messtagen wurden insgesamt 12 Filtrationsmessungen jeweils in den Messkassetten von Roh- und Reingas durchgeführt. Dabei wurde bei sechs Messungen Frischluft durch den Reaktor geleitet und Stallluft über den Bypass hinter dem Reaktor zugeleitet. Bei sechs weiteren Messungen wurde Stallluft durch den Reaktor geleitet und über das Bypass-System Frischluft zugeführt. In allen Fällen wurde eine Gesamtdurchflussrate von 70m³/h erreicht, die sich auf 30m³/h im Reaktor und 40m³/h im Bypass verteilte. Die Messdauer betrug in allen Fällen 30 Minuten. Die Reaktorleistung betrug 560W. Es wurden insgesamt vier Kontrollmessungen im Stall bei Temperaturen von 20,0°C - 21,2°C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 51% - 53% vorgenommen. Zusätzlich wurde eine Beprobung der Frischluft durchgeführt. Außerdem erfolgte zusätzlich zu der Bestimmung der KBE/m³ auch die Ermittlung der Gesamtzellzahl/m³ über Färbung mit PI und Auszählung unter dem Fluoreszenzmikroskop. Die Ergebnisse zeigen die mikrobiologische Aufarbeitung der Polycarbonatfilter nach Eluation der Organismen und anschließender Kultivierung. Die KBE/m³ und die Gesamtzellzahl/m³ sind in Abbildung 28 nach Messvariationen getrennt dargestellt.



Abb. 28: Mittlere Keimkonzentrationen am Bypass-System am FOSVWE mit folgenden Einstellungen: Variante 1: Rohgas 1/Reingas 1: Zuluft 1 = Stallluft; Zuluft 2 = Frischluft. Variante 2: Rohgas 2/Reingas 2: Zuluft 1 = Frischluft; Zuluft 2 = Stallluft. Dargestellt ist jeweils der Median, Minimum und Maximum und die Quartile.

Die Auswertung der Versuchsreihen an den Roh- (Zuluft) und Reingaspositionen (Abluft) am Bypass-System ergeben kein einheitliches Bild. Es kann gesagt werden, dass bei den sechs Beprobungen in der stalllufthaltigen Rohluft (Zuluft; Variante 1) Keimmengen von durchschnittlich 1129,7 KBE/m³ (SD = 1282,7) gemessen wurden. In der korrespondierenden Reinluftproben (Abluft) war jedoch nur in 50% aller Fällen ein Nachweis vermehrungsfähiger Keime möglich (im Mittel 33,3KBE/m³; SD = 36,5). Bei den Untersuchungen, in denen die Zuluft rohgasseitig zum aktiven Reaktor aus Frischluft bestand und hinter dem Reaktor später auf die im Bypass eingeleitete Stallluft wirken sollte (Variante 2), konnten reingasseitig nur in 16% der Fälle vermehrungsfähige Keime nachgewiesen werden. In diesen Fällen wurden rohgasseitig im Mittel 551,3KBE/m³ (SD = 1007,2) und reingasseitig 196,2KBE/m³ (SD = 480,5) nachgewiesen. Trotz dieser wiedersprüchlichen Ergebnisse wurde gemessen an den o.g. Mischungsverhältnissen der Einzelvolumenströme im Reaktor- und Bypassbereich eine durchschnittliche Gesamtkeimreduktion bei Zuführung plasmabehandelter Frischluft von 16,8% erreicht. Die Keimminderung betrug 93,1%, wenn die plasmabehandelte Stallluft der Frischluft zugeführt wurde.

4.3 Behandlung der gesamten Stallabluft mit reaktiven Gasen aus dem Reaktor

An sieben Messtagen erfolgten 22 Messungen bei einer Generatorleistung von 1250 W und sechs bei 2500 W. Es wurden 13 Kontrollmessungen bei inaktivem Plasma vorgenommen.

Zuzüglich zur Bestimmung der Gesamtzellzahl/m³ mittels Durchflusscytometer wurden die KBE/m³ und der Endotoxingehalt in EU/m³ nach der in 3.6 beschriebenen Methodik bestimmt und protokolliert (siehe 4.3). An den ersten beiden Versuchstagen wurden Keimzahlbestimmungen mittels Filtration durchgeführt. Eine Bestimmung der Anzahl an toten Zellen mittels Durchflusscytometer konnte aus technischen Gründen nur für diese Messungen erfolgen. Die folgenden Messungen wurden mittels Impingement durchgeführt. Aufgrund von Defekten an der Plasmaanlage konnten zeitweise keine Untersuchungen mit voller Generatorleistung oder auch gar keine Messungen mit aktivem Plasma durchgeführt werden. Aus diesem Grunde wurde zum Teil auch auf eine durchflusscytometrische Auswertung der Proben verzichtet (vgl. Anlage). Die Messdauer betrug bei allen Messungen 30 Minuten. Es wurden insgesamt fünf Referenzmessungen im Stall bei 25,5°C - 29,0°C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 54% - 67% vorgenommen. Die Ergebnisse der Messungen der mesophilen Gesamtkeime sind in Abbildung 29 für Filterproben und in Abbildung 30 für Impingerproben nach Leistungseinstellung des Plasmareaktors getrennt dargestellt. Hierbei wurden je nach Erfüllbarkeit der Normalverteilung die Nennung arithmetischer Mittelwerte bzw. Medianen für die beiden Probenahmeverfahren bevorzugt.



Abb. 29: Mittlere, roh- und reingasseitige, quantitative Konzentration vermehrungsfähiger mesophiler Organismen aus Filterproben am Abluftschacht des Versuchsstalles am FOSVWE unter Berücksichtigung verschiedener Leistungseinstellungen des Reaktors. Dargestellt ist auch die Reduktionsrate für die jeweiligen Versuchsabschnitte.

Ausgehend von einer durchschnittlichen Gesamtkeimkonzentration von 49000 KBE/m³ in der Stallluft, konnte bei inaktivem Reaktor mittels Filtration ein Konzentrationsunterschied zwischen Roh- und Reingas von 53573 KBE/m³ ermittelt werden. Dies entspricht einem passiven wirkungsgrad von 66,4%. Der Betrieb des Plasmareaktors mit 1200W erhöht den Wirkungsgrad auf 72,4%. Allerdings erfolgt bei 2500W ein Einbruch auf 51,5%.

Die Messungen zeigen im Vergleich zur Gesamtzellzahl insgesamt eine geringe Anzahl vermehrungsfähiger Keime in der beprobten Luft. Bei den Referenzproben direkt aus dem Stall konnten nur im Mittel 16,7%, bei den Proben am Abluftschacht durchschnittlich 18,3% der gesammelten Zellen durch Kultivierung nachgewiesen werden (vgl. Anhang). Es erscheint möglich, dass ein großer Teil der Organismen bereits abgestorben war, bevor sie in den Abluftschacht getragen worden sind. Wichtiger erscheint allerdings das Problem einer Austrocknung der Keime, da die Messungen über eine Dauer von 90 Minuten durchgeführt worden sind, um auf entsprechende Gesamtkeimzahlen zu kommen. Aus den genannten Gründen erscheint hier ein Messsystem mit flüssigkeitsgefüllten Impingern von Vorteil.



Abb. 30: Mittlere Gesamtkeimonzentration aus Impingngerproben am Abluftschacht des Versuchsstalles am FOSVWE unter Berücksichtigung verschiedener Leistungseinstellungen des Reaktors. Dargestellt ist auch die Reduktionsrate für die jeweiligen Versuchsabschnitte.

Die Analyse der hier dargestellten Messergebnisse ergab mittels Impingement im Vergleich zur Ausgangkonzentration im Stall (145444 KBE/m³) bei 0 W einen scheinbaren passiven Wirkungsgrad von 68,5%. Dies bestätigt das gleichsinnige Ergebnis der Filtrationsmethode. Bei Einsatz des Impingements wurde deutliche Erhöhung der Reduktionsrate durch das aktive Plasma gefunden. Der Wirkungsgrad liegt bei 1250W bei 93,5% der sich bei 2500W nochmals gering auf durchschnittlich 95,9% erhöht. Im Gegensatz zur Filtration ist beim Impingement bei allen Leistungsstufen im Chi² - Test ein signifikanter Unterschied zwischen roh- und reingasseitigen Proben festgestellt worden. Die Signifikanz für die Positionsunterschiede bei 0W könnte zur Folge haben, dass passiv bedingte Rückhalteeffizienzen tatsächlich statistisch verifizierbar sind. Die Folge wäre, dass sie bei der Bilanzierung der unter Plasmaeinfluss behandelten Luftströme berücksichtigt werden sollten. So wäre bei 1250W lediglich von einem Wirkungsgrad von 25% (93,5% - 68,5%) und bei 2500W von 27,4% (95,9% - 68,5%) auszugehen, um die eben nicht plasmabedingten Wirkungsgrade zu würdigen. Allerdings wären für die Klärung einer solchen grundsätzlichen Fragestellung in Bezug auf Untersuchungen an Abluftschächten, umfangreichere Untersuchungen mit statistischer Genauigkeit notwendig.

4.4 Endotoxinbestimmungen

Die Messung der Endotoxinkonzentration mittels Filtration und Impingement erbrachte nur bei den Probenahmen direkt am Abluftschacht eine annähernd mit der Stallluft konforme und für eine Auswertung ausreichend hohe Endotoxinausbeute. Die parallel zu den Probenahmen aus 4.3 direkt am Abluftschacht gemessenen Endotoxinkonzentrationen werden in Abbildung 31 vergleichend für Filter- und Impingerproben für die besagten Leistungsstufen ausgewiesen. Die Endotoxinwerte sind jeweils als Minimum und Maximum mit Median dargestellt.



Abb. 31: Roh- und reingasseitige Endotoxinkonzentrationen der Filter- und Impingerproben aus den Versuchsreihen am FOSVWE unter Berücksichtigung verschiedener Plasmaleistungen. Filterproben roh- und reingasseitig: n=4; Impingerproben rohgasseitig: n=6 (0 W); n=16 (1250 W); n= 4 (2500 W) Impingerproben rohgasseitig: n=7 (0 W); n=13 (1250 W); n= 3 (2500 W)

Die Endotoxinkonzentrationen schwanken rohgasseitig bei unterschiedlichen Leistungsstufen des Reaktors sehr stark. Bei den Filterproben werden Medianwerte von 14,9 – 30,5 EU/m³, bei Impingermessungen zwischen 8,4 und 24,7 EU/m³ detektiert. Reingasseitig sind für alle Leistungsstufen (0 W, 1250 W und 2500 W) Abnahmen der Endotoxinkonzentration zu verzeichnen. Die medianen Konzentrationen für Filterproben liegen hier über alle Leistungsstufen im mittleren Bereich zwischen 4,1 und 5,6 EU/m³ Die Spannweiten beim Impingement dagegen liegen zwischen 1,1 und 9,0 EU/m³. Eine Signifikanz der Konzentrationsunterschiede zwischen Roh- und Reingas ließ sich mittels U-Test sowohl für das Filtrationsverfahren als auch für das Impingement nur für 1250 W Plasmaleistung berechnen.

Auf Basis der Konzentrationsunterschiede resultieren bei Anwendung der Filtration Wirkungsgrade von 72,3% (0 W), 86,6% (1250 W) und 69,8% (2500 W). Ein komplementäres Bild spiegelt sich bei den Impingerproben.

Hier werden Ergebnisse von 41,8% (0 W); 67,7% (1250 W) und 87,1% (2500 W) gemessen.

Auch bei den Endotoxinkonzentrationen werden bei inaktivem Plasma (0 W) deutliche Reduktionsraten erreicht, die in diesem Fall allerdings nicht signifikant waren. Folglich bleibt die Frage, ob ein solches Korrektiv in die Berechnungen mit einbezogen werden sollte, von elementarer Bedeutung. Eine Einbeziehung würde oben genannte Wirkungsgrade für 1250 W auf 14,3% (Filtration) und 25,9% (Impingement) reduzieren.

4.5 Ozonmessungen am FOSVWE

Wie bereits für die Untersuchungen am ITTN (4.1.3) beschrieben, spielt die Ozonkonzentration bei der Fragestellung nach den Wirkmechanismen des Plasmas augenscheinlich eine große Rolle. Die Ozonkonzentrationen an der Laboranlage am ITTN sowie an den Anlagen am FOSVWE sind mit den in 3.7 beschriebenen Methoden gemessen worden. Im Folgenden werden in Tabelle 5 die durchschnittlichen Ozongehalte des plasmabehandelten Teilluftstromes aus dem Stall (vgl. 4.2.1 ff.) dargestellt. Diese Werte sind mit dem FTIR gemessen worden, das am FOSVWE zur Detektion von Gasen standardmäßig an der Anlage eingesetzt wurde. Anschließend werden in Abbildung 32 die Ozonmessdaten des FTIR im Stallabluftstrom nach Wiederzusammenführung des behandelten Teilluftstromes und des unbehandelten Restabluftstromes aus dem Stall aufgeführt (4.2.2 ff.). Abbildung 33 zeigt die jeweiligen Ozonkonzentrationen der Sammelflüssigkeiten der Impinger aus den unter 4.2.1 ff. erläuterten Versuchen dargestellt und dabei um zwei zusätzliche Probenamen direkt vor dem Plasmareaktor (DBE) und hinter dem Katalysator (KAT) erweitert.

ppm	Strömungsge- schwindigkeit	Leistung	vor DBE	nach DBE	nach KAT
OZON	13m/s	1000 W	19,08	5303,09	22,57
OZON	13m/s	1250 W	22,24	3604,25	22,00
OZON	13m/s	1500 W	19,17	2813,26	18,22
OZON	25m/s	1000 W	24,36	4520,89	874,36
OZON	25m/s	1250 W	26,38	5868,18	845,12
OZON	25m/s	1500 W	22,31	5447,25	973,62

Tabelle 5:Durchschnittlicher Ozongehalt (ppm) der Probenluft in der Anlage in Vechta
(Quelle: Dr. Kosch, Uni Göttingen):

Der, von der Plasmaanlage am FOSVWE produzierte Ozongehalt ist sehr hoch und scheint keine Korrelation mit der Reaktorleistung oder der Strömungsgeschwindigkeit zu haben. Für Geschwindigkeiten von 13 m/s werden hinter der DBE von 2813,3ppm bis 5868,2ppm gemessen. Zwischen 4520,9ppm und 5868ppm werden bei 25 m/s erreicht. Diese werden durch den Katalysator auf etwa 22ppm (13 m/s) und auf zwischen 845,1ppm und 973,6ppm (25 m/s) reduziert. Auffällig ist außerdem, dass in allen Fällen bereits vor der DBE, also entgegen der Strömungsrichtung, in geringeren Mengen (ca. 20ppm) Ozon zu erfassen war.



Abb. 32: Ozonkonzentration in der Probenluft an P2 (reingasseitig) im Abluftschacht unter Berücksichtigung der Reaktorleistungen 1250W und 2500W. Die Y-Achse beschreibt den Ozongehalt in ppm (n=7).

Die Ozonkonzentrationen der Luft im System am Abluftschacht (4.2.2 ff.) sind im Vergleich zu den an dem Teilluftstrom gemessenen vergleichsweise geringgradiger ausgeprägt. Dies ist auf den Verdünnungseffekt zurückzuführen, der durch das größere Luftvolumen im Abluftschacht entsteht. Die Ozonkonzentration liegt bei einer Reaktorleistung von 1250W auf Höhe der reingasseitigen Messposition mit einer Standardabweichung von 14,4 bei 155ppm. Sie erhöht sich bei einer Verdoppelung der Leistung auf 2500W auf 290ppm (SD = 37,4). Für die Messreihen am Abluftschacht ist kein Katalysator eingebaut worden, weshalb diese Ozonkonzentrationen nicht weiter reduziert wurden.

Die Ozonkonzentrationen der der Impingerflüssigkeiten der Versuchsreihen am FOSVWE werden in Abbildung 34 dargestellt. Hier werden die Messungen am Teilstallluftstrom (4.2.1 ff.) und die Messungen am Abluftschacht (4.2.2 ff.) miteinander verglichen. Die Probenahme erfolgte bei einer Durchflussgeschwindigkeit von 11 l/min. durch die Impinger und einer Ventilatorleistung von ~40m³/h für die Messungen am Teilstallluftstrom und für die Messungen direkt am Abluftschacht mit einer Strömungsgeschwindigkeit von ca. 500m³/h durch den Reaktor mit nachfolgender Durchmischung im Schacht auf eine Gesamtabluftmenge von 1500m³/h.



Abb. 34: Mediane Ozonkonzentration roh- und reingasseitiger Impingerflüssigkeiten am Teilstallluftstrom und am Abluftschacht des Stalles unter Berücksichtigung verschiedener Leistungsstufen des Plasmareaktors. Teilluftstrom (n=6); Abluftschacht 1250 W (n=19); Abluftschacht 2500 W (n=5)

Die Ergebnisse bestätigen die bisherigen Befunde aus den Messungen der Ozonkonzentration mittels FTIR. Auch in den Impingerflüssigkeiten der Messungen mit Teilabluftstrom wird rohgasseitig Ozon in Konzentrationen von durchschnittlich 0,22 mg/l (SD = 0,017) detektiert. Wohingegen direkt am Abluftschacht werden rohgasseitig bei 1250 W nur 0,03 mg/l (SD = 0,03) und bei 2500 W nur 0,02 mg/l (SD = 0,01) Ozon in den Impingerflüssigkeiten gemessen werden. Auch dies ist auf die größere Abluftleistung im Schacht zurückzuführen.

