



ADVISAN Dr. Missel GmbH, Tiefe Trift 6, 30916 Isernhagen

MSS GmbH – Mineral Supply Service
Herr Oleg Molochnikov
Marie-Jahn-Str. 18

D-30177 Hannover

TIEFE TRIFT 6
D-30916 ISERNHAGEN / HANNOVER
TEL: +49 5139 / 959 9259
FAX: +49 5139 / 982 4506
WWW.ADVISAN.NET
INFO@ADVISAN.NET

Isernhagen, 15.03.2019

Mikrobiologische Austestung von 4 Anstrichprodukten / Prüfbericht Nr. Mp0319_MSS01

1. Prüfverfahren und Prüfgegenstände

Mit unterschiedlichen Anstrichprodukten beschichtete bzw. gestrichene Gipskartenteile mit Flächen von 50 x 50 mm wurden in Kulturmedien für Schimmelpilze (Agar) eingegossen und nach einer Beimpfung mit Sporensuspension und anschließender 15-tägiger Bebrütung auf Beständigkeit gegen einen Schimmelpilzbewuchs untersucht. Folgende Anstrich-Varianten wurden anhand von jeweils sechs Wiederholungen getestet:

Lfd. Nr.	Variante	Ausführung
Nr. 1	Schimmelhemmende Mineralfarbe	2 Anstriche, gemäß Herstellervorgabe
Nr. 2	MINECO Antischimmel Farbe	2 Anstriche, gemäß Herstellervorgabe
Nr. 3	Kalziumsilikatfarbe (Baumarkt)	2 Anstriche, gemäß Herstellervorgabe
Nr. 4	Standard Innenwandfarbe (Baumarkt)	2 Anstriche, gemäß Herstellervorgabe

2. Material und Methoden

Als Testorganismus wurde der Schimmelpilz *Penicillium chrysogenum* benutzt. Die mit Abstand schnellsten Biomassezuwächse auf Zelluloseuntergründen (Raufasertapeten, GK) im Laborversuch werden mit *P. chrysogenum* erreicht. *P. chrysogenum* gilt gemeinhin als „Bauteil-befallstypischer“ Schimmelpilz, da er bei einem Schimmelbefall im Innenraum sehr häufig anzutreffen ist. Im Regelfall dominiert dieser Pilz das Schimmelpilzspektrum auf feucht gewordenen Tapeten und GK in Wohnungen. Es handelt es sich - neben *Aspergillus versicolor* - um die an die Bedingungen in Innenräumen wahrscheinlich am besten angepasste Schimmelpilz-Spezies und einen sehr starken „Sporulierer“, d.h. die Entwicklung verläuft auf geeigneten Untergründen und bei ausreichend hoher Feuchtigkeit exponentiell.

Als Teststamm von *P. chrysogenum* wurde ein Eigenisolat von der Tapete aus einer verschimmelten Wohnung verwendet, das bei der Deutschen Sammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen hinterlegt und unter der Nummer DSM 23825 in die öffentliche Sammlung aufgenommen wurde.

Für die Herstellung der Sporensuspension zur Beimpfung der Prüfkörper wurde eine 7 Tage alte Reinkultur von *P. chrysogenum* auf Malzextrakt-Agar benutzt, die mit NaCl-Lösung (0,9%, mit 0,01% Netzmittel Tween 80) gespült wurde. 10 ml der Spüllösung wurden auf die Kultur gegeben, diese anschließend mehrfach geschwenkt und die Sporensuspension



wieder abgesaugt. Der Vorgang wurde einige Male mit frischer Lösung wiederholt. Die erhaltene Suspension wurde zur Abtrennung von größeren Myzelfragmenten und Zellstücken vorfiltriert (Porendurchmesser 30 µm) anschließend auf höchster Stufe gevortext und verdünnt, so dass eine Sporenkonzentration in der gebrauchsfertigen Suspension von $5,0 \times 10^6$ Sporen/ml resultierte.

