

DIN EN ISO 846

ICS 07.100.99; 83.080.01

Einsprüche bis 2018-05-02
Vorgesehen als Ersatz für
DIN EN ISO 846:1997-10

Entwurf

**Kunststoffe –
Bestimmung der Einwirkung von Mikroorganismen auf Kunststoffe
(ISO/DIS 846:2018);
Deutsche und Englische Fassung prEN ISO 846:2018**

Plastics –
Evaluation of the action of microorganisms (ISO/DIS 846:2018);
German and English version prEN ISO 846:2018

Plastiques –
Évaluation de l'action des micro-organismes (ISO/DIS 846:2018);
Version allemande et anglaise prEN ISO 846:2018

Anwendungswarnvermerk

Dieser Norm-Entwurf mit Erscheinungsdatum 2018-03-02 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 fnk@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 den DIN-Normenausschuss Kunststoffe (FNK), 10772 Berlin, Burggrafenstr. 6, 10787 Berlin.

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 70 Seiten

DIN-Normenausschuss Kunststoffe (FNK)

Nationales Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 846:2018) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 61 „Plastics“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 249 „Kunststoffe“ erarbeitet, dessen Sekretariat von NBN (Belgien) gehalten wird.

Das zuständige deutsche Gremium ist der Arbeitsausschuss NA 054-01-04 AA „Verhalten gegen Umwelteinflüsse“ im DIN-Normenausschuss Kunststoffe (FNK).

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.

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

IEC 60068-2-10	siehe	DIN EN 60068-2-10
ISO 13934-1	siehe	DIN EN ISO 13934-1

Änderungen

Gegenüber DIN EN ISO 846:1997-10 wurden folgende Änderungen vorgenommen:

- a) normative Verweisungen aktualisiert;
- b) Abschnitt 5 „Geräte und Prüfmittel“ überarbeitet;
- c) im Unterabschnitt 5.3.2 „Nährmedien und Lösungen“ Aufnahme des Mediums „Caseinpepton-Sojamehlpepton-Agar“ und Streichung von „Hirn-Herz-Agar“, „Hirn-Herz-Bouillon“ und „Mineralsalz-Agar“;
- d) Tabelle 4 „Bewertung des Pilzwachstums auf Proben und auf Negativkontrollproben (Probenbleche aus nichtrostendem Stahl) bei Prüfung mit Verfahren A und, sofern notwendig, auf Positivkontrollproben bei Prüfung mit Verfahren B“ in Abschnitt 9 „Bewertung“ aktualisiert;
- e) Tabelle 5 „Interpretation der Ergebnisse“ in Abschnitt 11 „Genauigkeit der Messungen“ gestrichen;
- f) neue Anhänge B „Negativkontrollproben für die Prüfung mit Verfahren A“ und C „Gitternetz für die Bewertung des Pilzwachstums auf Oberflächen (Prüfung mit Verfahren A)“ eingefügt; die früheren Anhänge B („Präzision“) und C („Prüfpilze“) werden zu Anhang D bzw. Anhang E;
- g) Norm redaktionell überarbeitet.

Nationaler Anhang NA (informativ)

Literaturhinweise

DIN EN 60068-2-10, *Umgebungseinflüsse — Teil 2-10: Prüfverfahren — Prüfung J und Leitfaden: Schimmelwachstum*

DIN EN ISO 13934-1, *Textilien — Zugeigenschaften von textilen Flächengebilden — Teil 1: Bestimmung der Höchstzugkraft und Höchstzugkraft-Dehnung mit dem Streifen-Zugversuch*

— Leerseite —

Kunststoffe — Bestimmung der Einwirkung von Mikroorganismen auf Kunststoffe (ISO/DIS 846:2018)

Plastiques — Évaluation de l'action des micro-organismes (ISO/DIS 846:2018)

Plastics — Evaluation of the action of microorganisms (ISO/DIS 846:2018)

ICS:

Deskriptoren:

Dokument-Typ: Europäische Norm
Dokument-Untertyp:
Dokumentstufe: parallele Umfrage
Dokumentsprache: D

STD Version 2.9d

Inhalt

	Seite
Europäisches Vorwort	4
Vorwort	5
Einleitung	7
1 Anwendungsbereich	8
2 Normative Verweisungen	8
3 Begriffe	9
4 Kurzbeschreibung	9
4.1.1 Widerstandsfähigkeit gegenüber Pilzen	10
4.1.2 Verfahren C: Widerstandsfähigkeit gegenüber Bakterien	10
4.1.3 Verfahren D: Widerstandsfähigkeit gegenüber Einwirkung mikrobiell aktiver Erde (Erdeingrabeversuch)	10
4.2 Auswahl der Eigenschaften zur Ermittlung eines biologischen Angriffs	11
5 Geräte und Prüfmittel	11
5.1 Für alle Prüfungen	11
5.2 Prüfungen mit Pilzen	12
5.2.1 Prüfpilze	12
5.2.2 Stammkulturen	12
5.2.3 Lösungen und Nährböden	13
5.3 Prüfungen mit Bakterien	13
5.4 Prüfungen mit Erde	14
6 Proben	14
6.1 Probenform und Maße	14
6.2 Prüfgruppen von Proben und Anzahl der Proben in jeder Prüfgruppe	15
6.2.1 Prüfgruppen von Proben	15
6.2.2 Anzahl der Proben in jeder Prüfgruppe	15
7 Probenvorbereitung	16
7.1 Reinigung	16
7.2 Beschriftung und Lagerung	16
7.3 Konditionierung und Wägung	16
8 Versuchsdurchführung	16
8.1 Prüftemperatur	16
8.2 Prüfverfahren	16
8.2.1 Prüfung mit Pilzen nach Verfahren A (Wachstums-Test)	17
8.2.2 Prüfung mit Pilzen nach Verfahren B (fungistatische Wirksamkeit)	19
8.2.3 Prüfung mit Bakterien nach Verfahren C	19
8.2.4 Eingrabeversuche nach Verfahren D	21
9 Bewertung	22
9.1 Bewertung des Pilzwachstums auf den Proben durch visuelle Beurteilung (Verfahren A, B und D)	22
9.2 Beurteilung der Proben für die Bestimmung der Masseänderung und/oder weiterer physikalischer Eigenschaften	24
9.2.1 Reinigung	24
9.2.2 Änderung der Masse	24

