

- KIRBY, P. L.: Some aspects of the visco-elasticity of glass and its structure. *J. Soc. Glass Technol.* **41** (1957) S. 95 bis 116 T.
- [5] MOHYUDDIN, I. und DOUGLAS, R. W.: Some observation of the anelasticity of glasses. *Phys. and Chem. Glasses* **1** (1960) S. 71—86.
- COENEN, M. und AMRHEIN, E. M.: Mechanische Relaxation von Silikatgläsern im Temperaturbereich des metastabilen Gleichgewichts. Vortrag auf dem Symposium über die Festigkeit von Glas, Florenz 1961.
- [6] BAILEY, J. und SHARP, D. E.: Release of strain in glass. *J. Amer. Soc.* **16** (1933) S. 367—379. [Ref. Glastechn. Ber. **12** (1934) S. 206.]
- [7] OEL, H. J.: Das Sintern von Gläsern als Auswirkung von Zähigkeit und Oberflächenspannung. *Ber. Dt. keram. Ges.* **37** (1960) S. 424—428. (36458)

DK 620.193.82:620.193.81:582.28:576.851:666.11.01

Ein Beitrag zur Fungusbildung auf Gläsern

VON GÜNTER POHLMANN (†) und FRIDA OBERLIES

(Mitteilung aus dem Institut für Hygiene und Mikrobiologie der Universität Würzburg und dem Max-Planck-Institut für Silikatforschung, Würzburg).

(Eingegangen am 18. Oktober 1961)

Im Hinblick auf die Untersuchungen der Fungusbildung auf optischen Gläsern wird ein einfaches Verfahren zur Züchtung von Pilzen auf Glasoberflächen beschrieben. Die Einwirkung von Mikroorganismen auf Gläser wird anhand von licht- und elektronenmikroskopischen Bildern besprochen. Durch oligodynamisch wirksame Metalle, die dem Glasgemenge als Oxyde oder Salze zugegeben wurden, ergaben sich Hinweise für eine Verminderung oder Möglichkeit zur Verhütung der Fungusbildung auf optischen Gläsern.

1. Methoden zur experimentellen Züchtung von Pilzen auf Glasoberflächen

Die Übertragung von Pilzen aus Kulturen unmittelbar auf Glasoberflächen oder von einem Glas auf das

nachdem sie zuvor in einem Heißluftsterilisator 2 h bei 180 °C sterilisiert wurden. Zum anderen können Glasstückchen von 7 bis 8 mm Dicke auf eine den Versuchsbedingungen entsprechend groß gewählte Oberfläche (bei den Versuchen der Verfasser beispielsweise 8 × 20 mm²) zugeschnitten werden. Auch diese Stückchen werden in angegebener Weise sterilisiert und steril in die soeben in Petrischalen ausgegossene und noch für eine kurze Zeit flüssige Nährbodenschicht ein-

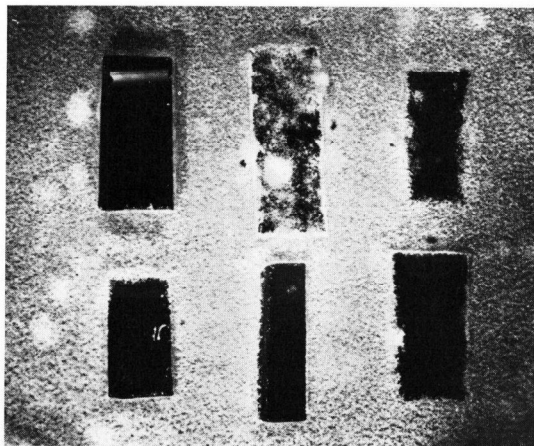


Bild 1. Bierwürze-Agar-Platte, beimpft mit *Aspergillus euglobosus*, und eingelegte Glasstückchen, 10 Tage alte Kultur. Obere Reihe, links: Glas mit 3 Gew.-% TiO_2 , rechts: 2 Kontrollglasstückchen. Untere Reihe: Gläser mit oligodynamischen Metallen. Links mit 0,25 Gew.-% Ag_2O , rechts mit 2 Gew.-% CuO und 5 Gew.-% CdO .

andere gelingt nur in den seltensten Fällen. Worin im einzelnen die Schwierigkeiten hierfür zu suchen sind, entzieht sich derzeit noch unserer Kenntnis. Zum Zwecke des Studiums der Fungusbildung auf optischen Gläsern bedurfte es aber eines Verfahrens, das zuverlässige Ergebnisse liefern mußte.

