

Dipl.Ing. (FH) A. Kottmair, Dr. K. Hoppenheidt,
Prof. Dr. W. Mücke

Luftbelastung mit β -(1,3)-D-Glucanen in und um Kompostierungs- und Vergärungsanlagen

W. Mücke (Hrsg.)



Herbert Utz Verlag

Herausgeber Univ.-Prof. Dr. rer.nat. Dr. med. habil. Wolfgang Mücke
Institut für Toxikologie und Umwelthygiene
Technische Universität München
Biedersteiner Str. 29
D-80802 München

This work is subject to copyright. All rights are reserved, whether the whole or part of the material is concerned, specifically those of translation, reprinting, reuse of illustration, broadcasting, reproduction by photocopying machine or similar means, and storage in data banks. Under §54 of the German Copyright Law where copies are made for other than private use, a fee as payable to the publisher, the amount of the fee to be determined by agreement with the publisher.

The use of registered names, trademarks, etc. in this publication does not imply, even in the absence of a specific statement, that such names are exempt from the relevant protective laws and regulations and therefore free general use.

We also undertake no guarantee that the contents of this book are free from rights of patent. The publication guarantees neither tacit nor explicit licence for existing patents.

Bibliografische Information der Deutschen Bibliothek:

Die Deutsche Bibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.ddb.de> abrufbar.

Copyright © Herbert Utz Verlag GmbH 2005

ISBN 3-8316-0550-5

Printed in Germany

Herbert Utz Verlag GmbH, München

089-277791-00 · www.utzverlag.de

Vorwort

Es mehren sich die Anzeichen, dass Bioaerosole eine bislang unterschätzte gesundheitliche Relevanz haben. Insbesondere β -(1,3)-D-Glucane – enthalten in Fragmenten von Pilzzellwänden – könnten wegen ihrer immunologischen Relevanz eine wichtige Rolle bei der Entstehung von Bioaerosol-bedingten Krankheitsbildern spielen. Im Rahmen eines vom Bayerischen Staatsministerium für Landesentwicklung und Umweltfragen unterstützten Vorhabens konnte der Frage nachgegangen werden, ob β -(1,3)-D-Glucane in der Umgebungsluft von biologischen Abfallbehandlungsanlagen zuverlässig bestimmbar sind, welche Gehalte auftreten und welche Schlussfolgerungen sich daraus ergeben. Zudem bestand die Möglichkeit, die Ergebnisse mit Endotoxingehalten und dem Gehalt an mesophilen Schimmelpilzen in der Luft zu vergleichen. Insgesamt gelangten nach Anpassung einer ursprünglich klinischen Nachweismethode insgesamt 94 Luftproben in und um Kompostierungs- und Vergärungsanlagen zur Untersuchung.

Dipl.-Ing. (FH) Andreas Kottmair

Dr. Klaus Hoppenheidt

Prof. Dr. Wolfgang Mücke

Inhalt

1	Zusammenfassung	3
2	Einführung in die Thematik	7
2.1	Gesundheitliche Relevanz von Bioaerosolbestandteilen	7
2.2	Veranlassung und Zielsetzung	13
3	Material und Methoden	17
3.1	Probenahme	17
3.1.1	Beschreibung der untersuchten Anlagen und der Probenahmestandorte	17
3.1.2	Durchführung der Probenahmen.....	22
3.2	Probentransport und -lagerung	24
3.3	Analyse der β-(1,3)-D-Glucane	25
3.3.1	Material und Chemikalien.....	25
3.3.2	Geräte	25
3.3.3	Durchführung	25
4	Ergebnisse	27
4.1	Methodenentwicklung und Standardisierung	27
4.1.1	Grundlagen	27
4.1.2	Vorbereitung der Proben	31
4.1.3	Vorbereitung der Standards	33
4.1.4	Vorbereitung der Kontrollansätze.....	34
4.1.5	Testdurchführung	34
4.1.6	Testauswertung und Qualitätssicherung	36
4.2	Emissionen an β-(1,3)-D-Glucanen aus Bioabfallbehandlungsanlagen	40
4.2.1	Streubereich der Anlagenwerte und der Hintergrundwerte für luftgetragene β -(1,3)-D-Glucane	40
4.2.2	Emissionen an β -(1,3)-D-Glucanen aus Anlage A.....	45
4.2.3	Emissionen an β -(1,3)-D-Glucanen aus Anlage B	52
4.2.4	Emissionen an β -(1,3)-D-Glucanen aus Anlage C	58
4.2.5	Emissionen an β -(1,3)-D-Glucanen aus Anlage D	64
4.2.6	Emissionen an β -(1,3)-D-Glucanen aus Anlage E	70
4.2.7	Einfluss des Anlagentyps	76

