

DIN EN 16868

Diese Norm ist Bestandteil des VDI/DIN-Handbuches Reinhaltung der Luft, Band 1A und Band 5.
ICS 13.040.20

Entwurf

Einsprüche bis 2017-11-15
Vorgesehen als Ersatz für
DIN CEN/TS 16868
(DIN SPEC 33973):2016-03

**Außenluft –
Probenahme und Analyse luftgetragener Pollen und Pilzsporen für
Allergienetzwerke –
Volumetrische Hirst-Methode;
Deutsche und Englische Fassung prEN 16868:2017**

Ambient air –
Sampling and analysis of airborne pollen grains and fungal spores for networks related to
allergy –
Volumetric Hirst method;
German and English version prEN 16868:2017

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2017-09-15 wird der Öffentlichkeit zur Prüfung und
Stellungnahme vorgelegt.

Weil die beabsichtigte Norm von der vorliegenden Fassung abweichen kann, ist die Anwendung dieses Entwurfs
besonders zu vereinbaren.

Stellungnahmen werden erbeten

- vorzugsweise online im Norm-Entwurfs-Portal von DIN unter www.din.de/go/entwuerfe bzw. für Norm-Entwürfe der DKE auch im Norm-Entwurfs-Portal der DKE unter www.entwuerfe.normenbibliothek.de, sofern dort wiedergegeben;
- oder als Datei per E-Mail an krdl@din.de möglichst in Form einer Tabelle. Die Vorlage dieser Tabelle kann im Internet unter www.din.de/go/stellungnahmen-norm-entwuerfe oder für Stellungnahmen zu Norm-Entwürfen der DKE unter www.dke.de/stellungnahme abgerufen werden;
- oder in Papierform an die VDI/DIN-Kommission Reinhaltung der Luft (KRdL) - Normenausschuss, 40002 Düsseldorf, Postfach 10 11 39, VDI-Platz 1, 40468 Düsseldorf.

Die Empfänger dieses Norm-Entwurfs werden gebeten, mit ihren Kommentaren jegliche relevanten
Patentrechte, die sie kennen, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.

Gesamtumfang 77 Seiten

VDI/DIN-Kommission Reinhaltung der Luft (KRdL) - Normenausschuss

Nationales Vorwort

Der europäische Norm-Entwurf prEN 16868 wurde im Europäischen Komitee für Normung (CEN) in der Arbeitsgruppe WG 39 „Erfassen allgierrelevanter luftgetragener Pollen“ des Technischen Komitees CEN/TC 264 „Luftbeschaffenheit“, dessen Sekretariat von DIN (Deutschland) gehalten wird, erarbeitet. An der Erstellung waren deutsche Experten des Richtlinienausschusses „Erfassen allergierelevanter luftgetragener Pollen“ des Fachbereichs III „Umweltqualität“ der VDI/DIN-Kommission Reinhaltung der Luft (KRdL) – Normenausschuss maßgeblich beteiligt.

Um Zweifelsfälle in der Übersetzung auszuschließen, ist die englische Originalfassung beigelegt. Die Nutzungsbedingungen für den deutschen Text des Norm-Entwurfes gelten gleichermaßen auch für den englischen Text.

Änderungen:

Gegenüber DIN CEN/TS 16868 (DIN SPEC 33973):2016-03 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) Abschnitt 7 (Leistungsmerkmale für Pollen- und Pilzsporenzählungen) wurde neu strukturiert.
- b) Abschnitt 8 (Qualitätssicherung) wurde neu hinzugefügt.
- c) Die Informationen zu Sicherheitsdatenblättern wurden im informativen Anhang C geändert.
- d) Die Literaturhinweise im informativen Anhang D wurden ergänzt.

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

CEN/TS 16817-1, *Außenluft — Monitoring der Wirkungen von gentechnisch veränderten Organismen (GVO) — Pollenmonitoring — Teil 1: Technische Pollensammlung mit Pollenmassenfilter (PMF) und Sigma-2-Sammler*

VDI 4330 Blatt 1, *Beobachtungen ökologischer Wirkungen gentechnisch veränderter Organismen — Gentechnisch veränderte Pflanzen — Grundlagen und Strategien*

VDI 4330 Blatt 3, *Monitoring der Wirkungen gentechnisch veränderter Organismen (GVO) — Pollenmonitoring — Technische Pollensammlung mit Pollenmassenfilter (PMF) und Sigma-2-Sammler*

VDI 4330 Blatt 4, *Monitoring der Wirkungen von gentechnisch veränderten Organismen (GVO) — Pollenmonitoring — Biologische Pollensammlung mit Bienenvölkern*

Außenluft — Probenahme und Analyse luftgetragener Pollen und Pilzsporen für Allergienetzwerke — Volumetrische Hirst-Methode

Ambient air — Sampling and analysis of airborne pollen grains and fungal spores for networks related to allergy — Volumetric Hirst method

ICS:

Deskriptoren

Dokument-Typ: Europäische Norm

Dokument-Untertyp:

Dokument-Stage: CEN-Umfrage

Dokument-Sprache: D

STD Version 2.8l

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	4
Einleitung	5
1 Anwendungsbereich	6
2 Normative Verweisungen	6
3 Begriffe	6
4 Funktionsprinzip	9
5 Probenahme	9
5.1 Geräte	9
5.1.1 Prüfgerät	9
5.1.2 Probenahmeträger	12
5.1.3 Windfahne und Regenschutzabdeckung	14
5.1.4 Vollständiges Probenahmesystem	15
5.2 Verfahrensanweisung	16
5.2.1 Vorbereitung des Beschichtungsmediums	16
5.2.2 Vorbereitung der Träger	16
5.2.3 Wechsel der Trommel	17
6 Analyse	18
6.1 Geräte	18
6.2 Verfahrensanweisung	18
6.2.1 Träger	18
6.2.2 Befestigungsmedium	19
6.3 Zählmethode	19
6.3.1 Vorbereitung der Glasobjektträger für die Mikroskopanalyse für das Trommelklebeband	19
6.3.2 Optische Mikroskopie [14] [16]	21
6.3.3 Identifizierung [15] [16]	21
6.3.4 Zählmethode	21
6.3.5 Aufzeichnung von Daten	22
6.3.6 Konversionsfaktor	22
7 Leistungsmerkmale für Pollen- und Pilzsporenzählungen [10] [11] [17] [18]	23
7.1 Allgemeines	23
7.2 Integrierte Unsicherheitsbewertung	23
7.3 Unsicherheit aufgrund von Zählfehlern und Auszählroutine	24
7.4 Messunsicherheit bezogen auf Probenahmefeffizienz	24
7.5 Messunsicherheit in Bezug auf Fangfolie, Klebstoff und Probenvorbereitung	24
7.6 Messunsicherheit bezogen auf das Zeitfenster	24
7.7 Messung im Zusammenhang mit der Nachweisgrenze und Umgang mit Werten unterhalb der Nachweisgrenze	24
7.8 Messunsicherheit in Bezug auf die Kalibrierung der Durchflussmenge	24
7.9 Messunsicherheit bezogen auf räumliche Repräsentativität	25
8 Qualitätssicherung	25
8.1 Allgemeines	25
8.2 Messstelle/Fallen	25
8.2.1 Kontrolle	25