In Laborversuchen der ADVISAN GmbH wie diesen wird standardmäßig Gipskarton als Testproduktträger und Versuchsbaustoff verwendet, da auf der Papierschicht sehr hohe Wachstumsraten von Schimmelpilzen erzielt werden können. Als Träger für die hier zu testenden Antischimmelprodukte kam imprägnierter Gipskarton (GK grün) zum Einsatz. Die Auswahl fiel auf diesen nicht saugenden Träger, da diese Teile nach dem Füllen der Kulturschalen bis zum Aushärten des Agars kein Nährmedium aufnehmen. Mit Kulturmedien vollgesogene Träger können optimal bioverfügbare Organik direkt an den Anstrich heranführen und dadurch auch bei rein mineralischen Produkten einen sehr schnellen Bewuchs zur Folge haben, wodurch das „wahre“ Beständigkeitsvermögen des Anstrichs gegen Schimmelpilze erheblich unterschätzt werden kann.

Der Zellulosebelag der imprägnierten Gipskartonplatten fällt nach den Ergebnissen eigener Prüfungen einem Schimmelpilzbefall ebenso schnell anheim, wie bei Standard-Gipskarton (grau). Bei Versuchsansätzen, wie dem vorliegenden, kann an unbehandelten, d.h. nicht gestrichenem GK etwa 3 bis 4 Tage nach dem Beimpfen mit Schimmelpilzsporen von *P. chrysogenum* mit einem vollflächigen und bereits mit bloßem Auge erkennbaren Myzelbewuchs gerechnet werden.

Die mit verschiedenen Schimmelschutzanstrichprodukten behandelten Gipskartonteile wurden mittig in Kunststoff-Petrischalen platziert und in Sabouraud-Glucose-Agar (Thermo Fisher Scientific) eingegossen. Die Petrischalen wurden so weit mit Nährmedium gefüllt, dass die Probenstücke bis knapp unterhalb der Oberkante vollständig eingeschlossen waren (ca. 35 ml Medium). Sofort nach Aushärtung des Agars wurden jeweils etwa 1,0 ml Sporenlösung mit einer Sprühvorrichtung möglichst gleichmäßig auf dem Nährmedium und der Prüfkörperoberfläche verteilt. Die mittlere Sporeninokulationsdichte auf den Prüfkörper- und Nährmedium-Oberflächen lag bei dem Versuchsansatz in der Größenordnung von etwa $1,0 \times 10^5$ Sporen/cm².

Die beimpften Prüfobjekte wurden bei $25 \pm 1^\circ\text{C}$ für 15 Tage bebrütet. Nach dieser Zeit waren die Kulturmedien bereits deutlich geschrumpft und zeigten erste Rissbildungen. Aufgrund einer Erschöpfung der Nährstoffe und einer Austrocknung der Proben sind nach einer 2- bis 3-wöchigen Bebrütung im Regelfall keine relevanten Biomassezuwächse mehr festzustellen.

3. Grundlegendes zur Auswertung

Nach Erreichen der maximalen Bebrütungszeit von hier 15 Tagen wurden die Bewuchsdichten und -flächen pilzlicher Biomasse auf den Prüfkörpern makroskopisch anhand eines deskriptiven / halbquantitativen Bewertungsschemas in einer Rangskala (0-5 Punkte) ermittelt. Prüfkörper bzw. Varianten, die bereits vor Ablauf der 15 Tage vollflächig und intensiv (d.h. maximal möglich) bewachsen waren, wurden ausgewertet und nicht weiter bebrütet.

In der Praxis der Schimmelprävention mit Anstrichen ist immer wieder eine mehr oder weniger schnell nachlassende antimikrobielle Wirksamkeit von im Labor als „gut wirksam“ ausgetesteten Produkten festzustellen. In vielen Fällen ist dabei eine Abhängigkeit der Geschwindigkeit des Verlustes der Beständigkeit eines Produktes gegen Pilzbewuchs von der Höhe der Feuchtigkeitslast auf der mit dem betreffenden Produkt ausgerüsteten Oberfläche gegeben. Der Verlust der Wirksamkeit kann dann u.a. mit Auswaschungen / dem Ausdiffundieren mobiler Wirkkomponenten in das Umgebungsmilieu erklärt werden.



