

DIN ISO 16000-22



Diese Norm ist Bestandteil des VDI/DIN-Handbuches Reinhaltung der Luft, Band 5.

ICS 13.040.20

Einsprüche bis 2023-12-27

Entwurf

**Innenraumluftverunreinigungen –
Teil 22: Nachweis und Quantifizierung von Pilzbiomasse durch die
Enzymaktivität der β -N-Acetylhexosaminidase von Pilzen
(ISO/DIS 16000-22:2023);
Text Deutsch und Englisch**

Indoor air –

Part 22: Detection and quantification of fungal biomass by fungal β -N-acetylhexosaminidase enzyme activity (ISO/DIS 16000-22:2023);

Text in German and English

Air intérieur –

Partie 22: Détection et quantification de la biomasse fongique par l'activité enzymatique de la β -N-acétylhexosaminidase fongique (ISO/DIS 16000-22:2023);

Texte en allemand et anglais

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2023-10-27 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 oder VDI-Platz 1, 40468 Düsseldorf.

Es wird gebeten, mit den Kommentaren zu diesem Entwurf jegliche relevanten Patentrechte, die bekannt sind, mitzuteilen und unterstützende Dokumentationen zur Verfügung zu stellen.

Gesamtumfang 34 Seiten

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

Inhalt

	Seite
Nationales Vorwort.....	3
Nationaler Anhang NA (informativ) Literaturhinweise	4
Vorwort	5
Einleitung	6
1 Anwendungsbereich.....	7
2 Normative Verweisungen	7
3 Begriffe	7
4 Prinzip der enzym-gerichteten Fluoreszenzerkennung (en: Enzyme Targeted Fluorescent Detection, ETFD)	8
5 Prüfgeräte und Materialien	9
6 Reagenzien.....	9
7 Probenahme	10
7.1 Oberflächenprobenahme.....	10
7.2 Poröse Materialien.....	10
7.2.1 Hochdichte Materialien (HDM) (z. B. zementhaltige Materialien wie etwa Beton, Gips, Mörtel).....	10
7.2.2 Material mit geringer Dichte (en: low density materials, LDM) (z. B. Isolierstoffe wie Glaswolle oder Mineralwolle).....	10
7.3 Luftprobenahme	10
8 Vorbereitung des Fluorometers.....	11
9 Analyse	11
9.1 Oberflächenproben.....	11
9.2 Analyse von porösen Materialien (hochdichte Materialien (HDM) und Materialien mit geringer Dichte (LDM))	11
9.3 Analyse von Luftproben	12
Anhang A (informativ) Korrektur der Reaktionszeit.....	13
A.1 Reaktionszeit-Temperaturkorrekturtabelle	13
A.2 Beispiel für Interpretationskriterien.....	14
A.2.1 Entwicklung von Interpretationskriterien	14
Anhang B (informativ) Aktivierte Probenahme – Protokoll für die Luftprobenahme.....	16
B.1 Allgemeine Bedingungen für die Probenahme.....	16
B.2 Materialien für das aktivierte Probenahmeprotokoll	16
B.3 Probenahmeprotokoll	16
Literaturhinweise.....	18

Nationales Vorwort

Dieses Dokument wurde vom Unterkomitee SC 6 „Indoor air“ des Technischen Komitees ISO/TC 146 „Air quality“ erarbeitet. Obmannschaft und Sekretariat des SC 6 liegen bei Deutschland. An der Erstellung dieser Norm war der Fachbereich 4 „Umweltmesstechnik“ der Kommission Reinhaltung der Luft (KRdL) im VDI und DIN-Normenausschuss maßgeblich beteiligt.

Die einzelnen Teile der Reihe DIN ISO 16000 mit dem allgemeinen Titel *Innenraumluftverunreinigungen*, können auf der Homepage des DIN eingesehen werden.

Für die in diesem Dokument zitierten internationalen Dokumente wird im Folgenden auf die entsprechenden deutschen Dokumente hingewiesen:

ISO 16000-17	siehe	DIN ISO 16000-17
ISO 16000-18	siehe	DIN ISO 16000-18
ISO 16000-19	siehe	DIN EN ISO 16000-19
ISO 16000-20	siehe	DIN ISO 16000-20
ISO/TS 10832	siehe	DIN ISO/TS 10832 (DIN SPEC 91200)

Anhänge A und B sind lediglich informativer Bestandteil dieses Teils der ISO 16000.