9.2.3	Änderung anderer physikalischer Eigenschaften	24
10	Auswertung.....	24
10.1	Visuelle Beurteilung.....	24
10.2	Änderung der Masse.....	25
10.3	Änderung anderer physikalischer Eigenschaften	25
11	Genauigkeit der Messungen	25
12	Prüfbericht.....	26
Anhang A (normativ) Bestimmung des Wassergehalts und des Wasserhaltevermögens einer Erde.....		27
Anhang B (normativ) Negativkontrollproben für die Prüfung mit Verfahren A.....		29
Anhang C (normativ) Gitternetz für die Bewertung des Pilzwachstums auf Oberflächen (Prüfung mit Verfahren A)		30
Anhang D (informativ) Präzision.....		32
Anhang E (informativ) Prüfpilze.....		33
Literaturhinweise.....		34

Europäisches Vorwort

Dieses Dokument (prEN ISO 846:2018) wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 61 „Plastics“ in Zusammenarbeit mit dem Technischen Komitee CEN/TC 249 „Kunststoffe“ erarbeitet, dessen Sekretariat von NBN gehalten wird.

Dieses Dokument ist derzeit zur parallelen Umfrage vorgelegt.

Dieses Dokument wird EN ISO 846:1997 ersetzen.

Anerkennungsnotiz

Der Text von ISO/DIS 846:2018 wurde von CEN als prEN ISO 846:2018 ohne irgendeine Abänderung genehmigt.

Vorwort

ISO (die Internationale Organisation für Normung) ist eine weltweite Vereinigung nationaler Normungsorganisationen (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 Themen 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-Direktiven, 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-Direktiven, Teil 2 erarbeitet (siehe www.iso.org/directives).

Es wird auf die Möglichkeit hingewiesen, dass einige Elemente dieses Dokuments Patentrechte berühren können. ISO ist nicht dafür verantwortlich, einige oder alle diesbezüglichen Patentrechte zu identifizieren. Details zu allen während der Entwicklung des Dokuments identifizierten Patentrechten finden sich in der Einleitung und/oder in der ISO-Liste der erhaltenen Patenterklärungen (siehe www.iso.org/patents).

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

Eine Erläuterung zum freiwilligen Charakter von Normen, der Bedeutung ISO-spezifischer Begriffe und Ausdrücke in Bezug auf Konformitätsbewertungen sowie Informationen darüber, wie ISO die Grundsätze der Welthandelsorganisation (WTO) hinsichtlich technischer Handelshemmnisse (TBT) berücksichtigt, enthält der folgende Link: www.iso.org/iso/foreword.html.

Dieses Dokument wurde vom Technischen Komitee ISO/TC 61, *Plastics*, Unterkomitee SC 6, *Ageing, chemical and environmental resistance* erarbeitet.

Diese dritte Ausgabe ersetzt die zweite Ausgabe (ISO 846:1997), die technisch überarbeitet wurde.

Die wesentlichen Änderungen im Vergleich zur Vorgängerausgabe sind folgende:

Alle Prüfverfahren:

Die Größe der Proben ist mit $(50 \pm 1) \text{ mm} \times (50 \pm 1) \text{ mm}$ festgelegt. Eine festgelegte Größe ermöglicht die Bestimmung jeglicher Kanteneffekte in einem Bereich von 5 mm zur Außenkante (siehe neuen Anhang E). Auf diese Weise wird die Bewertung des Wachstums auf den Proben harmonisiert.

Der informative Anhang E „Prüfpilze“ wurde aktualisiert.

Nur Prüfung nach Verfahren A:

- Probenbleche aus nichtrostendem Stahl, die als Negativkontrollproben dienen, wurden aufgenommen. Deren Zweck ist es, bei Pilzbewuchs in der Petrischale einen Bezugswert zu liefern, auch wenn dem Prüfaufbau keine Nährstoffe hinzugefügt wurden. Ein neuer informativer Anhang D wurde erstellt.

- Für die Feuchte wird im Prüfaufbau kein Agar-Nährboden mehr genutzt, um eine relative Luftfeuchte von $\geq 95\%$ erreichen zu können. Stattdessen werden die Proben in verschlossenen Behältern aufbewahrt, die einen Wasserspeicher enthalten, um während der Bebrütung eine relative Luftfeuchte von $\geq 95\%$ um die Proben herum sicherzustellen.
- Es wurde ein Gitternetz aufgenommen, das bei der Bewertung der Bewuchsfläche, die an der Oberfläche der Proben erkennbar ist, verwendet wird. Die Verwendung des Gitternetzes bei der Bewertung des Bewuchses auf den Proben wurde auf einer Sitzung der Plastics working group der International Biodeterioration Research Group (IBRG) am 26. April 2017 in Berlin auf Grundlage eines Ringversuchs, der mit 15 Teilnehmern durchgeführt wurde, als positiv bewertet. Die Verwendung des Gitternetzes ist eine objektive Möglichkeit zur Bewertung des Bewuchses und wird in einem neuen normativen Anhang E erläutert.

Nur Prüfung nach Verfahren B:

- Positivkontrollproben (Proben, die den Pilzbewuchs zulassen) wurden aufgenommen, um die Bestimmung der grundlegenden fungistatischen Wirkung von biozidhaltigen Proben zu ermöglichen.
- Die Prüfung nach Verfahren B' wurde gestrichen.