4.2.8	Einfluss der Jahreszeit.....	79
4.3	Vergleich der β-(1,3)-D-Glucane mit Endotoxinen und mesophilen Schimmelpilzen.....	80
5	Diskussion	83
5.1	Beurteilung der Nachweismethodik.....	83
5.1.1	Probenahme.....	83
5.1.2	Enzymatischer Nachweis.....	83
5.1.3	Interpretation der Untersuchungsergebnisse des Fungitec G Test.....	85
5.2	Beurteilung der Glucanemissionen biologischer Abfallbehandlungsanlagen.....	90
5.2.1	Beurteilung der nachgewiesenen Glucankonzentrationen.....	90
5.2.2	Vergleich zu anderen Bioaerosolbestandteilen	95
5.3	Ausblick.....	98
6	Anhang	101
6.1	Probenahmebedingungen Anlage A	101
6.2	Probenahmebedingungen Anlage B	105
6.3	Probenahmebedingungen Anlage C	109
6.4	Probenahmebedingungen Anlage D	113
6.5	Probenahmebedingungen Anlage E	117
6.6	Abbildungsverzeichnis.....	121
6.7	Tabellenverzeichnis	125
7	Literatur	127

2 Einführung in die Thematik

2.1 Gesundheitliche Relevanz von Bioaerosolbestandteilen

Die Luft ist ein Multikomponentengemisch, in dem eine Vielzahl abiotischer und biotischer Inhaltsstoffe enthalten sein kann. Die Zusammensetzung der (bodennahen) Luft kann sehr große qualitative und quantitative Unterschiede aufweisen, da durch lokale Emittenten eine Vielzahl unterschiedlicher Stoffeinträge möglich ist. Sobald die Konzentrationen einzelner Luftinhaltsstoffe gewisse, stoffspezifische Grenzen überschreiten, wird die Luft als gesundheitsschädlich eingestuft (Abbildung 2-1).