8.2.2	Charakterisierung des Standortes und seiner Umgebungsbedingungen (Pass/Ausweis der Probenahmestelle)	25
8.2.3	Räumliche Repräsentativität	25
8.3	Analytiker	25
8.4	Intra- und Interlabor-Qualitätsbeurteilungen	26
8.4.1	Allgemeines	26
8.4.2	Wiederholpräzision	26
8.4.3	Vergleichpräzision und Messgenauigkeit	26
8.4.4	Empfindlichkeit und Spezifität	26
8.5	Netzwerk-Monitoring-Management	27
Anhang A (informativ) Volumetrische Falle des Typs Hirst		28
Anhang B (informativ) Bilder des Impaktionsträgers		29
Anhang C (informativ) Produktsicherheitsdatenblätter		31
Anhang D (informativ) Bestimmungsschlüssel		32
Literaturhinweise		37

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN 16868:2017) wurde vom Technischen Komitee CEN/TC 264 „Luftbeschaffenheit“ erarbeitet, dessen Sekretariat von DIN gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur CEN-Umfrage vorgelegt.

Dieses Dokument wird CEN/TS 16868:2015 ersetzen.

Einleitung

In der Luft befinden sich biologische Partikel (Pollen und Pilzsporen), die auf verschiedenen Ebenen gesundheitliche Auswirkungen verursachen. In Europa leiden fast 18 % bis 20 % aller Menschen aufgrund von Pollen und/oder Pilzsporen an Pollinose. Pollenkörnchen und Pilzsporen werden in einigen Mitgliedstaaten als Luftschadstoff sowie in der Luft suspendierte Partikel (PM_{10,2,5}) betrachtet. In Europa managt die European Aerobiology Society (EAS) in Zusammenarbeit mit der International Association for Aerobiology (IAA) Probleme der Probenahme, Analyse, Qualitätskontrolle, Entwicklung und Information.

Personen und Institutionen, die an der Pollenprognose beteiligt sind, tragen eine Verantwortung für Wissenschaft und öffentliche Gesundheit. Eine Pollenprognose ist ein Leitfaden zur Vermeidung von Allergenen mit direktem Einfluss auf Pollenallergiker und deren Verhalten. Pollenallergiker benötigen solche Informationen, da eine Pollenallergie ihre Lebensqualität beeinträchtigt. Pollen und Sporen sind ein im Überfluss vorhandenes Umweltallergen. Der Gesundheitszustand von Pollenallergikern darf aufgrund unzureichender Prognosen, finanzieller Interessen oder mangelhafter Arbeitsabläufe bei der Grundlagenarbeit wie der Auswertung von Pollendaten und allen beteiligten Prozessen (Instandhaltung von Geräten sowie Vorbereitung, Bewertung, Handhabung und Verarbeitung von Daten) nicht gefährdet werden.

Für die Probenahme und Analyse biologischer Partikel kommen unterschiedliche Methoden und Arbeitsanweisungen zum Einsatz.

Es gibt eine Vielfalt von Geräten zur Probenahme (siehe Anhang A). Die Analyse basiert auf optischer Lichtmikroskopie zur Identifizierung und Zählung von Pollenkörnchen und Pilzsporen.

Elemente und Reagenzien, die bei der Probenahme und Analyse verwendet werden, besitzen sehr spezifische Eigenschaften und müssen sorgfältig gehandhabt werden.

Informationen über luftgetragene Pollen- und Sporenkonzentration (Zählungen und Analysen) spielen eine wichtige Rolle in der Aerobiologie sowie in anderen Disziplinen und Anwendungsgebieten wie Biodiversität, Landwirtschaft, Forstwirtschaft, Phytopathologie, Meteorologie, Klimatologie, Paläoökologie/-klimatologie, forensischer Wissenschaft, Bioterrorismus und Gesundheit (Sensibilisierung und Allergie). Das in dieser Europäischen Norm beschriebene Verfahren zielt auf die Zwecke von Netzwerken im Zusammenhang mit Allergien ab. Außerdem kann sie auch für andere oben genannte Anwendungen von Nutzen sein.

1 Anwendungsbereich

Diese Europäische Norm legt das Verfahren fest, um die Konzentration luftgetragener Pollenkörnchen und Pilzsporen in der Umgebungsluft mittels volumetrischer Probenahme nach dem Hirst-Prinzip [1] [2] [3] (siehe Anhang A) oder einer gleichwertigen, vergleichbare Daten liefernden Methode zu analysieren.

Diese Europäische Norm beschreibt sowohl die Probenahme als auch die Analyseverfahren für Zwecke von Netzwerken im Zusammenhang mit Allergien. Für die anderen in der Einleitung erwähnten Aufgaben können andere Spezifikationen erforderlich sein.

2 Normative Verweisungen

Keine Angaben.

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

- 3.1**
Messunsicherheit
Ausmaß der Übereinstimmung zwischen einem Messgrößenwert und dem wahren Wert einer Messung
- 3.2**
Labortisch
langer Arbeitstisch in einer Werkstatt oder einem Labor
- 3.3**
Uhrwerk
Mechanismus mit einer Feder und Zahnrädern, um eine mechanische Uhr, ein Spielzeug oder anderes Gerät anzutreiben
- 3.4**
Kombinierte Standardmessunsicherheit
ermittelt aus den einzelnen Standardmessunsicherheiten, die mit den Eingangsgrößen in einem Messmodell verbunden sind
- 3.5**
Entfettet
Oberflächenzustand nach dem Reinigen mit einer Fettentfernungssubstanz
- 3.6**
Trommel
Zylindrische Vorrichtung zur Montage eines Klebebandes
- 3.7**
Exine
Außenwand eines Pollenkörnchens, auch Exosporium genannt
- 3.8**
Okular
Linse oder Kombination von Linsen in einem optischen Instrument, durch das das Auge das durch die Objektivlinse oder -linsen gebildete Bild betrachtet
- 3.9**
Durchflussmessgerät
Instrument zur Messung der Durchflussmenge einer Flüssigkeit in einem Rohr

3.10

Durchflussrate

Fluidmenge (z. B. Luft), die in einem bestimmten Zeitraum fließt

3.11

Pilzspore

Fortpflanzungseinheit von Pilzen, die mit oder ohne sexuelle Verschmelzung ein neues Individuum erzeugen kann

3.12

Haube

Metallabdeckung oder -haube für einen Herd, Ventilator, usw.