Den gestellten Anforderungen entspricht folgendes einfache Verfahren: Bierwürze-Agar, ein einfacher Spezialnährboden für Pilzkulturen, wird in heißem Wasser verflüssigt. Dem etwa bis auf 45 °C abgekühlten, aber noch flüssigen Nährboden werden Keime des bekannten oder eines anderen, vielleicht auf einem Glas gewachsenen Pilzes beigegeben. Kulturlösung und Pilzkeime werden gut miteinander vermischt und in sterile Petrischalen mit Durchmessern von 10 bis 15 cm in etwa 5 mm hoher Schicht ausgegossen.

Die zu untersuchenden Gläser können nun einmal in Form dünner Deckgläschen mit Hilfe einer sterilen, ausgeglühten Pinzette dem Nährboden aufgelegt werden,

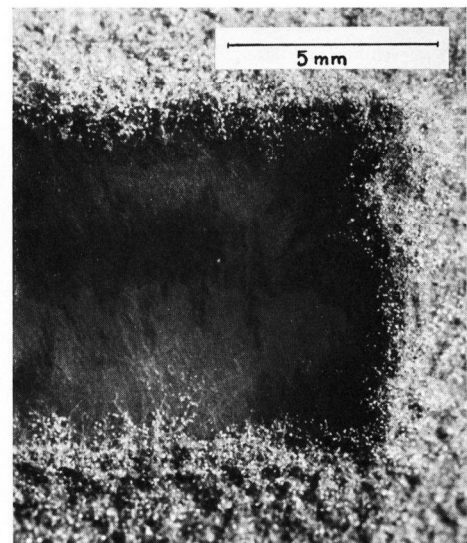


Bild 2. Experimentelle Fungusbildung auf einem Glasstückchen ohne oligodynamische Metalle. 8 Tage alte *Aspergillus*-Kultur.

gelegt. Nach wenigen Minuten wird diese fest. Die fertigen Platten werden zunächst für kurze Zeit zum Beseitigen des Kondenswassers vorsichtig belüftet und dann geschlossen bei Raumtemperatur und Tageslicht aufbewahrt.

Nach einem oder nach mehreren Tagen kommt es auf dem Nährboden und um die Glasplättchen herum zur Ausbildung eines schönen, gleichmäßig dichten Pilzrasens (Bild 1). Bietet das entsprechende Glas dem Pilz geeignete Lebensbedingungen, so wird sich die Glasoberfläche im Verlaufe von wenigen Tagen mit einem Pilzgeflecht (Mycel) überziehen. Auf diese Weise läßt sich einfach und schnell eine gute Fungusbildung erzielen (Bild 2).

Rezept zur Herstellung von Bierwürze-Agar (nach L. HALLMANN [1]): Aus der Brauerei bezogene Bierwürze wird zunächst 1 h gekocht, dann $\frac{1}{2}$ h stehen gelassen und vom Bodensatz abgossen. Der Bodensatz wird verworfen; der andere Teil wird filtriert. Zu 1 l des Filtrats werden 20 bis

Auf Glasoberflächen fehlt es dem Pilzgeflecht bald an lebensnotwendigen anorganischen Elementen und Spurenelementen. Wasser (ebenfalls lebensnotwendig) dürfte sehr viel häufiger in ausreichender Menge zur

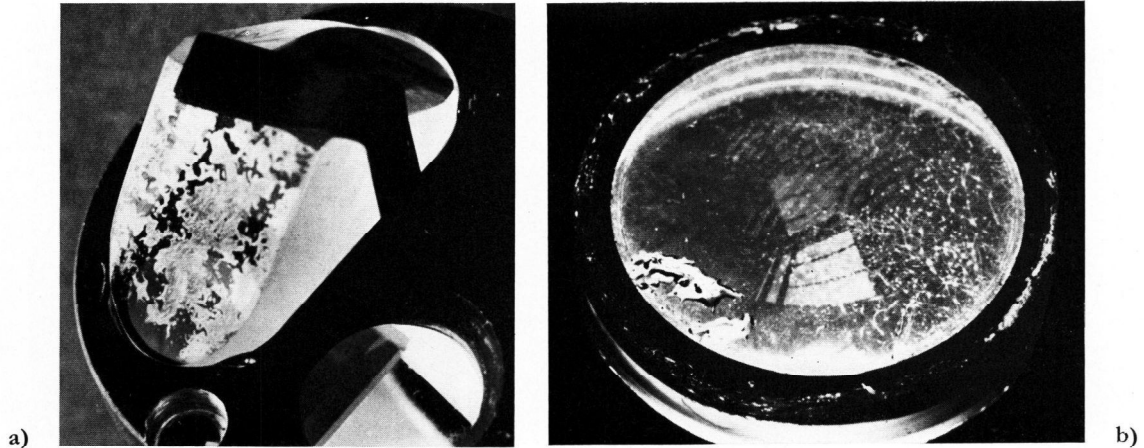


Bild 3. Spontane Fungusbildung.