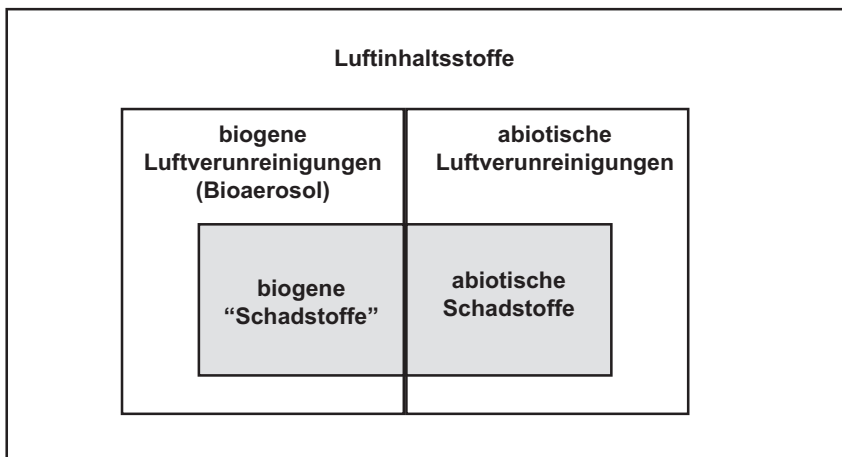


Abbildung 2-1: Schematische Abgrenzung der einzelnen Luftinhaltsstoffe

Die Gesamtheit der Luftinhaltsstoffe mit biologischem Ursprung wird meist als Bioaerosol bezeichnet (Nevalainen et al., 1993). Nach ihrer Herkunft lassen sich pflanzliche, tierische und mikrobielle Bioaerosolbestandteile unterscheiden (s. Abbildung 2-2). Bedingt durch die Vielfalt an Pflanzen, Tieren und Mikroorganismen weisen Luftproben aus verschiedenen Umweltbereichen große qualitative Unterschiede hinsichtlich der Bioaerosolzusammensetzung auf. Auch in der natürlichen Umgebungsluft sind viele Bioaerosolbestandteile in meist geringer Konzentration vorhanden (Ausnahme: z.B. hohe Konzentrationen bei Pollenflug). An zahlreichen Arbeitsplätzen wurden inzwischen jedoch sehr stark erhöhte Konzentrationen verschiedener Bioaerosolbestandteile nachgewiesen (Millner et al., 1994; Böhm, 1994; Mücke, 1995; Böhm et al., 1997; Cahn, 1997; Linsel, 2001).

Bestandteile von Pflanzen		Bestandteile von Tieren
➤ Pflanzliche Zellverbände (Pollen, Fasern, ...)		➤ Tierische Zellverbände (Hautschuppen, Haare, ...)
➤ Fragmente pflanzlicher Zellen		➤ Fragmente tierischer Zellen
➤ Stoffwechselprodukte		➤ Stoffwechselprodukte
Bestandteile von Mikroorganismen		
➤ Viren	➤ Bakterien	➤ Pilze (einzellig; Hyphen)
	➤ Bakteriensporen	➤ Pilzsporen
	➤ Bakterienzellfragmente (z.B. Endotoxine)	➤ Pilzzellfragmente (z.B. β -D-Glucane)
	➤ Stoffwechselprodukte (z.B. Toxine, MVOC)	➤ Stoffwechselprodukte (z.B. Mykotoxine, MVOC)

Abbildung 2-2: Veranschaulichung der komplexen Zusammensetzung von Bioaerosolen

Zahlreiche Gesundheitsbeeinträchtigungen werden im Zusammenhang mit erhöhten Konzentrationen biologischer Luftverunreinigungen diskutiert (s. Tabelle 2-1). Da Aerosole eine Vielzahl biotischer und abiotischer Inhaltsstoffe aufweisen, die sich in ihrem Wirkungspotenzial beeinflussen können, lassen sich Gesundheitsbeeinträchtigungen nicht immer auf einen Einzelfaktor zurückführen.

Tabelle 2-1: Bei erhöhten Bioaerosolbelastungen mögliche Gesundheitsbeeinträchtigungen (Millner et al., 1994; Herr et al., 1999)

Infektionen	Allergien	Entzündungen
<ul style="list-style-type: none"> • Virus-Infektion • Bakterien-Infektion • Pilz-Infektion 	<ul style="list-style-type: none"> • Allergische Rhinitis • Allergisches Asthma • Exogen-allergische Alveolitis • ... 	<ul style="list-style-type: none"> • Organic Dust Syndrome (ODTS) • Toxische Pneumonitis • Nichtallergisches Asthma • ...

Infektionen

Viele pathogene Mikroorganismen können über die Luft übertragen werden (z. B. Influenza-, Masern- und Rötelnviren, bakterielle Krankheitserreger wie Streptokokken, Mycobacterium tuberculosis, Bordetella pertussis, Legionella pneumophila, einige Pilze wie Aspergillus fumigatus). Für die überwiegende Zahl der bakteriellen und viralen humanen Infektionserreger stellt dabei der Mensch die wichtigste Infektionsquelle dar (UBA, 1995; Hartinger, 1995).