Des Weiteren

- wurde das Pilz-Inokulum überarbeitet, um den anderen Prüfnormen, auf die Bezug genommen wird, zu entsprechen, und die Namen von Pilzstämmen wurden geändert;
- wurden die in der Prüfung verwendeten Kulturen basierend auf den Erfahrungswerten der verschiedenen Laboratorien überarbeitet;
- wurde ein Anfärbeverfahren für die Durchführung einer Bewertung vorgeschlagen.

Die Überarbeitung von Tabelle 4 wird erwartet, um der Bewertungsstufe 1 mehr Klarheit zu verleihen.

Zum jetzigen Zeitpunkt wurden die Prüfungen nach Verfahren C und Verfahren D noch nicht wesentlich überarbeitet, was jedoch zu einem späteren Zeitpunkt noch erfolgen wird.

Die Änderungen an den Verfahren gehen auf die Diskussionen zurück, die zwischen den Laboratorien, die die Prüfungen mindestens 5 Jahre durchgeführt haben, geführt wurden. Auf internationaler Ebene wurden solche Diskussionen in der Plastic Group der International Biodeterioration Research Group (IBRG) zwischen den Experten geführt, die über ausgiebige Erfahrungen sowohl hinsichtlich der Anwendung von ISO 846 als auch hinsichtlich der Prüfung der Wechselwirkung zwischen Mikroorganismen und Kunststoffen verfügen.

Einleitung

Unter bestimmten Klima- und Umgebungsbedingungen können sich auf der Oberfläche von Kunststoffen oder Kunststoffserzeugnissen Mikroorganismen ansiedeln und ausbreiten. Ihre Anwesenheit und/oder ihre Stoffwechselprodukte können nicht nur den Kunststoff selber schädigen, sondern auch die Funktion der Bauteile und -gruppen beeinflussen, die Kunststoffe enthalten.

Die in dieser Internationalen Norm angegebenen Prüfungen und Prüfungsbedingungen sind empirisch zusammengestellt und decken die meisten Anwendungsfälle ab. Alle Möglichkeiten können sie nicht umfassen.

Für bestimmte Anwendungsfälle und ausgesprochene Langzeitversuche sollten daher praxisbezogene Prüfbedingungen zwischen den interessierten Stellen vereinbart werden.

Kunststoffe können von Mikroorganismen durch 2 Vorgänge beeinflusst werden:

- a) direkt: Abbau des Kunststoffes, indem dieser selbst Nahrung für Mikroorganismen darstellt, beziehungsweise liefert;
- b) indirekt: Einwirkung von Stoffwechselprodukten von Mikroorganismen, die z. B. Verfärbung oder weitergehende Schädigung hervorrufen.

Die in dieser Internationalen Norm beschriebenen Prüfungen umfassen beide Vorgänge sowie gegebenenfalls die kombinierte Wirkung beider Vorgänge.

WARNUNG — Der Umgang mit Mikroorganismen, die ein Gefährdungspotential besitzen, setzt die Kenntnis und Einhaltung einer Vielzahl von Gesetzen und Verordnungen voraus. Nur mikrobiologisch ausgebildetes Personal sollte die Versuche durchführen. Die Sicherheitsbestimmungen für Desinfektion, Sterilisation und Gesundheitsschutz sind streng zu beachten.

Es wird empfohlen, IEC 60068-2-10 und ISO 7218 zu beachten.

1 Anwendungsbereich

Die in dieser Norm beschriebenen Prüfungen dienen zur Beurteilung des Verhaltens von Kunststoffen gegen Einwirkung bestimmter Pilze und Bakterien sowie der in Erde vorhandenen Mikroorganismen. Sie dient nicht der Bestimmung der biologischen Abbaubarkeit von Kunststoffen.

Die Art und das Ausmaß der Einwirkung können bestimmt werden:

a) durch eine visuelle Beurteilung,

und/oder

b) Änderung der Masse,

und/oder

c) Bestimmung der Änderung anderer physikalischer Eigenschaften.

Diese Prüfungen können auf alle Kunststoffe angewendet werden, die eine allseits geschlossene Oberfläche haben und sich gut reinigen lassen. Ausgeschlossen sind daher poröse Materialien, wie z. B. Schaumstoffe.

Diese Internationale Norm verwendet die gleichen Prüfpilze wie IEC 60068-2-10. Das IEC-Verfahren, bei dem so genannte "zusammengesetzte Proben" verwendet werden, benutzt Sporensuspensionen eines Prüfpilzgemisches und bewertet den auftretenden Pilzbewuchs ebenso wie mögliche physikalische Eigenschaftsänderungen.

Art und Umfang der vorzunehmenden Prüfungen sowie die zu verwendenden Teststämme hängen von dem vorgesehenen Verwendungszweck der Kunststoffe ab. Sie sollten deshalb vorher vereinbart und zusammen mit den Prüfergebnissen angegeben werden.

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).