Beständigkeitsprüfungen unter Verwendung mikrobiologischer Kulturmedien (Platteneingießverfahren) simulieren eine Teilflächensanierung, d.h. eine mikrobiell hoch aktive Bewuchsstelle grenzt unmittelbar an eine schimmelpilzbehandelte Fläche an. Derartige Bedingungen können nicht als fachgerecht und „sanierungspraxiskonform“ bezeichnet werden. Bei Eingießversuchen handelt es sich um eine schnelle und relativ einfache Methode, die idealerweise auf vergleichende Untersuchungen an verschiedenen Produkten bzw. Produktvarianten ausgerichtet wird.

Der hier gewählte Versuchsansatz stellt eine Kurzzeitbeprobung dar, anhand derer Aussagen über die erwartbare Langzeit-Beständigkeit in der Praxis (z.B. Beständigkeit an problematischen Wärmebrücken über mehrere Kaltperioden hinweg) nicht oder nur sehr eingeschränkt zu treffen sind. Bei der Bewertung der Prüfbefunde insbesondere rein mineralischer Produkte ist auch zu beachten, dass wichtige Produkteigenschaften für eine Schimmelprävention, wenn diese auf einer besonders schnellen Feuchtigkeitsabgabe von der Anstrichoberfläche an die Luft basieren, völlig eliminiert sein können. Bei dem Eingieß-Versuchsansatz befinden sich die Prüfkörper in einer dauerhaft luftfeuchtigkeitsgesättigten Atmosphäre.

Im Vordergrund bei der Versuchskonzeption der vorliegenden Expertise mit (laut Herstellerangaben) rein mineralischen Produkten bzw. Produkten ohne Fungizid-Zusätze steht ein Vergleich der verschiedenen Farben und Beschichtungen untereinander.

Bei Eingießversuchen zur Prüfung antimikrobieller Produkte können häufig so genannte „Hemmhöfe“ um die Prüfkörper herum beobachtet werden. Hofbildungen an Prüfkörperändern entstehen dadurch, dass antimikrobielle Wirkstoffe oder andere Bestandteile der Testprodukte aus den Prüfkörpern in das umgebende Nährmedium (Agar) diffundieren und dadurch die Koloniebildung der Animpfbiomasse gehemmt wird (die Höfe werden in aller Regel relativ schnell wieder von peripheren Pilzmyzelien überwachsen). In der Praxis ist mit einer umso kürzeren „Wirkzeit“ eines Anstrichprodukts zu rechnen, je stärker die Wirkstoffabgabe in das Umgebungsmilieu ausgeprägt ist und je größer die Hofbildung ausfällt. Das Ausmaß des Ausdiffundierens von Wirkstoffen und anderen Komponenten (z.B. Ionen) in das Umgebungsmilieu lässt im vergleichenden Versuch somit Aussagen über die erwartete relative Zeitwirkung des betreffenden Produktes zu. Eine starke Hofbildung wird als negative Produkteigenschaft erachtet.

Als **Beurteilungspunkte** für den Gesamt-Score eines Ansatzes wurden daher nicht nur die Bewuchsdichten und –flächen der jeweils sechs Wiederholungen einbezogen, sondern auch ggf. feststellbare Hofbildungen in den ersten Tagen nach Beginn der Austestung.

Die folgende Bewertungsskala wurde bei der Auswertung der mikrobiologischen Proben gleich gewichtet für beide Auswertungsaspekte (Bewuchs + Hof) angewendet:

Rang	Score	Bewuchs / Hof
1	0 Punkte	fehlt vollständig / nur punktueller Bewuchs
2	1 Punkt	den Prüfkörper peripher als schmaler Saum umlaufend
3	2 Punkte	wie vor, aber stellenweise deutlich ausufernd
4	3 Punkte	Prüfkörper peripher bewachsen, zentral Kolonie-frei / Hemmhof deutlich ausgeprägt und umlaufend
5	4 Punkte	großflächig spärlich bewachsen (≥ 75%) / Koloniezahlen auf Agar großflächig reduziert
6	5 Punkte	großflächig intensiv bewachsen (≥ 75%) / Agar großflächig koloniefrei



