



E. Epple & Co. GmbH
Frau Dr. Claudia Eisermann
Hertzstraße 8
71083 Herrenberg

Ihre Nachricht vom	Ihre Zeichen	Unsere Zeichen	Tel. Durchwahl Bearbeiter	Datum
09.10.2018		4 . 5 / B 6 1 / 2 0 1 8	03672 379-450	06.12.2018

PRÜFBERICHT

1. Allgemeines

Prüfbericht- Nr.:	4 . 5 / B 6 1 / 2 0 1 8	
Auftraggeber:	E. Epple & Co. GmbH, Frau Dr. Claudia Eisermann	
Prüfgegenstand:		interne Labornummer
Probe 1	epple 46-neu	3702
Probenahme:	durch Auftraggeber	
Prüfziel:	„Bestimmung der Einwirkung von Mikroorganismen auf Kunststoffe“; in Anlehnung an DIN EN ISO 846:1997, Verfahren A: Widerstandsfähigkeit gegen Pilze (Wachstumstest) Verfahren C: Widerstandsfähigkeit gegenüber Bakterien	
Eingangsdatum:	16.10.2018	
Bearbeitungszeitraum:	29.10. – 05.12.2018	
Bearbeiter:	Frau C. Reichmann	
Unterauftragnehmer:	keine	
Prüfverfahren:	1) DIN EN ISO 846:1997	
Bemerkung:	keine	
Berichtsausfertigung:	1 Exemplar für Auftraggeber	
	1 Exemplar für OMPG	

Die Prüfungen wurden zwischen dem Eingangsdatum und dem Berichtsdatum durchgeführt. Die Ergebnisse der Messungen und Analysen beziehen sich ausschließlich auf die Prüfgegenstände. Dieser Prüfbericht ist nur mit Unterschrift des Laborleiters oder seines Vertreters rechtsgültig. Er darf nur komplett vervielfältigt werden. Auszugsweise Vervielfältigungen bedürfen der schriftlichen Genehmigung des Labors.



2. Prüfverfahrenbeschreibung

Das Prüfverfahren dient der Beurteilung von Kunststoffmaterialien auf Widerstandsfähigkeit gegen Pilze und Bakterien. Zur Bestimmung der Einwirkung von Mikroorganismen auf die Messproben, werden diese mit Bakterien oder Pilzen auf Nährmedien mit oder ohne Kohlenstoffquelle bebrütet. Die Beurteilung, ob sich das untersuchte Material unter den gegebenen Prüfbedingungen gegenüber Mikroorganismen inert verhält oder ob es Pilzen (Verfahren A) beziehungsweise Bakterien (Verfahren C) als Nährstoffquelle dienen kann, oder ob eine fungistatische Wirksamkeit (Verfahren B) vorliegt, erfolgt visuell auf und neben den Proben.

Verfahren A: Widerstandsfähigkeit gegen Pilze (Wachstumstest)

Material und Testbedingungen:

Proben	NK	Glasobjektträger, Marienfeld
	PK	Cellulosefilter mit 10 % Glycerin, 0,5 % Malzextrakt getränkt
	3702	epple 46-neu
Testorganismus	<i>Aspergillus niger</i> DSM 1957 (ATCC 6275)	
Probenvorbereitung	Desinfektion mit 70 % Ethanol	
Probengröße	ca. 30 mm x 30 mm (unregelmäßig zugeschnitten durch Kunden)	
Kultivierungsbedingungen		
Vorinkubation	auf Hafermehl-Malzextrakt-Agar bei 29 °C	
Sporengewinnung	Mineralsalz-Lösung mit Netzmittel	
Inokulationsmedium	Mineralsalz-Lösung	
Inkubationsmedium	Mineralsalz-Agar	
Kontrollmedium	Mineralsalz-Agar mit Glukose	
Inkubationstemperatur	29 °C	
Inkubationsdauer	4 Wochen	
Sporenzahl im Inokulum	1 · 10 ⁶ KBE/ml (soll: 1 · 10 ⁶ KBE/ml)	

Durchführung:

Vorbereitung

- die Proben wurden 1 Minute in 70 %igen Ethanol getaucht und in Petrischalen (Ø 90 mm) für 4 h bei 45°C getrocknet



Herstellung des Inokulates:

- Kultivierung von *Aspergillus niger* DSM 1957 auf Hafermehl-Malzextrakt-Agar zur bis Sporenbildung bei 29°C
- Gewinnung der Sporen durch Abschwemmen der Sporen mit Mineralsalzlösung mit Netzmittel und Abtrennen von restl. Myzel durch Zentrifugieren
- Einstellung der Sporenzahl von $1 \cdot 10^6$ KBE/ml in Mineralsalzlösung

Inokulation und Bebrütung der Proben:

- Zugabe und Ausplattieren von je 100 µl der Sporensuspension auf Mineralsalz-Agar
- Auflegen der Probekörper auf den abgekühlten Agar
- Ansatz von 5 Parallelproben
- Bebrütung über 4 Wochen bei $29 \pm 1^\circ\text{C}$ und einer relativen Luftfeuchte von 90 %

Kontrollen:

1. Wachstumskontrolle:
 - 100 µl des Inokulates wurden auf Mineralsalz-Agar mit Glukose ausplattiert und für 3-4 Tage bei 29 °C inkubiert
2. Sterilkontrolle
 - Auflegen der Proben auf Mineralsalz-Agar ohne Pilzsporen
 - Ansatz von 5 Parallelproben
 - Bebrütung über 4 Wochen bei $29 \pm 1^\circ\text{C}$ und einer relativen Luftfeuchte von 90 %
3. Lagerung unter Standardklimabedingungen
 - 5 Testproben wurden ohne Nährmedium unter Standardklimabedingungen (23 °C und 50 % rH) gelagert



Verfahren C: Widerstandsfähigkeit gegenüber Bakterien

Material und Testbedingungen:

Proben	NK	Glasobjektträger, Marienfeld
	PK	Cellulosefilter mit 10 % Glycerin, 0,5 % Malzextrakt getränkt
	3702	epple 46-neu
Testorganismus	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> DSM 1253	
Probenvorbereitung	Desinfektion mit 70 % Ethanol	
Probengröße	ca. 30 mm x 30 mm (unregelmäßig zugeschnitten durch Kunden)	
Kultivierungsbedingungen		
Vorinkubation	in Trypton-Soja-Bouillon (TSB, Carl Roth) bei 37 °C und 110 rpm, für 24 h	
Inokulationsmedium	Pufferlösung	
Inkubationsmedium	Mineralsalz-Agar (MSA)	
Inkubationstemperatur	29 °C	
Inkubationsdauer	4 Wochen	
Zellzahl im Inokulum	9,5 · 10 ⁵ KBE/ml (soll: 4 · 10 ⁵ – 2 · 10 ⁶ KBE/ml)	

Durchführung:

Vorbereitung:

- die Proben wurden 1 Minute in 70 %igen Ethanol getaucht und in Petrischalen (Ø 90 mm) für 4 h bei 45 °C getrocknet

Herstellung des Inokulates:

- Kultivierung von *Pseudomonas aeruginosa* DSM 1253 in TSB für 24 h bei 37 °C und 110 rpm
- Einstellung der Zellzahl in steriler Pufferlösung

Inokulation und Bebrütung der Proben:

- Beimpfung des Mineralsalz-Agars, welcher verflüssigt und auf 45 °C abgekühlt wurde, mit dem Inokulum
- Überführung des beimpften Agars in sterile Petrischalen (Ø 90 mm)
- auflegen der Probekörper auf den abgekühlten Agar
- Ansatz von 5 Parallelproben
- übergießen der Prüfkörper mit beimpften Agar bis zur vollständigen Überdeckung der Proben
- Bebrütung über 4 Wochen bei 29 ± 1 °C und einer relativen Luftfeuchte von 90 %



Kontrollen:

1. Wachstumskontrolle:
 - 100 µl des Inokulates wurden auf Plate-Count-Agar für 24-48 h bei 29 °C inkubiert
2. Sterilkontrolle
 - Überführung von Mineralsalz-Agar ohne Bakterium in sterile Petrischalen (Ø 90 mm)
 - Auflegen der Probekörper auf den abgekühlten Agar
 - Ansatz von 5 Parallelproben
 - übergießen der Prüfkörper mit nicht beimpften Agar bis zur vollständigen Überdeckung der Proben
 - Bebrütung über 4 Wochen bei 29 ± 1°C und einer relativen Luftfeuchte von 90 %
3. Lagerung unter Standardklimabedingungen
 - 5 Testproben wurden ohne Nährmedium unter Standardklimabedingungen (23 °C und 50 % rH) gelagert

3. Beurteilungskriterien

Wachstumsintensität	Beurteilung
0	kein Wachstum bei mikroskopischer Betrachtung erkennbar
1	kein Wachstum mit bloßem Auge, aber unter dem Mikroskop klar erkennbar
2	Wachstum mit bloßem Auge erkennbar, bis zu 25 % der Probenoberfläche bewachsen
3	Wachstum mit bloßem Auge erkennbar, bis zu 50 % der Probenoberfläche bewachsen
4	beträchtliches Wachstum, über 50 % der Probenoberfläche bewachsen
5	starkes Wachstum, ganze Probenoberfläche bewachsen

4. Prüfergebnisse

Die Testergebnisse sind in den Tabellen 1 - 2 aufgeführt.

Tabelle 1: Visuelle Bewertung des Wachstums von *A. niger*, Verfahren A

Probe	Inokulierte Probe		Sterilkontrolle		Wachstumsintensität
PK					5
NK					0
3702					0

Tabelle 2: Visuelle Bewertung des Wachstums von *P. aeruginosa*, Verfahren C

Probe	Inokulierte Probe		Sterilkontrolle	Wachstumsintensität
PK		gleichmäßiges Wachstum, große KBEs		steril
NK		gleichmäßiges Wachstum, kleine KBEs		steril
3702		Hemmhof um Rand		steril



OSTTHÜRINGISCHE
MATERIALPRÜFGESELLSCHAFT
für Textil und Kunststoffe mbH
Breitscheidstraße 97
07407 Rudolstadt

Prüfbericht 4 . 5 / B 6 1 / 2 0 1 8 Seite 7 von 7 Seiten

5. Bewertung

Die Probe „epple 46-neu“ (3702) weist keine wachstumsfördernde Wirkung gegenüber *A. niger* DSM 1957 (ISO 846-A) und *P. aeruginosa* DSM 1253 (ISO 846-C), sondern zeigte im Randbereich sogar eine hemmende Wirkung gegen beide Keime.

J. Mantke

Julia Mantke
Stellv. Laborleiterin Biologielabor
Abteilung Kunststoff-Forschung