EN 10088-1, *Nichtrostende Stähle — Teil 1: Verzeichnis der nichtrostenden Stähle*

EN 10088-2, *Nichtrostende Stähle — Teil 2: Technische Lieferbedingungen für Blech und Band aus korrosionsbeständigen Stählen für allgemeine Verwendung*

EN 13697:2015, *Chemische Desinfektionsmittel und Antiseptika — Quantitativer Oberflächen-Versuch nicht poröser Oberflächen zur Bestimmung der bakteriziden und/oder fungiziden Wirkung chemischer Desinfektionsmittel in den Bereichen Lebensmittel, Industrie, Haushalt und öffentliche Einrichtungen — Prüfverfahren und Anforderungen ohne mechanische Behandlung (Phase 2, Stufe 2)*

IEC 60068-2-10, *Environmental testing — Part 2-10: Tests — Test J and guidance: Mould growth*

ISO 13934-1:2013, *Textiles — Tensile properties of fabrics — Part 1: Determination of maximum force and elongation at maximum force using the strip method*

ISO 22196, *Measurement of antibacterial activity on plastics and other non-porous surfaces*

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:

- IEC Electropedia: unter <http://www.electropedia.org/>
- ISO Online Browsing Platform: unter <http://www.iso.org/obp>

3.1

Biodeterioration

unerwünschte Änderung der Materialeigenschaften, z. B. Farbe, Festigkeit, Masse, durch den Einfluss von Mikroorganismen

3.2

fungistatischer Effekt

antimykotischer Effekt einer antimikrobiellen Ausrüstung, die das Material unter feuchten Bedingungen vor einem Überwachsen durch Pilze schützt

3.3

Biodegradation

erwünschte Änderung der Materialeigenschaften, die zum „vollständigen aeroben Bioabbau“ führt, der als die Zerlegung einer organischen Verbindung durch Mikroorganismen in Gegenwart von Sauerstoff, Wasser und Mineralsalzen anderer vorhandener Elemente (Mineralisierung) in Kohlendioxid und neue Biomasse definiert ist

4 Kurzbeschreibung

4.1 Zur Prüfung werden die Kunststoffproben der Einwirkung von bestimmten Teststämmen von Pilzen und Bakterien (oder, beim Erdeingrabeversuch, mikrobiell aktiver Erde) über festgelegte oder vereinbarte Zeitspannen und unter bestimmten Klimabedingungen ausgesetzt.

Nach Ende der Einwirkung werden die Proben vor und/oder nach der Reinigung beurteilt. Das kann visuell und/oder durch die Bestimmung der Änderung ihrer Masse oder anderer physikalischer Eigenschaften geschehen.

Diese Ergebnisse der mit Mikroorganismen belasteten Proben (Prüfgruppe I) werden mit Proben verglichen, die unter den gleichen Bedingungen zurückgehalten (Prüfgruppe 0) oder unter den gleichen Bedingungen steril (Prüfgruppe S) gelagert wurden.

Bei der Prüfung von fungistatischen Eigenschaften erfolgt eine visuelle Beurteilung zwischen biozidfreien Proben und biozidhaltigen Proben, um den Einfluss eines Biozids qualitativ darzustellen.

4.2 Kurzbeschreibung der Prüfverfahren zur Bestimmung der Widerstandsfähigkeit von Kunststoffen gegenüber Pilzen (Verfahren A) oder des fungistatischen Effekts (Verfahren B), Widerstandsfähigkeit gegenüber Bakterien (Verfahren C) oder Bodenmikroorganismen (Verfahren D).

4.1.1 Widerstandsfähigkeit gegenüber Pilzen

4.1.1.1 Verfahren A: Pilz-Wachstumstest

Die Proben werden bei einer relativen Luftfeuchte von $\geq 95\%$ einer Sporensuspension der Prüfpilze ausgesetzt. Nachdem die begrenzte Menge an Nährstoffen von der Spore selbst durch Keimschlauchbildung aufgebraucht worden ist, kann der Pilz nur zu Lasten des Probenmaterials wachsen. Enthält der Kunststoff keine für die Pilze verwertbaren Bestandteile, dann können die Pilze kein Myzel entwickeln und es findet kein Angriff statt.

Verfahren A ist geeignet, die prinzipielle Resistenz von Kunststoffen gegen Pilzbefall bei Abwesenheit organischer Verunreinigungen zu beurteilen.

4.1.1.2 Verfahren B: Bestimmung der fungistatischen Wirksamkeit

Die Kunststoffproben werden auf einem vollständigen Nährboden, d. h. mit Kohlenstoffquelle, einer Sporensuspension der Prüfpilze ausgesetzt. Selbst wenn die Kunststoffe keinen Nährstoff enthalten, können die Pilze die Proben überwachsen und durch ihre Stoffwechselprodukte die Proben angreifen, indem sie den Nährboden verstoffwechseln.

Eine Wachstumshemmung auf der Probe oder auf dem Nährboden (Hemmzone) zeigt eine fungistatische Aktivität oder eine fungizide Ausrüstung des Kunststoffes an.

Um die Grundwirkung eines Biozids in einem Kunststoff qualitativ aufzuzeigen, sind biozidfreie Proben in die Prüfung einzuschließen. Nur wenn diese biozidfreien Proben einen stärkeren Bewuchs zeigen als die biozidhaltigen Proben, kann eine qualitative Aussage über die fungistatische oder fungizide Wirksamkeit getroffen werden.

4.1.2 Verfahren C: Widerstandsfähigkeit gegenüber Bakterien

Hierzu prüft man deren Einwirkung auf die Kunststoffproben in einem unvollständigen Nährmedium (ohne eine Kohlenstoffquelle¹⁾). Tritt im Nährboden in unmittelbarer Nähe der Probe kein Wachstum auf, so enthält diese keine Nährstoffe für Bakterien.

ANMERKUNG Falls ein zu prüfendes Material einen erweiterten Funktionsumfang aufweist, wie z. B. ein Produkt mit Hygienewirkung, sollte der Kunststoff nach ISO 22196 geprüft werden. Dieses Dokument enthält einen Leitfaden für die Messung der grundlegenden antibakteriellen Aktivität auf porenfreien (Kunststoff-)Materialien, die mit einem Biozid behandelt wurden, um dem Material antibakterielle/hygienische Eigenschaften zu verleihen.