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

Aktuelle Informationen zu diesem Dokument können über die Internetseiten von DIN (www.din.de) durch eine Suche nach der Dokumentennummer aufgerufen werden.

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN EN ISO 16000-19, *Innenraumluftverunreinigungen — Teil 19: Probenahmestrategie für Schimmelpilze*

DIN ISO 16000-17, *Innenraumluftverunreinigungen — Teil 17: Nachweis und Zählung von Schimmelpilzen - Kultivierungsverfahren*

DIN ISO 16000-18, *Innenraumluftverunreinigungen — Teil 18: Nachweis und Zählung von Schimmelpilzen - Probenahme durch Impaktion*

DIN ISO 16000-20, *Innenraumluftverunreinigungen — Teil 20: Nachweis und Zählung von Schimmelpilzen - Bestimmung der Gesamtsporenanzahl*

DIN ISO/TS 10832 (DIN SPEC 91200), *Bodenbeschaffenheit — Wirkung von Schadstoffen auf Mykorrhizapilze — Sporenkeimtest*

Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung nationaler Normungsinstitute (ISO-Mitgliedsorganisationen). Die Erstellung von Internationalen Normen wird üblicherweise von Technischen Komitees von ISO durchgeführt. Jede Mitgliedsorganisation, die Interesse an einem Thema hat, für welches ein Technisches Komitee gegründet wurde, hat das Recht, in diesem Komitee vertreten zu sein. Internationale staatliche und nichtstaatliche Organisationen, die in engem Kontakt mit ISO stehen, nehmen ebenfalls an der Arbeit teil. ISO arbeitet bei allen elektrotechnischen Normungsthemen eng mit der Internationalen Elektrotechnischen Kommission (IEC) zusammen.

Die Verfahren, die bei der Entwicklung dieses Dokuments angewendet wurden und die für die weitere Pflege vorgesehen sind, werden in den ISO/IEC Directives, Teil 1, beschrieben. Es sollten insbesondere die unterschiedlichen Annahmekriterien für die verschiedenen ISO-Dokumentenarten beachtet werden. Dieses Dokument wurde in Übereinstimmung mit den Gestaltungsregeln der ISO/IEC Directives, Teil 2, erarbeitet (siehe www.iso.org/directives).

ISO weist auf die Möglichkeit hin, dass die Anwendung dieses Dokuments mit der Verwendung eines oder mehrerer Patente verbunden sein kann. ISO bezieht jedoch in dieser Hinsicht keinerlei Stellung bezüglich Nachweis, Gültigkeit oder Anwendbarkeit jeglicher beanspruchten Patentrechte. Zum Zeitpunkt der Veröffentlichung dieses Dokuments lag ISO [eine/keine] Mitteilung über ein Patent bzw. mehrere Patente vor, welche/s zur Umsetzung dieses Dokuments erforderlich sein könnte/n. Anwender werden jedoch darauf hingewiesen, dass dies möglicherweise nicht der aktuelle Informationsstand ist. Dieser kann jedoch der Patentdatenbank unter www.iso.org/patents entnommen werden. ISO ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

Jeder in diesem Dokument verwendete Handelsname dient nur zur Unterrichtung der Anwender und bedeutet keine Anerkennung.

Für eine Erläuterung des freiwilligen Charakters von Normen, der Bedeutung ISO-spezifischer Begriffe und Ausdrücke in Bezug auf Konformitätsbewertungen sowie Informationen darüber, wie ISO die Grundsätze der Welthandelsorganisation (WTO, en: World Trade Organization) hinsichtlich technischer Handelshemmnisse (TBT, en: Technical Barriers to Trade) berücksichtigt, siehe www.iso.org/iso/foreword.html.

Dieses Dokument wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 146, *Air quality*, Unterkomitee SC 6, *Indoor air*, erarbeitet.

Eine Auflistung aller Teile der Normenreihe ISO 16000 ist auf der ISO-Internetseite abrufbar.

Rückmeldungen oder Fragen zu diesem Dokument sollten an das jeweilige nationale Normungsinstitut des Anwenders gerichtet werden. Eine vollständige Auflistung dieser Institute ist unter www.iso.org/members.html zu finden.