Als **3. Beurteilungspunkt** zur Produktbeständigkeit geht die Versuchsdauer bis zum Erreichen eines großflächigen Bewuchses auf den Prüfkörperoberflächen (Rang 5 und 6 der vorgenannten Skala) in den Gesamt-Score ein. Die zeitliche Bewertung basiert auf der Erfahrung, dass nicht mit einer Antischimmelfarbe, sondern konventionell mit Dispersionsfarbe gestrichener Gipskarton bei dem hier zur Austestung gewählten Verfahren innerhalb von 3 bis 4 Tagen vollständig von einem dichten Schimmelpilzrasen überzogen ist. Flächiger Bewuchs bereits nach kurzer Versuchsdauer geht mit mehr Punkten in den Gesamt-Score ein, als später aufkommender Bewuchs, der als positive Eigenschaft im Sinne einer Beständigkeit gegen Schimmelpilzbefall in der Praxis gewertet und mit weniger Punkten belegt wird.

Die Bewertungsskala für den zeitlichen Verlauf ist wie folgt:

Rang	Score	flächiger Bewuchs (≥ 75% d. Fläche)
1	0 Punkte	nicht vorhanden bis Versuchsende
2	1 Punkt	flächiger Bewuchs zwischen 12. u. 15. Tag nach Inokulation
3	2 Punkte	flächiger Bewuchs zwischen 9. u. 12. Tag nach Inokulation
4	3 Punkte	flächiger Bewuchs zwischen 6. u. 9. Tag nach Inokulation
5	4 Punkte	flächiger Bewuchs zwischen 3. u. 6. Tag nach Inokulation
6	5 Punkte	flächiger Bewuchs bereits 3 Tage nach Inokulation

4. Testergebnisse im Einzelnen

Die makroskopische Kontrolle ergibt nach 4 Tagen (Auswertung Hofbildung) und 15 Tagen (Auswertung Bewuchs) die folgenden Punktzahlen:

A) Auswertung Hofbildung nach 4 Tagen

Ansatz	lfd. Nr.1	lfd. Nr.2	lfd. Nr.3	lfd. Nr.4
A	0	0	0	0
B	0	0	0	0
C	0	0	0	0
D	0	0	0	0
E	0	0	0	0
F	0	0	0	0
Σ	0	0	0	0



B) Auswertung Bewuchs nach 15 Tagen

Ansatz	lfd. Nr.1	lfd. Nr.2	lfd. Nr.3	lfd. Nr.4
A	5	0	5	4
B	5	0	5	4
C	5	0	5	4
D	5	0	5	4
E	5	0	5	4
F	5	0	5	4
Σ	30	0	30	24

C) Flächiger Bewuchs und Versuchsdauer

Ansatz	lfd. Nr.1	lfd. Nr.2	lfd. Nr.3	lfd. Nr.4
A	5	0	4	2
B	5	0	4	2
C	5	0	4	1
D	5	0	4	2
E	5	0	4	1
F	5	0	4	2
Σ	30	0	24	10

Aus den Ergebnissen der Auswertung „Hof“ und „Bewuchs“ ergibt sich der folgende Gesamt-Score:

D) Ermittlung des Gesamt-Score aus A) - C)

	lfd. Nr.1	lfd. Nr.2	lfd. Nr.3	lfd. Nr.4
Score	60	0	54	34
Rang im Vergleich	4	1	3	2



5. Schlussfolgerungen

Eine Hofbildung war bei keinem der vier getesteten Produkte feststellbar. Aufgrund der völlig fehlenden Hofbildung dürften alle vier getesteten Produkte keine wasserlöslichen fungiziden Komponenten enthalten haben. Insofern kann von einer Vergleichbarkeit der getesteten Produkte, die alle mit „Fungizid-frei“ und „ohne Kunststoffe“ beworben werden, ausgegangen werden.

