EIN GEMEINSCHAFTSPROJEKT DER FRAUNHOFER-INSTITUTE IPA, IGB UND IBP, GEFÖRDERT DURCH DAS MINISTERIUM FÜR WIRTSCHAFT, ARBEIT UND WOHNUNGSBAU BADEN-WÜRTTEMBERG

Bericht Nr. 330241-199

Qualifizierung eines mobilen Luftreinigungsgeräts zur Reduzierung der Aerosolkonzentration in geschlossenen Innenräumen

Durchgeführt im Auftrag der

virlight GmbH
Herr Björn Ungerer
Hauptstr. 47
76669 Bad Schönborn

Berichtsnummer: 330241-199
Version: 1
Datum: 03.11.2021
Der Bericht umfasst 29 Seiten.

Bearbeiter:

Dr. Udo Gommel	(Fraunhofer IPA)
Prof. Dr. Susanne Bailer	(Fraunhofer IGB)
Daniel Benz	(Fraunhofer IPA)
Guido Kreck	(Fraunhofer IPA)
Christian Rudschewski	(Fraunhofer IPA)
Jana Hessel	(Fraunhofer IGB)

Inhaltsverzeichnis

Änderungshistorie ... **3**

Abkürzungs-, Formel- und Einheitenverzeichnis ... **4**

1 Einleitung ... **7**

2 Aufgabenstellung und Zielsetzung ... **8**

3 Untersuchungsgegenstand ... **9**

4 Material und Methoden ... **10**

4.1 Material und Messtechnik ... 10
4.1.1 Versuchsumgebung ... 10
4.1.2 Aerosolgenerator ... 11
4.1.3 Auswahl von Surrogatviren ... 11
4.1.4 Aerosolkonzentration ... 13
4.1.5 Temperatur und Luftfeuchte ... 14
4.1.6 Flüchtige organische Verbindungen ... 14
4.1.7 Ozon ... 15
4.1.8 Aldehyde und Ketone ... 15
4.2 Methodik ... 16
4.2.1 Prinzipieller Versuchsaufbau und -ablauf ... 16
4.2.2 Ermittlung der luftgetragenen Surrogatviren ... 18
4.2.3 Auswerteprozedur ... 19
4.2.4 Methodenvalidierung ... 20

5 Ergebnisse ... **23**

6 Zusammenfassung der Untersuchung ... **28**

7 Literatur ... **29**

Änderungshistorie

Version	Änderung	Ersteller/Datum
	Ersterstellung Bericht	Daniel Benz 03.11.2021
	Überarbeitung	Christian Rudschewski 08.11.2021
1	Freigabe Bericht	Dr. Udo Gommel 23.11.2021

Abkürzungs-, Formel- und Einheitenverzeichnis

Abkürzung	Bedeutung
°C	Grad Celsius
AHA	„**A**bstand halten!“ „**H**ygiene-Maßnahmen beachten!“ „**A**lltagsmaske tragen!“
BCV	Bovine Coronavirus
CAPE	Clean And Protective Environment
COVID-19	Englisch: ***co**rona**vi**rus **d**isease 20**19***
D90	flächenspezifische Strahlungsdosen (Inaktivierung um 90 %)
DEHS	Di-Ethyl-Hexyl-Sebacat
DNPH	Dinitrophenylhydrazin
FFU	Filter-Fan-Unit
ft^3	Kubikfuß
g	Gramm
GCMS	Gas-Chromatographiegerät mit einem Massenspektrometer
h	Stunde
HCoV	Humanes Coronavirus
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
IBP	Institut für Bauphysik
ICT	IPA CAPE Testcenter
IGB	Institut für Grenzflächen- und Bioverfahrenstechnik
IPA	Institut für Produktionstechnik und Automatisierung
IZS	Institutszentrum
k	Empfindlichkeitskonstante
K	Kelvin
KW	Kalenderwoche
l	Liter
LLOQ	lower limit of quantification
Log	Logarithmus

Abkürzung	Bedeutung
m	Meter
m³	Kubikmeter
min	Minute
ml	Milliliter
MP	Messpunkt
MS2	Bakteriophage MS2
N/A	nicht anwendbar
ng	Nanogramm
nm	Nanometer
OPZ	Optischer Partikelzähler
OR	Organic
pfu	Plaque Forming Units
P1,…,P4	Phasen der Versuchsreihe
Phi6	Bakteriophage Phi6
PBS	Phosphatgepufferte Salzlösung
ppb	parts per billion (=10^{-9})
ppm	Parts per million (10^{-6})
r.F.	relative Luftfeuchte
RNA	Ribonnukleinsäure
rpm	Umdrehungen pro Minute
RT-qPCR	quantitative Echtzeit Polymerase-Kettenreaktion
RW I	Richtwert
s	Sekunde
SARS-CoV-2	English: severe acute respiratory syndrome coronavirus type 2
SVOC	Semi volatile organic compounds
µm	Mikrometer
µg	Mikrogramm
UPLC	Ultra-Performance Liquid Chromatography

Abkürzung	Bedeutung
UV	Ultraviolett-Spektralbereich
UV-C	C-Band des Ultraviolett-Spektralbereichs
VDI-EE	Verein Deutscher Ingenieure–Expertenempfehlung
VOC	Volatile organic compounds
VVOC	Very volatile organic compounds

1 Einleitung

Infektionen mit dem Coronavirus SARS-CoV-2, der die Atemwegserkrankung COVID-19 verursachen kann, erfolgen nach aktuellen wissenschaftlichen Erkenntnissen zu einem Großteil über Aerosole. Vor allem in geschlossenen, schlecht oder nicht belüfteten Innenräumen mit mehreren Menschen ist die Einhaltung von Hygienemaßnahmen gemäß der AHA-Formel deshalb häufig nicht ausreichend zum Infektionsschutz: Von Infizierten abgegebene Bioaerosole mit dem Erreger SARS-CoV-2 können hier ohne Gegenmaßnahmen sehr lange schwebend im Raum verbleiben und stellen daher eine erhöhte, unkontrollierbare Infektionsgefahr dar. Mobile Luftreinigungsgeräte rücken daher als schnell umzusetzende Maßnahme zur Reduktion des Infektionsrisikos immer mehr in den Fokus.

Um die Eignung und Effektivität von Luftreinigungsgeräten miteinander vergleichen zu können, müssen diese unter objektiven, repräsentativen und vergleichbaren Versuchsbedingungen beurteilt werden.

2 Aufgabenstellung und Zielsetzung

Um beurteilen zu können, ob und unter welchen Randbedingungen der Einsatz eines mobilen Luftreinigungsgerätes zur Reduzierung der Aerosolkonzentration, und damit der Infektionsgefahr, sinnvoll ist, muss für die Luftreinigungsgeräte individuell und empirisch deren Wirkungsleistung ermittelt werden.

Ziel der Untersuchung ist die Testung der Reduktion und Inaktivierung luftgetragener Surrogat-Viren[1] durch das vom Auftraggeber zur Verfügung gestellten Luftreinigungsgerät in einem speziell ausgerüsteten Testraum (s. Kapitel 3).

[1] behüllte Phi6-Bakteriophagen vergleichbar in Aufbau, Genom, Partikelgröße und Umweltstabilität zu SARS-CoV-2 [1],[2],[3],[4],[5]

3 Untersuchungsgegenstand

Die Gerätespezifikationen entsprechen den Angaben des Herstellers und sind Tabelle 1 zu entnehmen.

Tabelle 1: Gerätespezifikation

Gerätename	virlight
Hersteller	RUCO Licht GmbH
Seriennummer	
Funktionsprinzip	UV-C Technologie mit Aktivfilter
Installation	50cm von der Decke hängend
Gerätedimension	Höhe: 1510 mm; Breite: - mm; Tiefe: - mm
Raumgröße	bis 30 m² (90 m³)
Messzeitraum	KW 41.2021

Bild 1: Getestetes Luftreinigungsgerät

4 Material und Methoden

Um eine quantitative und vergleichbare Methode zur Bestimmung der Effektivität von mobilen Luftreinigungsgeräten nach VDI EE 4300 Blatt 14 zu etablieren, wird zunächst eine Infrastruktur bestehend aus

- einer Versuchsumgebung (Kapitel 4.1.1),
- Aerosolgeneratoren zur Erzeugung der Aerosole (Kapitel 4.1.2) mit geeignetem Surrogat-Material (Kapitel 4.1.3) sowie
- Messtechnik zur Bestimmung der
  - Aerosolkonzentration während der Messung (Kapitel 4.1.4),
  - Umgebungsbedingungen Temperatur und Luftfeuchte (Kapitel 4.1.5) sowie
  - Beiprodukte wie Ozon, Ketone, Aldehyde und andere flüchtige organische Verbindungen (VOC) (Kapitel 4.1.6, 4.1.7 und 4.1.8)

aufgebaut und bereitgestellt [13]. Darauf basierend wird die Methodik entwickelt und validiert, mit der die mobilen Luftreiniger bewertet werden (Kapitel 4.2).