Einleitung

Pilze aus verschiedenen taxonomischen Gruppen bilden fadenförmige Zellen (= Myzelien) und geschlechtslose Zellen (Konidien). Die meisten Sporen haben eine Größe von 2 µm bis 10 µm, einige bis 30 µm und einige wenige bis 100 µm. Sporen einiger Pilzgattungen sind klein und werden sehr leicht luftgetragen (z. B. *Aspergillus*, *Penicillium*), während andere größer und/oder in eine Schleimmatrix eingebettet und weniger mobil sind (z. B. *Stachybotrys*, *Fusarium*).

Pilzsporen sind in Außenbereichen weit verbreitet und treten daher in unterschiedlichen Konzentrationen auch in Innenräumen auf. Das Wachstum von Pilzen in Innenraumumgebungen muss jedoch als hygienisches Problem angesehen werden, weil epidemiologische Studien gezeigt haben, dass Feuchtigkeit und/oder Schimmelwachstum in Wohnungen und Gesundheitsprobleme der Bewohner eng miteinander verbunden sind.

Harmonisierte Verfahren für die Probenahme, Erkennung und Bezifferung von Schimmelpilzen einschließlich Normen für Probenahmestrategien sind wichtig für die vergleichende Beurteilung von Schimmelpilzproblemen in Innenräumen. Vor der Durchführung jeglicher Messungen sollte ein Plan für die Messstrategie (auf der Grundlage der ISO-Norm 16000-19) erstellt werden.

Dieser Teil der Norm 16000 beschreibt die Messung von Pilzmaterial durch enzymatische biochemische Analyse.

Er beschreibt ein schnelles quantitatives Verfahren zur Bestimmung des Gesamt-Pilzmaterials in der Luft, auf Oberflächen oder in Materialproben durch die Messung natürlich auftretender Enzyme, die im chitinolytischen System aller Fadenpilze vorhanden sind (β -N-Acetylhexosaminidase oder NAHA (EC 3.2.1.52)) [2,3,4,5,6,7].

Er beschreibt das Analyseverfahren, das vor Ort oder in einem Labor durchgeführt werden kann und verweist auf die anzuwendenden Probenahmeverfahren für Luft, Oberflächen und Materialproben.

Dieses Verfahren beziffert oder unterscheidet keine Gattungen oder Spezies von Pilzen wie in 16000-17, 16000-18 und 16000-20 [1] zu finden.

Es handelt sich um ein quantitatives Verfahren, das zur schnellen Beurteilung der Bedingungen in Innenräumen oder nach einer Sanierung verwendet wird.

Die International Organisation für Normung (ISO) [und/oder] Internationale Elektrotechnische Kommission (IEC) weisen auf die Tatsache hin, dass die Geltendmachung der Konformität mit diesem Dokument die Nutzung eines Patents beinhalten kann.

ISO [und/oder] IEC vertreten keine Position in Bezug auf den Nachweis, die Gültigkeit oder den Anwendungsbereich dieses Patentrechts.

Der Inhaber dieses Patentrechts hat ISO [und/oder] IEC versichert, dass er/sie gewillt ist, Lizenzen unter angemessenen und nicht-diskriminierenden Bedingungen mit Bewerbern auf der ganzen Welt auszuhandeln. In diesem Zusammenhang ist die Erklärung des Inhabers dieser Patentrechte bei ISO [und/oder] IEC registriert. Informationen sind bei der Patent-Datenbank unter folgender Adresse erhältlich: www.iso.org/patents.

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können, die nicht in der Patent-Datenbank enthalten sind. ISO [und/oder] IEC sind nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren.

1 Anwendungsbereich

Dieser Teil von ISO 16000 legt Anforderungen an die Probenahme von Proben aus der Luft, von Oberflächen oder von losem Material, die durch fluorimetrische Erkennung einer Enzymaktivität in Fadenpilzen analysiert werden [2] (US Patent Nr. 6,372,446), um die Dichte der gesamten Pilzbiomasse quantitativ zu bestimmen, fest. Er beschreibt das analytische Verfahren, das vor Ort oder in einem Labor durchgeführt werden kann. Diese Verfahren beziffert oder unterscheidet keine Gattungen oder Spezies von Pilzen.