4.1.3 Verfahren D: Widerstandsfähigkeit gegenüber Einwirkung mikrobiell aktiver Erde (Erdeingrabeversuch)

Die Kunststoffproben werden ganz in vorbereitete Naturerde von bekanntem Wasserhaltevermögen und eingestellter Feuchtigkeit eingegraben (siehe Anhang A).

Da viele Kunststoffe während des Gebrauchs im direkten Erdkontakt stehen und hohen Feuchten ausgesetzt sind, wurde der Erdeingrabeversuch als praxisbezogenes Verfahren in diese Internationale Norm mit aufgenommen.

1) Der als Nährboden verwendete Agar muss sehr kohlenstoffarm sein.

4.2 Auswahl der Eigenschaften zur Ermittlung eines biologischen Angriffs

Die Wahl der zu bestimmenden Eigenschaften hängt vom Ziel der Prüfung ab. Die visuelle Beurteilung eines biologischen Angriffs muss stets der erste Schritt bei der Ermittlung der Widerstandsfähigkeit von Kunststoffen sein.

Es empfiehlt sich, solche Eigenschaften zu bestimmen, die auf eine Änderung der Oberfläche bevorzugt ansprechen, wie z. B. Oberflächenglanz, Biegeversuch, Schlagbiegeversuch oder die Härteprüfung.

5 Geräte und Prüfmittel

5.1 Für alle Prüfungen

5.1.1 Brutschränke, einstellbar auf $(29 \pm 1)^\circ\text{C}$ bei einer relativen Luftfeuchte von $\geq 95\%$.

5.1.2 Wärmeschrank, einstellbar auf 45°C zum Trocknen der Proben und für den Bereich 103°C bis 105°C zur Bestimmung des Wasseraufnahmevermögens der Prüferde.

5.1.3 Klimakammer zum Bereitstellen von Normklimabedingungen (23°C und 50% relative Feuchte) zur Konditionierung der Prüf- und Kontrollproben.

5.1.4 Dampfsterilisator zur Sterilisierung von Glasbehältern oder Petrischalen aus Glas und Erde bei einer Temperatur von 120°C und einem Druck von 2 bar.

5.1.5 Analysenwaage mit einer Fehlergrenze von 0,1 mg.

5.1.6 Laborzentrifuge.

5.1.7 Stereomikroskop, 50-fache Vergrößerung.

5.1.8 Glas- oder Kunststoff-Einweg-Petrischalen mit belüfteten Deckeln in geeigneter Größe zum Einlegen der Proben.

5.1.9 Glasbehälter mit Deckel mit einem Volumen von mindestens 1 l (Höhe etwa 16 cm, Durchmesser etwa 11 cm), mit ausreichend Platz, um einen Wasserspeicher unterhalb der Petrischalen einzurichten.

5.1.10 Destilliertes Wasser oder Ionenaustauscher-Wasser.

Das für Lösungen und Nährmedien sowie für die Prüfungen verwendete Wasser muss destilliertes Wasser oder Ionenaustauscher-Wasser mit einer Leitfähigkeit von $< 1\ \mu\text{S}/\text{cm}$ sein.

5.1.11 Mikrobizide Lösung, ist ein Ethanol-Wasser-Gemisch mit einem Massenverhältnis 70 : 30.

5.1.12 Probenbleche aus nichtrostendem Stahl (Verfahren A).

Hierbei muss es sich um Scheiben (mit einem Durchmesser von 2 cm) aus nichtrostendem Stahl der Sorte 1.4301 (EN 10088-1) mit einer Oberflächenausführung der Klasse 2 B auf beiden Seiten in Übereinstimmung mit den Anforderungen von EN 10088-2 handeln. Die Oberfläche muss so eben wie möglich sein und der nichtrostende Stahl sollte eine Dicke von 1,2 mm oder 1,5 mm besitzen.

ANMERKUNG Geeignete Scheiben aus nichtrostendem Stahl können in der Regel von vor Ort ansässigen Ingenieurbüros bezogen werden.

5.1.13 Büchnertrichter mit einem Sinterfilter.

5.1.14 Gitternetz (5 mm × 5 mm), aufgetragen auf einen durchsichtigen Trägerstoff (z. B. Glas oder Kunststoff) zur Bewertung der Pilzausbreitung auf der Probenoberfläche.

5.2 Prüfungen mit Pilzen

5.2.1 Prüfpilze

Die Prüfpilze sind von anerkannten nationalen Kulturensammlungen zu beziehen. Die zu verwendenden Stämme sind der Tabelle 1 zu entnehmen und im Prüfbericht anzugeben. Alternative Kulturensammlungen und Stammnummern der gleichen Pilzstämmen sind im Anhang C aufgelistet.

Tabelle 1

Name	Stamm
<i>Aspergillus niger</i>	ATCC 6275
<i>Penicillium pinophilum</i>	ATCC 36839
<i>Paecilomyces variotii</i>	ATCC 18502
<i>Trichoderma virens</i>	ATCC 9645
<i>Chaetomium globosum</i>	ATCC 6205

Aus technischen Gründen und nach Vereinbarung zwischen den Parteien können zusätzlich andere Pilze verwendet werden. Diese sind im Prüfbericht anzugeben.

Bei Prüfungen von Kunststoffen für elektronische Bauteile und Ausrüstungen nach dem in IEC 60068-2-10 festgelegten Verfahren werden *Aspergillus niger*, *Penicillium pinophilum*, *Paecilomyces variotii* und *Trichoderma virens* aus Tabelle 1 und die drei Stämme aus Tabelle 2 benutzt.