3.13

Impaktion

Probenahme luftgetragener Partikel durch Trägheitstrennung auf beliebiger Oberfläche (z. B. eines Klebstoffs)

3.14

Magnetrührer

Objekt oder mechanische Vorrichtung zum Rühren von etwas

3.15

Vergrößerung

Vergrößerungsstärke eines Instruments, z. B. sollte dieses Mikroskop eine Vergrößerung von ungefähr $\times 100$ besitzen

3.16

Mikroskop

Optisches Instrument mit einer Vergrößerungslinse oder einer Linsenkombination zur Inspektion von Objekten, die zu klein sind, um deutlich und im Detail mit dem bloßen Auge gesehen zu werden

3.17

Objektive

Optik (in einem Teleskop, einem Mikroskop, einer Kamera oder einem anderen optischen System), Linse oder Linsenbaugruppe, die zuerst die Lichtstrahlen vom Objekt einfängt und das Bild in der Brennebene des Okulars abbildet, wie in einem Mikroskop oder auf einer Platte oder dem Bildschirm einer Kamera

Anmerkung 1 zum Begriff: Auch Objektglas, Objektlinse, Objektiv genannt.

3.18

Öffnung

Öffnung oder Blende, wie von einem Rohr oder einer Röhre; ein Mundstück mit einer schlitzzartigen Öffnung auf der Seite der Falle

3.19

Partikel

Winziges Materieteilchen

3.20

Pollen

Männlicher Gametophyt der Blütenpflanzen, bestehend aus mikroskopischen Körnchen aus den Antheren (*Angiospermen*) oder aus einem männlichen Kegel (*Gymnospermen*)

Anmerkung 1 zum Begriff: Jedes Pollenkörnchen enthält zwei männliche Gameten (nur eine kann die weibliche Eizelle befruchten).

Anmerkung 2 zum Begriff: Pollen werden durch Wind, Wasser, Tiere (z. B. Insekten) transportiert.

3.21

Präzision

Ausmaß der Übereinstimmung zwischen Indikationen oder Messgrößenwerten, die durch Replikatmessungen an denselben Objekten unter bestimmten Bedingungen erhalten wurden

3.22

Wiederholpräzision

Bedingung einer Messung, aus einer Reihe von Bedingungen, die das gleiche Messverfahren, die gleichen Bediener, das gleiche Messsystem, die gleichen Betriebsbedingungen und den gleichen Ort umfassen sowie replizieren Messungen an den gleichen Objekten über einen kurzen Zeitraum

3.23

Vergleichpräzision

Bedingung einer Messung, aus einer Reihe von Bedingungen, die verschiedene Orte, Bediener und Messsysteme umfassen sowie Messungen an den gleichen Objekten replizieren

3.24

Empfindlichkeit

In der Aerobiologie, Messung des Anteils der Suchpartikel, der korrekt identifiziert wird

3.25

Objektträger

Rechteckiges Glasstück, auf dem ein Gegenstand montiert oder zur Untersuchung unter einem Mikroskop platziert wird

3.26

Spezifität

In der Aerobiologie, Messung des Anteils nicht gesuchter Partikel, die korrekt als von den gesuchten Partikeln verschieden identifiziert werden

3.27

Standardmessunsicherheit

Messunsicherheit als Standardabweichung ausgedrückt

3.28

Unterdruck

Die Erzeugung eines Unterdrucks durch die Entnahme von Luft, um Flüssigkeit in einen leeren Raum zu zwingen

3.29

Taxon/Taxa

Taxonomische Gruppe beliebiger Ordnung, wie Art, Gattung, Familie oder anderer Ordnung

3.30

Falle

Vorrichtung, um etwas zu sammeln

3.31

Vakuum

Raum, aus dem die Luft ganz oder teilweise entfernt wurde

3.32

Vakuumpumpe

Pumpe oder Vorrichtung, mit der ein Teilvakuum erzeugt werden kann

3.33

Windfahne

Mechanische Vorrichtung, die an einer erhöhten Struktur befestigt ist; dreht sich je nach Windrichtung frei

4 Funktionsprinzip

Durch ein volumetrisches Unterdrucksystem wird Umgebungsluft entnommen und durch eine spezifische Öffnung auf eine geeignet beschichtete Probenahme­fläche gerichtet, die zur Luftbewegung hin ausgerichtet ist; die in der entnommenen Luft enthaltenen Partikel werden beim Aufprall auf einer sich kontinuierlich bewegend­en Klebstoffakzeptoroberfläche abgeschieden. Die Probenahme­fläche wird dann mit einem optischen Mikroskop untersucht, um die Pollen- und Pilzsporen pro Fläche (Abscheidungs­raten) zu identifizieren und zu zählen. Mit dieser Methode können Konzentrationen als Tagesmittel oder als 2-Stunden-Mittel berechnet werden. Die Probenahme erfolgt in der Regel bei niedrigem Volumenfluss (10 l/min). Dies erlaubt eine kontinuierliche Probenahme für bis zu sieben Tage [4] [5] [6].

5 Probenahme

5.1 Geräte

5.1.1 Prüfgerät

5.1.1.1 Motorisierte Saugpumpen

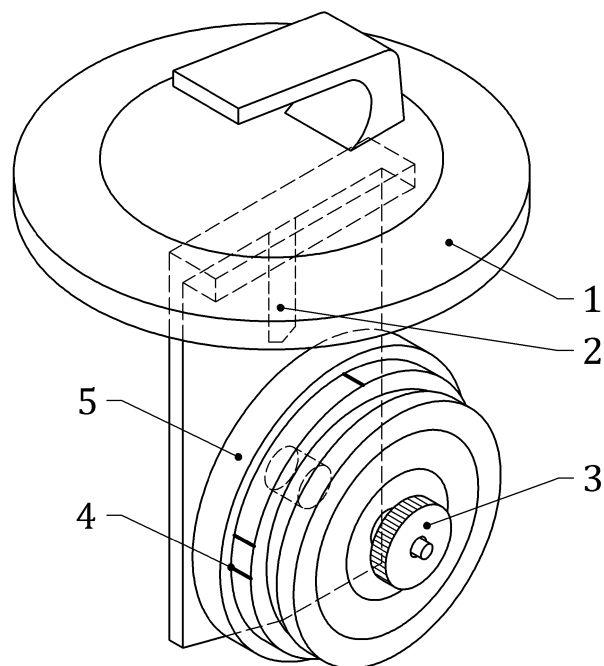
Die motorisierte Saugpumpe muss 24 Stunden am Tag und kontinuierlich während des ganzen Jahres mit derselben Durchflussrate arbeiten. Die Stromversorgung kann entweder netz- oder batteriebetrieben (Solarzellen) erfolgen. Der Elektromotor muss in der Lage sein, im Dauerbetrieb zu arbeiten.