2 Normative Verweisungen

Die folgenden Dokumente werden im Text in solcher Weise in Bezug genommen, dass einige Teile davon oder ihr gesamter Inhalt Anforderungen des vorliegenden Dokuments darstellen. Bei datierten Verweisungen gilt nur die in Bezug genommene Ausgabe. Bei undatierten Verweisungen gilt die letzte Ausgabe des in Bezug genommenen Dokuments (einschließlich aller Änderungen).

ISO 16000-19, *Indoor air — Part 19: Sampling strategy for moulds*

ISO 16000-20, *Indoor air — Part 20: Detection and enumeration of moulds — Determination of total spore count*

3 Begriffe

Für die Anwendung dieses Dokuments gelten die folgenden Begriffe.

ISO und IEC stellen terminologische Datenbanken für die Verwendung in der Normung unter den folgenden Adressen bereit:

— ISO Online Browsing Platform: verfügbar unter <https://www.iso.org/obp>

— IEC Electropedia: verfügbar unter <https://www.electropedia.org/>

3.1

Enzym

Substanz, die durch lebende Zellen produziert wird und als Katalysator für eine bestimmte biochemische Reaktion dient

3.2

Fadenpilz

Pilz, der in Form von fadenförmigen Zellen, bekannt als Hyphen, wächst

[QUELLE: ISO 16000-16:2008, 3.3]

Anmerkung 1 zum Begriff: Der Begriff „Fadenpilze“ unterscheidet Pilze mit hyphalem Wachstum von Hefe.

3.3

Mikroorganismus

jede zelluläre oder nichtzelluläre mikrobiologische Einheit, die fähig ist, sich zu vermehren oder genetisches Material zu übertragen, oder Einheiten, die diese Eigenschaften verloren haben

[QUELLE: EN 13098:2000]

3.4

Pilze (Fungi)

<Luftqualität> Fadenpilze aus verschiedenen taxonomischen Gruppen, namentlich Ascomycota, Basidiomycota, Mucoromycota und ihre geschlechtslosen Zustände

Anmerkung 1 zum Begriff: Pilze bilden je nach taxonomischer Gruppe, zu der sie gehören, unterschiedliche Arten von Sporen, und zwar Conidiosporen (Konidien), Sporangiosporen, Basidiosporen oder Ascosporen.

3.5

Myzel

verzweigtes Zellfadennetzwerk

[QUELLE: ISO/TS 10832:2009, 3.5]

4 Prinzip der enzym-gerichteten Fluoreszenzerkennung (en: Enzyme Targeted Fluorescent Detection, ETFD)

Das Prinzip der enzym-gerichteten Fluoreszenzerkennung besteht darin, bestimmte natürlich auftretende Enzyme (β -n-Acetylhexosaminidase) in den Zellwänden der Pilze, die daher in allen Pilzpartikeln einschließlich der Zellfäden und Zellfadenfragmente, Myzelien und Sporen vorhanden sind, zu identifizieren und diese anzupeilen. Dieses Enzym wird von allen Pilzzellen genutzt, um auf bestimmte Substanzen oder Substrate in der Umgebung einzuwirken und diese aufzubrechen.

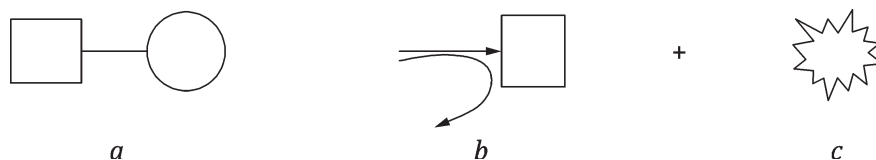
Die Enzymaktivität folgt der Michaelis-Menten-Kinetik, und wenn die Menge des Substrats während der Reaktion einen Überschuss bildet, ist die Reaktionsrate konstant (V_{max}). Wenn die Enzymreaktion über einen bestimmten Zeitraum (z. B. 30 Minuten) aktiv ist, wird die Menge des durch die Reaktion gebildeten Substrats von der Michaelis-Menten-Konstante (K_m) abhängen, die Temperatur und die Enzymkonzentration K_m sind Konstanten, und wenn die Temperatur während der Reaktionszeit konstant gehalten wird, wird die Menge des gebildeten Produkts linear zur Zeit und proportional zur Konzentration des Enzyms sein. Die Konzentration des Enzyms hängt von der Konzentration der Pilze ab, und die Konzentration des Produkts ist daher proportional zur Pilzkonzentration.