a) Auf einem Prisma aus einem Fernrohr, das längere Zeit in einer Holzkiste aufbewahrt worden war. b) Auf einer Fotolinse.

25 g Agar-Agar hinzugegeben. Beides wird 1 h gekocht und zum Aufbewahren zweckmäßigerweise in sterile Literkolben abgefüllt, die mit Watte- oder Zellstoffstopfen verschlossen werden. Der in Literkolben abgefüllte Nährboden wird bei 110 °C im Verlauf von 20 min nochmals sterilisiert. Man beachte unbedingt die Zeit- und Temperaturangaben für das Sterilisieren dieses Pilznährbodens!

2. Über die Einwirkung von Mikroorganismen auf Gläser

Unter den genannten Bedingungen kommt es durch eine große Anzahl von Schimmel- oder Sproßpilzen zu einem Bewuchs von Glasoberflächen, zur sogenannten Fungusbildung. Aber auch spontan und unter günstigen Umwelt- und Lagerungsbedingungen können Schimmel- und Sproßpilze eine Fungusbildung hervorrufen (Bilder 3a, 3b und 4). Die Folge einer fortschreitenden Entwicklung dieser Mikroorganismen auf der Glasoberfläche ist in der Regel mit einem mehr oder weniger starken Glasangriff verbunden. Obwohl der Mechanismus dieses Glasangriffs zwar noch nicht bis in alle Einzelheiten aufgeklärt ist, läßt er sich doch bereits in großen Zügen übersehen:

Einmal können Sporen eines Schimmelpilzes auf die Glasoberfläche gelangen, die unter entsprechend günstigen Bedingungen zu einem sich oftmals weit über die Glasoberfläche erstreckenden Pilzgeflecht auskeimen (Bilder 5a, b, c und d). Zum anderen (aber wohl seltener) können sich Sproßpilze, also hefeähnliche Pilzzellen, auf der Glasoberfläche ansiedeln und zunächst um sich herum weitere Sproßzellen ausbilden, die dann beim Eintreten von ungünstigen Substrats- oder Umweltsbedingungen (auf Glasoberflächen z. B. bei Mangel an Nährstoffen) ebenfalls in Form eines Pilzgeflechts wachsen können (Bilder 6a und 6b). Weitere lichtmikroskopische Aufnahmen über verschiedenartige Fungusbildungen auf optischen Gläsern finden sich in einer Veröffentlichung von A. KALLER [2].

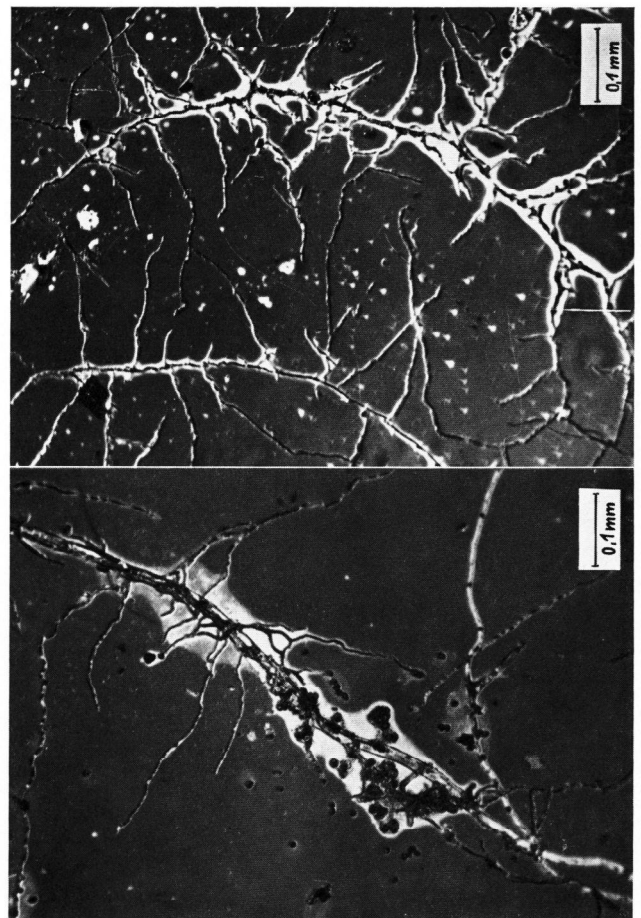


Bild 4. Verschiedene Fungusbildungen auf fotografischen Linsen.