Das Saugsystem kann beispielsweise eine Vakuumpumpe sein. Die Durchflussrate ist durch ein Durchflussregelventil einzustellen.

Die empfohlene Durchflussrate beträgt 10 l/min mit einer Präzision von weniger als 10 % (± 1 l/min).

Die Gültigkeit der Kalibrier­methode mit einer empfohlenen Messabweichung der Durchflussmenge von weniger als 10 % zwischen Kalibrierung und Betrieb muss vom Hersteller zertifiziert werden. Da die Genauigkeit der Kalibrierung vom Luftwiderstand und den Kennlinien der Einzelfalle, der Vakuumpumpe und dem verwendeten Durchflussmesser abhängt [19], muss die Gültigkeit entsprechend zertifiziert werden, d. h. speziell für die Kombination von Falle/Vakuumpumpe/Durchflussmesser, die vom Hersteller geliefert wird.

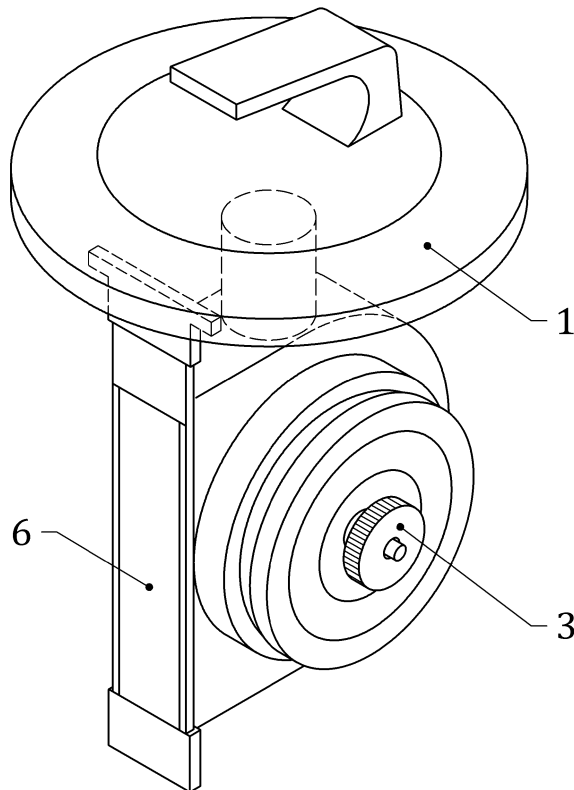
Die Durchflussrate muss bei jeder Änderung des Impaktionsträgers mit einer validierten Methode geprüft werden.



Legende

- 1 Deckel
- 2 Startreferenzzeiger
- 3 Sicherungsmutter
- 4 Startposition der Öffnung
- 5 Fangfläche

Bild 1a — Die volumetrische Falle nach Hirst mit 7-Tage-Deckelanordnung mit Trommel



Legende

- 1 Deckel
- 3 Sicherungsmutter
- 6 Fangfläche auf Objektträger

Bild 1b — Die volumetrische Falle nach Hirst mit 24-Stunden-Deckelanordnung mit Objektträger

5.1.1.2 Spezifische Öffnung

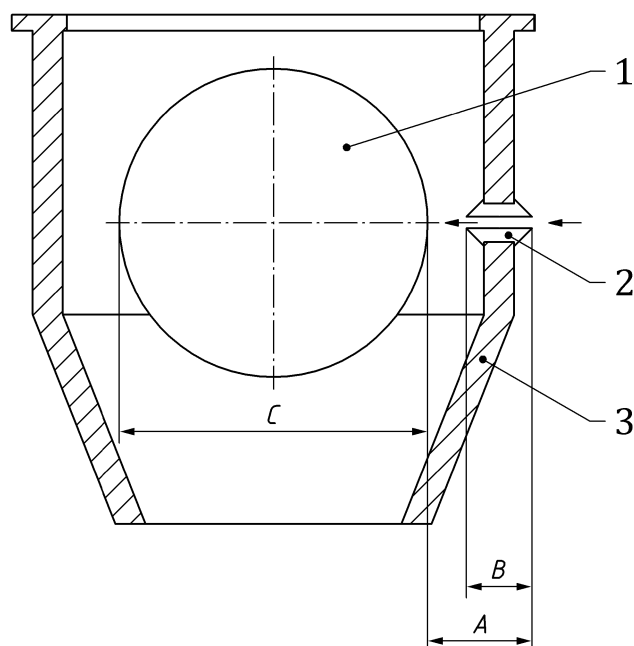
Die Öffnung hat folgende Abmessungen (mit zugehörigen Toleranzen):

- rechteckige Öffnung: 14 mm ($\pm 0,1$ mm) $\times$ 2 mm ($\pm 0,1$ mm);
- Tiefe der Öffnung: > 19 mm;
- Abstand von der Innenöffnung zur Trommel ohne das Klebeband: 0,70 mm ($\pm 0,1$ mm).

Die Tiefe ermöglicht die nichtturbulente laminare Strömung und leitet das Gemisch aus Luft und Partikeln in Richtung des beschichteten Trägers. Infolgedessen ist eine effiziente Partikelimpaktion für Pollenkörner und Pilzsporen gewährleistet, die durch die laminare Strömung induziert wird.

Der Auslass der Öffnung muss 0,70 mm ($\pm 0,1$ mm) vom beschichteten Träger entfernt sein (siehe Bild 2 – Abstand A-B). Der Abstand ermöglicht eine effiziente Partikel-Impaktion für Pollenkörner und Pilzsporen. Dies muss kontrolliert werden [7] [8] [9].

Die Öffnung sollte mit einer Windfahne zum Luftstrom gerichtet werden.