Die in diesem Verfahren beschriebene Technologie verwendet diese natürlich auftretende Reaktion durch die Nutzung eines künstlichen Substrats, das das Verhalten des Enzyms in der Umgebung imitiert. In diesem künstlichen Substrat ist ein inertes fluoreszierendes Molekül (Luminophor) eingebettet. Das Besondere an diesem speziellen Luminophor (4-MU) ist, dass es Licht mit einer Wellenlänge von 365 nm absorbiert und die gleiche Energie bei einer Wellenlänge von 441 nm emittiert.

Wenn das künstliche Substrat einer Probe mit vorhandenem Pilzmaterial ausgesetzt ist, bricht das Enzym in den Pilzzellen das Substrat auf und setzt das Fluorophor frei. Je mehr Pilzpartikel vorhanden ist, desto höher ist die Aktivität des Aufbrechens des Substrats, das daraufhin Fluorophor als Surrogat-Messgröße für den Umfang der Aktivität freisetzt. Das am Ende der Reaktion gemessene Fluoreszenzsignal ist proportional zu der Menge der Pilze (der Biomassedichte) in der Probe.

Diese Reaktion erfordert keine Lysis von Zellen. Die Reaktion findet so wie in der natürlichen Umgebung an der Zellwand-Schnittstelle statt.

Bild 1 beschreibt den Prozess unter Verwendung einer Ziel-Pilzenzymaktivität zum Aufbrechen des Substrats und zur Freisetzung des fluoreszierenden Markers als Messgröße für die Aktivität, die proportional zur Menge des Pilzmaterials ist.



Legende

- a künstliches Enzymsubstrat
- b Probe mit Pilzenzym
- c fluoreszierendes Gemisch

Bild 1 — Vorbereitung von Prüfstücken aus vollständig starren Produkten (z. B. Bretter)

5 Prüfgeräte und Materialien

5.1 Sterile Wattetupfer für die Probenahme

5.2 Probenbereichsvorlagen, für die Oberflächenprobenahme, empfohlen werden 9 cm², wenn die Beispielkriterien in Anhang A.2 angewendet werden

5.3 Alkoholgetränkte Tücher zum Sterilisieren des Abstreifinstruments, der Pinzette und der Oberfläche des zu beprobenden porösen Materials

5.4 Abstreifinstrument und Pinzette als Werkzeuge für die Sammlung poröser Materialproben

5.5 Saubere Kunststoffbeutel mit fest verschließbaren Behältern für poröse Materialproben

5.6 Hochvolumige Pumpe, eine ölfreie Drehschieberpumpe oder Membranpumpe, die in der Lage ist, Luft mit einer Rate von mindestens 10 LPM durch die Filterkassette zu ziehen

ANMERKUNG Für den Erhalt einer repräsentativen Probe sind die Probenahmedauer und der Volumenstrom die Variablen. Für die meisten praktischen Zwecke wird eine relativ kurze Probenahmedauer bevorzugt, sodass eine hochvolumige Pumpe von Vorteil ist.

5.7 Filterkassette für die Luftprobenahme, 27 mm Zellulosemischester-Filter (MCE), 0,8 µm Porengröße

5.8 Saubere Nitril- oder vergleichbare Handschuhe für die Handhabung von Reagenzien, Fläschchen oder Küvetten

5.9 Fluorometer (Erregungswellenlänge 365 Nanometer (nm) und Emissionswellenlänge 445 nm)

5.10 Ultraviolett- (UV) transparente Küvetten für die Messung der Proben im Fluorometer

5.11 Sterile Prüfröhrchen (mindestens 3 ml, Glas oder Kunststoff) zur Aufnahme des Substrats und des Tupfers während der Reaktionszeit

5.12 100 µl Auto-Pipette mit sterilen Spitzen für die Übertragung des unreaktierten und reaktierten Substrats auf ein Entwickler-Reagens zur Messung des Blindwerts bzw. des Probenanalysewerts.