4.1 Material und Messtechnik

4.1.1 Versuchsumgebung

Für eine kontrollierte Umgebung kommt das vom Fraunhofer IPA entwickelte CAPE® zum Einsatz. Hiermit werden Luftreinheitsklassen, wie diese in der ISO 14644-1 definiert sind, von Klasse 3 und besser erreicht. Nach VDI EE 4300 Blatt 14 stellt dies eine ausreichend gute Umgebung dar, um zu ermitteln, wie effektiv das mobile Luftreinigungsgerät die aufgebrachten Aerosole abreichern kann [19].
Die Umgebung ist ebenfalls temperatur- und feuchtekontrolliert (IPA Cape Testcenter, ICT: 75 m³) und erfüllt die folgenden Randbedingungen:

- Temperatur der Wandraumflächen 23 °C ± 2 K
- Raumlufttemperatur ca. 25 °C ± 2 K
- Raumluftfeuchte ca. 48 % ± 10 % r.F
- Luftwechsel 0 1/h (statisch)

Bild 2: Aufbau zur Bewertung von mobilen Luftreinigungsgeräten mit Virus-Surrogat-Aerosolen (links) und DEHS-Surrogat-Aerosolen (rechts) am Fraunhofer IZS in Stuttgart

4.1.2 Aerosolgenerator

Zur Zerstäubung der Partikelsuspensionen (Virus-Surrogate) kommen Aerosolgeneratoren zum Einsatz mit zusätzlichem Magnetrührer für eine bessere Durchmischung der Partikelsuspension. Nachfolgender Aerosolgenerator AGK 2000 der Fa. Palas GmbH wird für die Untersuchungen mit den nachfolgenden Leistungsparametern eingesetzt.

Leistungsdaten:	
Betriebsdruck:	1,5 bar
Magnetrührer:	300 rpm

Bild 3: Aeorosolgenerator AGK 2000 der Fa. Palas GmbH zur Aerosolisierung der Virussurrogate

4.1.3 Auswahl von Surrogatviren

Grundsätzlich kommen mehrere Viren als Surrogate anstelle des hochpathogenen SARS-CoV-2 in Frage, die vergleichbar mit SARS-CoV-2 sind:

- das Humane Coronavirus *229E* (HCoV-229E), das ein gängiges und weit verbreitetes Erkältungsvirus darstellt,
- das Bovine Coronavirus BCV, bei dem es sich um ein Tierpathogen handelt und
- den Bakteriophagen Phi6, der nicht humanpathogen ist

Die Wahl fiel auf den Bakteriophagen Phi6, der mit seiner Membranhülle und seinem RNA-Genom dem SARS-CoV-2 sehr ähnlich ist, jedoch weder Tier noch Mensch schadet und deshalb für die Prüfung ohne Bedenken als Aerosol ausgebracht werden kann. Diese Bakteriophagen wurden in Kultur genommen, ein skaliertes Verfahren auf Basis einer Flüssigkultur konnte etabliert werden, um eine möglichst effiziente Herstellung einer großen Menge von Surrogatviren, wie sie für die Testung benötigt wird, dauerhaft zu gewährleisten.

Anmerkungen:

- Untersuchungen der Virenaktivität auf Oberflächen bedürfen einer anderen Methode, da hier die Stabilität von Viren in Flüssigkeiten („Schmierinfektion") betrachtet werden muss. Literatur bzw. Daten zur Inaktivierung von Viren in flüssigen Medien und auf Oberflächen sind zahlreich, eine Übertragung der Ergebnisse auf luftgetragene Mikroorganismen ist jedoch nicht zulässig, da die Einflüsse der Medien auf die Mikroorganismen unterschiedlich sind bzw. sein können, und diese Effekte noch nicht quantifiziert werden können.
- Aufgrund der noch unzureichenden Datenlage (Tabelle 2) zur Empfindlichkeit der Viren bzw. Phagen gegenüber UV-Strahlung bei 254 nm in Aerosolen ist zum gegenwärtigen Zeitpunkt eine Übertragung der Inaktivierung von Phi6- Phagen auf SARS-CoV-2 noch nicht möglich. Als weiteres Beispiel sind MS2-Phagen bei Tseng gegenüber 254 nm-UV-Strahlung um mehr als den Faktor 10 empfindlicher als bei Walker, zudem ist der Einfluss der relativen Feuchte gegenläufig (Tabelle 2).

Tabelle 2: Empfindlichkeitskonstante k und flächenspezifische Strahlungsdosen D90 (Inaktivierung um 90 %) aus der Literatur für die Phagen Phi6 und MS2 sowie für ein Coronavirus. Berücksichtigt sind nur Werte für die Bestrahlung von luftgetragenen Phagen bzw. Viren mit 254 nm-UV-Strahlung.

Phage/Virus	Veröffentlichung	Medium relative Feuchte	k in m²/J	D_{90} in J/m²
Phi6-Phage	nach Tseng et al [11]	Aerosol, 55 % r.F.	0,43	5,35
		Aerosol, 85 % r.F.	0,31	7,43
MS2-Phage	nach Tseng et al[11] [12]	Aerosol, 55 % r.F.	0,81	2,84
		Aerosol, 85 % r.F.	0,64	3,60
	nach Walker et al [12]	Aerosol, 32-50 % r.F.	0,045	51,4
		Aerosol, 74-82 % r.F.	0,054	42,8
Coronavirus	nach Walker et al [12]	Aerosol, 50 % r.F.	0,35	6,56

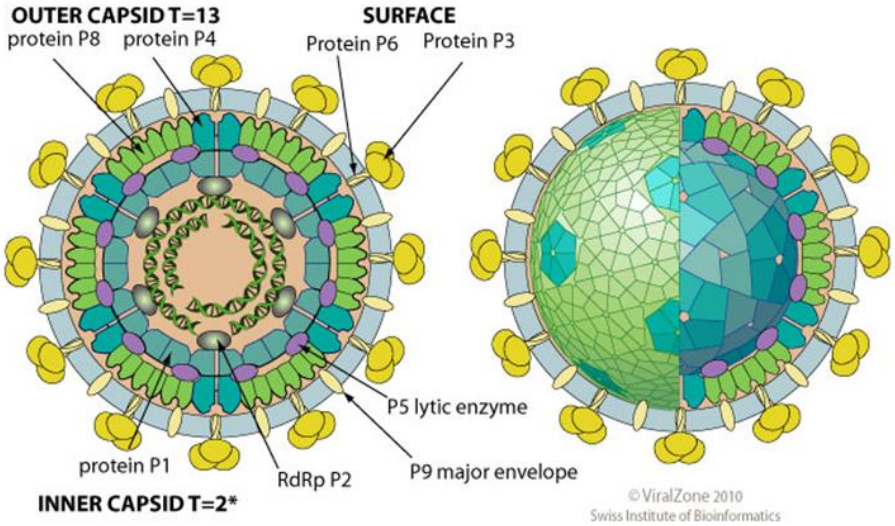


Bild 4: Bei Phi6 handelt es sich um einen Bakteriophagen der Familie Cystoviridae, der sich aufgrund seiner Größe (100 nm), seiner Membranhülle und seinem RNA-Genom als Sars-CoV-2-Surrogat eignet. Quelle: ViralZone 2010

4.1.4 Aerosolkonzentration

Zur Bestimmung der Aerosolkonzentration kommen zum einen optische Partikelzähler, zum anderen Luftkeimsammler zum Einsatz:

- Als Messgeräte für die physikalischen Aerosole kommen optische Partikelzäher (OPZ) zum Einsatz. Diese können luftgetragene Aerosolpartikel ab 0,2 µm in sechs Größenkanälen bis > 20 µm detektieren.
- Bio-Aerosole werden mit einem Luftkeimsammler auf einer Gelatinemembran gesammelt, die in der Folge gelöst und ausgewertet wird.