Legende

- 1 Trommel
- 2 Öffnung
- 3 Abdeckung
- A 20,5 mm oder 22,5 mm, je nach Anbieter
- B 19,8 mm oder 21,8 mm, je nach Anbieter
- C Trommeldurchmesser 110 mm bis 112 mm
- A-B 0,7 ($\pm 0,1$ mm)

Bild 2 — Pollenfalle (Kopf des Hirst-Systems)

5.1.2 Probenahmeträger

5.1.2.1 Allgemeines

Abhängig von der gewünschten Probenperiode finden zwei Möglichkeiten als Probenträger breite Anwendung:

- Ein Glasobjektträger für die Mikroskopie (76 mm $\times$ 26 mm) auf dem ein transparentes Klebeband (48 mm $\times$ 19 mm) befestigt ist, beschichtet mit spezifischen Reagenzien (siehe Bild B.1 in Anhang B) für eine Probenahme von einem Tag.
- eine Trommel (mit 110 bis 112 mm Durchmesser) auf der ein transparentes beschichtetes flexibles Klebeband angebracht ist, für eine Probenahme von sieben Tagen. Die Länge dieses Klebebandes beträgt 345 bis 350 mm ($\pm 0,5$ mm), je nach Trommelgröße.

Der Probeträger wird durch ein Uhrwerk oder einen Elektromotor mit einer Drehgeschwindigkeit vom 2 mm/h bis 14 mm/h ($\pm 0,01$ mm/h) angetrieben, je nach Probenahmeperiode.

Der Probenträger muss sich gleichmäßig vor dem hinteren Auslass der Öffnung bewegen. Die Probenahme muss stets kontinuierlich und stabil erfolgen und darf während der gewünschten Probenahmezeit nicht angehalten werden.

5.1.2.2 Transparentes Klebeband

Das transparente Klebeband ist mit einem Klebstoff beschichtet, um die Partikel zu fixieren.

Die folgenden Anforderungen müssen erfüllt sein:

- Das transparente Klebeband muss wasserunlöslich sein.
- Die Dicke des gesamten transparenten Klebebandes darf sich über die Zeit nicht verändern und darf nicht durch Betriebsbedingungen beeinträchtigt werden (Temperatur zwischen -20 °C und $+60\text{ °C}$ sowie Feuchtigkeit zwischen 20 % und 100 %).
- Es muss völlig transparent sein, um das Durchlassen des Mikroskoplichts zu ermöglichen.
- Die Länge muss an den verwendeten Träger angepasst werden.

5.1.2.3 Reagenzien

Es sind zwei transparente Beschichtungsprodukte (gelöst in bestimmten Lösungsmitteln oder nicht) verwendbar: Vaseline oder Silikon.

5.1.2.3.1 Vaseline

Die Haupteigenschaften von Vaseline (Nr. CAS: [8009 03 8], siehe Anhang C), sind folgende:

- geruchlos;
- farblos;
- viskose Flüssigkeit;
- Siedepunkt: 68 °C ;
- Reinheit $> 99\text{ %}$;
- Gefahr von Durchfall und anderen Magenproblemen bei Absorption oder bei wiederholter Exposition.

ANMERKUNG Vor Gebrauch das Material Sicherheitsdatenblatt (MSDS) für spezielle Anweisungen beachten. (siehe Anhang C)

Verdünnen Sie die Vaseline mit Toluol (Nr. CAS [108 88 3], siehe Anhang C). Es ist auch möglich, ungelöste Vaseline zu verwenden, wenn eine gleichmäßige Dicke entlang des Streifens gewährleistet ist.

Die Reinheit von Vaseline und Toluol muss $> 99\text{ %}$ sein.

5.1.2.3.2 Silikon

Die Haupteigenschaften von Silikon (Nr. CAS: [90337 93 2], siehe Anhang C), sind folgende:

- geruchlos;
- farblos bis weiß;
- pastös;
- hohe Viskosität stabil von -20 °C bis $+150\text{ °C}$;
- entflammbar über 400 °C ;
- Reizwirkung auf die Augen;

ANMERKUNG Vor Gebrauch das Material Sicherheitsdatenblatt (MSDS) für spezielle Anweisungen beachten. (siehe Anhang C)

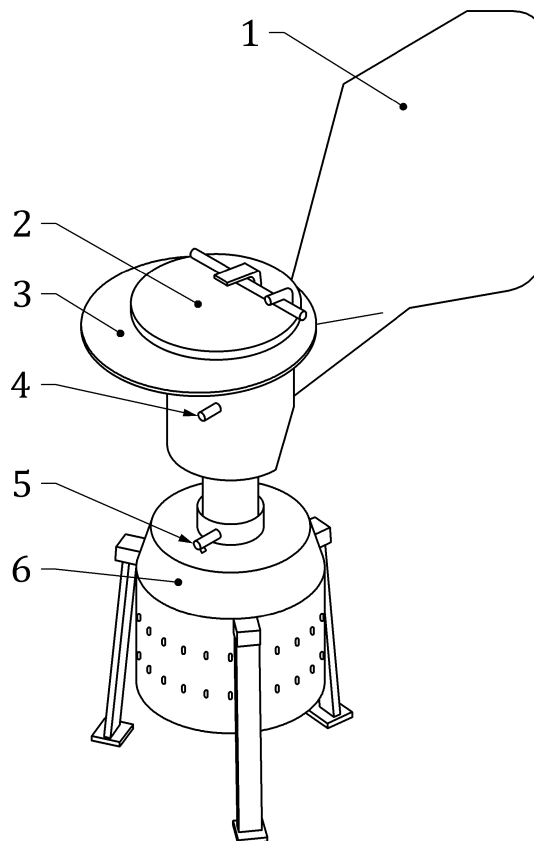
- nicht biologisch abbaubar.

Das Silikon mit einem speziellen Lösungsmittel verdünnen (siehe Anhang C).

Die physikalischen Eigenschaften des Klebstoffmediums bleiben unverändert bei Temperaturen zwischen – 20 °C und + 50 °C. Damit eignet es sich für die meisten bioklimatischen Zonen.

5.1.3 Windfahne und Regenschutzabdeckung

Die Windfahne ermöglicht eine permanente Drehung des Fangkopfes, so dass die Öffnung immer dem Wind zugewandt ist. Die Regenschutzabdeckung bietet Wetterschutz für die Öffnung (z. B. Niederschlag) (siehe Bild 3).



Legende

- 1 Windfahne
- 2 Deckelanordnung
- 3 Regenschutzabdeckung
- 4 Öffnung
- 5 Verriegelung gegen Drehung
- 6 Motorabdeckung

Bild 3a — Schematische Darstellung eines volumetrischen Probenahmesystems für Sporen nach Hirst für sieben Tage



Bild 3b — Foto eines volumetrischen Probenehmers nach Hirst [Quelle: RNSA]

5.1.4 Vollständiges Probenahmesystem

Das vollständige Probenahmesystem (sogenannte „Falle“), das den Motor, die Vakuumpumpe, die Öffnung, die rotierende Trommel, die Windfahne, das Uhrwerksystem und den Impaktionsträger enthält, muss folgende Eigenschaften besitzen

- korrosionsbeständig;
- gut gesichert (d. h. beständig gegen Windeinfluss, usw.);
- immer waagrecht (in Kopfhöhe).