Bisherige Ergebnisse zu einer Anreicherung des Ozons hinter dem Reaktor werden mittels der Untersuchung der Impingerflüssigkeiten nur teilweise bestätigt. In den reingasseitigen Sammelflüssigkeiten der Impinger am Teilstallluftstrom kommt es durch das Plasma zu einer Anreicherung von durchschnittlich 0,21 mg/l (SD = 0,05), eine Konzentration, die bereits rohgasseitig vorhanden ist.

Bei den Messungen am Abluftschacht wurden reingasseitig bei 1250 W Ozonkonzentrationen von 0,22 mg/l (SD = 0,17) und bei 2500W von 0,60 mg/l (SD = 0,19) detektiert. Dies bedeutet eine Erhöhung um das 7,3-fache im Falle halber Reaktorleistung von 1250W und um das 30-fache bei voller Leistung (2500W).

4.6 Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen

Die REM-Aufnahmen konnten mit freundlicher Unterstützung der Arbeitsgemeinschaft für Elektronenmikroskopie des Fachbereiches Zellbiologie der Tierärztlichen Hochschule Han-Nover, Bünteweg 17 d, 30559 Hannover, durchgeführt werden.

Es wurden, nach der in 3.8 beschriebenen Methodik, REM-Aufnahmen von Hefezellen und vegetativen Zellen von *B. subtilis* hergestellt. Dabei wurden Kontrollaufnahmen von Zellen ohne plasmaphysikalische Behandlung gemacht (Abb. 35 und Abb. 37). Weiter wurden Aufnahmen von Keimen nach plasmaphysikalischer Behandlung gemacht. Diese sind in den Abb. 36 und 38 dargestellt.



Abb. 35: Erscheinungsbild eines Zellhaufens von Hefezellen durch das REM. Dargestellt sind Hefen, die nicht plasmaphysikalisch behandelt wurden. Zu beachten sind die lockere Zusammenballung der Zellen und ihre durchweg glatten Oberflächen.



Abb. 36: Aufnahmen von Hefezellen nach der plasmaphysikalischen Behandlung. Es sind verklebte Zellmassen (schwarzer Kreis, a) mit teilweise deformierten Zellen (Pfeile, b) zu sehen. Vergrößerung: (a): 4500-fach, (b): 4200-fach.

Die REM-Untersuchungen an den nicht plasmaphysikalisch behandelten Hefezellen ergaben für Hefezellen typische Morphologien. In Abbildung 23 ist ein entsprechender, sonst unauffälliger lockerer Zellhaufen von Hefezellen gut zu erkennen. Anders dagegen, wenn die Hefen der Wirkung des Plasmas ausgesetzt waren. Verklebungen zwischen den Zellen wie auch Veränderungen an der Zelloberfläche waren teilweise in den hier gewählten Ablichtungsbedingungen zu erkennen gewesen (Abb. 24). Die normalerweise glatt erscheinende Zelloberfläche ist nunmehr von reliefartigen Strukturen oder auch Verformungen gekennzeichnet, was vielleicht auf eine Membranschädigung hinweisen könnte. Auf Grund dieser Schäden könnten intrazelluläre Bestandteile nach außen treten und hierdurch eine Verkittung zwischen mehreren Zellen hervorrufen. Aber auch die plasmavermittelte Teilverschmelzung der äußeren Zellmembranen unter Beibehaltung eines geschlossenen Zellkörpers könnten diese gussartigen Zellnester verursacht haben. Drastische Effekte, wie geplatzte Zellen oder deren Zellreste sind bislang nicht aufgefallen.



Abb.37: REM-Aufnahmen von *B. subtilis* (vegetative Zellen), die keiner plasmaphysikalischen Behandlung unterzogen worden sind. Die Zellen zeigen eine stäbchenförmige Struktur, sind morphologisch unauffällig und treten in einem lockeren Verband als Zellhaufen auf. Vergrößerungen: (a) 1500-fach, (b) 2700-fach.



Abb. 38: REM-Aufnahmen von *B. subtilis* (vegetative Zellen), die einer Passage durch das aktive Plasma unterzogen worden sind. Neben vollständig erhaltenen Zellen deuten einige Bereiche der Bilder (a) und (b) auf beschädigte Zellen hin (schwarze Kreise). Außerdem sind die Zellen in einer extrazellulären Matrix "eingegossen". Vergrößerungen: (a) 2000-fach, (b) 2000-fach.

Auch die Kontrollaufnahmen der Zellen von *B. subtilis* zeigen erwartungsgemäß eine Stäbchenform, die durch eine geschlossene Zelloberfläche, ohne sichtbare Defekte gekennzeichnet ist (Abb. 25). Nach plasmaphysikalischer Behandlung wiesen die Zellhaufen von *B. subtilis* auf den ersten Blick keine erkennbaren morphologische Veränderungen auf, waren jetzt jedoch eingebettet in einer extrazellulären Matrix, die den Eindruck einer Verschmelzung zwischen den Zellen hinterlässt. Werden die Bilder näher betrachtet, gibt es einige Bereiche in den Zellhaufen, die oberflächenzerstörte Zellen vermuten lassen (Abb. 26). Die bei dieser Zerstörung freigesetzten Zellmaterialien ("Kittsubstanz") könnten das "Eingießen" der komplett erscheinenden Zellen verursacht haben (z.B. über Eiweißdenaturierung). Allerdings wird der Verschmelzungsprozess wahrscheinlich präparativ bedingt sein, da zunächst weitgehend singuläre integere Zellen zusammen mit den gelösten bzw. suspendierten Stoffen zerstörter Zellen aus der gemeinsamen Flüssigkeitsvorlage auf die für die REM notwendigen Deckgläser getropft wurden und sich nach der Trocknung erst der vermutliche Einbettungseffekt einstellte.

5. Diskussion

5.1 Keimminderung durch Plasmatechnik

Abluftbehandlungstechniken spielen bei der Reinhaltung der Luft eine zentrale Rolle. Europäische Regelungen sehen im Bereich der landwirtschaftlichen Nutztierhaltung Umweltschutzmaßnahmen vor, die sowohl emittierte Gase (Ammoniak, Gerüche), wie auch Partikel (Stäube, Mikroorganismen) reduzieren sollen. Der im Rahmen der vorliegenden Arbeit untersuchte Plasmareaktor ist mit dem Ziel entwickelt worden, Fremdgase aus der Abluft zu entfernen oder unschädlich umzuwandeln. Dazu liegen bereits positive Berichte vor. Hinsichtlich einer Aktivierung und Abtötung von luftgetragenen Mikroorganismen gab es bislang keine Befunde.

In der vorliegenden Arbeit konnte eine Reduzierung der in der Abluft eines Schweinestalles vorkommenden Bakterien, Hefen und Pilze mit Hilfe des plasmaphysikalischen Verfahrens in ersten, orientierenden Untersuchungen festgestellt werden. Die mit diesem Verfahren erzielten Effekte wurden nicht nur in Laborversuchen und an einer Technikumsanlage, sondern auch direkt an der Abluft eines Versuchsstalles untersucht. Die hier verwendete Plasmatechnik stellt sich in Bezug auf die Reinigungsbedingungen von realer Abluft aus Nutztierställen durchaus effektiv dar. Welche Wirkmechanismen für diese Inaktivierung der Mikroorganismen verantwortlich sind, konnte jedoch nicht endgültig geklärt werden. Nach dem Stand der Erkenntnisse wird die Keimreduktion offenbar nicht ausschließlich durch das Plasmafeld hervorgerufen. Es ist vielmehr davon auszugehen, dass das Zusammenspiel von mehreren Faktoren eine Inaktivierung der Mikroorganismen auslöst. Hier kommt den hohen Temperaturen im Plasma, die bisher nicht endgültig definiert werden konnten, sicher die größte Bedeutung zu, da die daraus resultierende Erwärmung der Probenluft, die durch den Reaktor strömt, auf etwa 80°C erhöht wird. Weiter bleibt die Rolle des kontinuierlich im Plasmafeld erzeugten, stark bakteriziden Ozons weitgehend offen. Versuchsweise konnten bis zu 300ppm in der Probenluft gemessen werden. Fest steht, dass sich das hier angewandte Verfahren im letzten Teil der Untersuchungen an der Abluftanlage des Versuchsstalles in Bezug auf eine Keimabtötung als praktikabel erwies.

5.1.1 Wirkmechanismen des plasmaphysikalischen Verfahrens

Es konnte gezeigt werden, dass die Wirkungsweise des Plasmas ein komplexes System darstellt, dessen Mechanismen nicht nur auf die chemischen Nebenprodukte aus der Plasmaphase zurückzuführen sind. Aus Sammelstresstests und quantitativen Untersuchungen an Hefezellen im Laborversuch geht hervor, dass die in der Luft hinter dem Plasmafeld befindlichen Substanzen eine abtötende Wirkung auf Mikroorganismen hat. Auf Grund der Anreicherung besagter Substanzen bei Perkolation der in der Impingerflüssigkeit befindlichen Keime mit Luft aus der aktiven Plasmaphase werden Hefezellen zu 99,2% reduziert. Darüber hinaus besteht bis 10 Minuten nach Inaktivierung des Plasmas ein Devitalisierungsvermögen der durch die heiße Anlage bis auf 80°C erhitzten Probenluft für in diese aerolisierten Hefeezellen von rund 96%. Vegetativen Zellen und die Sporen vom Typ *B. subtilis* zeigten sich die in diesen Untersuchungen allerdings widerstandsfähiger. Mikroorganismen abtötende Effekte wurden hier eindeutig auf die im Plasma entstehenden Substanzen (vor allem Ozon) und die Temperatur zurückgeführt.

5.1.1.1 Bedeutung der Temperatur im Zusammenhang mit plasmaphysikalischer Reinigung

Obwohl die von der Fa. ULTRAKAT zur Verfügung gestellten Reaktoren mit einem Niedrigtemperaturplasma, das Behandlungen von Schadluft bei Temperaturen von geringfügig über Raumtemperatur ermöglichen sollte (ULTRAKAT, 2005), ausgestattet sind, konnten in Laboruntersuchungen Temperaturen von deutlich über 100°C detektiert werden. Die PVC-Druckrohre im Versuchsaufbau der Technikumsanlage am FOSVWE haben einem dauerhaften Betrieb der Anlage nicht standgehalten. Auf Grund der durch das Plasma (hier mit größerer Leistung, als am ITTN) entstehenden Temperaturen sind sie an den Anschlussstücken zum Reaktor geschmolzen, sodass sie in diesem Bereich durch einen metallischen Wasserkühler ersetzt werden mussten. Nach dem Umbau der Anlage konnte die Probenlufttemperatur hinter dem Kühler auf ca. 80°C reduziert werden.

Die Charakterisierung der Temperaturverläufe zeigte eine deutliche Erhöhung der Temperatur im Bereich im und hinter dem Plasmafeld. Die erreichten Temperaturen sind geeignet bestimmte Mikroorganismen, auf Grund ihrer Thermolabilität, vermehrungsunfähig zu machen. Bis 10 Minuten nach Abschalten des Reaktors belief sich die Temperatur noch auf etwa 64°C, einem Temperaturbereich, der auch für Pasteurisierungsprozesse genutzt wird. Dem Kofaktor Temperatur kommt folglich bei der Betrachtung der Wirkmechanismen des Verfahrens eine bedeutende Rolle zu.

Nachdem nicht ausgeschlossen werden konnte, dass die beim Plasmabetrieb in der Anlage erreichten Temperaturen Hitzeschäden bis hin zur Letalität der Mikroorganismen verursachen, war es Ansinnen die Bedeutung der plasmabedingten Temperaturen für die Hygienisierung der mit Keimen beladenen Luft zu prüfen. Um einen möglichst von äußeren Störfaktoren unbeeinflussten einheitlichen Versuchsrahmen zu schaffen, wurden die Experimente an der Plasmaanlage am ITTN durchgeführt. In Untersuchungen an der mittels Heißluft auf bis zu 75°C erhitzen Anlage konnte gezeigt werden, dass bereits der Stress, dem die Zellen bei der Passage der Anlage mit Temperaturen von 50-75°C ausgesetzt sind, ausreicht, um eine Abtötungsrate von bis zu 75% bei vegetativen Zellen von *B. subtilis* zu erreichen. Entgegen den Erwartungen wurden bei gleichen Bedingungen nur 21% der hitzeempfindlichen Hefezellen und rund 67% der hitzeresistenten Sporen inaktiviert.

Bei der Betrachtung der Ergebnisse ist zu beachten, dass es technisch nicht möglich war, die gesamte Anlage bzw. den Probenluftstrom stetig auf einer konstanten Temperatur zu halten. Der hier gewählte Versuchsaufbau erlaubte eine genaue und vor allem statische Temperatureinregulierung nicht und somit mussten Schwankungen zwischen 41°C und 75°C in Kauf genommen werden. Auch eine Abkühlung der Anlage durch die stets einströmende Raumluft war unvermeidbar und unterstützte die Temperatursenkungen. Zusätzlich müssen systematische Fehler bei der Probenahme selbst berücksichtigt werden. Nicht beherrschbare Impaktionsvorgänge in der gesamten Versuchsstrecke können die Keimausbeuten sehr variabel machen. Dies zeigen die Streubreiten bei den Kontrollversuchen sowie die hohen Standardabweichungen der einzelnen Versuchsreihen. Die Zahl vermehrungsfähiger Keime unterschiedlicher Arten schwankt in den Kontrolluntersuchungen in Bezug auf die Gesamtzellzahl zwischen 2% und 96%.

Aus diesem Grunde handelt es sich bei den hier gewonnenen Erkenntnissen nur um durchschnittliche Momentaufnahmen, die so nicht reproduzierbar waren. Um genauere Aussagen treffen zu können, müssten Versuche mit einem Probenluftstrom mit regelbarer, konstanter Temperatur durchgeführt werden. Trotz dieser Schwierigkeiten ist davon auszugehen, dass die bei Aktivität in der plasmaphysikalischen Anlage vorherrschenden hohen Temperaturen deutlich zur Reduzierung von Mikroorganismen beitragen. Darüber hinaus bleibt unklar, welche Auswirkung die Temperaturen auf das Keimspektrum der Mikroorganismen hat. Es ist durchaus denkbar, dass Ablagerungen von Partikeln an den Wänden der Anlage oder der Leitungssysteme einen Nährboden oder Matrix für andere, unter diesen veränderten Bedingungen existente, Organismen dienen könnten, das Keimspektrum der Stallabluft verändert werden kann. Die Existenz thermophiler Mikroorganismen oder deren Dauerformen in der Stallluft ist, abhängig von der Stallart, nicht auszuschließen. Eventuell auftretende weitere gesundheitliche Folgen sind derzeit nicht abzuschätzen.

5.1.1.2 Einfluss des Radikals Ozon

Einen weiteren stark mikrobioziden Effekt stellt das kontinuierlich in dem Energiefeld des Plasmareaktors gebildete Ozon dar. Im Laborbereich wurden bei 600 W Reaktorleistung bis zu 300ppm O₃ im Probenluftstrom nachgewiesen. Durch anhaltende Frischluftzufuhr kam es bei Inaktivierung des Plasmafeldes zu einem signifikanten Einbruch bis auf 40 ppm, was eine nachhaltige Wirkung nahezu ausschließt. Die Befunde an der Technikumsanlage am FOSVWE erbrachten durchschnittlich 155ppm (1250W) bzw. 290ppm (2500W). Allerdings muss bei der Betrachtung nachhaltiger Wirkweisen ein besonderes Augenmerk auf die Probenahmemethodik geworfen werden. Da sich das Ozon in der Sammelflüssigkeit der verwendeten Impinger angereichert kann es dort durchaus eine nachhaltige biozide Wirkung entwickeln. Obgleich Ozon keine gute Wasserlöslichkeit besitzt (570mg/l bei 20°C), ist sie doch besser, als die des Sauerstoffs (8 mg/l bei 20°C), sodass sich in den Impingerflüssigkeiten im Laborversuch bei 600W durchschnittlich 0,051 (\pm 0,016) mg O₃ pro ml angereichert haben. Bei den korrespondierenden Versuchen am FOSVWE wurden durchschnittlich bis zu 4-fache O₃-Konzentationen erreicht. Wird bedacht, dass Bakterien nach fünfminütiger Ozonexposition von 0,0005 mg/l bis 0,0006 mg/l durch Vermehrungsunfähigkeit auf unter 1% ihrer ursprünglichen Menge reduziert werden wird deutlich, welche Bedeutung dem Probenhandling zukommt, um nicht die bereits angesprochenen Sekundäreffekte als Messartefakte einfließen zu lassen.

