

### 3.3 Untersuchungen zur Biofilmentwicklung in einem „rotating annular reactor“

T. NEU

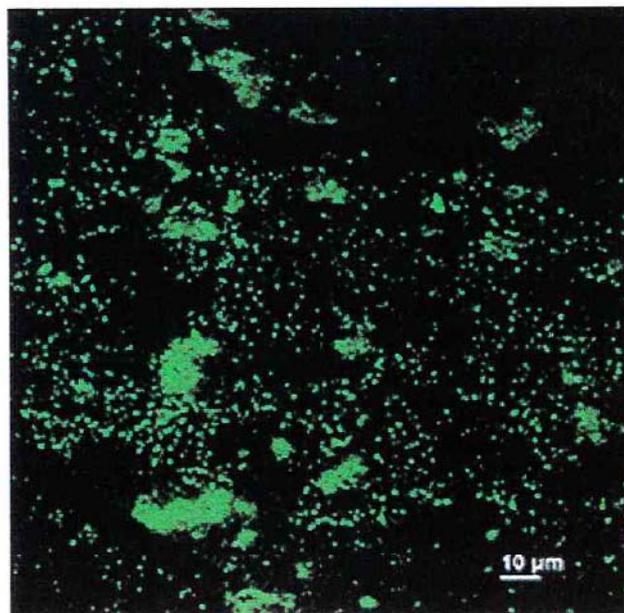
UFZ-Umweltforschungszentrum Leipzig-Halle GmbH,  
Sektion Gewässerforschung, Brückstr. 3a, 39114 Magdeburg

Im Rahmen des Projektes wurde ein erstes, orientierendes Experiment zur Anreicherung von Bakterien aus belastetem Grundwasser durchgeführt. Hierbei wurde das Verhalten von Bakterien in extrem oligotrophen Systemen ausgenutzt. Die Bakterien in einem nährstoffarmen Habitat heften sich an Grenzflächen, um die wenigen, dort angereicherten Nährstoffe nutzen zu können. Ziel des Versuches war es, die im Grundwasser vorhandenen Bakterien an den Grenzflächen eines Reaktors in Form eines Biofilms anzureichern und mit Hilfe der konfokalen Laser Scanning Mikroskopie zu dokumentieren.

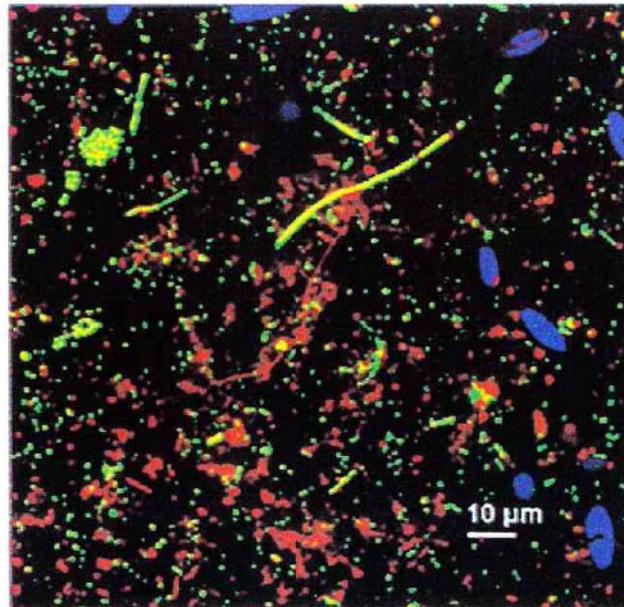
Der Biofilm-Reaktor, ein sogenannter "rotating annular reactor" (RAR), besteht aus einem Gefäß mit einem rotierenden inneren Zylinder. Durch entsprechende Bohrungen in dem Zylinder wird eine turbulente Strömung erzeugt. An der Innenwand des Gefäßes befinden sich "slides", welche von oben entnommen werden können. Sowohl der Reaktor als auch die "slides" bestehen aus Polycarbonat. Der Reaktor wurde mit dem Grundwasser ohne jegliche Zusätze im "batch"-Betrieb als geschlossenes System gefahren. Die Wasserprobe wurde am 20. 04. 99 aus dem SAFBIT Pegel 7/97 (Pollux) entnommen. Um den Sauerstoffpartialdruck niedrig zu halten, wurde bei den Reaktor-Experimenten während des Animpfens und der Probennahme mit Argon gespült.