Die gemäß Herstellerangaben **schimmelhemmende Mineralfarbe** hat gegenüber nicht gestrichenem Gipskarton keine erhöhte oder zumindest keine wesentlich erhöhte Beständigkeit aufzubieten. Dieses Produkt liegt in Sachen Beständigkeit an letzter Stelle. Geht man davon aus, dass nicht gestrichener Gipskarton bei den gewählten Prüfbedingungen nach drei bis vier Tagen nahezu vollflächig mit einem dichten Pilzrasen überzogen ist, kann von einer „Beständigkeit“ gegen Schimmelpilzbefall bei diesem Produkt sozusagen nicht mehr gesprochen werden. Ob der Anstrich selbst von Schimmelpilzen bewachsen wird oder nur die Zellulose des Gipskartons nicht ausreichend gegen Pilze abgeschirmt werden kann, so dass Pilzhyphen eindringen und darauffolgend Myzelien auswachsen können, kann anhand der Bewuchsverläufe und -ausprägungen bei diesem Produkt nicht beurteilt werden.

Die **Kalziumsilikatfarbe** schnitt bei der vorliegenden Testung nur unwesentlich besser ab als die schimmelhemmende Mineralfarbe. Ein großflächiger und intensiver Schimmelpilzbewuchs konnte bei diesem Produkt bereits nach 6-tägiger Versuchsdauer beobachtet werden. Auch bei diesem Produkt kann nicht beurteilt werden, ob der Anstrich selbst von Schimmelpilzen bewachsen oder nur die Zellulose des Gipskartons nicht ausreichend gegen Pilze abgeschirmt wird.

Eine deutlich ausgeprägtere Beständigkeit gegen einen Pilzbefall ist bei der **konventionellen Wandfarbe** gegeben. Erst nach etwa 8 Tagen konnte Wachstum einzelner kleinerer Kolonien auf den Prüfkörperoberflächen beobachtet werden, die sich bis zu einer Versuchsdauer von 15 Tagen allerdings nahezu über die gesamten Prüfkörperflächen ausbreiteten. Die Bewuchsverläufe und -ausprägungen mit ihren fleckigen Koloniebildungen bei diesem Produkt werden so interpretiert, dass der Anstrich die für einen Schimmelpilzbewuchs sehr anfällige Zelloseschicht des Gipskartons effektiv vor dem Einwachsen von Myzelzellen schützt, der Anstrich selbst mit der Zeit aber oberflächlich von Pilzmyzelien bewachsen werden kann.

Eine gegenüber den vorgenannten drei Produkten wesentlich längere Beständigkeit ist bei der **MINECO Antischimmel Farbe** belegt. Diese Variante zeichnet sich durch einen nur sehr peripheren, punktuellen Bewuchs nach 15 Tagen aus. Dieser periphere Bewuchs ist bei Eingießversuchen fast immer festzustellen, da der Prüfkörperperrand bei der Herstellung der Eingießproben unvermeidbar mit Flüssigkulturmedium verunreinigt wird.