Tabelle 2

Name	Stamm
<i>Aspergillus terreus</i>	ATCC 10690
<i>Hormoconis resinae</i>	DSM 1203
<i>Scopulariopsis brevicaulis</i>	ATCC 36840

5.2.2 Stammkulturen

Die Prüfpilze (5.2.1) werden in Reagenzgläsern auf Schrägagar oder in Petrischalen mit Malzextrakt-Agar folgender Zusammensetzung gezüchtet:

Malzextrakt	30 g
Agar	20 g
Wasser	1 000 ml

Die Sterilisierung des Nährbodens erfolgt für 20 min im Dampfsterilisator bei $(120 \pm 1) ^\circ\text{C}$ mit gesättigtem Wasserdampf.

Nach Züchtung bei $(29 \pm 1)^\circ\text{C}$ können gut sporulierende Kulturen verwendet werden. Ihre Lagerdauer bei dieser Temperatur sollte jedoch 4 Wochen nicht überschreiten.

Wegen der Gefahr einer genetischen Veränderung und daraus resultierenden Veränderungen der physiologischen Aktivität der Prüfpilze müssen die Überimpfintervalle durch geeignete Maßnahmen (z. B. Gefrierkulturen, Lagerung bei $+4^\circ\text{C}$ oder in flüssigem Stickstoff oder auf Cryo-Beads bei -70°C) auf ein Minimum reduziert werden.

5.2.3 Lösungen und Nährböden

5.2.3.1 Stamm-Mineralsalzlösung mit folgender Zusammensetzung (es sind Chemikalien der Reinheitsstufe „zur Analyse“ oder einer gleichwertigen Reinheit zu benutzen):

NaNO_3	2,0 g
KH_2PO_4	0,7 g
K_2HPO_4	0,3 g
KCl	0,5 g
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,5 g
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,01 g
H_2O	1 000 ml

Einstellen des pH-Wertes auf 6,0 bis 6,5 durch eine sterile 0,01 mol/l NaOH-Lösung.

5.2.3.2 Mineralsalzlösung mit Netzmittelzusatz. Zu 1 Liter der Stamm-Mineralsalzlösung (siehe 5.2.3.1) werden 0,1 g eines nicht toxischen Netzmittels, wie z. B. *N*-Methyltaurin oder Polyglycoether, zugegeben und im Dampfsterilisator bei $(120 \pm 1)^\circ\text{C}$ 20 min sterilisiert.

5.2.3.3 Glucose-Mineralsalzmedium. Zur Stamm-Mineralsalzlösung (siehe 5.2.3.1) wird so viel Glucose gegeben, dass man eine Zuckerkonzentration von (30 ± 1) g/l erhält, und sterilisiert im Dampfsterilisator bei $(115 \pm 1)^\circ\text{C}$ für 30 min.

5.2.3.4 Unvollständiger Agar-Nährboden. Zu der Stamm-Mineralsalzlösung (siehe 5.2.3.1) wird so viel Agar hinzugefügt, dass man eine Agar-Konzentration von 20 g/l erhält. Die Mischung wird zum Lösen des Agars unter Rühren gekocht und im Dampfsterilisator bei $(120 \pm 1)^\circ\text{C}$ für 20 min sterilisiert. Einstellen des pH-Wertes auf 6,0 bis 6,5 nach der Sterilisation mit einer sterilen 0,01 mol/l NaOH-Lösung.

5.2.3.5 Vollständiger Agar-Nährboden. Man verwendet den unvollständigen Agar-Nährboden (siehe 5.2.3.4) und fügt so viel Glucose hinzu, dass man eine Zuckerkonzentration von (30 ± 1) g/l erhält. Die Sterilisierung im Dampfsterilisator erfolgt bei $(115 \pm 1)^\circ\text{C}$ für 30 min. Einstellen des pH-Wertes auf 6,0 bis 6,5 nach der Sterilisation mit einer sterilen 0,01 mol/l NaOH-Lösung.

5.3 Prüfungen mit Bakterien

5.3.1 Testbakterium *Pseudomonas aeruginosa*, Stamm NCTC 8060 oder ATCC 13388.

Ein definierter Stamm des Prüfbakteriums muss aus einer anerkannten nationalen Stammsammlung für Mikroorganismen bezogen werden. Werden weitere Prüfbakterien zwischen den Parteien vereinbart, so sind diese im Prüfbericht anzugeben.

5.3.2 Nährmedien und Lösungen.

5.3.2.1 Caseinpepton-Sojamehlpepton-Agar.

Die Herstellung der handelsüblichen Medien muss nach Angaben der Hersteller erfolgen.

5.3.2.2 Sterile Pufferlösung, pH-Wert 7,0 bei 20 °C.

Die folgenden zwei Lösungen werden getrennt hergestellt:

KH_2PO_4 9,1 g/l (Lösung A)

Na_2HPO_4 11,9 g/l (Lösung B)

Es werden 600 ml Lösung A mit 400 ml Lösung B gemischt und im Dampfsterilisator bei $(120 \pm 1)^\circ\text{C}$ für 20 min sterilisiert. Der pH-Wert wird mittels einer 0,01 mol/l NaOH-Lösung auf 7,0 bei 20 °C eingestellt.

5.4 Prüfungen mit Erde

Es wird eine aktivierte Erde mit einem Feuchtegehalt von $(60 \pm 5) \%$ ihres Wasserhaltevermögens (siehe Anhang A) benutzt.

Das Wasserhaltevermögen ist der Wassergehalt einer mit Wasser gesättigten Erde.

Der pH-Wert des wässrigen Auszugs (1 g Erde in 20 g Wasser) muss zwischen 4,0 und 7,0 liegen.

Der Feuchtegehalt und das Wasserhaltevermögen der Erde werden, wie im Anhang A beschrieben, bestimmt. Ist der Wassergehalt der Prüferde zu hoch, trocknet man diese in dünner Schicht im Laborklima. Man darf sie dazu nicht erwärmen oder austrocknen lassen, da dies die Mikroflora beeinträchtigen kann. Muss der Wassergehalt erhöht werden, so verwendet man dazu eine wässrige Lösung von 1 g Ammoniumnitrat und 0,2 g Dikaliumhydrogenphosphat je Liter Lösung.