Verfügung stehen, da einmal die hier interessierenden optischen Gläser in der Mehrzahl schwach hygroskopisch sind und sich zum anderen in Abhängigkeit vom Feuchtigkeitsgehalt der Atmosphäre Kondenswasser niederschlagen kann.

Mit fortschreitender Entwicklung umgeben sich die Pilzfäden mit einer mehr oder weniger breiten und zu-

Schleimstoffe enthalten von den Mikroorganismen gebildete, verschiedenartige Chelatbildner, die selbst wieder-

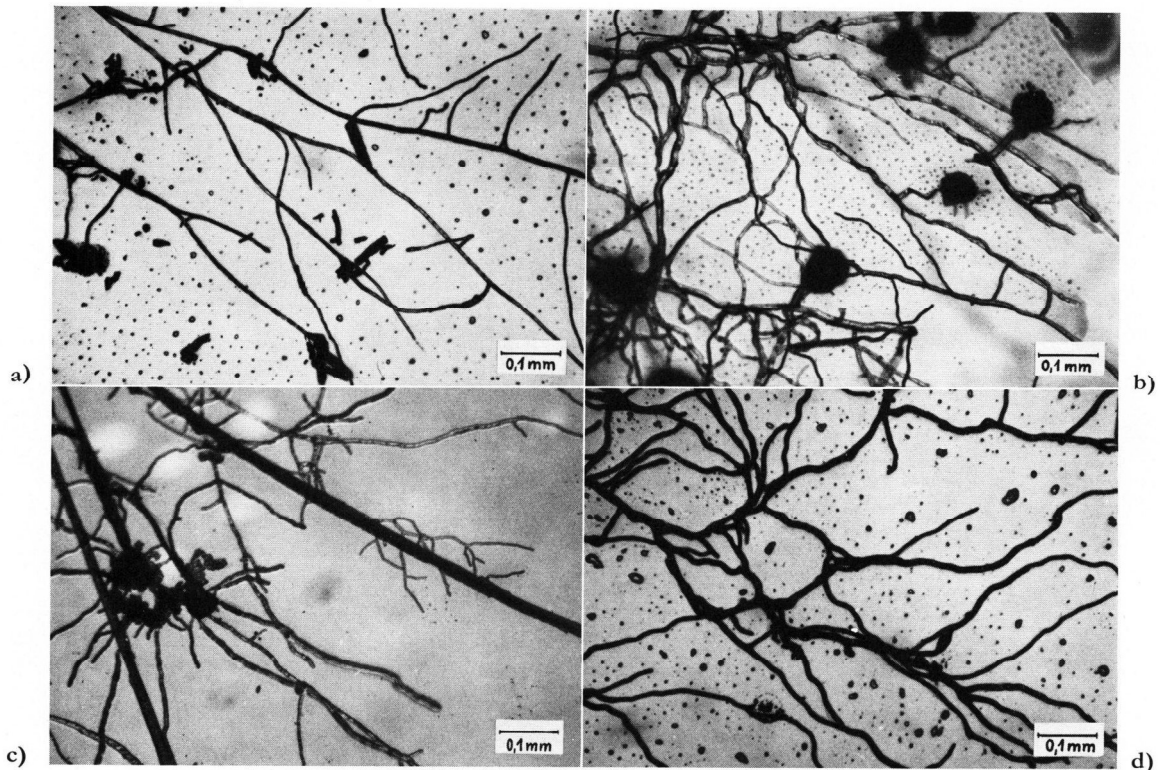


Bild 5. Experimentelle Fungusbildung (Schimmelpilze) auf einem Deckgläschen. 10 Tage alte Kulturen.
a) *Penicillium notatum*, b) *Aspergillus fumigatus*, c) *Mucor racemosus*, d) *Aspergillus euglobosus*.