Die Konzentrationsmessung der Partikel erfolgt mittels des optischen Partikelzählers PCSS Air LDS328 der Firma Klotz. Dieser erfasst die Partikel über das Streulichtprinzip und verfügt über 3 Messkanäle, welche unmittelbar ausgegeben werden können. Der Volumenstrom beträgt 2,83 l/min (0,1 ft³/min) und es können Partikel im Bereich zwischen ≥ 0,2 µm und ≥ 20 µm aufgezeichnet werden. Das Messintervall beträgt 1 Messwert pro Minute und es werden die Größenkanäle ≥ 0,2 µm, ≥ 0,5 µm, ≥ 1,0 µm, ≥ 5,0 µm, ≥ 10,0 µm und ≥ 20,0 µm aufgezeichnet. Die Kalibrierung der Geräte fand Anfang des Jahres 2021 statt. Das Kalibrierprotokoll kann bei Bedarf eingesehen werden.

Leistungsdaten:	
Durchflussrate:	2,83 l/min
Messbereich:	0,2 – 20µm
Max. Konzentration Partikel /cbf:	2.000.000
Messkanäle:	bis zu 16
Zählrate:	max. 250.000 Partikel/s
Lichtquelle:	Laserdiode

Bild 5: OPZ PCSS-Air der Markus Klotz GmbH zur Bestimmung der Aerosolkonzentration

Die Bakteriophagen im Raum werden mittels des MBASS30 Version 3 und dem Filteradapters FA30 der Firma Holbach ermittelt. Mit dem MBASS30 V3 können die Impaktion und die Filtration durchgeführt werden. Als Probenahmemedium dienen handelsübliche Gelatinefilter in sterilen Einwegeinheiten. Zu definierten Zeitpunkten wird über einen definierten Zeitraum hinweg eine Raumluftprobe genommen und später analysiert

Leistungsdaten:	
Volumen:	1500 l
Volumenstrom:	50 l/min

Bild 6: Holbach MBASS30 V3 Messgerät zur Bestimmung der aktiven Bakteriophagen im Raum.

4.1.5 Temperatur und Luftfeuchte

Die Umgebungsparameter der Temperatur und Feuchte werden mittels des Datenloggers Testo 175H1 aufgezeichnet. Der Datenlogger Testo 175 H1 misst und dokumentiert die Temperatur und relative Feuchte im Versuchsraum und dank externem Feuchtefühler (Stummel) ist eine schnelle Reaktionszeit garantiert. Das Messintervall beträgt 1 Messwert pro Minute. Die Kalibrierprotokolle können bei Bedarf eingesehen werden.

Leistungsdaten Temperatur:		Leistungsdaten relative Feuchte:	
Messbereich:	-20 bis +55°C	Messbereich	0 bis 100 %
Genauigkeit	±0,4 °C (-20 bis +55 °C) ±1 Digit	Genauigkeit	±2 % (2 bis 98 %) bei +25 °C ±0,03 % /K ±1 Digit < ±1 % / Jahr Drift bei +25 °C
Auflösung	0,1 °C	Auflösung	0,1 %

Bild 7: Testo 175 H1 Messgerät zur Bestimmung von Temperatur und Luftfeuchte

4.1.6 Flüchtige organische Verbindungen

Flüchtige organische Verbindungen (VOC) werden mittels aktiver Probenahme auf einem geeigneten Adsorber-Material (hier: Tenax TA) und anschließender thermischen Desorption und Analyse mittels Gaschromatograph gekoppelt mit Massenspektroskopie (ATD-GC/MS) gemäß ISO 16000-6 bzw. 16017-1 quantifiziert.

Leistungsdaten	
Messbereich	0,1 µg/m³ – 10.000 µg/m³ (skalierbar durch Probenahme)
Probenahmefluss	100 ml/min
Probenahmedauer	60 min

Bild 8: ATD-GC/MS (PerkinElmer)

4.1.7 Ozon

Das möglicherweise entstehende Beiprodukt Ozon wird mittels des Ozonmonitors Model 106-L der Firma 2B Technologies aufgezeichnet und ausgewertet. Das Model 106-L misst und dokumentiert den Ozongehalt in der Luft minütlich. Bei der späteren Analyse wird das über eine Stunde emittierte Ozon gemittelt ausgegeben.

Leistungsdaten	
Messprinzip:	UV-Absorption bei 254 nm
Linearer dynamischer Bereich:	0-100,000 ppb (0-100 ppm)
Auflösung	0,1 ppb
Durchflussrate (nominal)	~1 l/min

Bild 9: 2B Technologies Ozonmonitor 106-L Messgerät zur Bestimmung des produzierten Ozons.

4.1.8 Aldehyde und Ketone

Gasförmige Aldehyde und Ketone werden mittels aktiver Probenahme auf DNPH-Kartuschen und anschließender Elution und Analyse mittels Flüssigkeitschromatographie (UPLC) gemäß ISO 16000-3 quantifiziert.

Leistungsdaten	
Messbereich	1 µg/m³ – 1.000 µg/m³ (skalierbar durch Probenahme)
Probenahmefluss	20 l/min
Probenahmedauer	90 min

Bild 10: UPLC

4.2 Methodik

4.2.1 Prinzipieller Versuchsaufbau und -ablauf

Der Aufbau erfolgt in Anlehnung an die DIN ISO 16000-36 [6] für die Untersuchung luftgetragener Bakterien, realitätsnah angepasst an die spezifischen Anforderungen von Viren:

- Das Luftreinigungsgerät wird bodennah zwischen den Aerosolgenerator und den Luftkeimsammler platziert (Bild 11).

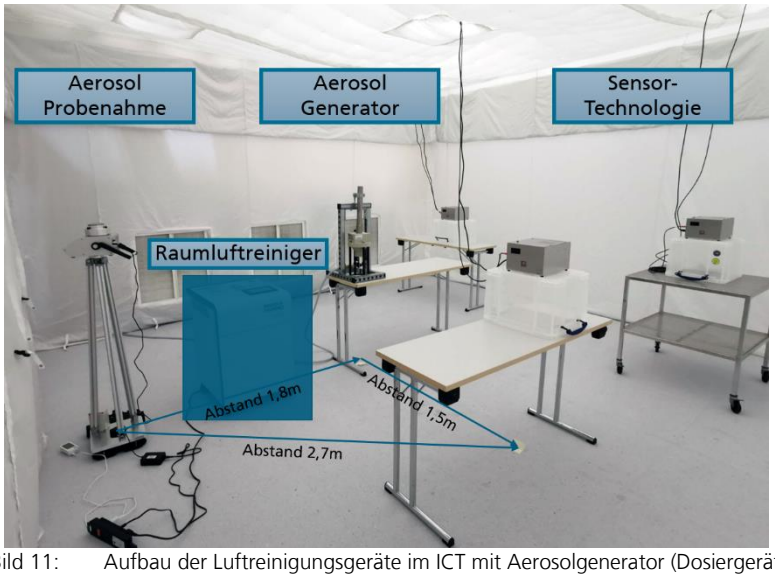


Bild 11: Aufbau der Luftreinigungsgeräte im ICT mit Aerosolgenerator (Dosiergerät), Sensortechnik und Partikelzähler

- Die Bakteriophagen werden im Abstand von etwa 0,6 m vor dem Einlass des Gerätes in den Raum eingebracht. Die Dosierung erfolgt zunächst ohne Einschalten des Gerätes, um eine hohe Phagenlast im Raum zu erreichen. Danach wird die Dosierung und das Luftreinigungsgerät simultan betrieben, um die Phagenreduktion zu bestimmen.
- Abschließend wird nur das Luftreinigungsgerät betrieben, um die Abreicherungsleistung zu bestimmen.
- Dieser dreiteilige Versuchsaufbau wird über eine Gesamtlaufzeit von etwa 3 Stunden betrieben. Über die gesamte Laufzeit wird die Partikelverteilung im Raum, die Temperatur und Feuchte kontinuierlich gemessen.
- Die gesammelten Daten werden nach Versuchsablauf gesichtet und ausgewertet. Dabei werden der Sensortechnik 15 Minuten Einlaufzeit gewährt. Jeder Partikelzähler misst minütlich die Partikelkonzentration in seiner Umgebung. Somit ergibt sich ein zeitlicher Verlauf, welcher später nachfolgend grafisch aufgearbeitet wird.
- Neben der Wirkung des Gerätes beeinflusst potenziell auch der natürliche, zeitabhängige Aktivitätsverlust in der Suspension die Wiederfindung. Der Bakteriophagen-Titer (pfu/ml) der Suspension wird daher zusätzlich am Beginn und am Ende des Versuches getestet.