6 Proben

6.1 Probenform und Maße

Die Probenform und die Probenmaße hängen von den anschließenden Prüfungen nach Exposition mit Pilzen, Bakterien oder Erde ab.

Soll die Änderung der Probendicke ermittelt werden, so werden die Proben in Erzeugnisdicke aus der Platte entnommen. Soll das Verhalten der Formmasse ermittelt werden, so werden höchstens 0,5 mm dicke Proben empfohlen.

Zur Bestimmung der Masseänderung werden quadratische Proben von $(50 \pm 1) \text{ mm} \times (50 \pm 1) \text{ mm}$ Seitenlänge und höchstens 2 mm Dicke verwendet. Als Dicke werden 0,5 mm bis 2 mm empfohlen.

Die Einwirkung der Mikroorganismen ist eine Oberflächenreaktion. Es dürfen deshalb nur die Ergebnisse von Proben mit gleichen Abmessungen miteinander verglichen werden.

6.2 Prüfgruppen von Proben und Anzahl der Proben in jeder Prüfgruppe

6.2.1 Prüfgruppen von Proben

Für jede Probe und für jedes Prüfverfahren werden drei Prüfgruppen von Proben hergestellt:

- **Prüfgruppe 0:** Klimakontrollproben, werden bei Normklimabedingungen gelagert;
mindestens 2 Proben
- **Prüfgruppe S:** sterile Proben, die unter den gleichen Bedingungen wie Prüfgruppe I gelagert werden;
mindestens 2 Proben
- **Prüfgruppe I:** Proben mit Mikroorganismen beimpft und bebrütet;
- mindestens 5 Proben jeder Teilgruppe a und/oder b (siehe Tabelle 3) entsprechend dem Prüfziel).

Teilgruppe a (ohne Biozid) und Teilgruppe b (mit Biozid):

Enthalten die Proben Biozide und die Prüfung soll die biozide Wirksamkeit einer aktiven Substanz aufzeigen, die zum Schutz des Materials vor Biodeterioration dient, dann sind für Prüfgruppe I zwei Probensätze zu prüfen: einer ohne ein Biozid (Teilgruppe a) und einer mit dem Biozid (Teilgruppe b). Daher sind insgesamt 10 Proben zu beimpfen. Im Idealfall sollten diese Proben identisch sein, bis auf ihren Biozidgehalt. Dieser Prüfaufbau würde den Nachweis der grundlegenden Konservierungswirkung für eine aktive Substanz ermöglichen.

Teilgruppe c (nur bei Prüfung nach Verfahren A): Probenbleche aus nichtrostendem Stahl als Negativkontrollproben

mindestens 3 Proben

Diese Kontrollproben bestehen aus korrosionsbeständigem nichtrostendem Stahl, der keinen Nährboden für die Pilze liefert. Sie werden auf die gleiche Weise beimpft, bebrütet und beurteilt (Tabelle 4) wie die Proben der Prüfgruppe I. Sollte auf diesen inerten Oberflächen ein Bewuchs stattfinden, ist dies ein Hinweis darauf, dass mit dem Inokulum ungewollt Nährstoffe auf die Oberfläche der Kontrollprobe gelangt sind. Jeglicher Bewuchs auf diesen Negativkontrollproben muss in Übereinstimmung mit Tabelle 4 angegeben werden; außerdem muss angegeben werden, ob der Bewuchs stärker oder schwächer als der Bewuchs der anderen beimpften Proben der Prüfgruppe I ausfällt.

6.2.2 Anzahl der Proben in jeder Prüfgruppe

Für die visuelle Beurteilung werden insgesamt mindestens 11 Proben je Kunststoffprobe und Prüfverfahren hergestellt. Außerdem werden bei Prüfung nach Verfahren A der vorliegenden Norm drei Negativkontrollproben (Probenbleche aus nichtrostendem Stahl) hergestellt. Bei Prüfung der bioziden Wirksamkeit nach Verfahren B werden fünf Proben ohne Biozid als Positivkontrollproben hergestellt. Diese Probenbleche müssen nach EN 13697 gereinigt werden.

ANMERKUNG Mit dem in EN 13697 beschriebenen Reinigungsverfahren wird sichergestellt, dass keine fettigen Produktionsrückstände auf den Probenblechen vorhanden sind.

Für die Bestimmung der Masseänderung werden mindestens sechs Proben je Prüfgruppe, d. h. insgesamt mindestens 18 Proben je Material und Prüfverfahren hergestellt.

Für andere Bewertungsverfahren ist die Anzahl der benötigten Proben den entsprechenden Prüfnormen zu entnehmen.

Die Prüfungen sind getrennt durchzuführen.

Jedoch können die Proben für die Bestimmung der Änderung der Masse oder der physikalischen Eigenschaften auch zur visuellen Beurteilung verwendet werden.

7 Probenvorbereitung

7.1 Reinigung

Die Proben für die Prüfung nach Verfahren A und C werden, falls sie von Ethanol nicht angegriffen werden, für 1 min in ein Ethanol-Wasser-Gemisch (5.1.11.1) getaucht und 4 h bei 45 °C oder alternativ 72 h bei Raumtemperatur unter sterilen Bedingungen getrocknet. Anderenfalls sind die Proben in sterilen Behältern zu lagern. Um Verunreinigungen durch organische Substanzen zu vermeiden, dürfen die Proben anschließend nur noch mit Pinzetten angefasst werden.

Die Metallbleche, die im Verfahren A als Negativkontrollproben eingesetzt werden, müssen nach EN 13697, 5.2.3, gereinigt werden (siehe normativen Anhang D).

Proben für die Prüfungen nach Verfahren B oder D sind nicht zu reinigen.