Versuchsweise wurde durch Ersatz der Probenluft durch Stickstoff eine Minimierung der O₃-Konzentationen hinter dem Plasmafeld erreicht. Es wurde davon ausgegangen, dass die kurzzeitige Entbindung des Sauerstoffs auf die Keime in der Probenluft wenn überhaupt nur eine sehr geringe Auswirkung hat. Bei diesen orientierenden Versuchen zeigte sich eine quantitative Abtötungsrate von 94,5% (vegetative Zellen *B. subtilis*) bis 99,8% (Hefezellen). Die quantitative Abtötungsrate ist in diesem Fall nur wenige Prozent geringer (2,8% bei vegetative Zellen *von B. subtilis*, 0,2% bei Hefezellen) als die Reduktionsraten bei Messungen mit Ozon in der Probenluft. Diese hohe Inaktivierung muss allerdings nicht zwingend auf die Passage der Keime durch das Plasma zurückzuführen sein. Im Energiefeld des Plasmafeldes können, neben Ozon als radikale Sauerstoffverbindung, auch andere Radikale, in diesem Fall Stickstoffverbindungen, entstehen. Stickoxide sind dem Ozon ähnliche Radikale, die eine entsprechende, bisher nicht nachgewiesene Wirkung auf Mikroorganismen entfalten könnten. Bei Gasmessungen am FOSVWE wurden, durch den Umbau von NH₃ aus der Stallluft, hinter dem Reaktor erhöhte NO_x-Konzentrationen festgestellt werden. Durch den Katalysator wurde dieser Effekt verstärkt.

Damit ist eine stark abtötende Wirkweise der bei Ausschluss von Ozon, durch den Entzug des Sauerstoffs veränderten Zusammensetzung der verbleibenden Substanzen in der Luft hinter dem Reaktor nicht auszuschließen. Für eine Beurteilung kommt erschwerend hinzu, dass die Zusammensetzung der Luft nach Entzug des Sauerstoffs am ITTN nicht messtechnisch ermittelt werden konnte. Am Beispiel von Ozonmessungen konnte allerdings gezeigt werden, dass die Konzentration dieser Radikale sich direkt nach Abschalten des Reaktors um rund 90% reduziert und innerhalb von wenigen Sekunden gegen Null geht. Eine nachhaltige Wirkung konnte nicht nachgewiesen werden.

5.1.2 Untersuchungen am Bypass

Die Befunde zeigen ein deutliches Reduktionspotential der Luft, die das Plasmafeld passiert hat. Da zur Abluftreinigung von Nutztierställen enorm hohe Luftvolumina bewältigt werden müssen (Beispiel: Ein Masthähnchenstall mit 40000 Tierplätzen zu 2 kg Einzeltiergewicht braucht eine maximale Sommerluftrate von bis zu 316000 m³/h), wäre eine indirekte oder auch eine Mischung aus direkter und indirekter Behandlung als Anwendungsvariante durchaus denkbar.

Unter Laborbedingungen konnte eine dauerhafte indirekte Behandlung von Hefezellen und vegetativen Zellen des Typs *Bacillus subtilis*, mit dem plasmaphysikalischen Verfahren untersucht werden. Die Befunde der Untersuchungen zeigen für Hefezellen sowohl bei Passage des Plasmas, als auch bei Einbringung der Keime in den Probenluftstrom hinter dem Reaktor eine quantitative Abtötungsrate von 100%. Für vegetativen Zellen von *B. subtilis* konnten bei einer Vernebelung im Bypass Reduktionsraten von 100% und bei einer Vernebelung durch den Reaktor von durchschnittlich 92,1% erreicht werden. Mit diesen Versuchen konnte gezeigt werden, dass die Bedeutung der Zusammensetzung an radikalen, reaktiven Gase in der Luft hinter dem Reaktor (Bypass) für eine Inaktivierung der Keime in der Luft groß ist. Die genaue Gaszusammensetzung ist stark von der Art der Probenluft abhängig und kann starken Schwankungen in der Konzentration einzelner Komponenten unterliegen. Eine stete Überwachung der Gaszusammensetzung ist mit erheblichem technischem und finanziellem Aufwand verbunden und konnte im Fall der Laboruntersuchungen nicht durchgeführt werden.

An der Technikumsanlage erwies sich die direkte Behandlung der Abluft durch das Plasma als deutlich effektiver, als die indirekte. Die den Ergebnissen (vgl. 4.2.1.6) anhaftenden Schwankungen sind jedoch sehr groß, was die Befundung stark einschränkt. Es konnten reingasseitig nur in 16% der Messungen vermehrungsfähige Keime nachgewiesen werden, die zusätzlich starken Schwankungen in der Keimdichte (Gesamtzellzahl) ausgesetzt waren. Der für diese Versuchsvariante gewählte Anlagenaufbau erschwerte zusätzlich eine Probenahme. Die Zuleitung zum Reaktor wurde sowohl für Stallluft- als auch für Frischluftzuleitung genutzt. An den Wänden haftende Partikel könnten sich gelöst und so die Frischluft zusätzlich mit Keimen angereichert haben. Trotz dieser Unsicherheiten konnte der vermutete Effekt, dass die originäre Stallluft durch Zumischung von plasmabehandelter Frischluft eine Keimreduktion erfährt, dennoch in Ansätzen gezeigt werden. Gemessen an den Mischungsverhältnissen der Einzelvolumenströme im Reaktor- und Bypassbereich, betrug die durchschnittliche Gesamtkeimreduktionen im Zuge der Zuführung der plasmabehandelten Frischluft 16,8 %, wogegen eine Gesamtkeimminderung von 93,1 % feststellbar war, wenn die plasmabehandelte Stallluft der Frischluft zugemischt wurde.

5.2 Kombination direkter und indirekter Behandlung der Abluft mit dem plasmaphysikalischen Verfahren

Die unter Praxisbedingungen direkt am Abluftschacht einer Stallanlage gewonnenen Erkenntnisse zeigen nach Überwindung diverser technischer Schwierigkeiten, dass quantitativ bei einer Reaktorleistung von 1250 W gemessen mittels Filtration eine Abtötungsrate von durchschnittlich 76,5% und mittels Impingern von 80,9% an mesophilen Gesamtkeimen erreicht wird. Bei voller Leistung des Reaktors wurden mittels Filtration Raten von 96,8% und mittels Impingement von 95,8% gemessen werden. Bei dieser Methodik wird ein Teil (etwa 1/3) der Mikroorganismen tragenden Abluft durch den Reaktor geleitet und anschließend dem in der Luftführung verbleibenden Teil von etwa 2/3 der Gesamtabluft zugegeben. Es wird bei diesem Aufbau der Anlage folglich nur 1/3 der Abluft direkt mit dem Plasma und der verbleibende Rest nur mit den reaktiven Substanzen aus dem Plasmafeld behandelt. Diese Kombination der beiden, in den Laboruntersuchungen und an der Technikumsanlage mittels Bypass-System an Teilabluftmengen untersuchten Arten der Abluftreinigung (direkt und indierekt) mit dem plasmaphysikalischen Verfahren, stellt sich in Bezug auf die mikrobiologische Reinigung als durchaus sinnvoll heraus. So kann in diesem Fall die gesamte Abluft gereinigt werden, obwohl es derzeit mit den hier verwendeten Methoden, aufgrund der hohen Durchflussrate, technisch nicht möglich ist die gesamte Abluft durch den Reaktor zu leiten. Eine solche Konstruktion erscheint auf Grund der hier vorliegenden ersten Erkenntnisse vorerst auch nicht für notwendig.

Allerdings ist zu berücksichtigen, dass die Behandlung der gesamten Stallabluft mit dem plasmaphysikalischen Verfahren noch nicht mikrobiologisch untersucht wurde und deshalb kein direkter Vergleich angestellt werden kann. Aufgrund der Erkenntnisse aus den Laborversuchen könnte eine solche Behandlung die Inaktivierung der Zellen allerdings noch erhöhen.

5.3 Bedeutung der rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen

Transmissionselektronenmikroskopische (TEM) Aufnahmen von Sporen von *B. subtilis* konnten zeigen, dass nach einer Ozonbehandlung starke Anomalien der inneren und äußeren Struktur auftreten (KHADRE u. YOUSEF 2001). Auf dieser Grundlage sind rasterelektronenmikroskopische (REM) Aufnahmen von Hefezellen und vegetativen Zellen von *B. subtilis*, vor und nach der Behandlung durch das plasmaphysikalische Verfahren, angefertigt worden. Die Rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen der Organismen zeigen deutliche Veränderungen im Zellzusammenhalt. Die nach KHADRE UND YOUFEF (2001) bekannten TEM-Aufnahmen zeigen ein Verschmelzen der inneren Strukturen und Deformationen der Außenhülle von B. subtilis Sporen auf Grund einer Behandlung mit Ozon. Aufnahmen von inneren Strukturen waren aus technischen Gründen leider nicht möglich. Allerdings konnten mit dem hier verwendeten Verfahren bei Hefezellen und vegetativen Zellen vom Typ B. subtilis Strukturveränderungen an der Zelloberfläche in Form von reliefartigen Strukturen oder auch Verformungen, wie "Dellen" in der Außenhülle sichtbar gemacht werden. Diese Veränderungen könnten auf eine Membranschädigung oder eine Zerstörung der inneren Strukturen, die durch das plasmaphysikalische Verfahren erreicht wurden, hinweisen. Intrazelluläre Bestandteile, die nach außen getragen wurden, könnten für die Verklebungen der einzelnen Zellen zu einer Zellmasse verantwortlich sein. Es fallen aber bei der Betrachtung keine drastischen Effekte, wie geplatzte Zellen noch deren Überreste auf. Dies wirft zwangsläufig auch die Frage auf, inwieweit Artefakte, die beispielsweise durch natürliche zellzyklische Prozesse (Zelluntergang), Probenahmen oder Präparationen der Zellen für die REM-Aufnahmen bedingt sind, für die beobachteten mehr marginalen Veränderungen verantwortlich zu machen sind. Dies lässt sich jedoch nicht mit abschließender Bestimmtheit sagen. Hierzu wären sehr viel detailliertere Bildauswertungen anhand zahlreicher Ablichtungen notwendig. An dieser Stelle geben dennoch diese wenigen Eindrücke eine Vorstellung davon wieder, wie sich das Plasma physisch auf *B. subtilis* und Hefen auswirken könnte. Allerdings bleibt auch hier die Frage offen, ob das Plasma selbst, die Temperatur, das Ozon oder andere bislang unbekannte Effekte die zellmorphologischen Beobachtungen verursacht haben.

5.4 Endotoxinkonzentrationen

Die Auswertung der Endotoxinbestimmungen ergaben ein sehr uneinheitliches Bild bei Impinger- und Filterproben. Die Konzentrationen wurden, mit Impingern gemessen, durch das Plasma in allen Fällen, teilweise bis unterhalb der Nachweisgrenze, reduziert. Die Kontrolle ergab für die Endotoxine in der Abluft ohne Betrieb der Anlage eine Erhöhung des Gehaltes um das 2,5fache. Die Werte sind in allen Fällen niedriger, als die Konzentration im Stall. Ähnlich gestaltet sich die Verteilung bei den Filterproben. Sie liegen reingasseitig zwar in derselben Größenordung, allerdings sind sie wesentlich höher, als die Stallkonzentration. Ein quantitativer Vergleich der Konzentrationen mit und ohne Betrieb der Anlage zeigt keine wesentlichen Veränderungen im Endotoxingehalt der Proben. Allerdings ist die Stichprobenzahl von vier Probenpaaren je Zustand zu gering, um eine konkrete Aussage zu machen. Die Frage der Verringerungen durch das plasmaphysikalische Verfahren bleibt somit offen und es besteht weiterer Klärungsbedarf. Anerkannte Richt- oder Grenzwerte für Endotoxine gibt es laut BUNDESANSTALT FÜR ARBEITSSCHUTZ UND ARBEITSMEDIZIN derzeit international noch keine. Experimentelle und epidemiologische Studien weisen Dosis-Wirkungsbeziehungen basierend auf akuten und chronischen pulmonalen Effekten mit Wirkungsschwellen (No-Effect-Level) von 90-1800 EU/m³ aus. Die in dieser Arbeit gemessenen Werte liegen sowohl rohgasseitig, als auch reingasseitig unter dieser Wirkungsschwelle.

5.5 Schwierigkeiten im Anlagenaufbau am FOSVWE

Der Anlagenaufbau, besonders der Technikumsanlage, erwies sich, wie bereits in 3.2 beschrieben, aus mikrobiologischer Sicht bereits von Beginn an als nicht zufrieden stellend. Zunächst sei erneut auf die rohgasseitige Luftführung hingewiesen. Allein der geringe Durchmesser der Luftwege und die dadurch bedingten hohen Geschwindigkeiten stellen für isokinetische Keimmessungen eine erhebliche Problematik dar. Die baulich bedingten 90°-Bögen innerhalb der Luftführung führen vermehrt zu Ablagerungen an den Rohrwänden. Weiter können freiwerdende Keimcluster die Messungen durch hohe Keimaufkommen verfälschen, was es zu sehr differenten Ergebnissen mit hohen Standardabweichungen führt. Eine quantitative Auswertung erscheint unter den gegebenen Unständen unmöglich. Dieser Effekt wird durch die unterschiedlichen Formen der einzelnen Komponenten der Anlage noch verstärkt.

Viele Verwirbelungen, die auf Grund von Strömungsveränderungen, bedingt durch die Vielzahl an unterschiedlichen Bauformen auf kurzer Strecke, entstehen, begünstigen eine Impaktion von Keimen an den Wänden der Bauteile. Allein der Katalysator, der die Luft wie ein Sieb filtert, wird innerhalb kürzester Zeit von Staub, Partikeln und Mikroorganismen zugesetzt, dass eine Luftdurchführung deutlich erschwert wurde. Infolge dessen wurde er ausgebaut, was schwere gesundheitliche Folgen für den Anlagenbetreiber, Anwohner, Wartungspersonal und die Nutztiere im Stall, nach sich ziehen kann (Ozonbelastung; s.u.). Zusätzlich erschweren die ungünstigen Strömungsverhältnisse innerhalb der Anlage weiter eine mikrobiologische Messung. Es wurden roh- und reingasseitig Messkassetten in die Anlage eingebracht, in denen mikrobiologische Untersuchungen durchgeführt wurden. Die Messkassetten waren über eine Länge von 1m wesentlich breiter konzipiert, als die übrigen Rohrleitungen, was zu einer Verringerung der Strömungsgeschwindigkeit führte. Zusätzlich wurden, um weiteren Verwirbelungen innerhalb der Luftströmung entgegenzuwirken, Gleichrichter eingebaut.

Die Möglichkeiten die Effektivität des Reinigungsvermögens des plasmaphysikalischen Verfahrens zu untersuchen wurden weiter von den physikalischen und chemischen Bedingungen eingeschränkt. So wurden die hohen Temperaturen in der Technikumsanlage vom Anlagenbetreiber zunächst nicht beachtet, da es sich um ein Niedrigtemperaturplasma handelte. Erst einem Schmelzen einzelner Bauteile und Rohrleitungssysteme folgten umfangreichere Temperaturmessungen an dieser Anlage. Der Einbau eines Kühlers erweiterte später den Aufbau, sodass reingasseitige mikrobiologische Untersuchungen nicht unmittelbar hinter dem Reaktor, sondern erst in 1.5 m Entfernung durchgeführt werden konnten. Darüber hinaus bestand lange Zeit nicht die Möglichkeit die reingasseitige Ozonkonzentration in der Probenluft festzustellen. Was nach Ausbau des Katalysators fatale Folgen hätte nah sich ziehen können, da das Ozon ungefiltert in die Außenluft abgegeben wurde.

Darüber hinaus traten an der Technikumsanlage im Verlauf der durchgeführten Messungen im Bereich der kontinuierlichen Partikelzählungen, bedingt durch die Gaszusammensetzung hinter dem aktiven Plasmafeld, erhebliche technische Schwierigkeiten auf. Bei den Partikelzahlbestimmungen wurden bereits nach wenigen Messungen Korrosionen des Messkanals in den Geräten festgestellt, so dass eine Verwertung der protokollierten Messdaten obsolet ist, da die Validität der Messdaten nicht zweifelsfrei bejaht werden kann. Es wurde im weiteren Verlauf der Maßkampagnen aus Gründen der Geräteschonung auf diese Art der Partikelzählung verzichtet.

Weiter kam es zu diversen Geräteausfällen und Störungen einzelner Bauteile der Plasmaanlage, sodass teilweise über Wochen keine Untersuchungen durchgeführt werden konnten. Die verwendete Plasmatechnik wurde im Verlauf der Untersuchungen stetig überprüft und verändert. Die Variation der Leistung und der Austausch von Reaktoren und Generatoren sowie die stete Änderungen im Aufbau der Messstrecke durch Um- und Einbau neuer oder anderer Geräte und Bauteile machte eine Vergleichbarkeit der einzelnen Versuche nahezu unmöglich. All diese Punkte behinderten eine detaillierte Auswertung eines Systems mit ausreichender Stichprobenzahl. Das hier untersuchte plasmaphysikalische Verfahren ist in der hier vorgestellten Form noch nicht ausgereift und muss weiteren, auch mikrobiologischen Untersuchungen unterliegen.