Infektionen können grundsätzlich nur durch vermehrungsfähige (vitale) Erreger ausgelöst werden. Die Vitalität vieler Infektionserreger nimmt jedoch bei der Luftpassage durch Trocknungsstress, Nahrungsmangel, Sonnenstrahlung etc. rasch ab, so dass in der Luft nach kurzer Zeit überwiegend geschädigte oder abgetötete Erreger vorhanden sind. Allerdings können einige Infektionserreger auch länger andauernde Luftpassagen überstehen, da sie widerstandsfähige Dauerstadien (Bakterien-, Pilzsporen) bilden können.

Allergien

Etwa 40 % der im Bundes-Gesundheitssurvey 1998 befragten Personen wiesen mindestens eine ärztlich diagnostizierte Allergie auf (Hermann-Kunz, 1999). Für die Mehrzahl der Allergien werden luftgetragene biogene Allergene verantwortlich gemacht (in Klammern: Fallzahlen): Pollen (9 Mio.), Tierepithelien (5,7 Mio.), Milbenallergene (4,9 Mio.) und Schimmelpilzallergene (4,1 Mio.).¹

Toxische Reaktionen

Zu den Krankheitsbildern, die u. a. auf toxische biologische Luftverunreinigungen zurückgeführt werden, gehören die Bronchitis, das Asthma sowie das Organic Dust Toxic Syndrome (ODTS), das häufig auch als toxische Alveolitis bezeichnet wird (Merrettig-Bruns, 1997; Mücke & Lemmen, 2000). Beispielhaft sind Endotoxine, β -(1,3)-D-Glucane und Mykotoxine als Vertreter der toxischen biologischen Luftinhalstoffe zu nennen.

Endotoxine sind potente, entzündungsfördernde Substanzen aus der Zellwand gramnegativer Bakterien (Olenchock, 1994; Linsel & Kummer, 1998; Nowak et al., 1998; Alexander & Rietschel, 1999) (Struktur: vergl. Abbildung 2-3). Ein gram-negatives Bakterium enthält etwa 2.000 Lipopolysaccharid-Moleküle (LPS) mit dem für die Endotoxin-Wirkung verantwortlichen Lipid-A-Bestandteil. LPS sind Bakterienstamm-spezifisch und sehr hitzestabil. Gram-negative Bakterien sterben in der Luft durch Trocknungsstress sehr schnell ab, doch die von ihren LPS-Molekülen ausgehende Endotoxinwirkung bleibt aufrecht erhalten.

¹ Fallzahlen nach <http://www.20.wissen.de>

Lipopolysaccharid (LPS mit dem Endotoxin) gramnegativer Bakterien

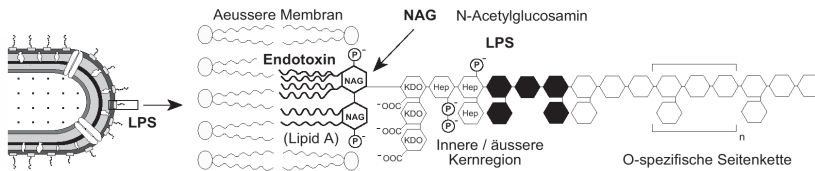


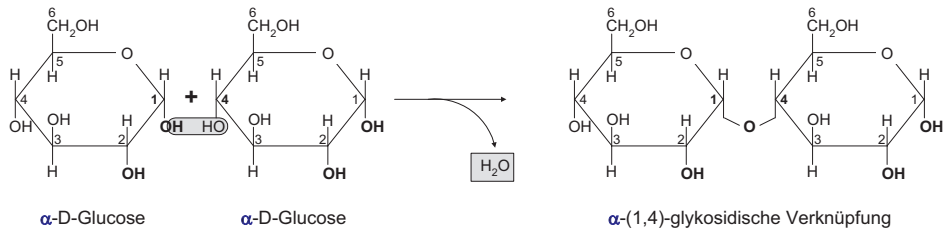
Abbildung 2-3: Schematische Darstellung der Struktur des Lipopolysaccharids mit dem Endotoxin aus der Zellwand gram-negativer Bakterien (Burkart, 2002)