sammenhängenden Schleimhülle (Bilder 7a und 7b). Es ist nun bekannt, daß sowohl die Mikroorganismen [3, 4]

um auch Glasoberflächen in starkem Maße anzugreifen vermögen [6]. Diese Chelatbildner chelatieren die in

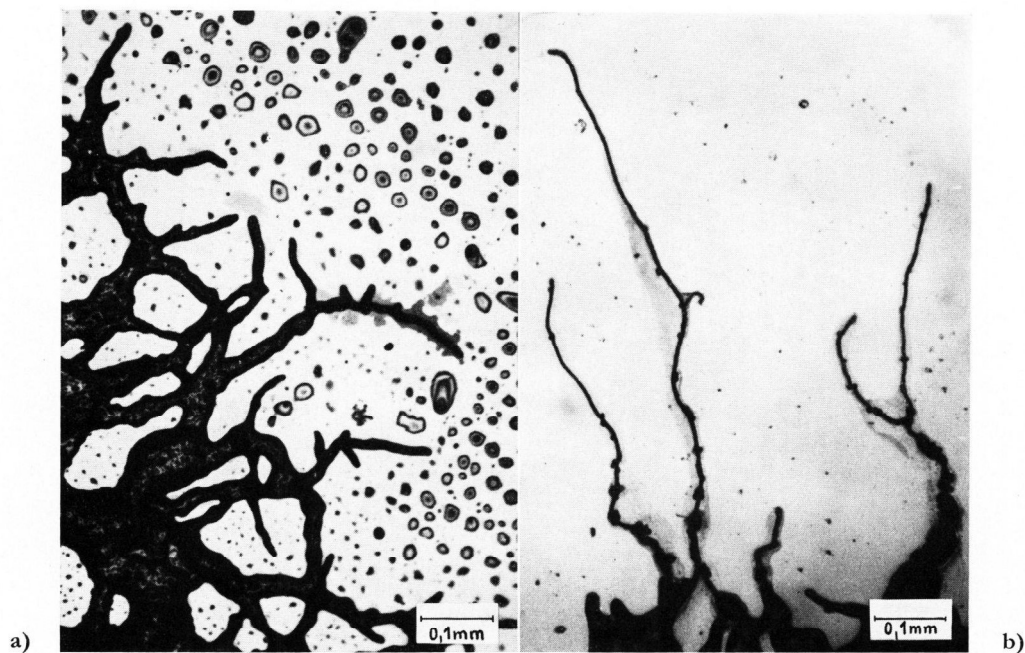


Bild 6. Experimentelle Fungusbildung (Sproßpilze) auf einem Deckgläschen. 10 Tage alte Kulturen.
a) *Trichosporon cutaneum*, b) *Candida tropicalis*.

als auch deren Schleimstoffe [5] gegenüber schwerlöslichen anorganischen Verbindungen eine überraschend starke Lösungswirkung auszuüben vermögen. Die

schwerlöslichen Silikaten vorliegenden Metalle, bilden auf diese Weise mit ihnen wasserlösliche Chelate und zersetzen somit das Glas. Die Bildung derartiger chelataktiver

Stoffwechselprodukte ist möglicherweise die Folge eines Mangels an Spurenelementen, wodurch es zur Störung einzelner Enzymsysteme und damit zur Bildung „anomalier“ Stoffwechselprodukte kommt. Man vergleiche hierzu die Vorgänge, wie sie sich bei der Bildung der