Die mikroskopischen Untersuchungen der "slides" erfolgten nach 3 und 10 Tagen. Hierzu wurden die Bakterien mit einem allgemein nukleinsäure-spezifischen Fluoreszenzfarbstoff gefärbt. Die frischen, nicht-fixierten, lebenden Proben wurden anschließend mit Hilfe der konfokalen Laser Scanning Mikroskopie untersucht. Die Oberflächen zeigten nur einzelne angeheftete Bakterien in der Größenordnung von 1-2  $\mu\text{m}$ . Allerdings konnten ausgedehnte Bereiche gezeigt werden, welche vermutlich mit sogenannten „Minibakterien“ bewachsen waren (siehe Abbildung).

Ein kritischer Punkt bei diesem Ansatz stellt die Sauerstoffkonzentration im Reaktor dar. So erhöhte sich der Sauerstoffgehalt im Reaktor im Vergleich zum Probengefäß, welches für den Transport verwendet wurde, von 7% auf 40% Sättigung. Vermutlich wurden dadurch bestimmte Bakteriengruppen gehemmt. Deshalb soll in weiteren Untersuchungen der Biofilm-Reaktor zusammen mit Sediment bzw. mit Ultraschall behandeltem Sediment/Grundwasser gefahren werden. Es wird erwartet, daß sich aus den Biofilmen des Sediments mehr Bakterien ablösen, welche dann auf den Reaktor-Oberflächen Biofilme ausbilden können. Zusätzlich soll der Sauerstoffgehalt im Reaktor gesenkt werden. Die zu erwartenden, aus „Minibakterien“ bestehenden Biofilme werden wiederum mit der konfokalen Laser Scanning Mikroskopie und zusätzlich mit Hilfe der Transmissions-Elektronen-Mikroskopie bei der GBF verifiziert. Des weiteren soll Sediment aus dem Aquifer mit derselben Fluoreszenz-lebend-Färbung mikroskopiert werden, um die Bakterien sowie deren Mikrokolonien und Biofilme *in situ* zu zeigen.



**Abb. 1:** Biofilm aus dem Mikrokosmen-Experiment mit Original-Grundwasser nach Anfärbung mit einem Nukleinsäure-spezifischen Farbstoff. Die Oberflächen zeigten nur wenige Bakterien der Grössenordnung von 1-2 µm, allerdings sind Bereiche mit sogenannten Minibakterien zu erkennen.