7.2 Beschriftung und Lagerung

Die gereinigten und beschrifteten (bzw. markierten) Proben werden bis zu ihrer Verwendung in Petrischalen (5.1.8) bei Umgebungstemperatur gelagert.

Bei einzelnen Kunststoff-Rezepturen besteht die Möglichkeit, dass es durch Beschriften/Markieren der Proben zu unerwünschten Oberflächenreaktionen während des Versuches kommt. In diesen Fällen werden die Proben einzeln in geeigneten Behältern (z. B. Petrischalen) gelagert; es werden die Petrischalen und nicht die Proben markiert, um unerwünschte Oberflächenreaktionen zu vermeiden. In allen anderen Fällen können die Proben direkt beschriftet werden, wenn geeignete Schreiber verwendet werden.

7.3 Konditionierung und Wägung

Die Prüfgruppen von Proben für die Bestimmung der Masseänderung werden bei Umgebungstemperatur im Exsikkator (5.1.3) bis zur Massenkonstanz (üblicherweise 48 h) gelagert, auf 0,1 mg gewogen und die Masse jeder Probe (m_1 , m_2 , m_3 usw.) protokolliert. Die Proben für die visuelle Beurteilung und/oder für die physikalischen Prüfungen (außer Masseänderung) brauchen in diesem Stadium, falls nicht anders vereinbart, nicht konditioniert zu werden.

Zwischen den Prüfparteien kann auch vereinbart werden, die Proben in einem Exsikkator (5.1.3) bei 45 °C zu trocknen, über Silicagel auf Raumtemperatur abzukühlen und bis zur Massenkonstanz bei (20 ± 1) °C und (65 ± 3) % relativer Feuchte zu lagern. Wird diese Prozedur angewendet, so ist sie im Prüfbericht zu vermerken.

8 Versuchsdurchführung

8.1 Prüftemperatur

Die Proben werden bei Raumtemperatur vorbereitet und beurteilt und bei (29 ± 1) °C bebrütet.

8.2 Prüfverfahren

Eine Übersicht über die beschriebenen Verfahren zeigt Tabelle 3. Die Wahl des Prüfverfahrens und die zu messenden Eigenschaften hängen vom Material und dessen vorgesehenen Einsatzbedingungen ab.

Tabelle 3 — Übersicht der Prüfverfahren

	Prüfungen mit Pilzen				Prüfungen mit Bakterien		Prüfungen mit Erde	
Verfahren	A		B		C		D	
Unterabschnitt	8.2.1		8.2.2		8.2.3		8.2.4	
Benutzte Nährböden	Keine		Vollständiger Agar-Nährboden (5.2.3.5)		Mineralsalz-Agar (5.3.2.3) beimpft, wie unter 8.2.3.5 beschrieben		Erde (siehe 5.4)	
Prüfgruppe	I	S	I	S	I	S	I	S
Teilgruppe	a ^a , c ^b		a ^a , b ^c					
Sprühlösung ^c	Sp-S	Ms-S	Sp-S	Ms-S	Keine	Ms-S	Keine	Ms-S
Bebrütungsbedingungen	29 °C ± 1 °C							
	4 Wochen oder mehr				≥ 95 % relative Luftfeuchte ^d			
Sp-S = Sporensuspension; Ms-S = mikrobizide Lösung								
ANMERKUNG In dieser Tabelle weist „I“ auf beimpfte Proben hin, „S“ weist auf sterile Proben hin.								
^a	Proben (mit oder ohne Biozid).							
^b	Negativkontrollproben (hier: Probenblech aus nichtrostendem Stahl).							
^c	Proben ohne Biozid (idealerweise sollten diese Proben mit a ^a identisch sein, aber ohne Biozid).							
^d	Bei Verfahren A wird diese Feuchte mit einer Feuchtekammer erreicht und bei Verfahren B und C wird diese Feuchte über den Agar-Nährboden erreicht. Bei Methode D wird diese relative Luftfeuchte erreicht, wenn die Feuchte der Erde und die Temperatur der Norm entsprechen und der Glasbehälter über einen Deckel verfügt. Die relative Luftfeuchte wird mit einem kalibrierten Datenaufzeichnungsgerät im Prüfaufbau bestätigt.							

8.2.1 Prüfung mit Pilzen nach Verfahren A (Wachstums-Test)

8.2.1.1 Anordnung der Proben in der Feuchtekammer

8.2.1.1.1 Vorbereitung der Feuchtekammer

Eine Feuchtekammer muss so vorbereitet werden, dass die Proben bei einer relativen Luftfeuchte von ≥ 95 % bebrütet werden können.

ANMERKUNG Dieser Feuchtegehalt kann erzeugt werden, indem die Petrischalen, in denen die Proben enthalten sind, über einem Wasserspeicher gelagert werden, z. B. indem sie in einem verschlossenen Behälter auf ein Gitternetz aus nichtrostendem Stahl über dem Wasser gestellt werden.

8.2.1.1.2 Einbringen der Proben in die Feuchtekammer

Die Proben werden einzeln und so flach wie möglich auf den Boden der Petrischalen gelegt, wobei ein Kontakt der Proben untereinander und mit dem Rand der Petrischalen vermieden wird. Die Petrischale wird mit einem belüfteten Deckel verschlossen, damit die feuchte Luft in die Petrischale gelangen kann.

Anschließend werden die Petrischalen willkürlich in so viele Gruppen aufgeteilt, wie für die Durchführung der Prüfung erforderlich ist.

Ist zu vermuten, dass sich die Proben vom Boden der Petrischale abheben werden, so sind sie am Rand (die äußeren 5 mm) mit neutralen Gewichten (z. B. aus Glas oder nichtrostendem Stahl) zu beschweren, um sie so flach wie möglich zu halten.