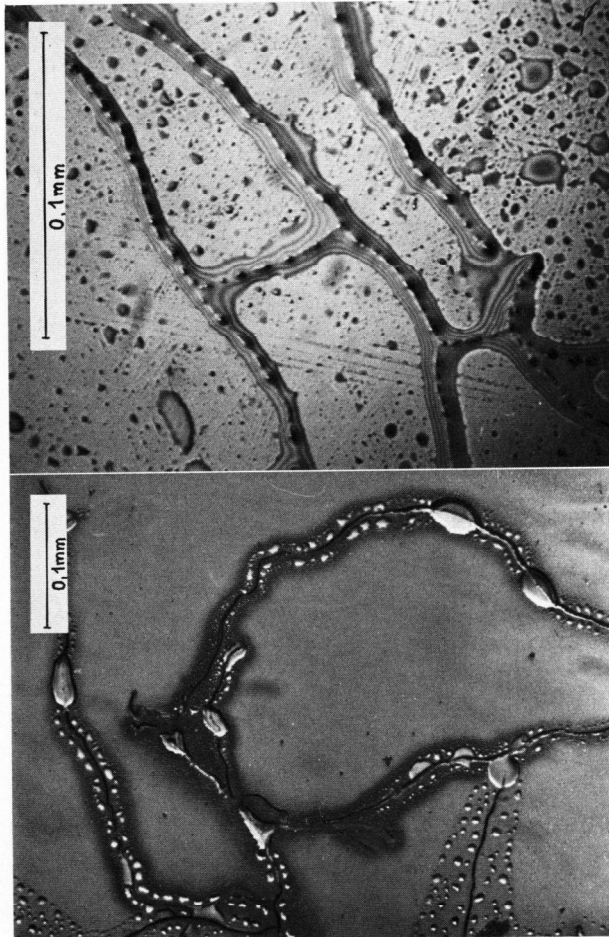


Bild 7. Pilzfäden, umgeben von mehr oder weniger breiten und zusammenhängenden Schleimhüllen.

sogenannten Flechtensäuren zeigen [7]. Wie Bild 8 erkennen läßt, erstreckt sich der Glasangriff über weite Areale, entsprechend der Ausbreitung der Schleimmassen über die Glasoberfläche.

Elektronenmikroskopische Aufnahmen zeigen nur in Randgebieten des Glasangriffs verschieden weit ausladende, flache Mulden, zwischen denen sich Inseln mit noch erhaltener Oberfläche befinden (Bild 9). Nach stereoskopischer Ausmessung beträgt die Tiefe der Mulden zwischen den Inseln etwa 20 bis 50 nm, weshalb es auch nicht gelang, sie interferenzmikroskopisch nachzuweisen. Lichtmikroskopisch wurde an Linsen mit Fungusbildung im Querschnitt festgestellt, daß das Glas von der Oberfläche aus in einer Schicht von fast $1\ \mu$ mit scharfer Begrenzung eine niedrigere Lichtbrechung aufwies als das ursprüngliche Glas (in der Mitte¹⁾). Die durch Mikroorganismen zerstörte Glasschicht reicht somit tiefer als elektronenmikroskopisch an der Oberfläche festzustellen war.

¹⁾ Für die Bestimmungen der Lichtbrechung danken die Verfasser Frau Dipl.-Ing. N. KÖPPEN herzlich.

3. Möglichkeiten zur Bekämpfung der Fungusbildung mit Hilfe oligodynamisch wirksamer Metalle

Der bakterizide Effekt einzelner, oligodynamisch wirksamer Metalle, wie z. B. Silber, Kupfer, Molybdän, Thallium, Cadmium, Arsen, Titan, ist seit langer Zeit bekannt. Ihre Wirksamkeit beruht vor allem auf einer Hemmung bakterieller Fermente [8], wodurch die Lebensfähigkeit von Mikroorganismen herabgesetzt oder unterdrückt werden kann. Die einzelnen Bakterienstämme und die Pilze verhalten sich allerdings gegenüber diesen Metallen unterschiedlich. Eine hohe Wider-

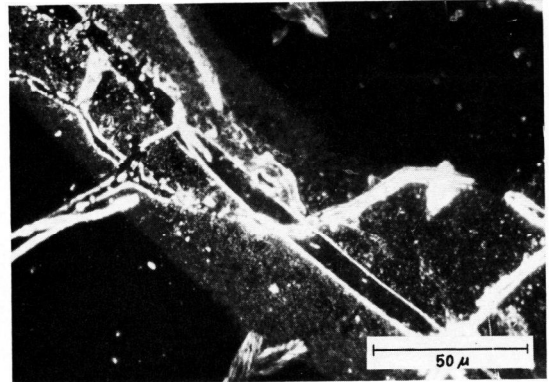


Bild 8. Glasangriff durch einen Pilzfaden mit weitreichender Beeinflussung der Glasoberfläche.

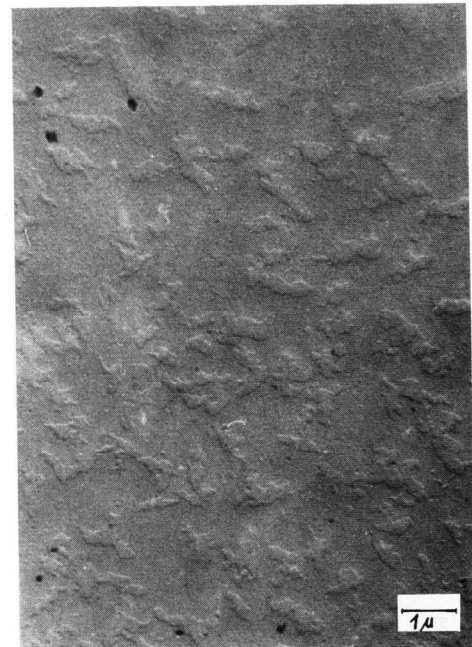


Bild 9. Elektronenmikroskopische Aufnahme aus einem Randgebiet des Glasangriffs mit flachen Mulden zwischen Inseln mit noch erhaltener Glasoberfläche.