- Entsprechend den Vorgaben des Umweltbundesamtes wird beim Einsatz von ozonproduzierenden Luftreinigungsverfahren (UV-C, Plasmatechnologie; Ozon, Direktinjektion) die Bestimmung von entstehenden Beiprodukten im Betrieb gefordert: Der Richtwert I (RW I) beschreibt hierbei die Konzentration eines Stoffes in der Innenraumluft, bei der einer Einzelstoffbetrachtung nach gegenwärtigem Erkenntnisstand auch dann keine gesundheitliche Beeinträchtigung zu erwarten ist, wenn ein Mensch diesem Stoff lebenslang ausgesetzt ist. Diese Probennahmen erfolgen, neben der Messung mittels eines Ozonmessgeräts, auf entsprechenden Adsorptionsröhrchen zur Detektion von VVOC und VOC, analysiert mittels Gaschromatographie-Massenspektrometrie, sowie auf DNPH-Kartuschen zur Bestimmung ausgewählter Ketone und Aldehyde, analysiert mittels Hochleistungsflüssigchromatographie-Diodenarray-Verfahren[14] [15],[16].
- In definierten Zeiträumen werden die Bakteriophagen mittels eines Luftkeimsammlers[2] auf eine Gelatinemembran aus der Raumluft analog zu DIN-ISO 16000-16 gesammelt. Die beaufschlagten Gelatinemembranfilter werden in Anlehnung an die DIN ISO 16000-17 innerhalb einer Stunde aufgearbeitet und nach 24 Stunden ausgewertet (Bild 12) [7],[8] und zur mikrobiellen Analyse im Labor mittels der Methode des Plaque-Assays bestimmt [9],[10]. Die natürliche Halbwertszeit der Phi6-Bakteriophage wird bei der Berechnung der Wirksamkeit des Gerätes mitberücksichtigt.

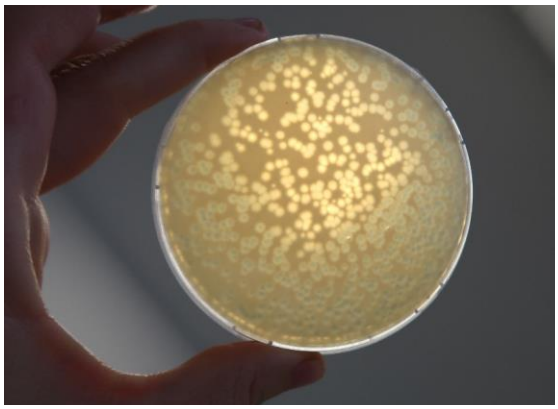


Bild 12: mikrobielle Analyse mit einem Plaque-Assay Test

Die Methode zur Bewertung von mobilen Luftreinigungsgeräten wurde in der aufgebauten Infrastruktur mit folgender Vorgehensweise entwickelt und validiert:

[2] MBASS30 Version 3 adaptiert für Filterbetrieb von Firma Umweltanalytik Holbach GmbH, Wadern, Deutschland

Bild 13: Aufbau zur Bewertung von mobilen Luftreinigungsgeräten mit Virus-Surrogat-Aerosolen in der geschaffenen Versuchsinfrastruktur am Fraunhofer IZS in Stuttgart

Für das Testsystem werden Surrogatviren kultiviert. Der Aktivitätsnachweis der Bakteriophagen sowie deren Genomzahl Analyse findet in einem biologischen Analytiklabor auf dem Fraunhofer Campus in Stuttgart statt. Abschließend kommt ein qualitativ hochwertiges zur Virus-Aerosolisierung und Probenahme entwickeltes Verfahren zum Einsatz.

4.2.2 Ermittlung der luftgetragenen Surrogatviren

Zur effizienten Aerosolisierung der Surrogatviren wird der Aerosolgenerator AGK2000 von der Fa. Palas verwendet. Mit dem Aerosolgenerator wird eine definierte Menge der Surrogatviren-Lösung zerstäubt. Als Lösungsmittel für die Surrogatviren steht ein Nährmedium zur Verwendung, das im Vergleich zu PBS bzw. Wasser die Virus-Aktivität nach Aerosolisierung langfristig erhält.

Zur effektiven Probenahme der erfolgreich in Aerosolen ausgebrachten Surrogatviren wird ein Luftkeimsammler der Fa. Holbach genutzt, mit dem nach 60-minütiger Zerstäubung und 30-minütiger Probenahme (50 l/h) bis zu 10^6 pfu/m^3 Phi6 nachgewiesen werden können.

Um die Bakteriophagen vor und nach der Inaktivierung durch die zu testenden Luftreiniger zu erfassen, wurden einerseits Nachweisverfahren zu Virusaktivität, andererseits zur viralen Genomzahl etabliert. Um die Virus-Aktivität zu erfassen, werden Virusproben seriell verdünnt und mit Wirtsbakterien versetzt. Zur Viurs-Wirtsbakteriensuspension wird Softagar gegeben und auf Nähragarplatten ausplattiert. Nach dem Ausplattieren werden in Anwesenheit von aktiven Surrogatviren innerhalb von 24 h Lysehöfe im Bakterienrasen gebildet, die mit der Anzahl an infektiösen Viren korrelieren. Neben dem Plaque-Assay, der die Bestimmung infektiöser Bakteriophagen erlaubt, wird ein weiteres Verfahren zur quantitativen Erfassung genutzt, mit dem die Zahl der Virusgenome identifiziert werden kann - die RT-qPCR. Als Vorbereitung für die RT-qPCR wird die virale RNA der Bakteriophagen aus den Proben isoliert. Die Virusgenome werden während der RT-qPCR vervielfätigt, wobei die sensitive Detektion und Quantifizierung der Virusgenome möglich wird. Die Ergebnisse der RT-qPCR dienen als Referenz für die Inaktivierung, sowie als Maß für die Virus-Abreicherung im Rahmen der Inaktivierung. Die Quantifizierung mittels RT-qPCR kann auf Wunsch der Kunden optional durchgeführt werden.

Bild 14: Kulturbasierter Nachweis der Virusinfektiösität (oben) und molekulare Analyse der viralen Genomzahl (unten), womit die Effizienz von Raumluftreinigern getestet werden kann

4.2.3 Auswerteprozedur

Die Sensortechnik wird zu Beginn eingeschaltet, um einen definierten Ausgangszustand zu erreichen. Die Auswertung des Versuchs beginnt bei Minute 0 und kann in vier (4) Phasen (P1 - P4) unterteilt werden:

- P1: Probennahme im Zeitraum von 30 min bis 60 min: Aerosolisierung aktiviert, Luftreinigungsgerät inaktiv (entspricht Referenzmessung)
- P2: Probennahme im Zeitraum von 73 min bis 103 min: simultaner Betrieb von aktivierter Aerosolisierung und aktiviertem Luftreinigungsgerät
- P3: Probennahme im Zeitraum von 103 min bis 133 min: simultanen Betrieb von aktivierter Aerosolisierung und aktiviertem Luftreinigungsgerät
- P4: Probennahme im Zeitraum von 163 min bis 193 min: Aerosolisierung inaktiv und Luftreinigungsgerät aktiviert

Die Leistung des Geräts wird anhand der Messwerte nach Minute 60, 103, 133 und 193 bewertet. Die Kurven im nachfolgenden Kapitel spiegeln die Messbereiche der Partikelmessgeräte (PCSS Air/Markus Klotz GmbH) wieder. Das PCSS Air (200 nm bis 20000 nm) umfasst den nanoskaligen Bereich bis 20000 nm, deckt daher den Bereich einzelner Viren (Virengröße ca. 100 nm) in der Luft, als auch Aerosol getragene Viren (ca. 1 bis 3 µm Partikelgröße), ab. Nach dem Einschalten eines Luftreinigungsgeräts mit verbautem Filter oder ähnlichem sinken binnen Minuten sämtliche Größenbereiche der Partikel-Messwerte ab.