5.6 Vergleich mit aktuellen Reinigungsverfahren

In den Untersuchungen zur direkten und indirekten Behandlung von Stallabluft des Versuchsstalles erreicht das hier verwendete plasmaphysikalische Verfahren einen Wirkungsgrad von ca. 40% für mesophile Gesamtkeime, wenn die passiven Rückhalteeffekte wie beispielsweise einfache Keimdeposition in der Anlage, berücksichtigt werden. Dagegen liegt das Reinigungspotential für biologische Abluftreinigungsverfahren im üblichen Betrieb bei 70% und mehr, je nach angewendetem Verfahren und untersuchtem Keimspektrum. Allerdings haben sich diese Reinigungsverfahren bereits großtechnisch für diverse Stallarten etabliert und sind in diesen weitgehend untersucht und angepasst worden. In einem Stallbetrieb müssen üblicherweise große Luftvolumina umgewälzt und in die Außenluft abgegeben werden. Der hier untersuchte Prototyp eines Plasmareaktors ist zur Bewältigung von kleinen Teilluftströmen konzipiert worden, die nicht annähernd den praxisüblichen Volumina entsprechen. Eine Übertragung der Ergebnisse auf Mastbetriebe mit beispielsweise einer 10-fach höheren Tierdichte ist ohne weiteres nicht anzustellen. Somit kann der volle Nutzen eines solchen Systems erst nach einer möglichen Erprobung entsprechend groß konzipierter Anlagen in einem konventionellem Praxisbetrieb eingeschätzt werden.

Des Weiteren ist bei der Anwendung des plasmaphysikalischen Verfahrens zu beachten, dass ein sehr hoher Energieaufwand zur Herstellung des Plasmafeldes nötig ist. Diese Energie wird unter anderem in Form von Wärme frei. Deshalb können nicht alle Materialien für den Einbau verwendet werden, was, neben den hohen, laufenden Energiekosten zur Aufrechterhaltung des Plasmas, zu einer weiteren Erhöhung der Anschaffungskosten führt. Weiter ist zu berücksichtigen, dass die Untersuchungen an einem verhältnismäßig kleinen Stall mit einem vergleichsweise geringen Abluftvolumen durchgeführt wurden. Die Dimensionen und Kosten für eine effektive Abluftreinigung individueller Abluftanlagen ist so nicht kalkulierbar. Aus wirtschaftlicher Sicht überzeugt das hier vorgestellte System in dieser Form noch nicht. Der hier untersuchte Prototyp kann aus genannten Gründen nicht mit in der Praxis langjährig etablierten Verfahren verglichen werden, dennoch muss sich die Betriebssicherheit noch erheblich verbessern, wenn eine Einsatz im konventionellem Nutztierbetrieb erfolgen soll. Ein Betrieb der Anlage im derzeitigen Aufbau birgt ein hohes Gefährdungspotential für Anwohner, wenn nicht kostenintensiv ein Katalysator eingebracht wird, der die hohen Ozonkonzentrationen minimiert. Obwohl Ozon in der Atmosphäre schnell zerfällt sind die Folgen einer dauerhaften Ozonisierung der Luft für Anwohner nicht einzuschätzen. Weiter besteht akutes Gefährdungspotential für Personal, dass beispielsweise Wartungsarbeiten an der Abluftanlage durchführt. Der MAK-Wert liegt für Ozon laut BUNDESANSTALT FÜR ARBEITSSCHUTZ UND AR-BEITSMEDIZIN bei 0,1 ppm (TRGS 900-50, 2004), die hier auftretenden Ozonkonzentrationen liegen trotz der Verdünnung durch die Stallabluft bei 300ppm und mehr.

Es ist bisher ungeklärt, welche weiteren chemischen Nebenprodukte aus den verschiedenen Stalltypen in der Plasmaphase entstehen und in die Abluft entlassen werden. Auch hier besteht eventuell weiteres Gefährdungspotential für Betreiber und Anwohner solcher Anlagen.

Weiter ist zu berücksichtigen, dass erhebliche Ablagerungen von Ammoniumnitrat, als Folge plasmabedingter chemischer Reaktionen, während des Versuchsbetriebes zu zahlreichen Ausfällen der Anlage führten. Das Ammoniumnitrat hat in den bisherigen Versuchen mit einem Katalysator diesen verstopft, sodass ein Durchfluss der zu reinigenden Luft nicht immer möglich war. Zusätzlich können diese Ablagerungen, die sich auch an Rohrleitungen und Wänden abgesetzt haben auch als Nährboden oder Matrix für Keime und Organismen dienen. Es besteht in diesem Sinne zusätzlicher Reinigungsbedarf. Der Einbau eines nachgeschalteten Wäschers könnte sowohl die Ozonkonzentration, als auch Partikel, wie das Ammoniumnitrat, reduzieren.

Darüber hinaus ist unklar, ob durch Anhaftung von Mikroorganismen oder deren Dauerformen auf Ablagerungen von Stäuben oder chemischen Substanzen, die sich auch stets an Abluftschächten bilden, im weiteren Verlauf des Betriebs der Anlage eine Anreicherung bestimmter Organismen oder sogar eine Veränderung des Keimspektrums hervorrufen. Derartige Phänomene sind bereits beispielsweise aus der Anwendung von Biowäschern bekannt. Die durch das plasmaphysikalische Verfahren veränderten Bedingungen in Bezug auf Temperatur, Luftfeuchte und etwaige Gaszusammensetzung könnten für bisher mikrobiologisch nicht berücksichtigte Organismen als Lebensgrundlage dienen.
Um Veränderungen im Keimspektrum auszuschließen müssten über einen längeren Zeitraum mikrobiologische Messungen, die eine Klassifizierung der gesammelten Mikroorganismen einbeziehen durchgeführt werden. Auch hier besteht so unter Umständen weiteres Gefährdungspotential für den Anlagenbetreiber, Personal und Anwohner.

5.7 Anwendungsbereich des untersuchten Verfahrens

Mit Abschluss des Projektes kann gesagt werden, dass nach derzeitigen Erkenntnissen aus orientierenden Untersuchungen unter Labor- und Praxisbedingungen, die Wirkungsweise des plasmaphysikalischen Verfahrens im Vergleich zu momentan verwendeten Abluftreinigungsverfahren (Biowäscher und Biofilter) noch nicht überzeugend ist, aber bei entsprechender Variation eine Alternative darstellen könnte. Eine Verbesserung der Luftgualität im Sinne des Forschungsvorhabens konnte über die hier angestellten orientierenden Untersuchungen für Mikroorganismen zwar erreicht werden, allerdings sind die Rahmenbedingungen in der praktischen Anwendung noch nicht zufrieden stellend. Grundsätzlich ist der Einsatz des plasmaphysikalischen Verfahrens zur Reinigung von luftgetragenen biogenen Frachten, wie sie beispielsweise in der Nutztierhaltung entstehen, vorstellbar. So sind für zukünftige Abluftreinigungsverfahren vielleicht Kombination aus mehreren Techniken denkbar. Beispielsweise würde ein dem plasmaphysikalischen Verfahren nachgeschalteter Wäscher den Ozongehalt und verbleibende lebensfähige Keime in der Abluft weiter reduzieren. Die Kosten für die Plasmatechnik könnten durch klein konzipierte Anlagen gesenkt werden und die Luftreinigungsleistung aber über Folgeanlagen (Wäscher, o.a.) verbessert werden. Eine Kombination von Ozonierung und Wäscher ist bereits patentiert und wird zur Abluftreinigung verwendet.

Ausblickend könnten für die Plasmatechnik sind weitere Anwendungsbereiche vorstellbar, in denen hohe oder spezifische Keimkonzentrationen in der Luft vorkommen oder die ein großes Maß an Hygiene erfordern. Hier seien beispielsweise die Abluftreinigung von Isolierstationen im Krankenhausbereich oder präventive bzw. zusätzliche oder prozesstechnische Maßnahmen in der Abfallwirtschaft oder der Lebensmittelindustrie zu nennen.

6. Literaturverzeichnis

ABDOU, M.A.-F. U. E.M. SCHIRK (1992) Bestimmung des Luftkeimgehaltes mit dem Reuter-Centrifugal-Sampler. Krankenhauspharmazie 3, 122-124

BAUERNFEIND, A. U. P.M. SHAH, (1995)Lexikon der Mikrobiologie und Infektiologie.2. Aufl. Verlag Schattauer, Stuttgart, New York

BAUSUM, H. T., S. A. SCHAUB, K. F. KENYON U. M. J. SMALL (1982) Comparison of coliphage and bacterial aerosols of a wastewater spray irrigation site. Appl. Environ. Microbiol. 43, 28-38

BRACHMANN, P.S., R. EHRLICH, H.F. EICHENWALD, V.J. GABELLI, T.W. KETHLEY, S.H. MADIN, J.R. MALTMAN, G. MIDDLEBROOK, J.D. MORTON, I.H. SILVER U. E.K. WOLFE; (1964) Standard sampler assay of airborne microorganisms. Science, Vol. 144, 1295

BRANDIS H., H.J. EGGERS, W. KÖHLER U. G. PULVERER (1994) Lehrbuch der Medizinischen Mikrobiologie, 7. Auflage Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, Jena, New York

BERNHARDT J., (2000)

Bacillus subtilis – Beschreibung und Charakterisierung der Endotoxinkonzentration in der Luft am Arbeitsplatz. Linsel, G., Kolk A., Lfg 28 – IV/2002, Erich Schmidt Verlag, Bielefeld

BERGMANN K.–CH., H. MÜSKEN (1994) Endotoxine als Auslöser von Themwegsobstruktionen bei Landwirten. Atemw.-Lungenkrh. Jahrgang 20, Nr.:1/1994, 26-30

BIA-ARBEITSMAPPE 9410 (1995) Probenahme von Bioaerosolen am Arbeitsplatz. In: BIA-Arbeitsmappe "Messung von Gefahrenstoffen". Loseblattsammlung, Hrsg. Berufsgenossenschaftliches Institut für Arbeitssicherheit (BIA), Erich Schmidt Verlag, Bielefeld

BIA-ARBEITSMAPPE 9450 (2002) Verfahren zur Bestimmung der Endotoxinkonzentration in der Luft am Arbeitsplatz. Linsel, G., Kolk, A. Lfg.28 – IV/2002, Erich Schmidt Verlag, Bielefeld ВО́НМ, R., W. MARTENS UND P. M. BITTIGHOFER (1998) Aktuelle Bewertung der Luftkeimbelastung in Abfallbehandlungsanlagen. Abfall-Wirtschaft, Neues aus Forschung und Praxis; M.I.C. BAEZA-Verlag Witzenhausen

Borness M., u. Färber, H. Getreuer et. al. (1993) Zur Wirksamkeit und Prüfung von H2O2-Plasmasterilisatoren. Hyg. Med. 1993, Vol.: 18, 557-558

Bossow B. (1998) Keimemissionen bei Weiterverarbeitung aussortierter Wertstoffe. Schriftenreihe der Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin Dortmund/Berlin

BOTZENHART, K (1991) Lufthygiene - Belebte Inhaltsstoffe. In: Gundermann, K.O.; Rüden, H.; Sonntag, H.G. (eds.) "Lehrbuch der Hygiene". G. Fischer Verlag, Stuttgart, 219-222.

BOVALLIUS, A., BUCHT, B., ROFFEY, R. U. ANAS, P. (1978) Three – year investigation of the natural bacterial flora at four localities in Sweden. Appl. Environ. Microbiol. 35, 847-852

BUNDES-IMMISSIONSSCHUTZGESETZ In der Fassung vom 06.11.2003 (BGBl. I Nr.: 34/2003) Emissionshöchstmengengesetz-Luft EG.L, sowie Änderungen des Ozongesetzes und des Immissionsschutzgesetz-Luft

CAMPANELLA M., C. SCIORATI, G. TAROZZO UND M. BETRAMO, 2002 Flow cytometric analysis of inflammatory cells inschemic rat brain. Stroke, Vol. 22, 586-592

CLARK S., R. RYLANDER U. L.LARSSON (1983) Airborne bacteria, endotoxin and fungi in dust in poultry and swine confinement buildings. Am. Ind. Hyg. Assoc. J., Vol. 44, 537-541

DAGGUPATY S.M. , R.F. SELLERS (1990) Airborne spread of food-and-mouth disease in Saskatchewa, Canada 1951-1952. Can. J. Vet. Res., Vol. 54, 465-468 DASCHNER F. (1995) Bewertung der Hygienischen Situation von Abfallwirtschaftsanlagen im Hinblick auf luftgetragene Keime. Entsorga Schriften 15/1995

Dawson J.R. (1990) Minimizing dust in livestock buildings – posible alternatives to mechanical separation J. agric. Engng. Res., Vol. 47, 235-248

DIEHL K., R. HOFFMANN (1996) Literaturstudie zu Hygieneproblemen von Kompostierungsanlagen unter Berücksichtigung der möglichen Gesundheitsgefahren in der Nähe lebender Anwohner. Institut für Wasser-, Boden- und Lufthygiene, Umweltbundesamt.

DOERFELD H., G. JETSCHKE (2001) Wörterbuch der Mycologie Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Berlin

DONALDSON A.I., J. GLOSTER, L.D.J. HARVEY (1982) Use of prediction models to forecast and analyse airborne spreadduring the food-and-mouth disease outbreaks in Brittany, Jersey and the Isle of Wight in 1981. Vet. Rec., Vol. 110, 53-57

DONHAM K.J. (1989) Relationship of air quality an productivity in intensive swine housing. Agri-Practice, Vol. 10, 15-26; 2. überarbeitete u. erweiterte Ausgabe, Georg Thieme Verlag, Stuttgart

GRIMM, E. (2005) Stand der Abluftreinigung für Tierhaltungsanlagen. Landtechnik, 60 (1), 36-37.

HARTMANN, F. (1980)

Experimentelle Untersuchungen über die atmosphärische Ausbreitung von Luftkeimen aus Stallanlagen und künstlichen Keimquellen. Univ. Stuttgart-Hohenheim, Agr. Fak., Diss.

HARTUNG J. (1990) Luftgetragene Emissionen der Tierhaltung. Tagung "Allergie und Umwelt", Vechta, Nov. 1990; Ärztekammer Niedersachsen HARTUNG J. (1998) Art und Umfang der von Nutztierställen ausgehenden Luftverunreinigungen Dtsch. Tierärztl. Wschr., Vol. 105, 213-216

HARTUNG J., J. SEEDORF, T.H. TRICKL U. H. GRONAUER (1998) Freisetzung partikelförmiger Stoffe aus einem Schweinestall mit zentraler Abuftführung in die stallumgebung. Dtsch. Tierärztl. Wschr., Vol.:105; 244-245

HARTUNG J., J. SEEDORF (1999) Zum Auftreten von Endotoxinen in der Luft von Nutztierställen. Atemw.- Lungenkrh., Jahrgang 25, Nr. 11/1999, 645-650

HARTUNG J., R.T. WHYTE (1994) Erfassung und Bewertung von Luftverunreinigungen in der Nutztierhaltung. Atemw.- Lungenkrh., Vol. 20, 17-25

HARMS V. (1998)Biomathematik Statistik und Dokumentation.7. überarbeitete Auflage,1998Harms-Verlag, Kiel-Mönkeberg

Hilliger H.G. (1991) Emissionen von Staub und Keimen aus Ställen. Dtsch. Tierärztliche Wschr., Vol. 98, 257-261

HIRST J.M. (1995)Bioaerosols: Introduction, Retrospect and Prospect. In: Bioaerosols Handbook. Ed. by COX,C.S., C.M. WHATES, Lewis Publishers, Boca Raton, London, Tokyo, pp 5–14.