Vergr. 7 500fach.

standskraft zeigen z. B. die Hefen; auch Schimmelpilze sind außergewöhnlich widerstandsfähig. Darüber hinaus ist durch Gewöhnung eine Resistenzvermehrung möglich [9].

Eigenen Versuchen mit Gläsern verschiedenartiger Zusammensetzung und Bakterien war zu entnehmen, daß in der Nähe einzelner Glasstückchen sicherlich auf Grund

oligodynamischer Effekte empfindliche Bakterien in ihrem Wachstum gehindert oder stark gehemmt werden konnten. Dies ist aus Bild 10 bei Glas F (mit 10% CdO) und dem optischen Glas 8 an dem um das Glasstückchen auftretenden, dunkel erscheinenden Hemmhof ersichtlich. Die Tabelle 1 bringt hierzu weitere Einzelangaben.

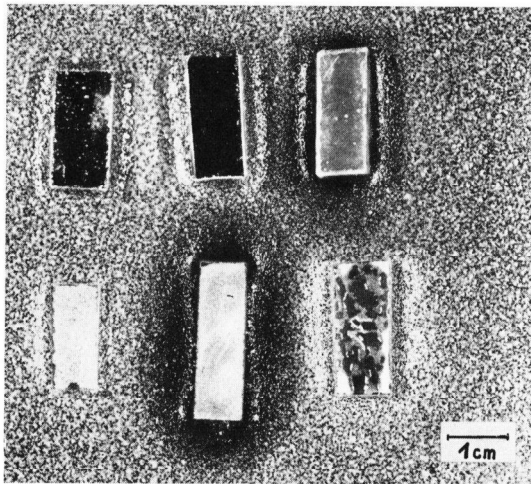


Bild 10. Blutagarplatte, beimpft mit Bakterien (gelbe Sarcinen) und eingelegten Glasstückchen entsprechend Tabelle 1. Obere Reihe (von links nach rechts): Kontrollglas, Glas mit 5 und 10 Gew.-% CdO.

Untere Reihe (von links nach rechts): optische Versuchsgläser 7, 8 und 11.

Danach können oligodynamische Metalle, die dem Glasgemenge als Oxyde oder Salze beigegeben wurden, an der Glasoberfläche in ausreichender Menge zur Wirkung kommen, so daß sie zumindest gegenüber empfindlichen Bakterien deutlich sichtbare oligodynamische Effekte hervorbringen vermögen.

Von dieser Beobachtung ausgehend wurden Gläser, die jeweils nach Analyse in Gew.-% als „oligodynamisches Metall“ 0,25 Ag₂O, 2 CuO, bis 8 CdO, 0,9 As₂O₅, 3 TiO₂, bis 17 ZnO oder 8,5 PbO enthielten, in ihrer Wirksamkeit gegenüber Schimmel- und Sproßpilzen²⁾ geprüft. Es zeigte sich, daß im Gegensatz zu den Versuchen mit Bakterien in keinem Falle eine deutlich sichtbare Hemmwirkung hervorgerufen werden konnte. Immerhin erwiesen die einzelnen Schimmel- oder Sproßpilze ein unter-

²⁾ Herrn Dr. Dr. F. STAIB sei für die Überlassung von Pilzkulturen sehr herzlich gedankt.

schiedliches Verhalten, so daß beim Vergleich mit einem Kontrollglas bei den Gläsern mit oligodynamischen Metallen häufig eine deutlich verminderte Fungusbildung

Tabelle 1. Übersicht über die Beeinflussung des Wachstums verschiedener Bakterien- und Pilzstämmen durch Gläser verschiedener Zusammensetzung*)