Die kommerziellen Geräte, die den Anforderungen entsprechen, sind in Anhang A aufgeführt. Für die verschiedenen Anwendungszwecke sind die spezifischen Publikationen zu beachten.

Für Pollenkörnchen und Pilzsporen-Überwachungszwecke sind die folgenden Anforderungen und Bedingungen für die Positionierung der Probenehmers der Falle zu erfüllen:

- Der Probenehmer muss auf einer leicht zugänglichen, flachen, horizontalen Oberfläche platziert werden. Dies sollte auf einem Gebäudedach und von der Kante des Gebäudes entfernt erfolgen, um die Auswirkungen von Turbulenzen zu reduzieren.
- Es ist darauf zu achten, dass benachbarte Gebäude den Probenehmer nicht abschirmen oder den Luftstrom stören. Der Probenehmer sollte idealerweise auf einem Gebäudedach mehr als 2 m von der Kante entfernt platziert werden; die Höhe über dem Boden hängt von der Stadt und der Höhe benachbarter Gebäude ab.
- Der Probenehmer selbst muss sich in einer Höhe von 100 cm bis 150 cm über dem Dach befinden, um Turbulenzen zwischen Luftschichten und eventuelle Wiederaufwirbelung von Partikeln vom Dach zu vermeiden.
- Der Probenehmer darf nicht in der Nähe fester oder mobiler Quellen großer Emissionen biologischer oder nichtbiologischer Partikel platziert werden. Die Nähe zu nichtbiologischen Partikelquellen kann massive Anwesenheit von Rückständen in Proben begünstigen, die die Identifizierung erheblich behindern.

5.2 Verfahrensanweisung

5.2.1 Vorbereitung des Beschichtungsmediums

Das Beschichtungsmedium ist wie folgt vorzubereiten:

- Vaseline (18 g (± 1 g)) und Toluol (1 l) (Reinheit > 99 %);
- unter der Haube Vaseline in Toluol einrühren, bis es vollständig aufgelöst ist; dann für ca. 48 h bei periodischem Schütteln stehen lassen, um eine homogene Flüssigkeitslösung zu erhalten;
- die Lösung auf dem Klebeband verteilen, z. B. mit einem Pinsel, und unter der Haube für mindestens 1 Stunde trocknen lassen.

Oder Folgendes verwenden:

- reine Vaseline.

Oder Folgendes verwenden:

- Silikonflüssigkeit (20 g (± 1 g)) und ein spezifisches Lösungsmittel;
- unter der Haube Silikon in das Lösungsmittel einrühren (z. B. Cyclohexan), bis es vollständig aufgelöst ist; dann für ungefähr 48 h bei periodischem Schütteln stehen lassen, um eine homogene Flüssigkeitslösung zu erhalten;
- die Lösung mit einem Pinsel auf dem Klebeband verteilen und unter der Haube für mindestens 1 Stunde trocknen lassen.

Der Pinsel sollte ein reiner Ochsenhaarpinsel Nr. 14, d. h. Ref. 922 Nr. 14 OMEGA, hergestellt in Italien, ¹⁾ oder ein vergleichbares Produkt sein.

WARNUNG — Für die Verwendung von Silikon- oder Vaseline-Lösungen:

- Das transparente Klebeband staubfrei halten und immer mit geschlossenen Fenstern arbeiten, um Verunreinigungen zu vermeiden.
- Das Beschichtungsmedium immer unter einer Dunstabzugshaube halten, da Lösungsmitteln freigesetzt werden (toxische Eigenschaft der Lösungsmittel).
- Schutzhandschuhe/Kleidung/Ausrüstung für Augen- und Gesichtsschutz tragen. Nach der Handhabung gründlich waschen.

5.2.2 Vorbereitung der Träger

Fixierung des beschichteten oder unbeschichteten Klebebandes auf der Trommel. Vorsicht walten lassen und

- immer die Trommel oder den Objektträger mit Ethylalkohol (70 %) reinigen, um Staub und/oder biologische Partikel zu vermeiden;
- das beschichtete oder unbeschichtete Klebeband auf der Trommel fixieren.

1) Pinsel: Ref. 922 Nr. 14 OMEGA sind Beispiele eines geeigneten kommerziell erhältlichen Produktes. Diese Angabe dient nur zur Hilfestellung für Anwender dieses Dokuments und bedeutet keine Empfehlung dieses Produkts durch CEN.

Wenn es sich um ein unbeschichtetes Klebeband handelt, muss das auf der Trommel befestigte Klebeband unter der Haube beschichtet werden, falls ein Lösungsmittelreagenz verwendet wird.

Die Fangfläche muss mit einer dünnen homogenen Schicht aus Beschichtungsmedium bedeckt sein, um die gesuchten Partikel zurückzuhalten.

Der Träger ist während des Transports vom Labor bis zur Falle und zurück vor Umgebungsluft zu schützen und muss zum Schutz vor Stößen (siehe Bild 4) in einem Metallkasten verbleiben. Die Konservierung bei Umgebungstemperaturen darf für Silikon 12 Monate und für Vaseline 1 Monat nicht überschreiten.



Bild 4 — Die Trommel und ihr Schutzkasten [Quelle: RNSA]

5.2.3 Wechsel der Trommel

Die für den Trommelwechsel verantwortliche Person muss:

- das Klebeband mit einem scharfen Instrument durch die Öffnung am Ende der registrierten Trommel markieren;
- die Durchflussrate messen und aufzeichnen;
- die Trommel entnehmen, die Öffnungen und die Dichtungen reinigen;
- das Uhrwerk aufziehen;
- die neue Trommel einsetzen;
- die Durchflussrate messen und diese nach der Reinigung der Öffnungen und Überprüfung der Dichtung aufzeichnen;
- das Datum und die genaue Zeit (Stunde und Minute) sowie die Durchflussrate und die Initialen des Bedieners notieren;
- das Klebeband mit einem scharfen Instrument durch die Öffnung am Anfang der neuen Trommel markieren.

6 Analyse

6.1 Geräte

- Mikroskop;
- Magnetrührer;
- Heizplatte oder Mikrowelle;
- Labortisch;
- zu verwendende Werkzeuge (Pinzette, Skalpell);
- Träger des Drehmechanismus;
- Schneidlineal;
- Abzugshaube;
- Pinsel;
- Glasobjektträger;
- Abdeckglas oder Deckblatt;
- Ethylalkohol (70 %);
- Reagenzien für Beschichtungsmedium;
- Reagenzien für Befestigungsmedium;
- Transparentes Klebeband;
- Trommel (mit ihrem Kasten).