4.2.4 Methodenvalidierung

Die folgenden Abbildungen zeigen repräsentative Ergebnisse der Abreicherung von aktiven Phi6- Bakteriophagen bzw. Partikeln im Rahmen eines Vorversuchs mit einem Raumluftreiniger (Name aus Datenschutzgründen nicht genannt). Die Reinheit des Versuchsraums wurde vor und nach dem Versuchsansatz (Negativkontrolle) untersucht, bei der jeweils keine aktiven Phi6- Bakteriophagen nachgewiesen werden konnten (nicht gezeigt). Das Versuchssetting gliedert sich in drei unterschiedliche Phasen:

- Phase 1: Zerstäubung (Aerosolgenerator EIN, Luftreiniger AUS), blau
- Phase 2: Luftreinigung während Zerstäubung (Aerosolgenerator EIN, Luftreiniger EIN), grün
- Phase 3: Luftreinigung ohne Zerstäubung (Aerosolgenerator AUS, Luftreiniger EIN), orange

Zeitpunkt		Aerosolgenerator	Luftreiniger	Luftkeimsammler	Sensortechnik
– 15 - 0 min	NK	Aus	Ein	Ein Negativkontrolle	Ein
0 – 30 min	Zerstäubung Phagen	Ein	Aus	Aus	Ein
30 – 60 min		Ein	Aus	Ein Probe 1	Ein
60 – 73 min	UV Warmlaufen	Ein	Ein	Aus	Ein
73 – 103 min	Zerstäubung Phagen und Luftreinigung	Ein	Ein	Ein Probe 2	Ein
103 – 133 min		Ein	Ein	Ein Probe 3	Ein
133 – 163 min	Luftreinigung	Aus	Ein	Aus	Ein
163 - 193 min		Aus	Ein	Ein Probe 4	Ein
193 – 208 min	Reinigung Raum	Aus	Ein + FFU	Aus	Ein
208 – 223 min	Reinigung AGK2000	Ein (H2O)	Ein + FFU	Aus	Ein

Bild 15: Detaillierte Beschreibung der Versuchsdurchführung zur Analyse eines Raumluftreinigers bezüglich der Abreicherung von Phi6-Phagen

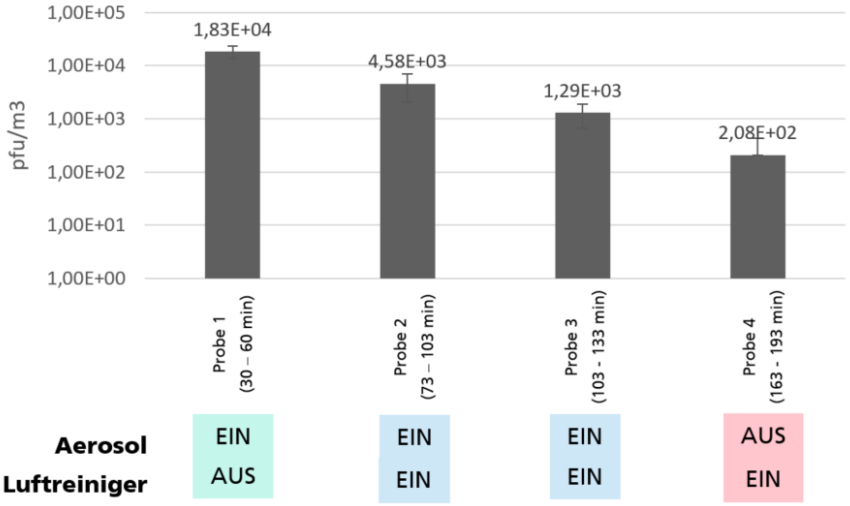


Bild 16: Repräsentatives Ergebnis der Analyse eines Luftreinigers: Abreicherung von Surrogatviren vor und während der Luftreinigung

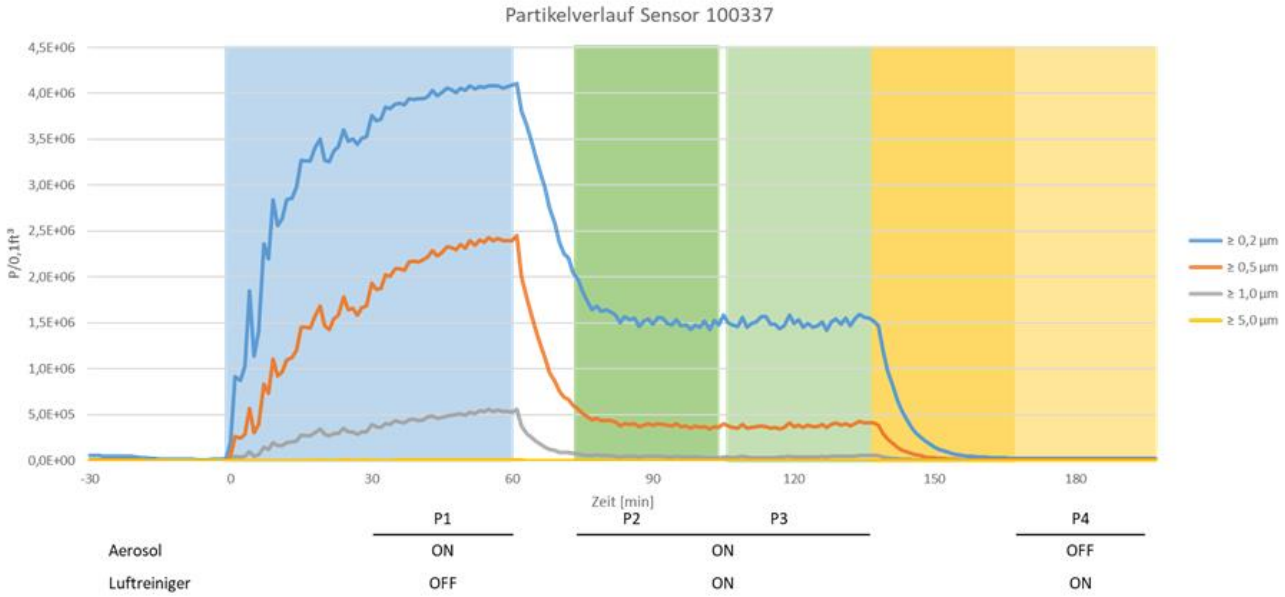


Bild 17: Repräsentatives Ergebnis der Analyse eines Luftreinigers: Partikelabreicherung vor und während der Luftreinigung

Im Rahmen der Methodenvalidierung konnte zunächst in unterschiedlichen Versuchs-Settings der Aufbau festgelegt werden, mit dem zum einen eine effektive Abreicherung der Surrogatviren erreicht werden konnte und zum anderen die Übertragbarkeit auf Versuche mit unterschiedlichen Raumluftreinigern möglich wurde.

Dabei sind Aerosolgenerator und Sensortechnologie auf einer Höhe von 1,25 m angebracht, welches der normalen Sitzhöhe entspricht.

Der Abstand des Aerosolgenerators zur Probenahme (1,80 m) bzw. zur Sensortechnologie (1,50 m) ist für alle Versuche vergleichbar.

Die unterschiedlichen Raumluftreiniger werden jeweils mittig zwischen Aerosolgenerator und Aerosolprobenahme platziert, wobei die Zuluft des Luftreinigers in Richtung Aerosolgenerator zeigt bzw. die Abluft in Richtung Probenahme. Im Rahmen der Etablierung sind weitere Partikelmessgeräte, um die Verteilung im Raum zu untersuchen, zum Einsatz gekommen. Die Reproduzierbarkeit des definierten Versuchs-Aufbaus ist ebenfalls bestätigt.

5 Ergebnisse

In der nachfolgenden grafischen Übersicht sind alle Messpunkte für die Partikelkonzentration (MP A bis MP C), Temperatur und relative Luftfeuchte (T^0), die Bakteriophagen mittels des Luftkeimsammlers (H) und die Aerosolquelle (x) beschrieben. Der Luftreiniger (★) wurde im Abstand von 900mm zur Aerosolquelle betrieben.