HIPPLER, R., S. PFAU, M. SCHMIDT, K.H. SCHOENBACH; (2001) Low Temperature Plasma Physics, Fundamental Aspects and Applications. ©WILEY-VCH Verlag Berlin GmbH, Berlin

HURY S., D.R. VIDAL, F. DESOR, J. PELLETIER, T. LAGARDE (1998) A parametric study of the destruction of Bacillus spores in low pressure cxygen-based plasmas. Lett. Appl. Micribiolo., Vol.: 26, 417-421

IPPC-RICHTLINIE (1996) Integrierte Vermeidung und Verminderung der Umweltverschmutzug (96/91/EG), Amtsblatt Nr. L752 vom 10.10.1996, S. 0026-0040 Jarnych V.S. (1976) Aerosole in der Veterinärmedizin. VEB, Deutscher Landwirtschaftsverlag

JANZEN G. (1992) Plasmatechnik , Grundlagen-Anwendungen-Diagnostik Hüthig Verlag GmbH Heidelberg

JENSEN P.A., F.T. WILLIAM, N.D. GREGG, V.S. PASQUALE (1992) Evaluation of eight Bioaerosol Samplers challenged with aerosols of free Bacteria. Am. Ind. Hyg. Assoc. J. Vol. 53 (10), 660-667

JÖRG R., K. HOPPENHEIDT, A. NEEF, P. KÄMPFER (1997) Methoden der Sammlung und Identifizierung luftgetragener Mikroorganismen und Endotoxine.. In: Luftgetragene Mikroorganismen in Abfallbehandlungsanlagen. In: P. Kämpfer und W.D. Weißenfels (Hrsg.) Fachgruppe Umweltmikrobiologie der Vereinigung für allgemeine und angewandte Mikrobioloie e.V. VAAM. Lieskau, 1997. 43-103

KÄMPFER P., U. W.D. WEIBENFELS (1997)Luftgetragene Mikroorganismen in Abfallbehandlungsanlagen.Fachgruppe Mikrobiologie der Vereinigung für Allgemeine und Angewandte Mikrobiologiee.V. VAAM Lieskau, 1997

KELLY-WINTENBERG K., T.C. MONTIE, C. BRICKMAN, J.R. ROTH, A.K. CARR, K. SORGE, L.C. WADSWORTH, P.P. TSAI (1998) Room temperature sterilisation of surfaces and fabrics with a one atmosphere uniform glow discharge plasma. J. Ind. Microbiol. Biotechnol., Vol. 20, 69-74

KHADRE M.A., A.E. YOUSEF, (2001) Sporicidal action of ozone and hydrogen peroxide: a comparative study. Int. J. of Food Microbiol., Vol. 71 (2001), 131-138

KANZ, E., U. C. KANZ (1986) Die Praxis der Krankenhaushygiene - Gestern und Heute, 8. Folge. Hyg. u. Med. 11, 25-31

KOWALSKI W.J., W.P. BAHNFLTH, T.S. WHITTAM (1998) Bacterial effects of high airborne ozone concentrations on *Escherischia coli* and *Staphylokokkus aureus*. Ozone science and engeneering, Vol.: 20, 205-221 KIEFER S. (1992)Leistungsvergleich verschiedener Keimsammler zum Nachweis luftgetragener Bakterien.Univ. Stuttgart-Hohenheim, Agr. Fak., Diss.

KOWALSKI W.J., W.P. BAHNFLTH, T.S. WHITTAM (1998) Becterial effects of high airborne ozone concentrations on Escherichia coli an Streptococcus aureus. Ozone Schencs and Engineering, Vol. 20, 205-221

LACEY, J. (1986) Microorganisms and their productsin Occupational Environments. In: BIA-Report 3/96 Workshop "Microorganisms", Sankt Augustin 1995, 29-41

LACEY, J. U. J. DUTKIEWICZ (1994) Bioaerosols and occupational lung disease. J. Aerosol Sci., Vol.: 25, 1371-1404

LANGE J.L., P.S. THORNE, N. LYNCH (1997) Application of Flow Cytometry and Fluorescent In Situ Hybridization for Assessment of Exposures to Airborne Bacteria. Appl. Environ. Microbiol., Vol. 63, No.4, 1557-1563

LAURENZIS A. (2000) Zum Einsatz eines Airlift-Schlaufenreaktors als Drei-Phasen-Biowäscher bei der biologischen Abluftreinigung. Berichte aus der Verfahrenstechnik Dissertation vom Fachbereich Chemietechnik der Universität Dortmund

LEHMANN H., D. SCHULZ (1982) Die Verwendung der Semisimultan-Fixierung zur Darstellung der Feinstruktur spezialisierter Mooszellen Mikroskopie, Vol. 39, 285-291

LÜBBERT J., CH. GÖRSZ (1986)

Ein Beitrag zur Analyse und Bewertung von irritativ auf den Atemtrakt wirkenden Schadfaktoren in Schweineproduktionsanlagen.

Z. ges. Hyg., Vol. 32, 656-658

MAY, K. R., H. A. DRYETT U. L. P. PACKMAN (1969) Toxicity of open air to a variety of microorganisms. Nature 221, 1146-1147

MECKE P. (1992) Wasserstoffperoxid-Plasma – ein interessantes mikrobiozides Prinzip. Hyg.Med. Vol. 17, 537-542 MÖRITZ M., H. SCHLEIBINGER U. H. RÜDEN (1998)

Keimemissionen an Arbeitsplätzen in Biokompostierungsanlagen. In: Proceeding Fachtagung der Deutschen Vetrinärmedizinischen Gesellschaft (DVG), 25./26.03.1998, München, 75-102

MOISAN, M., J. BARBEAU, M.-C. CREVIER, J. PELLETIER, N. PHILIP, B. SAOUDI (2002): Plasma sterilisation. Methods and mechanisms. Pure Appl. Chem., 74, 349-358

MONTIE T.C., K. KELLY-WINTENBERG, J.R.ROTH (2000) An overview of research using a one atmosphere uniform glow discharge plasma (OAUGDP) for sterilisation of surfaces and materials. IEEE Trans. Plasma Sci., Vol. 28, 41-50

MÜLLER W. u. J. KÖSTER (1971) Ein modifizierter Schlitzsammler zur Luftkeimzahlbestimmung in Nutztierställen. Wiener tierärztl. Wschr., Vol.: 58, 211-213

MÜLLER W. U. E. GÄRTNER (1974) Ein tragbarer Schlitzsammler zur Luftkeimzahlbestimmung in Nutztierställen. Berl. Münchn. Tierärztl. Wschr., vol.: 87, 46-49

MÜLLER W., P. WIESER (1987) Dust and microbial emissions from animal production. In: STRAUCH D. (ed.): Animal production and environmental health. Elsevier Sci. Pub., Amsterdam, Oxford, New York, Tokyo

MUHLHAUSEN J.R., C.E. MCJILTON (1987) Aspergillus and other human respiratoryy isease agents in Turkey confinement houses. Am. Ind. Hyg. Assoc. J., Vol. 48, 894-899

Munk K. (2001) Mikrobiologie Spektrum Akademischer Verlag GmbH, Berlin

Nowak D. (1994) Obstruktive Atemwegserkrankungen bei Landwirten: Epidemiologie und Risikofaktoren Atemw.- Lungenkrkh., Vol. 20, 5-16

OMLAND Ø. (2002)Exposure and respiratory health in farming Temperate zones – a rewiew of the literature. An. Agric. Environ. Med., Vol 9, 119-136 PAHL O., V.R. PHILLIPS, J- LACEY, J. HARTUNG U. C.M.WATHES (1997) Comparison of commonly used samplers with a novel bioaerosol sampler with automatic plate exchange. J. aerosol sci. Vol. 28, 427-435

PLAMGREN M.S., L.S.LEE (1986) Separation of mycotoxin-containing sources in grain dust and determination of their mycotoxin potential. Environ. Health Persp., Vol. 66, 105-108

ROLLE M. U. A. MAYR (1993)Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenlehre.6. überarbeitete Auflage, Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart

ROTTER, M. (1976): Bestimmung der Luftkeimzahl im pharmazeutischen und klinischen Bereich. Pharm. Ind. Vol. 38, Nr. 2a, 122-127 ROTH J.R. (2001) Industrial Plasma Engineering. Applications to nonthermal plasma processing. Institute of Physics Publishing Bristol and Philadelphia (IOP Publishing Ltd), Vol. 2, 361-398

SACHS L. (2004) Angewandte Statistik 11. überarbeitete und aktualisierte Auflage, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg

SALLE A.J. (1948) Fundamental principles of bacteriology. Mc Graw-Hill Book

SCHÖNBAUM M.A., J. ZIMMERMANN (1990) Survival of pseudoborabies virus in aerosol. Amer. J. Vet. Res., Vol 50, 331-333

SEEDORF J., J. HARTUNG, M. SCHRÖDER, K.-H. LINKERT, S. PEDERSEN, H. TAKAI, J.O. JOHNSEN, J.H.M. METZ, P.W.G. GROOT KOERKAMP, G.H. UENK, V.R. PHILIPPS, M.R. HOLDEN, R.W. SNEATH, J.L. SHORT, R.P. WHYTE, C.M. WATHES (1998) Concentrations and emissions of airborn endotoxins and microorganisms in livestock buildings in Northern Europe. J. agric. Engng. Res., Vol. 70, 97-109

SEEDORF J. (2000) Bestimmung des Abscheideverhaltens von Bioaerosolen in einer biologischen Abluftreinigungsanlage Gesundheitsingenieur, Vol. 121, 129-137 Seedorf J., J. Hartung (1999) Untersuchungen zum Rückhaltevermögen eines Biofilters und eines Biowäschers für Bioaerosole an zwei Schweineställen. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr., Vol. 112, 444-447

SEEDORF J., J. HARTUNG (2002) Stäube und Mikroorganismen in der Tierhaltung. Kuratorium für Technik und Bauwesen in der Landwirtschaft,Darmstadt; KTBL-Schrift, Vol. 393

SELLERS R.F., S.M. DAGGUPATY (1990) The epidemic of food-and-mouth disease in saskatchewan, Canada 1951 -1952. Can. J. Vet. Res., Vol 54, 457-464

SIEMERS V., H. VAN DEN WEGHE (1997) Bewertung unterschiedlicher Nassabscheider/Biofilterkombinationen hinsichtlich der Minderung der Ammoniak-, Geruchs- und Staubemissionen aus einstreulosen Mastschweineställen und deren Wirtschaftlichkeit. Beiträge zur 3. Intern. Tagung "Bau, Technik und Umwelt in der landwirtschaftlichen Nutztierhaltung", 11./12. März, Kiel, 491-498 SPROCKHOFF, H. (1979) Die Überlebensfähigkeit bestimmter Krankheitserreger unter Umwelteinflüssen. Dtsch. Tierärztl. Wschr., Vol.: 86, 33-36

TRBA 430 (2001) Verfahren zur Bestimmung der Schimmelpilzkonzentration in der Luft am Arbeitsplatz. BArbBl. 8/2001

TRGS 900-50 (2004) Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin (BAuA) Informationsdienst "Gefahrstoffe" Ausg. 1/2004, letzte Änderung vom 29.09.2003

TRGS 908-14 (1998) Begründung zur Bewertung von Stoffen der TRGS 907. 14. Strahlenpilzhaltiger Staub (BArBl. 1/98 S. 52)

VDI/DIN-Handbuch zur Reinhaltung der Luft, Band 2 – Emissionsminderung. Kommission Reinhaltung der Luft (KRdL) im VDI und DIN Normenausschuss Beuth Verlag GmbH, Berlin, Wien, Zürich

VDI-Richtlinie 2066 (1975)

Staubmessungen in strömenden Gasen. Gravimetrische Bestimmung der Staubbelastung. VDI-Handbuch 335: Luft-Analyseverfahren, Emissionsmesstechnik, Staubmessung in strömenden Gasen; Beuth Verlag GmbH, Berlin, Wien, Zürich VDI-Richtlinie 3471 (1986) Emissionsminderung; Tierhaltung - Schweine VDI-Handbuch Reinhaltung der Luft, Band 3 Beuth Verlag GmbH, Berlin, Wien, Zürich

VDI-Richtlinie 3472 (1986) Emissionsminderung - Hühner VDI-Handbuch Reinhaltung der Luft, Band 3 Beuth Verlag GmbH, Berlin, Wien, Zürich

VDI-Richtlinie 3477 (2004) Biologische Abgasreinigung; Biofilter VDI/DIN-Handbuch Reinhaltung der Luft, Band 6; VDI-Handbuch Biotechnologie, Band 2 VDI-Handbuch Umwelttechnik Beuth Verlag GmbH, Berlin, Wien, Zürich

VDI-Richtlinie 3478 (1996) Biologische Abgasreinigung; Biowäscher und Rieselbettreaktoren VDI/DIN-Handbuch Reinhaltung der Luft, Band 6 Beuth Verlag GmbH, Berlin, Wien, Zürich

VDI-Richtlinie 4252 (2004) Blatt 2: Aktive Probenahme von Bioaerosolen VDI/DIN-Handbuch Reinhaltung der Luft, Band 1a, 4, VDI-Verlag GmbH, Düsseldorf

WANNER H.U. U. A. DEUBER (1969) Methodische Untersuchungen zum Nachweis von Bakterien in der Luft. Arch. Hyg. Vol. 153, 316-325

WEBER H. (1993) Allgemeine Mycologie Gustav Fischer Verlag, Stuttgart

WEIBENFELS, W. D., U. P. A. SCHERER (1997)
Vorkommen luftgetragener Mikroorganismen; In: KÄMPFER; P. u. W. D. WEIBENFELS:
Luftgetragene Mikroorganismen in Abfallbehandlungsanlagen.
Fachgruppe Mikrobiologie der Vereinigung für Allgemeine und Angewandte Mikrobiologie
e.V. VAAM Lieskau, 1997, S. 11-42

WISEMAN H., B. HALLIWELL (1996) Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer. Biochem. J., Vol. 313, 17-29

ZUCKER, B.-A., S. TROJAN, W. MÜLLER (2000): Airborne gram-negative bacterial flora in animal houses. J. Vet. Med. B, 47, 37-46

7 Anhang

7.1 Verwendete Geräte

In der Tabelle sind weitere Geräte, die für die Untersuchungen nötig waren, aufgeführt.

Tabelle :

Hersteller	Gerät	
	AGI - 30 Impinger	
SKC	Pumpe	
	Dppoelhubpumpe	
Heraeus	Herasafe (Sterilbank), Labofuge 400 R (Zentrifuge)	
Ströhnlein	Ströhnlein ST 200 (Analysewaage)	
Eppendorf	Centrifuge 5417c,	
Brand	Thoma-Kammer	
Becton Dickinson	FACScan	
Hund	Fluoreszenzmikroskop	
Whattmann, UK	Polycarbonatfilter	
Pari	Vernebler TIA S	
Testo	Flügelradanemometer	
Conrad	Einstichthermometer	

7.2 Verwendete Puffer und Lösungen

Phosphat-Puffer	7,0 g K₂HF	PO ₄
	3,0 g KH₂F	PO ₄
	4,0 g NaC	
	- mit	: H ₂ O auf 1000ml, pH 7,0
	- 15	Min. bei 121°C autoklvieren
PBS-Puffer	8,0 g NaC	
	0,2 g KCl	
	0,2 g KH ₂ F	PO ₄
	1,26g Na₂H	IPO ₄
TAE-Puffer	242,3 g Tris	base
	60,1 g Eise	essig
	18,6 g ED	TA-Dinatriumsalz-Dihydrat
	- mit	: H ₂ O auf 1000ml, pH 8,5 ±0,2
	- 15	Min. bei 121°C autoklvieren
Peptonwasser	15.0 a	Caseinpepton-Peptonwasser (Oxoid)
	-,- 5	- mit H ₂ O auf 1000ml auffüllen
		- 15 Min. bei 121°C autoklavieren

7.3 Ergänzungen zum Teil 4 (Ergebnisse)

Vegetative Zellen				
Plasma	Position	Paarungen	KBE/Impinger	
	P1	А	8.120	
	P1	В	12.180	
	P1	С	24.100	
	P1	D	5.030	
	P1	E	5.840	
	P1	F	6.230	
	P1	G	5.350	
	P1	Н	1.275	
	P1	Ι	1.360	
	P1	J	1.325	
	P1	K	500	
	P1	L	300	
	P1	M	450	
	P1	N	25	
	P1	0	150	
	P1	P	95	
	P1	0	1 736	
	P1	R R	1 392	
	D1	S S	1.352	
	D1	<u> </u>	1.725	
	D1	1	6 100	
	D1	V	0.190	
	P1 D1	v v	9.220	
	D1	V I	12.930	
	P1 D1		2 490	
	P1 D1	7	3.400 4.245	
	PI D1	2	4.245	
	PI D1	d1 b1	2.025	
al <i>t</i> ii <i>i</i>			3.025	
akuv	PZ D2	A	4.100	
aktiv	PZ D2	В	1 200	
aktiv	PZ D2		1.290	
aktiv	P3		1.270	
aktiv	P3	E	11/6	
aktiv	P3	F	2560	
aktiv	P2	G	19/3	
aktiv	P3	H	290	
aktiv	P3	1	130	
aktiv	P3	J	240	
aktiv	P3	K	20	
aktiv	P3	L	40	
aktiv	P3	M	55	
aktiv	P3	N	0	
aktiv	P3	0	0	
aktiv	P3	Р	20	
aktiv	P3	Q	290	
aktiv	P3	R	374	
aktiv	P3	S	296	
aktiv	P3	Т	160	

Ergänzende	Ergebnisse zu 4.1 ((Vorversuche)