6.2 Verfahrensanweisung

6.2.1 Träger

6.2.1.1 Glasobjektträger für Mikroskop

Die Anforderungen an Objektträger sind:

- sauber;
- entfettet;
- wegwerfbar (Einmalgebrauch).

6.2.1.2 Mikroskop-Deckglas

Die Abmessungen des Mikroskop-Abdeckglases müssen länger und größer sein als die Größe des Bruchteils des Klebebandes, das unter dem Deckglas liegt.

Eigenschaften, die eingehalten werden müssen:

- transparent;
- wegwerfbar (Einmalgebrauch).

6.2.2 Befestigungsmedium

Die zur Fixierung der Zubereitung und Färbung verwendeten Reagenzien sind folgende:

Die geeigneten Fixierungsmittel sind Glycerin/Gelatine, einfaches Glycerin, spezifische Mischungen, die Polyvinylalkohol enthalten (z. B. Gelvatol²⁾/Mowiol³⁾) oder andere gebrauchsfertige Produkte.

Für Pollen müssen die Färbemittel Fuchsin (Nr. CAS [632 99 5], siehe Anhang C) oder Safranin (Nr. CAS [477-74 6], siehe Anhang C) verwendet werden.

6.3 Zählmethode

6.3.1 Vorbereitung der Glasobjektträger für die Mikroskopanalyse für das Trommelklebeband

Die Vorbereitung der Objektträger für die mikroskopische Analyse muss so schnell wie möglich bei Raumtemperatur und in weniger als 14 Tagen nach dem Entnahme der Trommel aus der Falle erfolgen (um die Migration von Pollenkörnchen so gering wie möglich zu halten).

Verfahrensanweisung:

- Falls notwendig, ist das Montagemedium auf die Heizplatte oder in einen Mikrowellenofen zu geben.
- Den Labortisch, die Heizplatte und die Utensilien (Pinzette, Skalpell) vor Gebrauch reinigen.
- Einen Objektträger pro Tag (sieben bis acht bei wöchentlicher Überwachung) nehmen und Etiketten (Ort, Datum und Initialen des Bedieners) auf eine Seite des Glasobjektträgers kleben.
- Falls notwendig, den Glasobjektträger mit Ethylalkohol (70 %) entfetten.
- Die Trommel auf dem Träger des Drehmechanismus fixieren (siehe Bild 5).
- Das Klebeband am Verbindungspunkt trennen (Doppelseitiges Klebeband).
- Das Klebeband mit der Pinzette fassen (das Klebeband nicht mit den Fingern anfassen) und auf das Schneidlineal legen (siehe Bild 6).
- Den Anfang oder das Ende der Ablagerung von Pollen finden und unter Berücksichtigung der Stunde ausrichten.
- Das Klebeband in tägliche Abschnitte schneiden (siehe Bild 6). Drei Tropfen (0,05 ml/Tropfen) oder eine Linie (0,15 ml) des flüssigen Befestigungsmediums (mit oder ohne Farbe) auf den Glasobjektträger geben (siehe Bild 7 und Bild 8).
- Mit der Pinzette den ersten Bandabschnitt vorsichtig in der Mitte des Glasobjektträgers auf dem Montagemedium ablegen. Der Beginn der Aufzeichnung muss sich auf der Etikettenseite befinden.

Drei Tropfen (0,05 ml/Tropfen) oder eine Linie (0,15 ml) farbiges Montagemedium auf dieses Klebeband oder auf das Deckglas geben.

Das Deckglas langsam auf die Vorbereitung legen und dabei Blasen und Bewegung von Partikeln vermeiden.

2) Gelvatol ist ein Beispiel für ein im Handel erhältliches geeignetes Produkt. Diese Angabe dient nur zur Hilfestellung für Anwender dieses Dokuments und bedeutet keine Empfehlung dieses Produktes durch CEN.

3) Mowiol ist ein Beispiel für ein im Handel erhältliches geeignetes Produkt. Diese Angabe dient nur zur Hilfestellung für Anwender dieses Dokuments und bedeutet keine Empfehlung dieses Produktes durch CEN.

- Im Falle von Färbemittel, das Gelatine enthält, den Glasobjektträger bei 50 °C bis 60 °C auf der Heizplatte lassen, um Luftblasen zu entfernen.
- Den Objektträger mindestens 15 Minuten bei Raumtemperatur abkühlen lassen.
- Das gleiche Verfahren für die anderen Tagesabschnitte des Klebebandes anwenden.

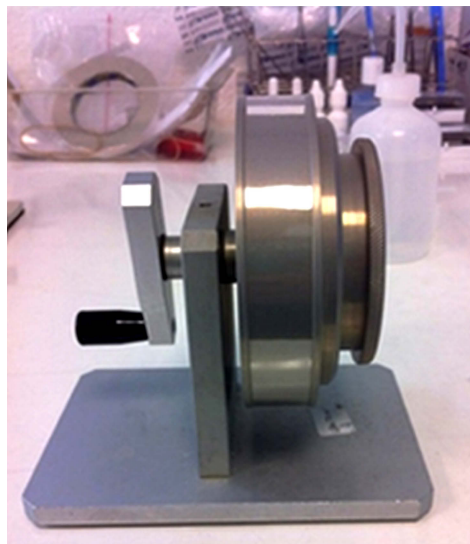
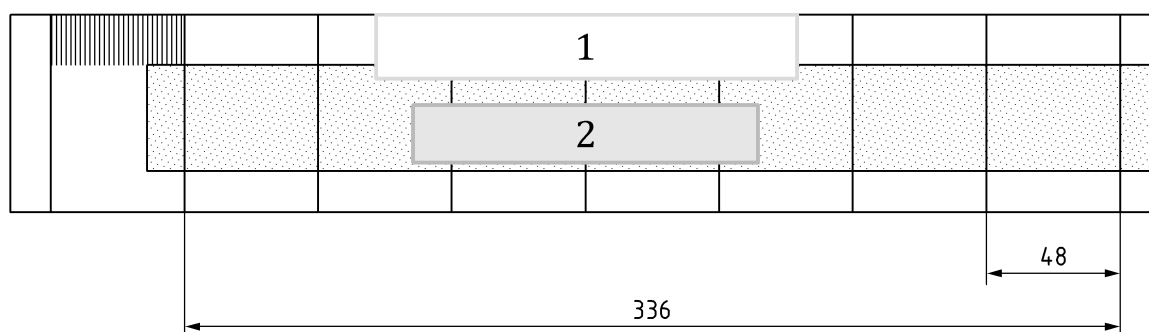