Eine Reihe gesundheitlicher Beeinträchtigungen wie fiebrige Reaktionen, Verringerung der Organdurchblutung u. ä. sind bei einer Exposition gegenüber Endotoxinen möglich (Rylander, 1981; Castellan et al., 1987; Burrell, R., 1994; Rollinghoff, 1994; Alexander & Rietschel, 1999). Luftgetragenen und/oder staubgebundenen Endotoxinen wird nach Wiegand et al. (1994) an Arbeitsplätzen, z. B. in der Futtermittelindustrie oder in Wertstoffsortieranlagen, eine „Initialrolle bei der Entwicklung bestimmter Atemwegsbeschwerden“ zugeschrieben. Nach Heedrik und Douwes (1997) können luftgetragene Endotoxine schon wenige Stunden nach Beginn der Exposition unspezifische Symptome wie trockenen Husten, Kurzatmigkeit in Verbindung mit einer Abnahme der Lungenfunktion, Fieberreaktion und Kopfschmerz auslösen. Linsel und Kummer (1998) beschreiben, dass ab einer Endotoxinkonzentration in der Luft von 20 ng/m³ bereits eine Bronchitis ausgelöst werden kann. Andauernde Endotoxin-Expositionen sollen epidemiologischen und experimentellen Studien zufolge eine chronische Bronchitis und eine reduzierte Lungenfunktion bewirken (Heederik und Douwes, 1997).

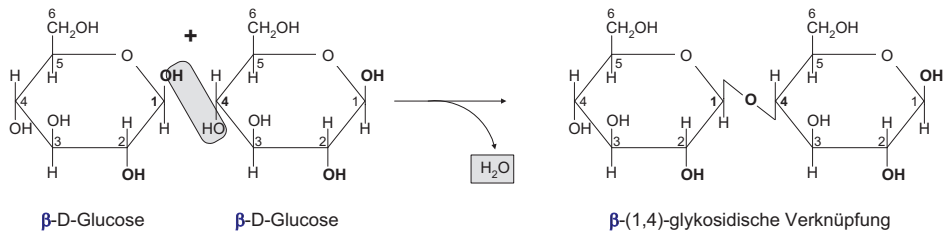
Den **β-(1,3)-D-Glucanen** aus Pilzzellwänden werden wie den Endotoxinen immunmodulatorische Eigenschaften zugeschrieben (Rylander et al., 1992; Rylander, 1998, 1999; Rylander und Holt, 1998; Wan, 1999; Rylander & Lin, 2000; Thorn & Rylander, 1998, 2001).

„Glucane“ ist nach Falbe und Regitz (1990) eine „Sammelbezeichnung für auch Polyglycosane genannte, zumeist natürlich vorkommende, lineare u. verzweigte Polymere der Glucose.“ Abbildung 2-4 zeigt den Aufbau einiger biochemisch wichtiger Glucane.

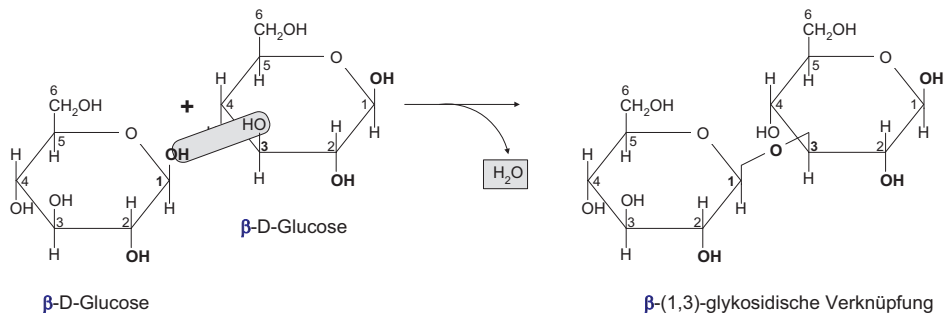
β-(1,3)-D-Glucane sind β-(1,3)-glykosidisch verknüpfte Polymere aus β-D-Glucose, die in den Zellwänden von Pilzen sowie einigen Getreide- und Bakterienarten nachgewiesen wurden.