Isernhagen, 15.03.2019



Dr. Thomas Missel



ANHANG 1

Bildnachweis

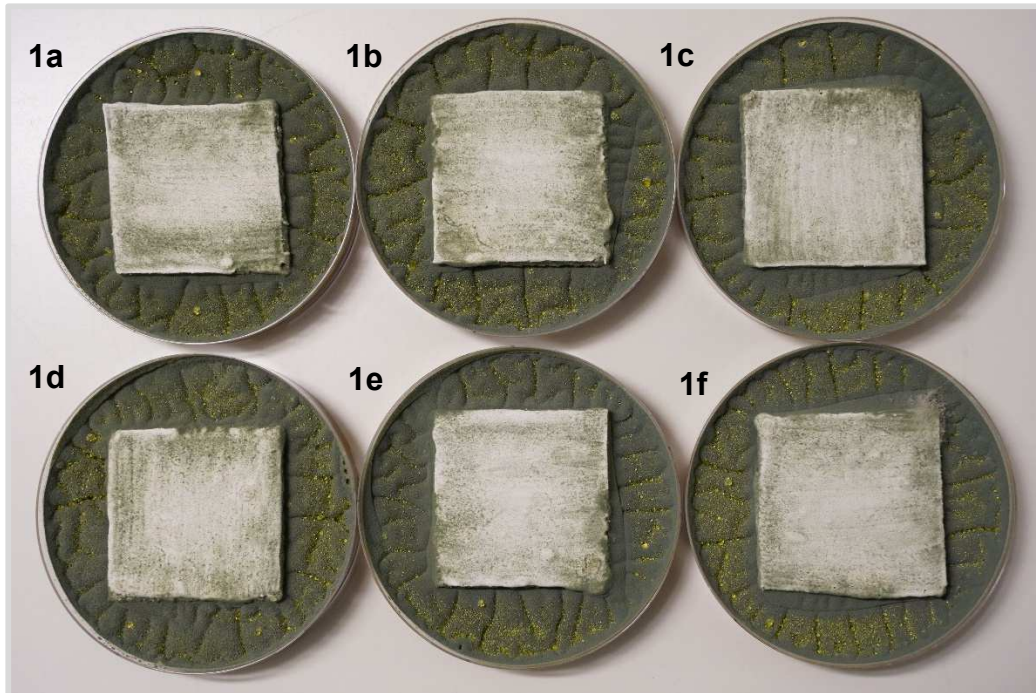


Bild 1: Variante 1 nach 5 Versuchstagen

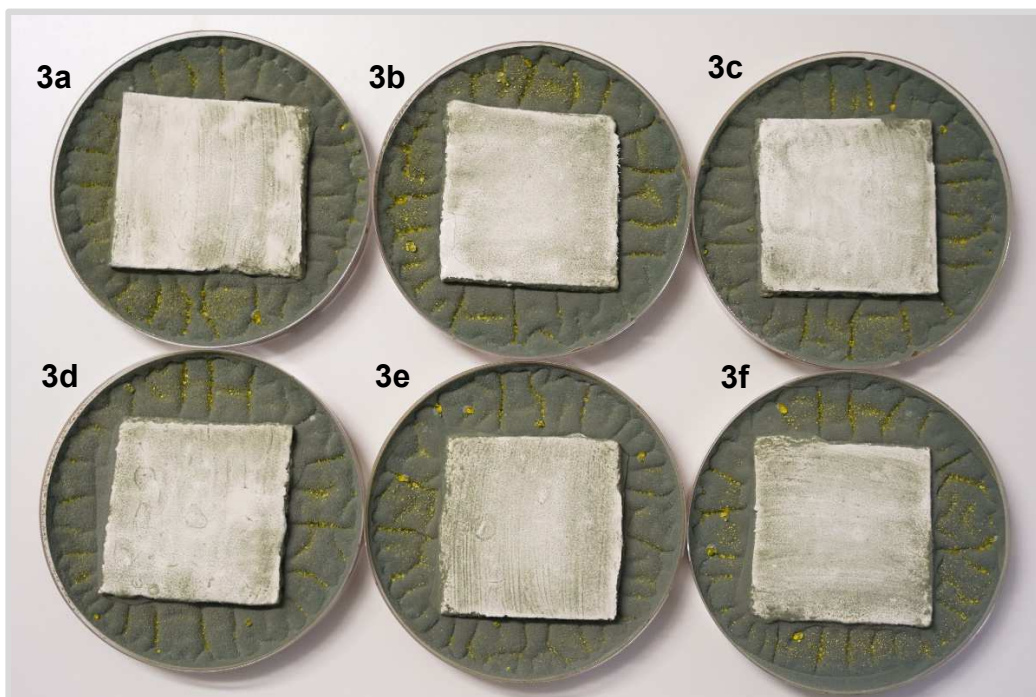