-			
Sporen		1	
Plasma	Position	Paarungen	KBE/Impinger
	P1	а	320
	P1	b	1.532
	P1	С	808
	P1	d	2.987
	P1	e	1.423
	P1	f	2.749
	P1	q	1.533
	P1	h	904
	P1	i	277
	P1	i	393
	P1	k	582
	P1		1.639
	P1	m	1.823
	P1	n	2.684
	P1	0	1 223
	P1	n n	748
	P1	р 0	327
	P1	r y	918
	D1	۱ د	706
	D1	+	517
	D1	<u> </u>	433
	D1	u V	1 527
	D1	V	1.327
	P1 D1	<u>у</u>	1.205
	F1 D1	×	1.973
altin	P1 20	<u>у</u>	201
aktiv	רק בס	a b	291
aktiv	רק בס	D	902
dKUV	P3	ر بر	439
aktiv	P3	ŭ	2.145
aktiv	P3	e	1.108
aktiv	P3	Г	1.983
aktiv	P3	g	1.189
aktiv	P3	n	816
aktiv	P3	1	221
aktiv	P3	J	267
aktiv	P3	ĸ	428
aktiv	P3		1.4/6
aktiv	P3	m	1.569
aktiv	P3	n	1.749
aktiv	P3	0	983
aktiv	P3	р	532
aktiv	P3	q	212
inaktiv	P3	r	671
inaktiv	P3	S	528
inaktiv	P3	t	473
inaktiv	P3	u	367
inaktiv	P3	v	1.473
inaktiv	P3	w	963

Vegetative Zellen			
Plasma	Position	Paarungen	KBE/Impinger
inaktiv	P3	U	4.170
inaktiv	P3	V	6.880
inaktiv	P3	W	8.225
inaktiv	P3	Х	1.420
inaktiv	P3	Y	1.245
inaktiv	P3	Z	2.180
inaktiv	P3	a1	700
inaktiv	P3	b1	1.825

Sporen			
Plasma	Position	Paarungen	KBE/Impinger
inaktiv	P3	х	1.762
inaktiv	P3	У	624

Ergänzungen zu 4.1.2.1 (Vergleichende Untersuchungen zur Wirkungsweise des Plasmas und der Luft aus der Plasmaphase)

B. subtilis	B. subtilis - vegetative Zellen			
Plasma	Position	KBE/Impinger		
Kalt	P1	8750		
Kalt	P1	5420		
Kalt	P1	3050		
Kalt	P2	420		
Kalt	P2	590		
Kalt	P2	450		
Aktiv	P1	3430		
Aktiv	P1	3270		
Aktiv	P1	3940		
Aktiv	P2	270		
Aktiv	P2	560		
Aktiv	P2	460		
inaktiv	P1	2420		
inaktiv	P1	5050		
inaktiv	P1	2350		
inaktiv	P2	320		
inaktiv	P2	660		
inaktiv	P2	134		

Ergänzungen zu 4.1.2.2 (Temperaturverlauf in der Messstrecke) Temperaturverlauf nach Einschalten des Plasmas

Paarungen	Zeit,min	Temp., °C
Α	0	18,3
В	0	25,2
С	0	29,1
D	0	19.8
E	0	25.3
A	5	19.8
B	5	27.2
C	5	29.5
D	5	26.9
F	5	28.3
A	10	22.6
B	10	28.7
C C	10	33.5
D	10	31.8
E	10	20.3
L	10	31.4
R	15	<u> </u>
	15	נד גנד
	15	77,2
	15	39, 4
	15	44,2
A	20	40,5
B	20	54,8
<u> </u>	20	55,3
D	20	52,1
E	20	55,4
A	25	53,2
В	25	62,4
<u> </u>	25	66,6
D	25	59,7
E	25	61,3
<u>A</u>	30	55,7
В	30	70,9
C	30	66,6
D	30	59,7
E	30	61,3
Α	35	61,8
В	35	77,9
C	35	79,8
D	35	72,5
E	35	78,5
A	40	65,1
В	40	82,7
C	40	83,6
D	40	81,3
E	40	83,6
A	45	71,1
В	45	86,2
С	45	88,4
D	45	83,4
E	45	87,9
Α	50	78,6
В	50	92,4
С	50	98.8

D	50	89,2
E	50	94,5

_		_	Temp., °C	Temp., °C
Paarungen	Zeit,min	Zustand	Rohluft	Reinluft
а	0	heiß	18,4	90,8
b	0	heiß	19,4	70,4
с	0	heiß	20	69
d	0	heiß	20	71,9
e	0	heiß	20,5	76,5
а	0	aus	20	90,8
b	0	aus	19,4	73,7
С	0	aus	20	74,7
d	0	aus	20	76,2
e	0	aus	20,4	80,9
а	5	aus	19,1	77,6
b	5	aus	19,5	67
с	5	aus	20	67,8
d	5	aus	20,1	70,1
е	5	aus	20,9	73,1
а	10	aus	19	67,8
b	10	aus	19,5	60,7
С	10	aus	20,1	61,9
d	10	aus	20,1	63,3
е	10	aus	21	65,2
а	15	aus	19,1	61,5
b	15	aus	19,4	55,3
с	15	aus	20	56,1
d	15	aus	20	57,4
e	15	aus	20,9	59,2
а	20	aus	19,1	55,6
b	20	aus	19,6	50,5

Temperaturentwicklung der einströmenden Luft hinter dem Katalysator

			Temp., °C
Paarungen	Zeit,min	Zustand	DBE
а	0	heiß	400
b	0	heiß	434
С	0	heiß	360
d	0	heiß	306
е	0	heiß	328
f	0	heiß	329
а	0	aus	102,5
b	0	aus	110
С	0	aus	105,5
d	0	aus	81
е	0	aus	67
f	0	aus	65
а	5	aus	76
b	5	aus	74
С	5	aus	68
d	5	aus	63
е	5	aus	52
f	5	aus	52
а	10	aus	60
b	10	aus	60
С	10	aus	54
d	10	aus	50
е	10	aus	43
f	10	aus	42
С	15	aus	43
f	15	aus	37
С	20	aus	36
f	20	aus	35
с	25	aus	33
С	30	aus	30

Temperaturverlauf in der DBE nach Abschalten des Plasmas

Hefezellen			
Plasma	Position	Paarungen	Konzentration
Ausgangalsg.		а	1002
Ausgangalsg.		b	1152
Ausgangalsg.		с	1100
Ausgangalsg.		d	896
Ausgangalsg.		е	718
Ausgangalsg.		f	766
Ausgangalsg.		g	674
kalt	P3	а	610
kalt	P3	b	752
kalt	P3	С	1044
kalt	P3	d	796
kalt	P3	е	785
kalt	P3	f	609
Kalt	P3	g	487
aktiv	P3	а	0
aktiv	P3	b	0
aktiv	P3	с	0
aktiv	P3	d	61
aktiv	P3	е	0
aktiv	P3	f	0
aktiv	P3	g	0

Ergänzungen zu 4.1.2.3 (Einfluss von Sammelstress und ozonisierter Impingerflüssigkeit auf die Sterberate von Hefezellen, vegetativer Zellen und Sporen von *Bacillus subtilis*)

B.subtilis-vegetative Zellen					
Plasma	Position	Paarungen	Konzentration		
Ausgangalsg.		а	11850		
Ausgangalsg.		b	10890		
Ausgangalsg.		С	5065		
Ausgangalsg.		d	9630		
Ausgangalsg.		е	1220		
Ausgangalsg.		f	1240		
Ausgangalsg.		g	1290		
kalt	P3	а	10720		
kalt	P3	b	6685		
kalt	P3	с	9060		
kalt	P3	d	8910		
kalt	P3	е	1185		
kalt	P3	f	1265		
kalt	P3	g	1205		
aktiv	P3	а	0		
aktiv	P3	b	15		
aktiv	P3	с	35		
aktiv	P3	d	25		
aktiv	P3	е	0		
aktiv	P3	f	0		
aktiv	P3	g	0		

B.subtilis-Sporen						
Plasma	Position	Paarungen	Konzentration			
Ausgangalsg.		а	5760			
Ausgangalsg.		b	1635			
Ausgangalsg.		С	1620			
Ausgangalsg.		d	600			
Ausgangalsg.		е	545			
Ausgangalsg.		f	570			
Ausgangalsg.		g	680			
kalt	P3	а	4530			
kalt	P3	b	1290			
kalt	P3	С	1580			
kalt	P3	d	600			
kalt	P3	е	505			
kalt	P3	f	560			
kalt	P3	g	595			
aktiv	P3	а	2365			
aktiv	P3	b	900			
aktiv	P3	С	815			
aktiv	P3	d	353			
aktiv	P3	е	380			
aktiv	P3	f	415			
aktiv	P3	g	305			

Ergänzungen zu 4.1.2.4 (Entwicklung der Sterberate nach Abschalten des Plasmas)

			Konz KBE/10	Ges Zellzahl
Paarungen	Zeit.min	Zustand	nach DBF	/10 ml
123	0	aus	60660	509412
123	0	aus	78000	631671
123	0	aus	75030	682612
123	0	aus	66800	794682
456	0	aus	72670	1976517
456	0	aus	78200	1141082
78910	0	aus	44533	1579177
78910	0	aus	68366	2210847
78910	0	aus	93200	1864447
78910	Ő	aus	82633	1966329
Versuch 1	5	aktiv	0	407143
Versuch 2	5	aktiv	0	509423
Versuch 3	5	aktiv	0	1556912
Versuch 4	5	aktiv	0	244517
Versuch 5	5	aktiv	0	978070
Versuch 6	5	aktiv	0	2873082
Versuch 7	5	aktiv	0	458471
Versuch 8	5	aktiv	133	1558800
Versuch 9	5	aktiv	100	336212
Versuch 10	5	aktiv	33	1915388
Versuch 1	5	inaktiv	0	552632
Versuch 2	5	inaktiv	0	611294
Versuch 3	5	inaktiv	0	998447
Versuch 4	5	inaktiv	0	336212
Versuch 5	5	inaktiv	0	978070
Versuch 6	5	inaktiv	0	2248125
Versuch 7	5	inaktiv	0	356588
Versuch 8	5	inaktiv	300	1864447
Versuch 9	5	inaktiv	333	967882
Versuch 10	5	inaktiv	100	1782941
Versuch 1	10	inaktiv	67	621189
Versuch 2	10	inaktiv	3233	183388
Versuch 3	10	inaktiv	1467	2241412
Versuch 4	10	inaktiv	0	427906
Versuch 5	10	inaktiv	0	978070
Versuch 6	10	inaktiv	170	4075293
Versuch 7	10	inaktiv	433	1161459
Versuch 8	10	inaktiv	2667	336212
Versuch 9	10	inaktiv	2833	509412
Versuch 10	10	inaktiv	3000	1558800
Versuch 1	15	inaktiv	6787	509411
Versuch 2	15	inaktiv	17100	509411
Versuch 3	15	inaktiv	16867	1324470
Versuch 4	15	inaktiv	500	335212
Versuch 5	15	inaktiv	1370	978070
Versuch 6	15	inaktiv	2230	3463999
Versuch 7	15	inaktiv	5100	967882
Versuch 8	15	inaktiv	12367	815058
Versuch 9	15	inaktiv	13567	1324471
Versuch 10	15	inaktiv	11533	5978456
Versuch 6	20	inaktiv	4070	2801760
Versuch 6	25	inaktiv	8230	2648941
Versuch 6	30	inaktiv	16800	3769647
Versuch 6	35	inaktiv	20500	2262118

Ergänzungen zu 4.1.2.5 (Quantitative Untersuchung des Einflusses der plasmabedingten Nebenprodukte auf die Sterberate von Hefezellen)

			Gesamt-
Paarungen	Zustand	KBE/10 ml	zellen/10ml
abc	Inaktiv	32130	
abc	Inaktiv	75400	
abc	Inaktiv	84860	
abc	Inaktiv	71030	
abc	inaktiv	53770	
abc	inaktiv	93700	733552,9
abc	inaktiv	74660	1752376,4
de	inaktiv	130560	2506305,8
fg	inaktiv	55800	631670,6
hij	inaktiv	125000	1100329,4
а	aktiv	1330	1202211,7
b	aktiv	430	1833882,3
с	aktiv	530	1405976,4
d	aktiv	500	1548611,7
е	aktiv	0	2373858,8
f	aktiv	0	1283717,6
a	aktiv	133	1467105,8
h	aktiv	2433	774305,9
i	aktiv	1133	203764,7
i	aktiv	266	1548611.7
k k	aktiv	833	25397,1
	aktiv	0	21056,5
m	aktiv	133	16900,6
n	aktiv	0	10897,7
0	aktiv	67	6557,1
р	aktiv	0	11082,4
q	aktiv	33	9697,1
r	aktiv	0	19394,1
а	reaktive Luft	700	2343294,1
b	reaktive Luft	1730	1976517,6
d	reaktive Luft	66	2628654,6
е	reaktive Luft	0	1487482,3
f	reaktive Luft	67	856564,7
g	reaktive Luft	233	1467105,8
h	reaktive Luft	1766	305647,1
i	reaktive Luft	1600	1405976,4
j	reaktive Luft	133	1467105,8
k	reaktive Luft	400	23273
I	reaktive Luft	133	17270
m	reaktive Luft	33	22903,5
n	reaktive Luft	200	6926.5
0	reaktive Luft	133	17824.1
p	reaktive Luft	33	26967.1
q	reaktive Luft	100	12190,6

Fraänzunaen zu 413	(Ozonmessungen der	· Placmaanlage im ITTN)
Liganzungen zu 4.1.5	(Ozoninessungen der	riasinaanaye ini 11 mj

Probenluft		1	
Deemuneen	Zait min	7. stand	0
Paarungen	Zeit, min	Zustand	Ozon, ppm
a h	30	aktiv	254
D	30	aktiv	255
C	30	aktiv	258
a	30	aktiv	260
e	30	aktiv	262
f	30	aktiv	265
g	30	aktiv	278
h	30	aktiv	302
i	30	aktiv	317
j	30	aktiv	325
а	35	aktiv	250
b	35	aktiv	253
С	35	aktiv	260
d	35	aktiv	265
е	35	aktiv	266
f	35	aktiv	274
g	35	aktiv	281
h	35	aktiv	284
i	35	aktiv	293
j	35	aktiv	325
а	0	inaktiv	1,5
b	0	inaktiv	1,5
С	0	inaktiv	3
d	0	inaktiv	11
е	0	inaktiv	40
f	0	inaktiv	46
g	0	inaktiv	55
ĥ	0	inaktiv	59
i	0	inaktiv	82
j	0	inaktiv	103
a	5	inaktiv	n.n.
b	5	inaktiv	n.n.
С	5	inaktiv	n.n.
d	5	inaktiv	n.n.
е	5	inaktiv	n.n.
f	5	inaktiv	n.n.
a	5	inaktiv	n.n.
H	5	inaktiv	n.n.
I	5	inaktiv	n.n.
1	5	inaktiv	n.n.

Impingerflüssigkeit					
		Leistung,			
LfdNr	O3, mg/l	W			
1	0,047	600			
2	0,047	600			
3	0,047	600			
4	0,047	600			
5	0,0494	600			
6	0,0517	600			
7	0,0494	600			
8	0,0541	600			
9	0,0564	600			
10	0,0484	600			
11	0,0846	600			
12	0,0823	600			
13	0,0682	600			
14	0,0317	600			
15	0,0494	600			
16	0,0705	600			
17	0,0283	600			
18	0,0541	600			
19	0,0517	600			
20	0,0494	600			
21	0,0283	600			
22	0,0205	600			

Ergänzungen zu 4.1.4.1 (Indirekte Behandlung vegetativer Zellen von B. subtilissowie Hefezellen mit dem plasmaphysikalischen Verfahren)

			Leistung	Gesamt-	Gesamtzahl		Temperatur
Paarungen	Art	Zustand	in Watt	zellzahl	tote Zellen	KBE	hinter DBE
Hefen, abc	Bypass	aus	0	130.000	4.300	82.150	18
def	Bypass	aus	0	61.000	4.300	55.100	18
B. subtilis							
jkl	Bypass	aus	0	120.000	40.000	6500	21
mno	Bypass	aus	0	75.000	66.000	7800	21
Hefen a	Bypass	an	600	230.000	35.000	17	34
b	Bypass	an	600	310.000	72.000	0	43
с	Bypass	an	600	180.000	48.000	0	44
d	Bypass	an	600	133.000	8.800	0	55
e	Bypass	an	600	94.000	5.700	0	58
f	Bypass	an	600	72.000	6.900	0	62
B. subtilis							
j	Bypass	an	600	72.000	9.200	0	40
k	Bypass	an	600	48.000	12.000	0	54
I	Bypass	an	600	32.000	8.600	0	62
mno	Bypass	an	600	52.000	25.000	17	54
n	Bypass	an	600	49.000	5.500	0	65
0	Bypass	an	600	62.000	7.600	0	66
Hefen ghi	Reaktor	aus	0	21.000	1.000	19300	
B. subtilis							
pqr	Reaktor	aus	0	8.800	4.800	2523	23
Hefen g	Reaktor	an	600	20.000	6.300	0	55
h	Reaktor	an	600	35.000	9.000	0	59
i	Reaktor	an	600	28.000	7.300	0	66
B.subtilis							
р	Reaktor	an	600	6.800	5.800	165	33
q	Reaktor	an	600	7.300	4.800	665	39
r	Reaktor	an	600	5.400	2.100	1550	42