Beispiele: Stärke, Glycogen



Beispiel: Cellulose



Beispiele: Pachyman, Laminarin, Curdlan, ...

Abbildung 2-4: Beispiele für unterschiedliche Glucane

Die β -(1,3)-D-Glucane sind gegenüber chemischen und physikalischen Einwirkungen sehr stabil. Das Wirkpotenzial wird durch die Molekülgröße (Anzahl der Monomere), die räumliche Struktur sowie durch Art und Umfang zusätzlicher Molekülverzweigungen beeinflusst (Kulicke et al., 1997). Bei Pilzen besteht die Zellwand teilweise bis zu 80 % aus unterschiedlich verknüpften β -D-Glucanen (Abbildung 2-5 und Abbildung 5-4). Bei *Aspergillus* wurden Glucangehalte von bis zu 100 ng / 10⁶ Sporen und bis zu 200 ng / mg Pilzbiomasse nachgewiesen (Fogelmark & Rylander, 1997).

Im Tierversuch zeigten Fogelmark et al. bereits 1992, dass β -(1,3)-D-Glucane auf Immunzellen (Makrophagen und Lymphozyten) einwirken und dass die Wirkung gelöster β -(1,3)-D-Glucane vergleichbar mit der Wirkung von Endotoxinen ist. Untersuchungen von Thorn und Rylander (1998) über den Zusammenhang zwischen β -(1,3)-D-Glucan-Exposition und unspezifischen Entzündungsindikatoren bei den Bewohnern von Reihenhäusern, die zum Teil Probleme mit Feuchtigkeit und Schimmelbildung hatten, unterstützen die Hypothese, dass unspezifische Entzündungssymptome bereits in Verbindung mit relativ geringen Luftkonzentrationen an β -(1,3)-D-Glucanen (bis 19 ng/m^3) festgestellt werden können.

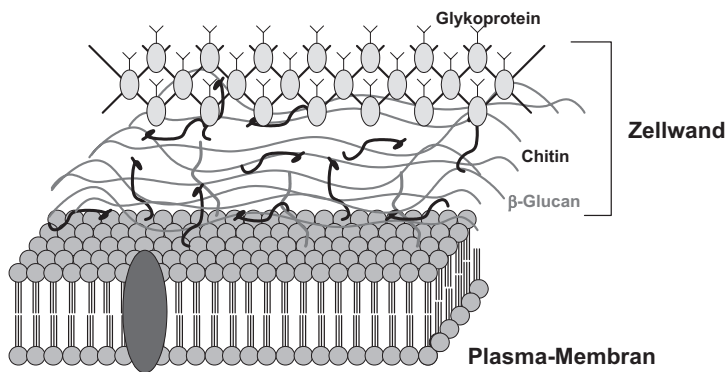


Abbildung 2-5: Schematischer Aufbau der Zellwand von Pilzen

Weiterhin untersuchten Thorn et al. (1998) in einer Feldstudie Arbeiter, die Abfälle aus Haushalten einsammelten und bestimmten die Konzentrationen an luftgetragenen Endotoxinen und β -(1,3)-D-Glucanen. Die Untersuchungen zeigten, dass bestimmte Stäube aus den Haushaltsabfällen Entzündungen der Atemwege sowie allgemeine Symptome auslösen können und dass diese Effekte mit erhöhten Luftkonzentrationen an β -(1,3)-D-Glucanen verbunden sind. Linsel (1998) wies eine Dosis-Wirkungsbeziehung zwischen einem β -(1,3)-D-Glucan (Curdlan) und der Ausschüttung von IL(Interleukin)-8 nach. IL-8 ist ein proinflammatorischer Mediator, der vor allem durch Epithelzellen exprimiert wird und der durch die Aktivierung der zellulären Immunantwort mit für die Entzündungsphänomene in den Atemwegen verantwortlich ist (Linsel, 1998).

Insgesamt betrachtet verdichten sich die Hinweise darauf, dass β -(1,3)-D-Glucane eine wichtige Rolle bei der Entstehung von Bioaerosol-bedingten Krankheitsbildern spielen.