Bild 2: Variante 3 nach 6 Versuchstagen



ANHANG 2

Bildnachweis

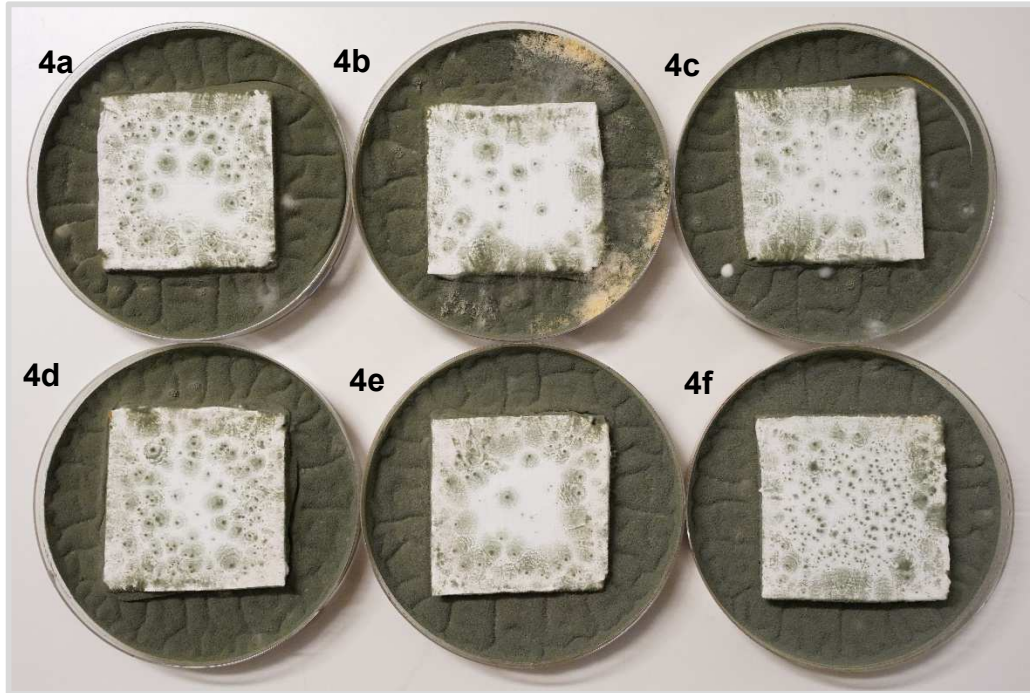


Bild 3: Variante 4 nach 14 Versuchstagen

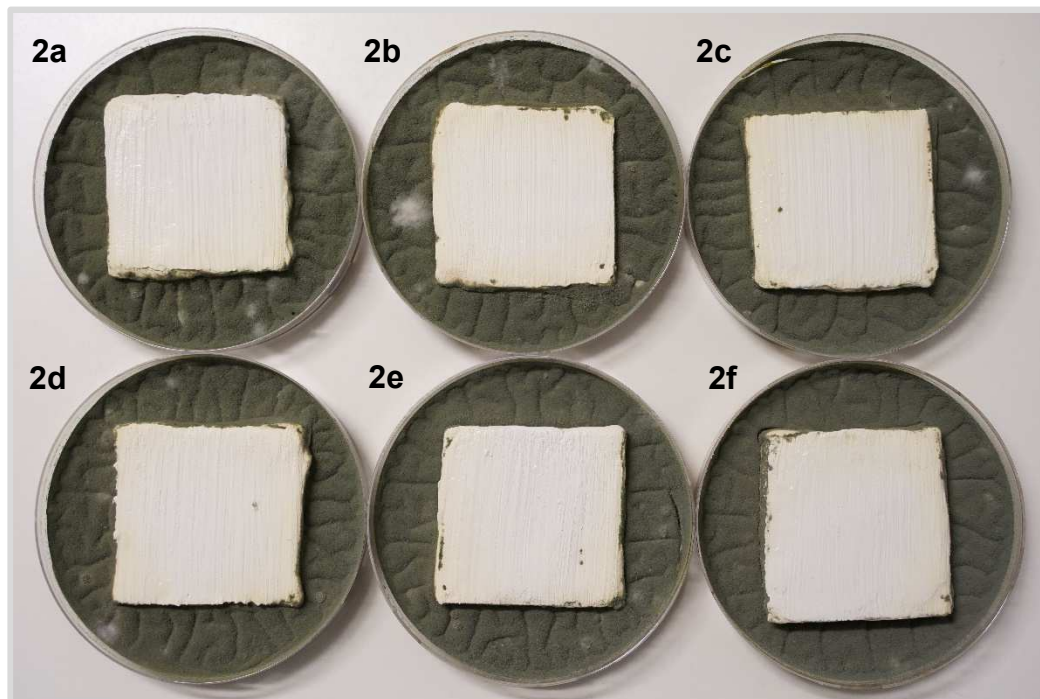


Bild 4: Variante 2 nach 15 Versuchstagen