5.13 Sterile Spritzen, 2,5 ml Luer-Lock-Anschluss für die Übertragung der Reagenzien in Fläschchen, Küvetten oder Prüfröhrchen

5.14 Kalibrierungsküvette (schwarz) zur Einstellung des Nullpunkts während der Fluorometer-Kalibrierung

5.15 Thermometer mit einem Bereich von mindestens 18-30 °C (64,4-86,0 °F)

5.16 Zeitmesser zur Überwachung der Reaktionszeit

5.17 Filter mit Porengröße 0,45 µm mit Luer-Lock-Anschluss für die Trübheitsfilterung der Endprobe, falls erforderlich

6 Reagenzien

6.1 Fluoreszierendes Enzymmarkierungssubstrat (ES), wie etwa 4-Methylumbelliferyl-N-Acetyl-beta-D-Glucosaminid (8) mit einem Inhibitor zum Ausschluss nicht pilzartiger NAHA

6.2 Entwicklerlösung (DS) alkalische Pufferlösung (pH10) zum Beenden der Reaktion zwischen ES und dem NAHA-Pilzenzym bei gleichzeitiger Verbesserung der Fluoreszenz für die Messung

6.3 Tupferbenetzungsmittel (SWA) steriler saliner Puffer zur Unterstützung der Probenahme und Stabilisierung des Tupfers nach der Sammlung.

6.4 4-MU-Standard-Lösung, serielle Konzentrationen für die Fluorometer-Kalibrierung

7 Probenahme

7.1 Oberflächenprobenahme

Der sterile Tupfer wird einmal in das Netzmittel getaucht und der Rest wird entsorgt. Die Probenvorlage wird auf der zu beprobenden Oberfläche platziert (wenn Interpretationskriterien in Anhang A verwendet werden, muss eine Probenahmefläche von 9 cm² verwendet werden). Die Pilzbiomasse sollte so schnell wie quantitativ möglich entfernt werden. Ein Tupfer mit einem starren Stiel erhöht die anwendbare Kraft, daher werden Tupfer mit einem Holzschaft bevorzugt. Der Bereich wird so gründlich wie möglich gereinigt. Der Tupfer wird in einem flachen Winkel gehalten, um eine möglichst große Fläche desselben zu nutzen. Der Tupfer wird während der Probenahme mit so viel Kraft, wie der Stiel es zulässt, gedreht. Darüber hinaus sollte der Bereich in zwei senkrechten Richtungen abgetupft werden. Wenn die Pilzkonzentration auf der Oberfläche sehr hoch ist, kann es unter Umständen nicht möglich sein, die gesamte Pilzbiomasse zu entfernen. Dies muss besonders beachtet werden, da Oberflächen oftmals uneben sind und Myzelien auch in dem Material wachsen. Von optisch sauberen Oberflächen wie etwa nach einer Sanierung entnommene Proben erfordern mindestens 3 Durchläufe über den Bereich der Vorlage, bevor die Probenahme abgeschlossen ist. Der Tupfer wird wieder in den Tupferbehälter gegeben und mit dem Standort und der Probennummer beschriftet.

7.2 Poröse Materialien

7.2.1 Hochdichte Materialien (HDM) (z. B. zementhaltige Materialien wie etwa Beton, Gips, Mörtel).

Um Pilzbiomasse in dieser Art von porösen Materialien vor Ort in einem Gebäude zu erkennen, wird Alkohol verwendet, um die Oberfläche, von der die Probe mit einem sterilen Instrument entnommen werden soll, zu sterilisieren. Anschließend wird das Instrument verwendet, um die äußere Schicht des HDM abzustreifen. Ein sauberer Kunststoffbeutel mit einem Reißverschluss wird verwendet. Das Material wird mit dem Instrument in dem Kunststoffbeutel abgestreift. Es werden mindestens 300 mg des Materials gesammelt, da diese Menge für die Analyse benötigt wird.

7.2.2 Material mit geringer Dichte (en: low density materials, LDM) (z. B. Isolierstoffe wie Glaswolle oder Mineralwolle).

Die Proben werden mit einer sterilen Pinzette genommen. Die Proben werden in einem sauberen Kunststoffbeutel mit Reißverschluss gesammelt. (Es werden mindestens 100 mg des Materials gesammelt, da diese Menge für die Analyse benötigt wird)

Für HDM und LDM: Feuchte oder nasse Materialien sollten nur für eine kurze Zeit in einem geschlossenen Kunststoffbeutel aufbewahrt (einige wenige Stunden) und so schnell wie möglich nach der Probenahme analysiert werden.