Versuchsgläser:	A	E	F	8	11	7
Gelbe Sarcinen:	∅ ±	+	+	±	±	∅
Vergrünende Streptokokken:	∅ ±	+	+	±	±	∅
Staphylokokken (St. pyog. aur.):	∅ ±	+	±	±	±	∅
Sporenbildner:	∅ ∅	+	+	±	±	∅
Bakterium der Coli-Gruppe:	∅ ∅	∅	+	∅	∅	∅
Bakterium der Proteus-Gruppe:	∅ ∅	∅	∅	∅	∅	∅
Bacterium prodigiosum:	∅ ∅	∅	∅	∅	∅	∅
Cand. albic. (Sproßpilze):	∅ ∅	±	±	∅	∅	∅
Mucor racemosus (Schimmelpilz):	∅ ∅	∅	±	∅	∅	∅
Asperg. fumigatus (Schimmelpilz):	∅ ∅	∅	∅	∅	∅	∅
Asperg. euglobosus (Schimmelpilz):	∅ ∅	∅	+	∅	∅	∅

Zusammensetzung der Versuchsgläser [Gew.-%]:

A) 74 SiO₂, 16 Na₂O und 10 CaO (Kontrollglas)

E) 74 SiO₂, 16 Na₂O, 5 CaO und 5 CdO

F) 74 SiO₂, 16 Na₂O und 10 CdO

8) 50 B₂O₃, 20 ZnO, 10 Al₂O₃, 10 PbO, 5 SiO₂, 5 K₂O und weniger als 1 As₂O₃

11) 80 P₂O₅, 10 BaO, 5 B₂O₃, 5 Al₂O₃, weniger als 5 K₂O und weniger als 1 La₂O₃

7) 70 SiO₂, 10 Na₂O, 10 K₂O, 10 CaO, weniger als 1 Sb₂O₃ und weniger als 1 As₂O₃.

*) Bedeutung der Symbole:

∅ = ohne Einfluß,	+ = auffallende Wachstums-
± = geringfügige Beeinflussung	hemmung,
des Wachstums,	+) = Hemmung der Ausbildung
	von Fruktifikationsorganen,
	das Pilzmycel blieb stabil.

vorhanden war. Hierin sehen die Verfasser Ansätze für eine Möglichkeit zur Verhütung der Fungusbildung auf optischen Gläsern, indem durch Variation der Glaszusammensetzung und kombinierter Zugabe von oligodynamisch wirksamen Metallen einer Fungusbildung vorgebeugt wird.

Den Herren Prof. Dr. med. C. SONNENSCHNEIN, Vorstand des Institutes für Hygiene und Mikrobiologie der Universität Würzburg, und Prof. Dr. A. DIETZEL, Direktor des Max-Planck-Instituts für Silikatforschung, Würzburg, sind die Verfasser für die Ermöglichung dieser Untersuchungen zu großem Dank verpflichtet. Herrn Dr. W. VOGEL, Jena, sei für die freundschaftliche Überlassung der optischen Versuchsgläser besonders gedankt.

4. Schrifttum

- [1] HALLMANN, L.: Bakteriologische Nährböden. Stuttgart: Thieme 1953. S. 218.
- [2] KALLER, A.: Fungusbildung auf Optik. Feingeräte-Techn. 9 (1960) S. 21–25.
- [3] BASSALIK, K.: Über Silikatersetzung durch Bodenbakterien. Z. Gärungsphysiol. II (1913) S. 15 ff.
- [4] OBERLIES, F. und POHLMANN, G.: Einwirkung von Mikroorganismen auf Glas. Naturwiss. 45 (1958) S. 487. [Ref. Glastechn. Ber. 33 (1960) S. 154.]
- [5] CLAUS, D., WITTMANN, H. und RIPPEL-BALDES, A.: Untersuchungen über die Zusammensetzung von Bakterien-schleimen und deren Lösungsvermögen gegenüber schwer-
- löslichen anorganischen Verbindungen. Arch. Mikrobiol. 29 (1958) S. 169–178.
- [6] ERNSBERGER, F. M.: Attack of glass by chelating agents. J. Amer. ceram. soc. 42 (1959) S. 373–375.
- [7] SCHATZ, A.: Bodenbildung und Ertragssteigerung durch „Chelatisierung“. Umschau 55 (1955) S. 746–748.
- [8] WÖRATZ, H. und THOFERN, E.: Beitrag zum Wirkungsmechanismus der Oligodynamie. Zbl. Bakteriol. I. Abt. 163 (1955) S. 538–541.
- [9] ZIMMERMANN, H.: Oligodynamische Silberwirkung. Z. Hygiene 35 (1952) S. 403–413. (36405)