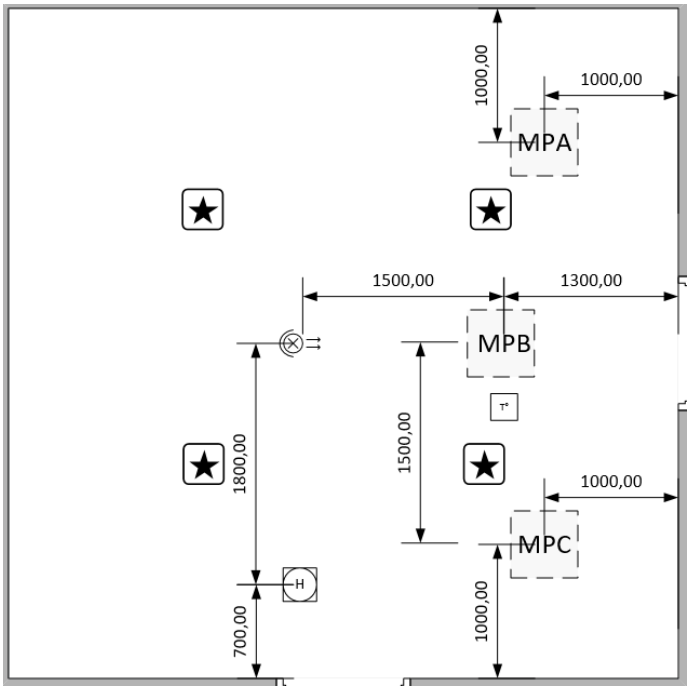


Bild 18: Raumübersicht der Messpunkte

Nach der in Kapitel 4 beschriebenen und nach VDI EE 4300 Blatt 14 validierten Methode wird das vom Auftraggeber zur Verfügung gestellte mobile Luftreinigungsgerät nach Kapitel 3 geprüft und bewertet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

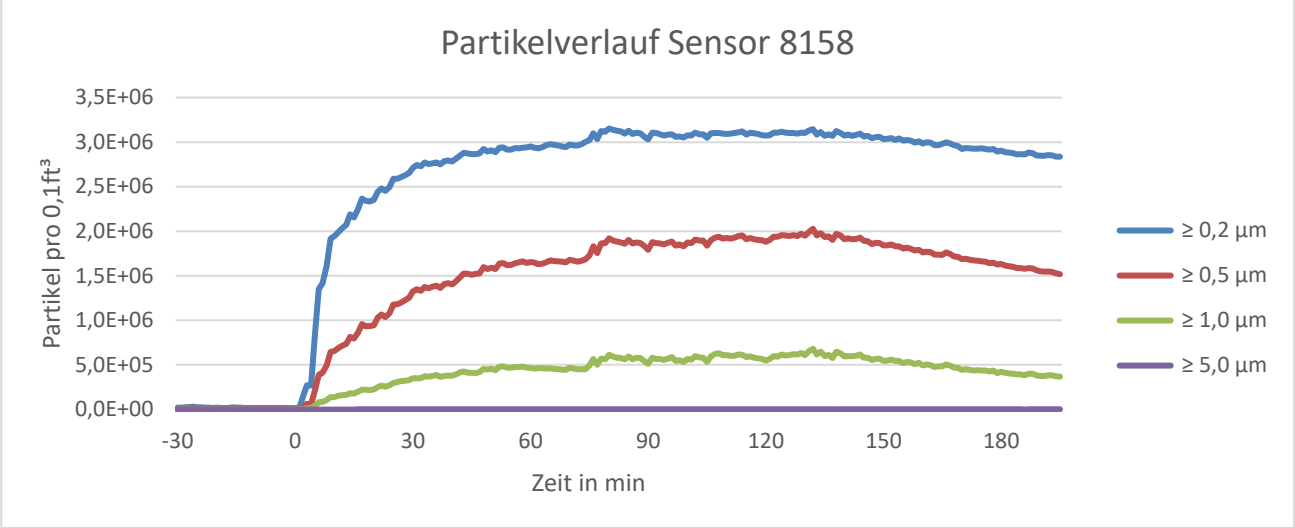
Tabelle 3: Messung der Vireninfektiösität bzw. der Reduktion der Virenwiederfindung

Zeitpunkt der Probenahme	Bestimmung aktiver PFU-Einheiten mit Standardabweichung in pfu/m³	Gemessene Reduktion der Wiederfindung infektiöser Viren (Messdaten in Relation zu P1)
P1	2,95E+06	-
P2	5,25E+05	≤ Log-1 (82,18 %)
P3	1,64E+06	≤ Log-1 (44,27 %)
P4	2,15E+05	≤ Log-2 (92,69 %)

*Wiederfindung [%] = 100/P1*P2, bzw. Wiederfindung [%] =100/P1*P3, Reduktion [%] = 100 - Wiederfindung

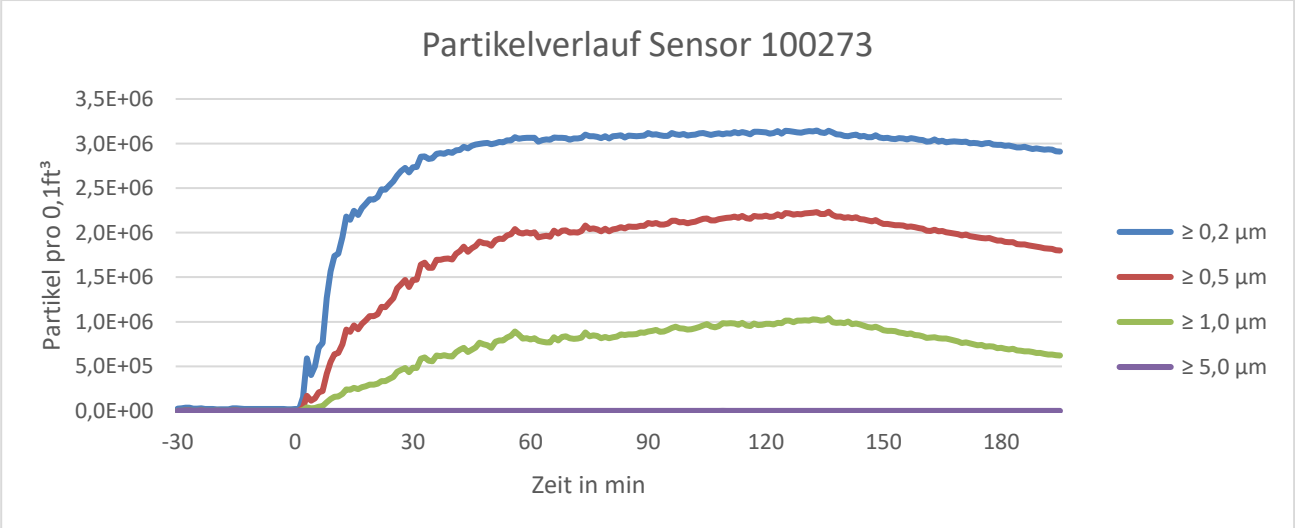
Die ersten 30 Minuten (-30 bis 0) dienen als Einlaufzeit der Sensortechnik und der Reinigung des Raumes mittels Umlufttechnik, damit eine standardisierte Ausgangssituation hergestellt werden kann.