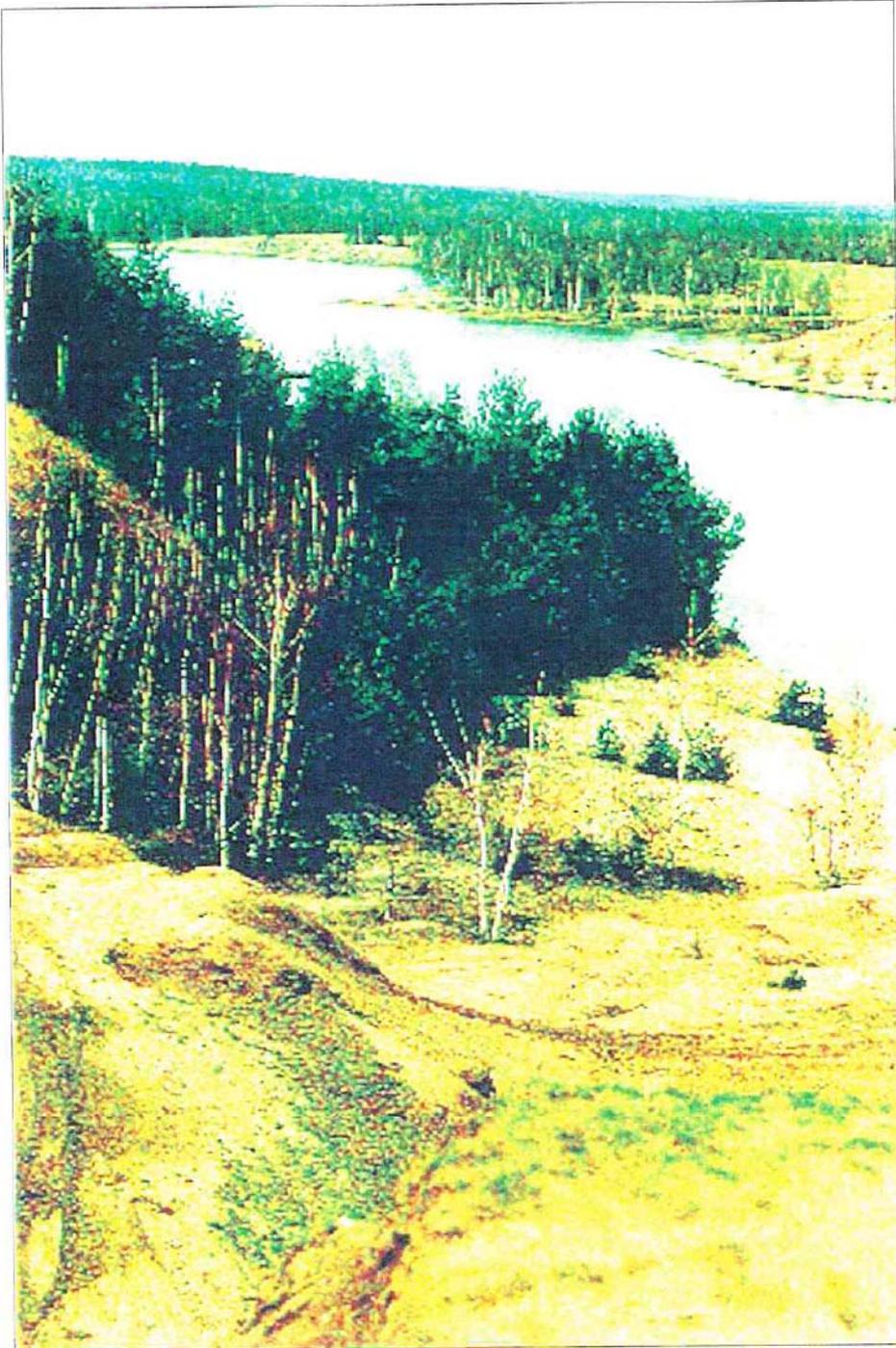
**Abb. 2:** Zum Vergleich ein Fließgewässer-Biofilm mit typischen Signalen nach Nukleinsäurefärbung der Bakterien (gelb-grün), Lektin-Markierung der Glycokonjugate (rot) und Autofluoreszenz der Grünalgen (blau). Die Probe wurde mit dem konfokalen Laser Scanning Mikroskop im 3-Kanalmodus gescannt.

Zwischenbericht zum HGF-Strategiefondsprojekt

**Systemintegrierte Umweltbiotechnologie zur Sanierung von organisch  
und anorganisch belasteten Grund- und Oberflächenwässern**

L. Meierling<sup>1)</sup>, N. Schmidt<sup>1)</sup> (Herausgeber)

W. Babel<sup>1)</sup>, W. Geller<sup>1)</sup>, M. Höfle<sup>2)</sup>, U. Stottmeister<sup>1)</sup>



1) UFZ-Umweltforschungszentrum Leipzig-Halle GmbH

2) Gesellschaft für Biotechnologische Forschung mbH, Braunschweig