7.3 Luftprobenahme

Für die Luftprobenahme wird eine Filterkassette mit einem Methylcellulose-Membranfilter (Porengröße 0,8 µm) verwendet. Die Probenahmedauer beträgt 10 min mit einem Mindestvolumenstrom von 10 l je min. Das Mindestprobenahmenvolumen sollte 100 l betragen. Drehschieberpumpen oder Membranpumpen können verwendet werden.

Ein bevorzugtes Probenahmeverfahren ist die aktive Luftprobenahme, bei der auf dem Boden oder Möbeln abgelagerte Pilz-Propagula mit einem kleinen Handgebläse mit einer Luftgeschwindigkeit von 3,3 bis 3,8 m/s re-aerosolisiert werden. Die aktivierte Luftprobenahme dient dazu, ein hohes Maß an Aktivität in einem Raum zu imitieren und die Vergleichspräzision der Luftprobe zu verbessern (siehe Anhang B für Einzelheiten zu dem Protokoll).

8 Vorbereitung des Fluorometers

Das Fluorometer wird mit einer schwarzen Kalibrierungsküvette (0,0 FLU) und dem Kalibrierungsstandard in einer neuen Küvette kalibriert. Der Wert wird mit dem Standardwert des Fluorometers verglichen. Wenn dieser Wert innerhalb von $\pm 4\%$ des STD.VAL des Instruments liegt, wird der Wert in dem Berechnungsblatt notiert.

ANMERKUNG Hersteller können spezifische Anforderungen an die Vorbereitung und Kalibrierung des Fluorometers haben. Wenn das Fluorometer nicht innerhalb des Kalibrierungsbereichs liegt, werden die Ergebnisse nicht gültig sein.

Alternativ wird das Fluorometer mithilfe einer Verdünnungsreihe in den relevanten Konzentrationen des Luminophors kalibriert, um eine lineare Reaktion zu bestimmen.

Relevante Konzentrationen des Luminophors sollten verwendet werden, um mindestens eine Vier-Punkt-Kalibrierung zu erhalten. Die Verdünnungen werden mit der Entwicklerlösung hergestellt. Die Konzentrationen werden als 2-ml-Lösungen in jeder Küvette vorbereitet. Die Fluoreszenz jeder Küvette wird gemessen, und eine Kurve der Fluoreszenzstärke in Abhängigkeit von der Standardlösung wird generiert.

9 Analyse

Die Chemikalien werden auf die Temperatur des Raums, in dem die Analyse durchgeführt werden wird, konditioniert. Die Analyse sollte bei Umgebungstemperaturen von 18 – 30 °C (64,4 – 80 °F) durchgeführt werden, um im Reaktionsbereich mit der höchsten Linearität zu liegen.

9.1 Oberflächenproben

100 µl der Enzymsubstratlösung werden in eine UV-Küvette übertragen und 2 ml Puffer werden zu der Küvette hinzugegeben. Die Fluoreszenz wird gemessen und der Wert wird als Blindwert oder BV (en: blind value) notiert.

Die Zeit wird entsprechend der Temperatur-/Reaktionszeit-Tabelle eingestellt.

Die Proben (Tupfer) werden in Röhrchen übertragen, die mindestens 2 ml Enzymsubstratlösung enthalten, und der Zeitnehmer wird gestartet.

Wenn der Zeitnehmer das Ende des Zeitraums signalisiert, wird der Tupfer aus dem Röhrchen entnommen und 100 µl des reagierten Substrats werden in eine UV-Küvette übertragen, und 2 ml Puffer werden hinzugegeben.

Die Fluoreszenz wird gemessen und der Wert wird als Analysewert oder AV (en: analysis value) notiert.

Wenn die 9 cm²-Vorlage verwendet wird, können die Interpretationskriterien in Anhang A angewendet werden. Wenn die Vorlage nicht verwendet wird, werden die Ergebnisse mit der Kontrollprobe verglichen.

9.2 Analyse von porösen Materialien (hochdichte Materialien (HDM) und Materialien mit geringer Dichte (LDM))

Wie in 9.1, jedoch mit dem Unterschied, dass anstelle eines Tupfers 100 mg LDM oder 300 mg HDM zu der Substratlösung hinzugegeben werden, nachdem der Blindwert bestimmt wurde.

Das Ergebnis wird mit den Interpretationskriterien verglichen. Anders als bei den Oberflächenproben und mit Unterschieden zwischen HDM und LDM.