MP A



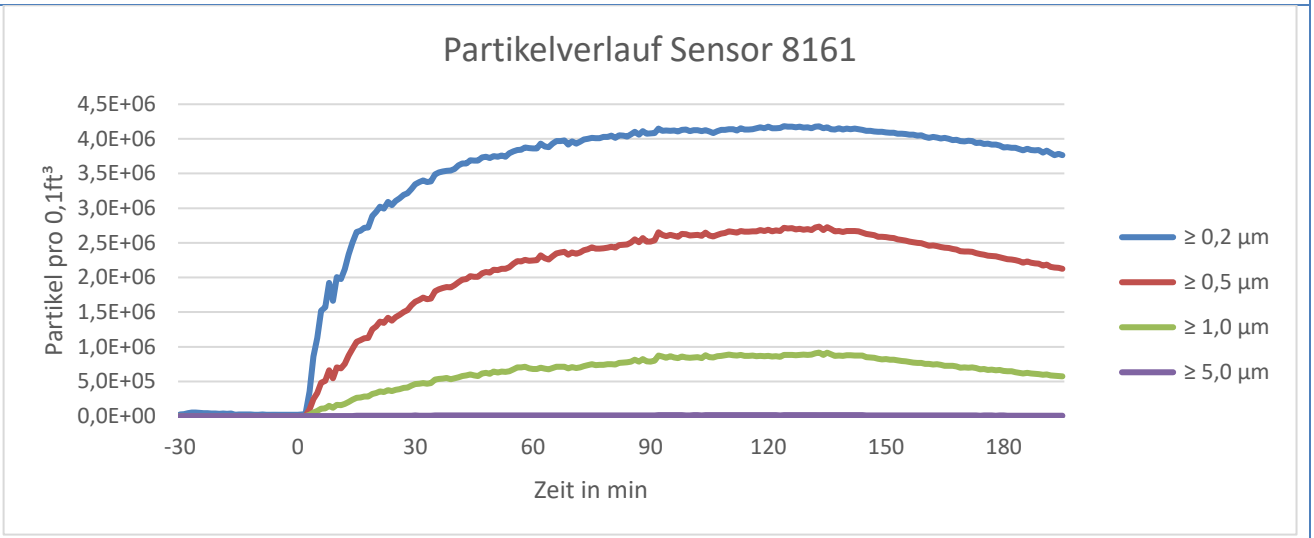
Zeitpunkt der Probenahme	Reduktion Größenbereich ≥ 0,2 µm	Reduktion Größenbereich ≥ 0,5 µm	Reduktion Größenbereich ≥ 1,0 µm
P2	N/A	N/A	N/A
P3	≤ Log-1	≤ Log-1	≤ Log-1

MP B



Zeitpunkt der Probenahme	Reduktion Größenbereich ≥ 0,2 µm	Reduktion Größenbereich ≥ 0,5 µm	Reduktion Größenbereich ≥ 1,0 µm
P2	N/A	N/A	N/A
P3	≤ Log-1	≤ Log-1	≤ Log-1

MP C



Zeitpunkt der Probenahme	Reduktion Größenbereich ≥ 0,2 µm	Reduktion Größenbereich ≥ 0,5 µm	Reduktion Größenbereich ≥ 1,0 µm
P2	N/A	N/A	N/A
P3	≤ Log-1	≤ Log-1	≤ Log-1

Bild 19: Verlauf der Partikelkonzentration an den drei Messstellen im Prüflabor. Bei den Logarithmusangaben handelt es sich um den 10-er Logarithmus.

Während des gesamten Versuchs wurde die Raumtemperatur (rot) und relative Feuchte (blau) gemessen und dokumentiert.

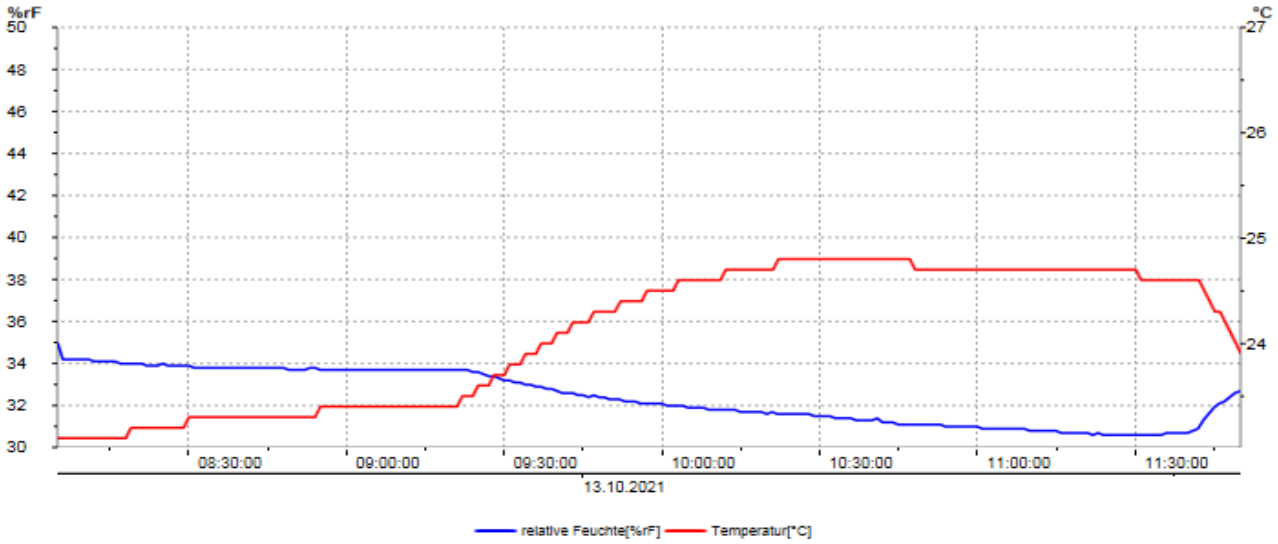


Bild 20: Temperatur- und relative Feuchteverlauf während der Prüfung des Luftreinigers

Nachfolgend ist die durch das Luftreinigungsgerät emittierte Ozonbelastung grafisch dargestellt. Minute -60 bis 0 ergibt die Referenzmessung im Raum hierüber wird der Mittelwert über 1 h ermittelt (4,6 ppb). Nach Einschalten des Luftreinigungsgeräts ergibt sich ein Stundenmittelwert von 4,2 ppb.

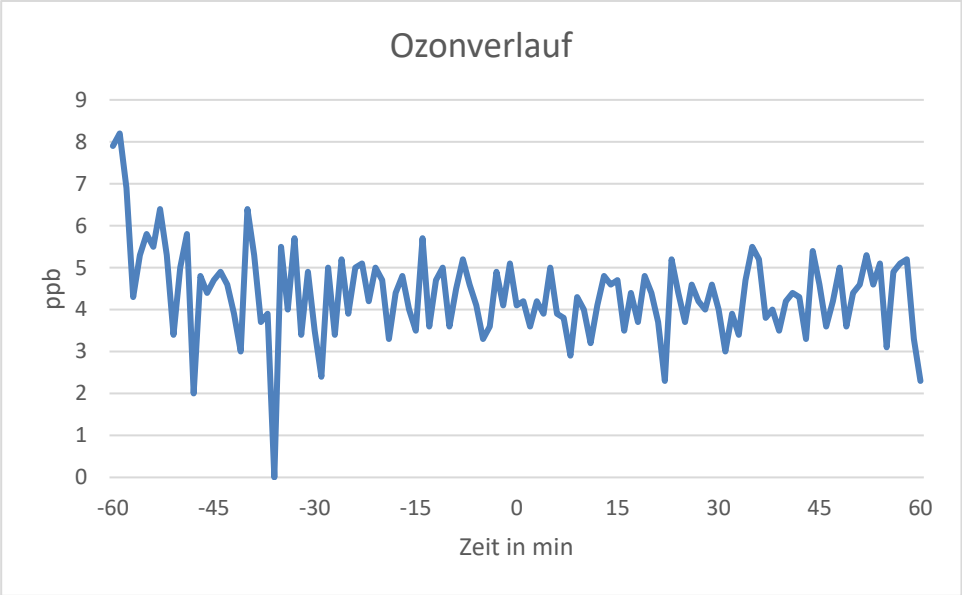


Bild 21: Ozonverlauf

Abschließend wurde das Gerät in einem benachbartem Raum auf unerwünschte Beiprodukte getestet. Die VOC und SVOC Analyse wurde gemäß ISO 16017-1 und die Luftmessung auf Ketone und Aldehyde gemäß ISO 16000-3 durchgeführt.