Angabe in Zellen bzw. KBE/Impinger

			Gesamtzahl		Temperatur			
Paarungen	Erhitzung	Gesamtzellzahl	tote Zellen	KBE/Filter	hinter der DBE			
abc	ohne	280.000	112.000	82.200	18			
def	ohne	58.200	700	56.000	16			
ghi	ohne	120.000	9800	59.750	18			
а	mit	81.000		49.800	68			
b	mit	47.000		4.600	62			
С	mit	67.000		57.800	59			
d	mit	310.000		55.300	67			
е	mit	90.700		36.550	64			
f	mit	123.200		49.650	55			
g	mit	73.000	3800	69.750	56			
h	mit	88.000		64.200	47			
i	mit	92.750		49.550	41			
	Angabe in Zellen/Filter							

Ergänzungen zu 4.1.4.2 (Untersuchung des Stressfaktors Temperatur)

			Gesamt-	Gesamtzahl	KBE/	Ozongehalt
Paarungen	Leistung	Stickstoff	zellzahl	Tote Zellen	Impinger	Probenluft
Hefen	0	mit	420.355	310.499	98.596	0
	0	mit	180.034	150.060	97.231	
B.subtilis						
veg.	0	mit	140.705	62.344	46.000	0
	0	mit	100.062	54.976	50.000	
Sporen	0	mit	101.963	-	83880	0
	0	mit	12.755	-	62.381	
Hefen	0	ohne	300.450	235.383	47.800	0
	0	ohne	540.020	317.438	71.000	0
B.subtilis						
veg.	0	ohne	470.049	580.403	32.000	0
	0	ohne	385.004	44.389	16.000	
Sporen	0	ohne	110.367	-	73.356	0
	0	ohne	89.647	-	95.728	
Hefen	600	mit	150.451	62.994	369	8
	600	mit	794.390	271.443	276	9
	600	mit	350.672	122.956	120	9
	600	mit	862.894	170.274	120	8
	600	mit	198.330	41.728	36	0
B.subtilis	600		744 200	107.076		25
veg.	600	mit	/44.300	197.976	0	25
	600	mit	431.49/	142.243	0	2
	600	mit	556.142	67.682	0	0
	600	mit	2/3.233	104.255	0	4
	600	mit	349.//1	91.739	39.500	0
Sporen	600	mit	/46.325	-	15.084	0
	600	mit	1.275.493	-	/6.004	0
	600	mit	893.548	-	42.444	0
	600	mit	1.087.437	-	61.964	0
	600	mit	842.764	-	45.240	0
Heren	600	onne	285.073	240.763	150	625
	600	onne	1.879.264	1.536.726	150	520
	600	onne	2.303.052	1.014.494	120	496
	600	ohne	1.304.300	900.392	30	640
R cubtilic	600	Onne	960.529	000.001	0	040
Vea	600	ohne	521 163	27 725	0	670
veg.	600	ohne	340 185	55 178	0	560
	600	ohne	150 246	43 472	0	660
	600	ohne	147 839	15 598	0	600
	600	ohne	672.041	121.505	7920	680
Sporen	600	ohne	1.329.956	-	33.084	640
	600	ohne	765.947	_	37,284	550
	600	ohne	1.539.877	-	41.760	550
	600	ohne	913.462	-	46.082	520
	600	ohne	1.479.244		41.757	520

Ergänzungen zu 4.1.4.3 (Reduzierung des in der Plasmaphase entstehenden Ozons mittels Stickstoff)

Angabe in Zellen/Impinger

				mesophile	Staphylo-	Strepto-	Temperatur
Paarungen	Messtag	Position	Leistung	Gesamtkeime	Kokken	Kokken	hinter DBE
а	1	Zuluft	1400	1.392	n.n.	1.392	
а	1	Abluft	1400	n.n.		n.n.	103,7
b	1	Zuluft	1330	2.668	n.n.	1.392	
b	1	Abluft	1330	1.392	n.n.	n.n.	117,9
С	1	Stall	0	120.000	100.000	25.000	21
d	2	Zuluft	1400	1.810	n.n.	835	
е	2	Zuluft	1400	400	n.n.	n.n.	
d	2	Abluft	1400	n.n.	n.n.	n.n.	63
e	2	Abluft	1400	n.n.	400	n.n.	68,5
С	2	Stall	0	354.960	257.520	67.976	21
f	3	Zuluft	1200	818	n.n.	n.n.	
g	3	Zuluft	1200	n.n.	408,9	n.n.	
h	3	Zuluft	1200	n.n.	19.488	n.n.	
i	3	Zuluft	1200	1.734	400	400	
j	3	Zuluft	1200	n.n.	400	n.n.	
f	3	Abluft	1200	n.n.	38	n.n.	74,3
g	3	Abluft	1200	400	n.n.	n.n.	75,8
h	3	Abluft	1200	n.n.	800	n.n.	72,8
i	3	Abluft	1200	400	n.n.	n.n.	
j	3	Abluft	1200	n.n.	n.n.	n.n.	
С	3	Stall	0	1.727.936	1.562.636	335.008	21
k	4	Zuluft	1200	2.436	n.n.	n.n.	
	4	Zuluft	1200	3.524	1.697	n.n.	
m	4	Zuluft	1200	2.219	783	n.n.	
n	4	Zuluft	1200	1.247	748	n.n.	
0	4	Zuluft	1200	1.276	1.276	1.276	
k	4	Abluft	1200	2.436	731	n.n.	66,4
I	4	Abluft	1200	818	n.n.	n.n.	67,2
m	4	Abluft	1200	365	365	n.n.	80,3
n	4	Abluft	1200	1.189	713	n.n.	82,6
0	4	Abluft	1200	383	n.n.	n.n.	84,7
С	4	Stall	0	373.520	334.776	79.460	20
р	5	Zuluft	1200	383	383	n.n.	
q	5	Zuluft	1200	1.583	365	365	
r	5	Zuluft	1200	391	391	n.n.	
S	5	Zuluft	1200	383	383	1.276	
t	5	Zuluft	1200	3.393	1.697	392	
р	5	Abluft	1200	365	n.n.	n.n.	82,7
q	5	Abluft	1200	383	383	n.n.	85,1

731

n.n.

n.n.

406

209

87

70

n.n.

946.560

1.496

190.008

n.n.

n.n.

n.n.

107

3.028

n.n.

n.n.

367.488

70

78

263.088

Abluft

Abluft

Abluft

Stall

Zuluft

Zuluft

Zuluft

Abluft

Abluft

Abluft

Stall

5 5 5

5

6

6

6

6

6

6

6

r

s

t

С

u

۷

w

u

۷

w

С

1200

1200

1200

0 1200

1200

1200

1200

1200

1200

0

Ergänzungen zu 4.2.1.2 (Impingermessungen am Teilluftstrom aus dem Stall)

Keimzahlen in KBE/ml

72,7

55,2

79,8

19,5

85,6

85,8

86,9

20

n.n.

n.n.

n.n.

81.432

1.073

157

348

n.n.

n.n.

n.n.

115.884

Ergänzungen zu 4.2.1.4 (Bestimmung der Gesamtkeimzahl auf Filterproben und in Impingerflüssigkeiten)

Paarung	Methode	Position	Gesamtzellzahl
а	Impinger	Zuluft	26.568
b	Impinger	Zuluft	14.835
С	Impinger	Zuluft	9780
d	Impinger	Zuluft	16498
е	Impinger	Zuluft	22741
а	Impinger	Abluft	12.453
b	Impinger	Abluft	6.932
С	Impinger	Abluft	3238
d	Impinger	Abluft	7962
е	Impinger	Abluft	10478
f	Filter	Zuluft	113.890
g	Filter	Zuluft	23.574
h	Filter	Zuluft	9.838
i	Filter	Zuluft	12.899
j	Filter	Zuluft	60.764
f	Filter	Abluft	98.890
g	Filter	Abluft	10.763
h	Filter	Abluft	5.728
i	Filter	Abluft	75.347
j	Filter	Abluft	8.976
ab	Impinger	Stall	35.728.000
cd	Impinger	Stall	70.336.000
е	Impinger	Stall	58.539.000
fg	Filter	Stall	66.173.000
h	Filter	Stall	87.912.000
ij	Filter	Stall	54.972.000

Ergänzungen zu 4.2.1.3 (Impingermessungen in den Messkassetten)

Ergebnisse Messreihen an der Technikumsanlage mittels Impinger

Messtag 1	KBE/m ³					
	Leistung		mesophile	Staphylo-	Strepto-	Temperatur
Messposition	Plasma	Ν	Gesamtkeime	kokken	kokken	hinter DBE
Rohgasseitig	1400 W	1	1.392	n.n.	1.382	103,7°C
Reingasseitig	1400 W	1	n.n.	1,2*10E2	n.n.	
Rohgasseitig	1330 W	1	2.668	n.n.	1.382	117,9°C
Reingasseitig	1330 W	1	1.392	n.n.	n.n.	
Kontrolle Stall	-	1	120.000	100.000	25.000	_

Durchfluss: 50m³/h; Stall: 20,8°C; 53% rF

Messtag 2	KBE/m ³					
	Leistung		mesophile	Staphylo-	Strepto-	Temperatur
Messposition	Plasma	Ν	Gesamtkeime	kokken	kokken	hinter DBE
Rohgasseitig	1400 W	2	1.105	n.n.	418	68,5°C
Reingasseitig	1400 W	2	n.n.	200	n.n.	
Kontrolle Stall	-	1	354.960	257.520	67.976	_

Durchfluss: ~80m³/h Stall: 20,1°C; 51% rF

Messtag 3	KBE/m ³					
	Leistung		mesophile	Staphylo-	Strepto-	Temperatur
Messposition	Plasma	Ν	Gesamtkeime	kokken	Kokken	hinter DBE
Rohgasseitig	1200 W	5	510	4139	n.n.	74,3°C
Reingasseitig	1200 W	5	160	160	n.n.	
Kontrolle Stall	-	1	1.727.936	1.562.636	335.008	-
Dumah fluxan 77m2/h	Chall, 20,00C.	F20/F				

Durchfluss: ~ 77m³/h Stall: 20,0°C; 52% rF

Messtag 4	KBE/m³					
	Leistung		mesophile	Staphylo-	Strepto-	Temperatur
Messposition	Plasma	Ν	Gesamtkeime	kokken	Kokken	hinter DBE
Rohgasseitig	1200 W	5	2140	901	255	66,4°C
Reingasseitig	1200 W	5	1038	362	n.n.	
Kontrolle Stall	-	1	373.520	334.776	79.460	_
Durchflugg, 77m3/h	Chall, 20 60C					

Durchfluss: ~ 77m³/h Stall: 20,6°C; 51% rF

Messtag 5	KBE/m³					
	Leistung		mesophile	Staphylo-	Strepto-	Temperatur
Messposition	Plasma	Ν	Gesamtkeime	kokken	Kokken	hinter DBE
Rohgasseitig	1200 W	5	1227	644	407	82,7°C
Reingasseitig	1200 W	5	296	n.n.	n.n.	
Kontrolle Stall	-	1	190.008	263.088	81.432	-
D	Challe 20 70C	F 20/F				

Durchfluss: ~ 77m³/h Stall: 20,7°C; 52% rF

Messtag 6	KBE/m³					
	Leistung		mesophile	Staphylo-	Strepto-	Temperatur
Messposition	Plasma	Ν	Gesamtkeime	kokken	Kokken	hinter DBE
Rohgasseitig	1200 W	3	704	1071	526	85,6°C
Reingasseitig	1200 W	3	n.n	n.n.	n.n.	
Kontrolle Stall	-	1	946.560	367.488	115.884	-

Durchfluss: ~ 70m³/h Stall: 21,2°C; 53% rF

n = Probenanzahl n.n. = nicht nachweisbar

_				Mesophile	Staphylo-	Strepto-
Paarungen	Messtag	Position	Leistung	Gesamtkeime	kokken	kokken
а	1	Zuluft	560	6.727	2.900	3.625
b	1	Zuluft	560	8.014	4.196	3.686
а	1	Abluft	560	1.332	n.n.	n.n.
b	1	Abluft	560	1.598	n.n.	n.n.
С	1	Stall	0	70.441	56.677	71.040
d	2	Zuluft	560	2.020	5.328	1.240
е	2	Zuluft	560	2.380	2.090	960
d	2	Abluft	560	130	n.n.	67
е	2	Abluft	560	20	n.n.	n.n.
с	2	Stall	0	5.550	2.072	1.265
f	3	Zuluft	560	6	6	n.n.
g	3	Zuluft	560	n.n.	n.n.	n.n.
h	3	Zuluft	560	n.n.	n.n.	n.n.
i	3	Zuluft	560	n.n.	n.n.	n.n.
f	3	Abluft	560	1,3	n.n.	n.n.
g	3	Abluft	560	n.n.	n.n.	n.n.
h	3	Abluft	560	1,3	n.n.	n.n.
i	3	Abluft	562	n.n.	n.n.	n.n.
с	3	Stall	0	913	869	1,3

Ergänzungen zu 4.2.1.5 (Filtrationen an der Technikumsanlage)

Keimausbeute in KBE/m³

					mesophile	Staphylo-	Strepto-	Endo-	Temperatur
				Laufzeit,				toxine	im
Paarungen	Messtag	Position	Leistung	min	Gesamtkeime	kokken	kokken	EU/m ³	Messkanal
А	1	Zuluft	0	90	2.768	1.983	844	18,40	
В	1	Abluft	0	90	1.717	503	222	4,44	47,8°C
C	1	Zuluft	1200	90	2.442	1.658	780	7,02	
D	1	Zuluft	1200	90	2.516	1.702	799	3,87	
C	1	Abluft	1200	90	59	n.n.	15	0,36	
D	1	Abluft	1200	90	266	15	15	0,53	79°C
E	1	Zuluft	1200	120	289	56	89	0,90	77°C
E	1	Abluft	1200	120	22	n.n.	n.n.	1,93	82°C
F	1	Stall	0		10.597	6.260	5.668	122,93	21°C
G	2	Zuluft	0	90	1.095	562	266	8,89	
Н	2	Abluft	0	90	178	133	133	2,18	28°C
I	2	Zuluft	1200	90	636	326	148	1,42	
J	2	Zuluft	1200	90	163	89	44	0,31	
I	2	Abluft	1200	90	15	n.n.	n.n.	0,27	
J	2	Abluft	1200	90	n.n.	n.n.	n.n.	0,27	78°C
К	2	Zuluft	1200	120	266	77	77	0,83	78°C
К	2	Abluft	1200	120	n.n.	n.n.	n.n.	0,23	80°C
F	2	Stall	0		12.506	8.836	3.330	36,66	21°C

Keimausbeute in KBE/m³

Ergänzungen zu 4.2.1.6 (Bypass-System am FOSVWE)

					Gesamt-	mesophile	Staphylo-	Strepto-	mesophile
Paarungen	Messtag	Position	Zustand	Leistung	Zellzahl	Gesamtkeime	kokken	kokken	Pilze
А	1	Zuluft	Frischluft	560		2.578	2.412	989	n.n.
А	1	Abluft	Stalluft	560		n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
В	1	Zuluft	Stalluft	560		2.793	n.n.	957	n.n.
В	1	Abluft	Frischluft	560		67	n.n.	n.n.	n.n.
С	1	Stall	Indoor	0		214.378	36.466	12.569	n.n.
D	1	Outdoor	Kontrolle	0		n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
E	2	Zuluft	Frischluft	560	9.265	444	222	n.n.	n.n.
E	2	Abluft	Stalluft	560	26.470	1.177	289	n.n.	n.n.
F	2	Zuluft	Stalluft	560	44.115	2.731	1.034	955	n.n.
F	2	Abluft	Frischluft	560	19.852	67	n.n.	n.n.	n.n.
С	2	Stall	Indoor	0	66.173	1.122.033	68.598	38.783	n.n.
D	2	Outdoor	Kontrolle	0		n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
g	3	Zuluft	Stalluft	560		220	66	66	66
h	3	Zuluft	Stalluft	560		374	n.n.	n.n.	66
i	3	Zuluft	Stalluft	560		660	n.n.	n.n.	n.n.
j	3	Zuluft	Stalluft	560		n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
g	3	Abluft	Frischluft	560		n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
h	3	Abluft	Frischluft	560		n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
i	3	Abluft	Frischluft	560		66	66	n.n.	n.n.
j	3	Abluft	Frischluft	560		n.n.	66	n.n.	n.n.
С	3	Stall	Indoor	0		14.520	12.540	10.120	132
d	3	Outdoor	Kontrolle	0		n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
k	4	Zuluft	Frischluft	560		220	66	66	n.n.
I	4	Zuluft	Frischluft	560		66	n.n.	n.n.	n.n.
m	4	Zuluft	Frischluft	560		n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
n	4	Zuluft	Frischluft	560		n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
k	4	Abluft	Stalluft	560		n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
I	4	Abluft	Stalluft	560		n.n.	n.n.	n.n.	n.n.
m	4	Abluft	Stalluft	560		n.n.	154	n.n.	n.n.
n	4	Abluft	Stalluft	560		n.n.	66	n.n.	66
С	4	Stall	Indoor	0		59.180	62.546	29.986	n.n.
d	4	Outdoor	Kontrolle	0		n.n.	220	n.n.	66

Keimausbeute in KBE/m³

Ergänzungen zu 4.2.2 (Direkte und indirekte plasmaphysikalische Behandlung der gesamten Stallabluft)