Bild 5 — Trommel auf Träger des Drehmechanismus



Legende

- 1 Schneidlineal
- 2 Klebeband

Bild 6 — Transparentes Klebeband auf dem Schneidlineal-EINSATZ: Schneidlineal (weiß) – Klebeband (grauer Bereich)

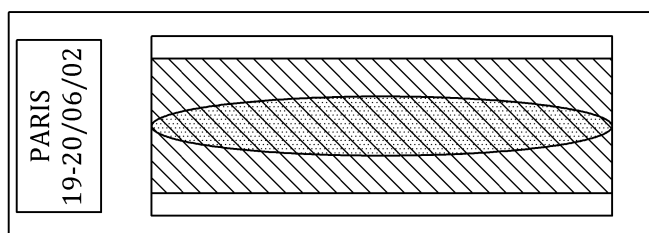


Bild 7 — Vorbereitung des Glasobjektträgers – Methode 1

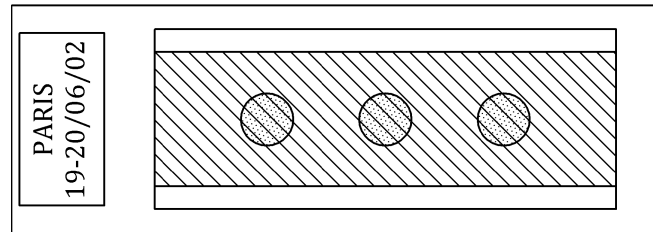


Bild 8 — Vorbereitung des Glasobjektträgers – Methode 2

6.3.2 Optische Mikroskopie [14] [16]

Die Objektträger werden unter einem optischen Mikroskop mit variabler Vergrößerung untersucht [1].

Die Vergrößerung muss ausreichen, um die feine Struktur von Pollen und Pilzsporen zu unterscheiden.

ANMERKUNG Eine geringere Vergrößerung könnte den Identifizierungsfehler erhöhen. Eine höhere Vergrößerung erfordert jedoch einen größeren Sichtbereich, z. B. für den Prozess der dynamischen Zählung (siehe 6.3.4).

6.3.3 Identifizierung [15] [16]

Die Identifizierung muss durch einen speziell geschulten Bediener erfolgen.

Die Identifizierung erfolgt nach einem detaillierten Bestimmungsschlüssel einschließlich aller relevanten Taxa.

Die Klassifizierung wird durch einen Bestimmungsschlüssel erreicht, der auf Größe, Form, Anzahl und Arten von Öffnungen auf der Oberfläche, Randgestaltung von Exinen, usw. basiert.

BEISPIEL Der am weitesten verbreitete Bestimmungsschlüssel ist der von RNSA vorgeschlagene (siehe Anhang D) [14].

Weitere Einzelheiten und Informationen zu diesem Bestimmungsschlüssel finden Sie in Anhang D [15].

6.3.4 Zählmethode

Zur Auswertung von Objektträgern können horizontale oder vertikale Parallelsuchen angewendet werden. Da die untersuchte Objektträgerfläche von der Größe des Mikroskopsichtfeldes und der Vergrößerung abhängt, ist anstatt der Anzahl der verwendeten Querungen (horizontal oder vertikal) eine Mindestfläche des für die Zählung empfohlenen Objektträgers festzulegen. Es wird für die Pollenanalyse ausdrücklich eine Mindestfläche von 10 % empfohlen [17].

ANMERKUNG Horizontale Suchbewegungen, d. h. Suchbewegungen, die parallel zur Zeitachse kontinuierlich entlang der gleichen Trommeldrehbewegung verlaufen, werden ausdrücklich bevorzugt, um bessere Ergebnisse zu erzielen.

Um die Effizienz und Genauigkeit zu optimieren und dabei einen höheren Zählfehler aufgrund niedriger oder hoher Zählungen zu berücksichtigen, ist dynamische Zählung möglich:

- Falls einzelne Pollenarten mit hoher Konzentration auftreten, dann kann das Zählen dieser Art aus Effizienzgründen gestoppt werden, wenn die Pollenzählung die Anzahl der 50 während der gesamten ersten Suchbewegung übersteigt.
- Um die Genauigkeit bei niedrigen Pollenzählungen zu verbessern, kann die Zählfläche sukzessive erweitert werden, bis 50 Pollenzählungen (Gesamtpollenzählungen) erreicht sind oder bis 50 % der Abscheidungsfläche analysiert wurden.

In der untersuchten Fläche wird die Anzahl der identifizierten Pollenkörnchen und Pilzsporen gezählt; dies gibt Informationen über die Pollen- und Pilzsporenzählung während des Tages.

6.3.5 Aufzeichnung von Daten

- manuelle Aufzeichnung;
- halbautomatische Aufzeichnung (Computer-basierte Software z. B. EAN-Poll oder Pollrec, Spracherkennung und Inkrementierung in einer Datenbank).

Es sind mindestens folgende Informationen zu erfassen:

- Standort;
- Jahr;
- Monat;
- Tag;
- Stunde;
- Zählerbezeichnung;
- Anzahl und Art der gezählten Pollenkörnchen und Pilzsporen;
- Konversionsfaktor.

6.3.6 Konversionsfaktor

Pollen- oder Pilzsporenzählungen sollten als die tägliche durchschnittliche Konzentration von Pollen oder Pilzsporen (Anzahl der Teilchen pro Kubikmeter Luft) ausgedrückt werden. Zu diesem Zweck wird die Anzahl der Pollen oder Pilzsporen mit einem Faktor multipliziert, der das Volumen der entnommenen Luft (10 l/min), die Probenahmefläche und den Sichtbereich des verwendeten Mikroskops berücksichtigt.

ANMERKUNG Es ist auch möglich, die Ergebnisse entsprechend des Bedarfs als zweistündige Daten pro Kubikmeter Luft auszudrücken.

Berechnung des Umrechnungsfaktors (CF) für die Zeiteinheit mittels Gleichung (1) und (2)

$$CF = \frac{S_{total\ sampled}}{S_{analyzed}} \times \frac{1}{V} = \frac{L \times l}{L \times d \times N} = \frac{1}{V} = \frac{l}{d \times N} \times \frac{1}{N} \quad (1)$$

$$Pollen- oder Pilzsporenkonzentration = n \times CF \quad (2)$$

Dabei ist

- S die Fläche (entnommen oder analysiert (mm²))
- V das Volumen angesaugter Luft ($V = D \times t$) (m³)
- D die Durchflussrate des Gerätes (l/min umgerechnet in m³/Zeiteinheit)
- t die Dauer der Probenahmezeit (min)
- L die Länge der Leitung (mm)
- l die Breite der Leitung (mm)