		VOC	SVOC	or
Zuluft zum Luftreiniger	Konzentration	1,8E-05 g/m3	1,4E-06 g/m3	2,0E-05 g/m3
Abluft vom Luftreiniger	Konzentration	2,3E-05 g/m3	1,4E-06 g/m3	2,5E-05 g/m3

Bild 22: Ergebnisse der VOC und SVOC Analyse

Es konnten folgende Konzentrationen[3] [4] [5] ermittelt werden

Name	Konzentration ng/m³		
	Blindwert Kartusche	Zuluft zum Luftreiniger	Abluft vom Luftreiniger
Formaldehyd	2,6	38	32
Acetaldehyd	0,6	4,1	4,0
Acroleinaldehyd	< LLOQ	< LLOQ	< LLOQ
Aceton	2,1	11	8,7
Propionaldehyd	< LLOQ	< LLOQ	< LLOQ
Crotonaldehyd	< LLOQ	< LLOQ	< LLOQ
Methacroleinaldehyd	< LLOQ	< LLOQ	< LLOQ
2-Butanone	< LLOQ	4,1	3,5
Butyraldehyd	< LLOQ	< LLOQ	< LLOQ
Benzaldehyd	< LLOQ	< LLOQ	< LLOQ
Valeraldehyd	< LLOQ	< LLOQ	< LLOQ
m-Tolualdehyd	< LLOQ	< LLOQ	< LLOQ
Hexaldehyd-2,4	< LLOQ	< LLOQ	< LLOQ

Bild 23: Ergebnisse Luftmessung auf Ketone und Aldehyde

[3] Die Konzentration berechnet sich aus dem analysierten Probenahmevolumen, der detektierten Konzentration und des Responses des externen Standards, welcher bei jedem Analyse-Batch ebenfalls bestimmt wird und dem über die Molmasse ermittelten Umrechnungsfaktor.
[4] Es werden nur Substanzen quantifiziert, deren Identität mittels Referenzsubstanz „Carb Method 1004 DNPH Mix 1, 3µg/ml in Acetonitrile; Product no.: 47650-U Supelco" belegt wird. Der Menge an Acetaldehyd / Aceton, 2-Butanone / Butyraldehyd sind weniger sicher, da diese Substanzen unter den angegebenen chromatographischen Bedingungen nur unzureichend voneinander getrennt eluieren.
[5] Der Blindwert der Kartusche wird zur Vergleichbarkeit als Konzentration ausgedrückt basierend auf dem analysierten Gasvolumen der zugehörigen Probe.

6 Zusammenfassung der Untersuchung

Fraunhofer
IPA

Ergebniszusammenfassung

Hiermit wird bescheinigt, dass

virlight GmbH

Herr Björn Ungerer
Hauptstr. 47
76669 Bad Schönborn

an der Qualifizierung eines mobilen Luftreinigungsgeräts zur Reduzierung der Aerosolkonzentration in geschlossenen Innenräumen teilgenommen hat.
Die Prüfung wurde in Anlehnung an die VDI-EE 4300 Blatt 14 durchgeführt.

Es konnten folgende gemittelte Abreicherungsergebnisse über drei Messpositionen im Raum festgestellt werden:

Partikelreduktion			
	≥ 0,2 µm	≥ 0,5 µm	≥ 1,0 µm
P2	N/A	N/A	N/A
P3	≤ Log-1	≤ Log-1	≤ Log-1

Anmerkungen:
- P2: Reduktion bei kontinuierlicher Aerosolisierung
- P3: Reduktion von Ausgangslevel
- Bei den Logarithmusangaben handelt es sich um den 10-er Logarithmus.

	Bestimmung aktiver Einheiten (plaque-forming units) mit Standardabweichung in pfu/m³	Gemessene Reduktion der Wiederfindung aktiver Viren (reine Messdaten in Relation zu P1)
P1	9,21E+06	
P2	5,25E+05	≤ Log-1
P3	1,64E+06	≤ Log-1
P4	2,15E+05	≤ Log-2

In einer Vorvermessung wurde das Gerät auf kritische Beiprodukte (Ozon, Aldehyde, Ketone, VOC und SVOC) untersucht.
Detaillierte Angaben zur Messmethodik und Auswertung sind dem Prüfbericht (330241-199) zu entnehmen.

Stuttgart. 03.11.2021
Place, current date

on behalf of
Division Director "Intelligent Automation and Clean Manufacturing"
Head of Department "Ultraclean Technology and Micromanufacturing"

on behalf of
Project Manager

7 Literatur

[1] Carvallo, N.A. de, Stachler, E.N., Cimabue, N., Bibby, K. (2017): Evaluation of Phi6 Persistence and Suitability as an Enveloped Virus Surrogate. Environmental Science & Technology 51: 8692-8700.
[2] Prussin, A.J., Schwake, D.O., Lin, K., Gallagher, D.L., Buttling, L., Marr, L.C. (2018): Survival of the Enveloped Virus Phi6 in Droplets as a Function of Relative Humidity, Absolute Humidity, and Temperature. Applied and Environmental Microbiology 84(12).
[3] Whitworth, C., Mu, Y., Houston, H., Martinez-Smith, M., Noble-Wang, J., Coulliette-Salmond, A., Rose, L. (2020): Persistence of bacteriophage Phi 6 on Porous and Nonporous Surfaces and the Potential for Its Use as an Ebola Virus or Coronavirus Surrogate. Applied and Environmental Microbiology 86(17): 111.
[4] Casanova, L.M. & Waka, B. (2013): Survival of a Surrogate Virus on N95 Respirator Material. Infection Control and Hospital Epidemiology 34(12): 13341335.
[5] Turgeon, N., Toulouse, M.-J., Martel, B., Molneau, S., Duchaine, C. (2014): Comparison of Five Bacteriophages as Models for Viral Aerosol Studies. Applied and Environmental Microbiology 80(14): 4242-4250.
[6] DIN ISO 16000-36:2019-07, Innenraumluftverunreinigungen – Teil 36: Prüfkammer-Verfahren zur Bestimmung der Minderungsrate luftgetragener, kultivierbarer Bakterien durch Luftreiniger mit einer Prüfkammer.
[7] DIN ISO 16000-16:2009-12, Innenraumluftverunreinigungen - Teil 16: Nachweis und Zählung von Schimmelpilzen - Probenahme durch Filtration.
[8] DIN ISO 16000-17:2010-06 Innenraumluftverunreinigungen - Teil 17: Nachweis und Zählung von Schimmelpilzen – Kultivierungsverfahren.
[9] Baer, A. & Kehn-Hall, K. (2014): Viral Concentration Determination Through Plaque Assaya: Using Traditional and Novel Overlay Systems. Journal of Visualized Experiments 93: 1-10.
[10] Dulbecco, R. 1952. Production of plaques in monolayer tissue cultures by single particles of an animal virus. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 38:747–752.
[11] Chun-Chieh Tseng, Chih-Shan Li: Inactivation of Virus-Containing Aerosols by Ultraviolet Germicidal Irradiation; Aerosol Science and Technology 39/12 (2005); S. 1136-1142; doi: 10.1080/02786820500428575
[12] Christopher M. Walker, Gwangpyo Ko: Effect of ultraviolet germicidal irradiation on viral aerosols; Environ. Sci. Technol. 41/15 (2007); S. 5460-5; doi: 10.1021/es070056u.
[13] VDI EE 4300 Blatt 14 (2021-09): Messen von Innenraumluftverunreinigungen - Anforderungen an mobile Luftreiniger zur Reduktion der aerosolgebundenen Übertragung von Infektionskrankheiten
[14] Umweltbundesamt, Stellungnahme der Kommission Innenraumlufthygiene (IRK), Einsatz mobiler Luftreiniger als lüftungsunterstützende Maßnahme in Schulen während der SARS-CoV-2 Pandemie (Stand: 16. November 2020)
[15] DIN ISO 16000-6:2012-11 Innenraumluftverunreinigungen – Teil 6: Bestimmung von VOC in der Innenraumluft und in Prüfkammern, Probenahme auf Tenax TA®, thermische Desorption und Gaschromatographie mit MS oder MS-FID.
[16] DIN ISO 16000-3:2013-01 Innenraumluftverunreinigungen – Teil 3: Messen von Formaldehyd und anderen Carbonylverbindungen in der Innenraumluft und in Prüfkammern – Probenahme mit einer Pumpe.
[17] Richtwertempfehlungen des AIR; Stand Oktober 2020 https://www.umweltbundesamt.de/themen/gesundheit/kommissionen-arbeitsgruppen/ausschuss-fuer-innenraumrichtwerte-vormals-ad-hoc#hygienische-leitwerte-fur-die-innenraumluft
[18] 39. BImSchV. Neununddreißigste Verordnung zur Durchführung des Bundes-Immissionsschutzgesetzes (Verordnung über Luftqualitätsstandards und Emissionshöchstmengen. Anlage 7 (zu §9) Zielwerte und langfristige Ziele für Ozon.
[19] ISO 14644-1:2015-12 Cleanrooms and associated controlled environments - Part 1: Classification of air cleanliness by particle concentration