Filterproben:

Filter				Gesamt-	Gesamtzahl	mesophile	Endotoxine	Ozongehalt
Paarungen	Messtag	Position	Leistung	Zellzahl	tote Zellen	Gesamtkeime	EU/m ³	Probenluft
а	1	Zuluft	0			2.220	0,13	
b	1	Zuluft	0	480.000	80.000	120.000	3,2	0
а	1	Abluft	0			10.500	26,68	
b	1	Abluft	0	300.000	33.000	34.000	7,97	0
С	1	Zuluft	1250	2.600.000	220.000	160.000	37,09	
С	1	Abluft	1250	150.000	3.300	39.000	4,16	120ppm
d	1	Zuluft	2500	120.000	13.000	36.000	7,35	
d	1	Abluft	2500	120.000	62.000	37.000	4,13	250ppm
е	1	Stall	0	440.000	16.000	34.000	1,92	
f	2	Zuluft	0	1.100.000	190.000	120.000	72,89	
f	2	Abluft	0	180.000	36.000	37.000	9,86	0
g	2	Zuluft	1250	240.000	33.000	67.000	11,64	
h	2	Zuluft	1250	300.000	84.000	95.000	23,93	120ppm
g	2	Abluft	1250	260.000	74.000	33.000	2,59	
h	2	Abluft	1250	190.000	20.000	17.000	2,99	120ppm
i	2	Zuluft	2500	320.000	73.000	96.000	25,56	
i	2	Abluft	2500	96.000	20.000	27.000	4,84	250ppm
е	2	Stall	0	140.000	28.000	64.000	7,67	

Angabe der Zellzahlen/m³ bzw. in KBE/m³

_		
Tm	aingarnral	2001
	maermo	Jen.
	sin igoi pi oi	

Impinger				Gesamt-	mesophile	Endotoxine	Ozongehalt
Paarungen	Messtag	Position	Leistung	Zellzahl	Gesamtkeime	EU/m ³	Probenluft
abcdef	1	Zuluft	0	1.636.512	26.243	n.n.	
abcdef	1	Abluft	0	3.075.510	4.448	3,75	0
а	1	Zuluft	1250	1.289.358	50.596	43,22	
b	1	Zuluft	1250	236.094	18.309	33,47	
С	1	Zuluft	1250	244.860	61.883	57,86	
а	1	Abluft	1250	753.360	2.002	n.n.	160
b	1	Abluft	1250	103.454	3.614	54,53	160
С	1	Abluft	1250	191.856	1.298	n.n.	160
d	1	Zuluft	2500	643.650	52.931	136,86	
е	1	Zuluft	2500	393.520	150.490	14,5	
f	1	Zuluft	2500	41.952	51.764	1,36	
d	1	Abluft	2500	197.652	6.486	n.n.	260
е	1	Abluft	2500	326.624	2.076	1,08	360
f	1	Abluft	2500	39.442	2.168	2,61	300
g	1	Stall	0	233.088	159.683	156,96	0

Impinger				Gesamt-	mesophile	Endotoxine	Ozongehalt
Paarungen	Messtag	Position	Leistung	Zellzahl	Gesamtkeime	EU/m ³	Probenluft
hijkl	2	Zuluft	0	239.438	76.927	10,28	
hijkl	2	Abluft	0	267.826	22.786	5,64	0
h	2	Zuluft	1250	308.640	126.720	40,29	
i	2	Zuluft	1250	56.408	16.016	n.n.	
j	2	Zuluft	1250	235.296	7.560	n.n.	
h	2	Abluft	1250	73.568	4.480	1,29	160
i	2	Abluft	1250	134.008	1.803	n.n.	160
j	2	Abluft	1250	178.552	1.232	n.n.	180
k	2	Zuluft	2500	238.640	61.600	2,28	
	2	Zuluft	2500	144.012	15.154	n.n.	
k	2	Abluft	2500	183.360	1.932	0,5	280
	2	Abluft	2500	122.040	840	n.n.	310
g	2	Stall	0	281.568	109.536	25,71	0
	3	Zuluft	0		49.333	566,39	
m	3	Zuluft	0		74.899	121,03	0
	3	Abluft	0		15.420	30,61	
m	3	Abluft	0		29.913	34,21	
g	3	Stall	0		190.667	87,3	
opqrstuv	5	Zuluft	0	23.199.194	20.400	14,41	
opqrstuv	5	Abluft	0	3.210.049	21.101	1,74	0
0	5	Zuluft	1250	4.749.634	77.913	4,67	
р	5	Zuluft	1250	3.582.266	9.333	1,74	
q	5	Zuluft	1250	3.663.572	1.733	n.n.	
r	5	Zuluft	1250	2.786.106	241.333	24,58	
S	5	Zuluft	1250	887.918	93.101	9,94	
t	5	Zuluft	1250	997.185	287.304	67,77	
u	5	Zuluft	1250	2.551.077	196.957	20,14	
v	5	Zuluft	1250	646.265	7.507	16,96	
0	5	Abluft	1250	1.100.308	3.994	3,54	160
р	5	Abluft	1250	1.228.349	1.055	n.n.	160
q	5	Abluft	1250	697.659	1.507	n.n.	160
r	5	Abluft	1250	2.479.419	11.304	16,12	170
S	5	Abluft	1250	1.646.212	4.748	8,26	160
t	5	Abluft	1250	20.720	17.049	21,27	160
u	5	Abluft	1250	1.179.861	1.739	4,61	160
v	5	Abluft	1250	1.323.629	5.682	7,51	160
g	5	Stall	0	1.940.956	59.855	2,96	
wxyz(xy)1	4	Zuluft	0	303.026	18.480	16,65	
wxyz(xy)2	4	Zuluft	0	240.056	43.107	6,94	
wxyz(xy)1	4	Abluft	0	296.939	11.396	71,74	0
wxyz(xy)2	4	Abluft	0	99.336	7.068	9,04	0
w	4	Zuluft	1250	563.719	40.440	2,68	
x	4	Zuluft	1250	226.212	61.333	6,7	
у	4	Zuluft	1250	329.075	150.260	24,73	
z	4	Zuluft	1250	289.644	159.113	29,27	
(xy)	4	Zuluft	1250	322.983	104.348	28,64	
w	4	Abluft	1250	220.806	4.404	1,51	160
x	4	Abluft	1250	59.153	754	7,97	160
у	4	Abluft	1250	328.951	5.884	13,75	160
Z	4	Abluft	1250	288.643	4.522	9,04	160
(xy)	4	Abluft	1250	187.256	4.696	3,91	160
g	4	Stall	0	247.519	207.481	31,33	0

Angabe der Zellzahlen/m³ bzw. in KBE/m³

Ergänzungen zu 4.3 (Endotoxinbestimmungen)

Filterproben:

Paarung	Position	Leistung	EU/m ³
ab1	Zuluft	0	0,13
ab2	Zuluft	0	26,68
cde	Zuluft	0	72,89
fg	Zuluft	0	13,66
а	Zuluft	1250	37,09
С	Zuluft	1250	24,01
d	Zuluft	1250	23,93
g	Zuluft	1250	37,02
b	Zuluft	2500	4,16
е	Zuluft	2500	25,56
f	Zuluft	2500	20,7
g	Zuluft	2500	9,02
ab1	Abluft	0	7,97
ab2	Abluft	0	3,2
cde	Abluft	0	9,86
fg	Abluft	0	2,59
а	Abluft	1250	7,35
С	Abluft	1250	2,59
d	Abluft	1250	2,99
g	Abluft	1250	5,17
b	Abluft	2500	4,13
е	Abluft	2500	4,84
f	Abluft	2500	4,73
g	Abluft	2500	4,24
ab12	Stall	0	1,92
cde	Stall	0	7,67
f	Stall	0	2,67
g	Stall	0	7,46

Impingerflüssigkeiten:

Paarung	Position	Leistung	EU/m ³
abcdef	Zuluft	0	n.n.
hijkl	Zuluft	0	10,28
m	Zuluft	0	566,39
n	Zuluft	0	121,03
opqrstuv	Zuluft	0	14,41
wxyz(xy)1	Zuluft	0	16,65
wxyz(xy)2	Zuluft	0	6,94
a	Zuluft	1250	43,22
b	Zuluft	1250	33,47
С	Zuluft	1250	57,86
h	Zuluft	1250	40,29
i	Zuluft	1250	n.n.
j	Zuluft	1250	n.n.
0	Zuluft	1250	4,67
р	Zuluft	1250	1,74
q	Zuluft	1250	n.n.
r	Zuluft	1250	24,58
S	Zuluft	1250	9,94
t	zuluft	1250	67,77
u	Zuluft	1250	20,14
v	Zuluft	1250	16,96
w	Zuluft	1250	2,68
х	Zuluft	1250	6,7
У	Zuluft	1250	24,73
Z	Zuluft	1250	29,27
(xy)	Zuluft	1250	28,64
d	Zuluft	2500	136,86
е	Zuluft	2500	14,5
f	Zuluft	2500	1,36
k	Zuluft	2500	2,28
	Zuluft	2500	n.n.
abcdef	Stall	0	156,96
hijkl	Stall	0	25,71
mn	Stall	0	87,3
opqrstuv	Stall	0	2,96
wxyz(xy)	Stall	0	31,33
abcdef	Abluft	0	3,75
hijkl	Abluft	0	5,64
m	Abluft	0	30,61
n	Abluft	0	34,21
opqrstuv	Abluft	0	1,74
wxyz(xy)1	Abluft	0	71,74
wxyz(xy)2	Abluft	0	9,04
а	Abluft	1250	n.n.
b	Abluft	1250	54,53
С	Abluft	1250	n.n.
h	Abluft	1250	1,29
i	Abluft	1250	n.n.

Paarung	Position	Leistung	EU/m ³
j	Abluft	1250	n.n.
0	Abluft	1250	3,54
р	Abluft	1250	n.n.
q	Abluft	1250	n.n.
r	Abluft	1250	16,12
S	Abluft	1250	8,26
t	Abluft	1250	21,27
u	Abluft	1250	4,61
v	Abluft	1250	7,51
W	Abluft	1250	1,51
х	Abluft	1250	7,97
у	Abluft	1250	13,75
Z	Abluft	1250	9,04
(xy)	Abluft	1250	3,91
d	Abluft	2500	n.n.
е	Abluft	2500	1,08
f	Abluft	2500	2,61
k	Abluft	2500	0,5
L	Abluft	2500	n.n.

Ergänzungen zu 4.4 (Ozonmessungen am FOSVWE)

Mit FTIR gemessene Ozonkonzentration im Abluftschacht

Paarung	Leistung	O3, ppm
а	1250	120
а	1250	120
а	1250	120
b	1250	160
С	1250	170
С	1250	160
d	2500	250
d	2500	270
e	2500	260
e	2500	360
f	2500	300
f	2500	280
f	2500	310

Ozonkonzentration in den Impingerflüssigkeiten

Paarung	Teilstromart	Position	Leistung	03, mg/l
а	Teilstalluft	vorDBE	1500	0,073
b	Teilstalluft	vorDBE	1500	0,02
C	Teilstalluft	vorDBE	1500	0.0141
d	Teilstalluft	vorDBE	1500	0.118
e	Teilstalluft	vorDBF	1500	0,166
f	Teilstalluft	vorDBF	1500	0.047
a	Teilstalluft	nachKAT	1500	0 254
h	Teilstalluft	nachKAT	1500	0 141
C C	Teilstalluft	nachKAT	1500	0 214
d	Teilstalluft	nachKAT	1500	0.258
u A	Toilstalluft	nachKAT	1500	0,250
f	Toilstalluft	nachKAT	1500	0,100
	Toilstalluft	Transport	1300	0,207
dof	Toilstalluft	Transport	0	0
uei	Cohooht		0	0 214
y k	Schacht	Zuluit	0	0,214
n :	Schacht	Zuluit	0	0,02
	Schacht	Zuluft	0	0,009
J	Schacht	Zuluft	0	0,009
K	Schacht	Zuluft	0	0,007
I	Schacht	Zuluft	0	0,018
m	Schacht	Zuluft	0	0,026
g	Schacht	Abluft	0	0,018
h	Schacht	Abluft	0	0,11
i	Schacht	Abluft	0	0,016
j	Schacht	Abluft	0	0,002
k	Schacht	Abluft	0	0,019
I	Schacht	Abluft	0	0,052
m	Schacht	Abluft	0	0,009
	Schacht	Transport	0	0.000
	Schacht	Transport	0	0.000
	Schacht	Transport	0	0.000
	Schacht	Transport	0	0.000
	Schacht	Transport	0	0.000
	Schacht	Transport	0	0.000
	Schacht	Transport	0	0.000
n	Schacht	Zuluft	1250	0,047
0	Schacht	Zuluft	1250	0,0071
р	Schacht	Zuluft	1250	0,0074
q	Schacht	Zuluft	1250	0,0094
r	Schacht	Zuluft	1250	0,0071
s	Schacht	Zuluft	1250	0,0141
t	Schacht	Zuluft	1250	0.0141
U U	Schacht	Zuluft	1250	0.0071
v	Schacht	Zuluft	1250	0.07
Ŵ	Schacht	Zuluft	1250	0.2
v v	Schacht	Zuluft	1250	0.01
N N	Schacht	Zuluft	1250	0 000
y Z	Schacht	Zuluft	1250	0,005
(2h)	Schacht	Zuluit	1250	0,030
	Schacht	Zuiuit	1250	0,141
(cu) (cf)	Schocht	Zuluit	1250	
(er)	Schacht		1250	0,005
(gn)	Schacht		1250	0,003
(1)	Schacht		1250	0,007
(KI)	Schacht	Zuluft	1250	0,009
Paarung	Teilstromart	Position	Leistuna	03 ma/l
---------	--------------	----------	----------	---------
n	Schacht	Abluft	1250	0.094
0	Schacht	Abluft	1250	0.094
n	Schacht	Abluft	1250	0.148
a r	Schacht	Abluft	1250	0.2
r r	Schacht	Abluft	1250	0,181
S	Schacht	Abluft	1250	0,2092
t	Schacht	Abluft	1250	0,268
u	Schacht	Abluft	1250	0,2233
v	Schacht	Abluft	1250	0,18
w	Schacht	Abluft	1250	0,29
x	Schacht	Abluft	1250	0,84
у	Schacht	Abluft	1250	0,157
Z	Schacht	Abluft	1250	0,24
(ab)	Schacht	Abluft	1250	0,357
(cd)	Schacht	Abluft	1250	0,059
(ef)	Schacht	Abluft	1250	0,23
(gh)	Schacht	Abluft	1250	0,202
(ij)	Schacht	Abluft	1250	0,075
(kl)	Schacht	Abluft	1250	0,08
a1	Schacht	Zuluft	2500	0,03
b1	Schacht	Zuluft	2500	0,02
c1	Schacht	Zuluft	2500	0,73
d1	Schacht	Zuluft	2500	0,009
e1	Schacht	Zuluft	2500	0,007
a1	Schacht	Abluft	2500	0,89
b1	Schacht	Abluft	2500	0,59
c1	Schacht	Abluft	2500	0,64
d1	Schacht	Abluft	2500	0,494
e1	Schacht	Abluft	2500	0,385

Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig angefertigt und die benutzten Hilfsmittel sowie eventuell zu Hilfeleistungen herangezogenen Institutionen vollständig angegeben habe. Ich versichere ferner, dass die Dissertation nicht schon als Diplomarbeit oder ähnliche Prüfarbeit verwendet worden ist.

Hannover im Februar 2006

(Heike Nieswandt)

Lebenslauf

Name	Heike Nieswandt
Geburtsdatum	07.01.1976
Geburtsort	Halle/Westfalen

Schulbildung

1982 - 1986	Grundschule Steinhagen
1986 – 1992	Friedrich v. Bodelschwingh Schulen, Gymnasium Bethel
1992 - 1995	Friedrich v. Bodelschwingh Schulen, Kollegschule Bethel; Ab-
	schluss: Abitur

Freiwilliges Ökologisches Jahr

Aug. 1995 – Aug. 1996	Landkreis Aurich; Außenstelle Norden
-----------------------	--------------------------------------

Hochschulbildung

Okt. 1996 – Juni 2003	Studium der Biologie an der Universität Bielefeld
14. Juli 1999	Diplomvorprüfung
12. Juni 2003	Diplomarbeit im Fachbereich Mikrobiologie der Universität Biele-
	feld über das Thema: "Etablierung einer universellen Methodik
	zum Zellwandabbau bei Schimmelpilzen für nachfolgende taxo-
	nomische Bestimmung auf DNA-Ebene"
23. Juni 2003	Abschluss des Studiums als Diplom-Biologin

Promotion

Juni 2003 – Dez. 2004	Wissen	schaft	liche Mitarbeiterin	am	Institut für Tie	rzucht, Tier-
	schutz	und	Nutztierethologie	der	Tierärztlichen	Hochschule
	Hannov	/er				
	Abschlu	uss: Pi	romotion Promotio	n		

Seit Okt. 2005 Laborleitung bei der Fa. Roncadin, Osnabrück