

# MIKROORGANISMEN ZUR REINIGUNG VON ABBRUCHMATERIAL STILLGELEGTER INDU- STRIEANLAGEN

Roland Müller und Wolfgang Babel

Standorte der chemischen Industrie und deren Umfeld sind häufig und in unterschiedlichem Maße durch die Ausgangs-, Zwischen- und Endprodukte des Produktionsspektrums kontaminiert. Das betrifft sowohl das Erdreich als auch die Oberflächen- und Grundwässer in diesem Gebiet, vor allem aber die Produktionsanlage selbst. Bei der Demontage alter Industrieanlagen fallen stark kontaminierte Materialien an, u.a. auch Mauerwerk. Eine Weiterverwertung des Abbruchmaterials dieser Gebäude ist erst nach

entsprechender Aufbereitung möglich, eine Deponierung dagegen in der Perspektive nicht akzeptabel. Eine Dekontamination auf der Basis mikrobieller Stoffwechselaktivitäten bietet sich an, wenn an das Potential der Mikroorganismen, ihre ubiquitäre Verbreitung und die breite Palette der möglichen Stoffwechselaktivitäten gedacht wird. Die Nutzung dieser Aktivitäten zur Sanierung kontaminierter Materialien und Areale ist in der Praxis heute schon weit verbreitet. Spezielle Ausgangssituationen erfordern allerdings in jedem Falle detaillierte Untersuchungen. Erst dann kann geklärt werden, ob eine mikrobielle Dekontamination möglich ist.

## *Abbruchmaterial aus ehemaligen Industrieanlagen zur Herbizidproduktion*

In dem konkreten, hier dargestellten Fall soll das Potential von Mikroorganismen für die Dekontamination von Abbruchmaterial aus demontierten Anlagen zur Herbizidproduktion untersucht werden. An einem ehemaligen Chemiestandort der Neuen Bundesländer fielen derartige Materialien in Form zerkleinerter Betonbruchstücke in einer Dimension von 50.000 Tonnen an. Dieses Mauerwerk ist hochgradig mit einer Mischung unterschiedlich chlorierter und methylierter Phenoxyalkansäuren einschließlich diverser Ausgangs- und Zwischenprodukte kontaminiert. Im Bild 1 ist die chromatographische Auftrennung des wässrigen Eluats aus solchen Materialien dargestellt. Neben einer Reihe kleinerer Peaks, die nicht näher charakterisiert wurden, konnten die Hauptkomponenten zugeordnet werden. Es handelt sich um die als Herbizide bekannten Verbindungen 2,4-Dichlorphenoxyacetat (2,4-D), 4-Chlor-2-methylphenoxyacetat (MCPA), 2-(2,4-Dichlorphenoxy)propionat (2,4-DP), 2-(4-Chlor-2-methylphenoxy)propionat (MCPP), 4-(2,4-Dichlorphenoxy)butyrat (2,4-DB) und 4-(4-Chlor-2-methylphenoxy)butyrat (MCPB). Bild 2 zeigt die Strukturformel solcher Verbindungen.

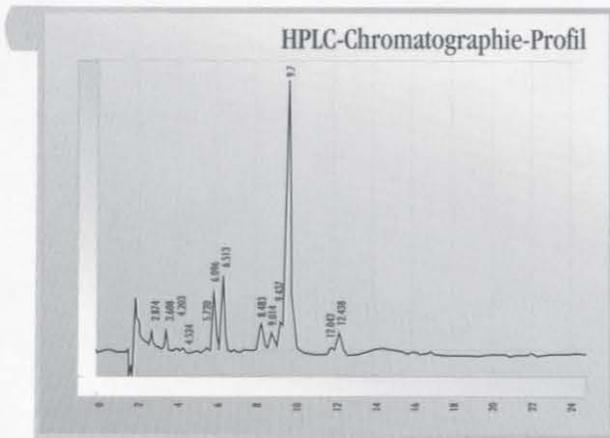


Bild 1 HPLC-Chromatographie-Profil von wässrigem Eluat aus Abbruchmaterial einer Anlage zur Herbizidproduktion

Die folgenden Peaks wurden durch Cochromatographie mit Vergleichssubstanzen diagnostiziert:

|         |       |                  |
|---------|-------|------------------|
| 6,096:  | ..... | 2,4-D;           |
| 6,513:  | ..... | MCPA;            |
| 9,7:    | ..... | 2,4-DP und MCPP; |
| 12,042: | ..... | 2,4-DB;          |
| 12,438: | ..... | MCPB.            |

Die Gesamtkonzentration der Kontaminationen beläuft sich auf bis zu 1,5 g pro kg Abbruchmaterial. Die betrachteten Verbindungen sind in dieser Konzentration als absolut toxisch anzusehen und führen zu einer starken Hem-

mung des Wachstums von Mikroorganismen bzw. verhindern es überhaupt. Das gilt im Prinzip schon für jede einzelne der betreffenden Substanzen. Die Problematik wird weiter dadurch kompliziert, daß es sich um ein Substanzgemisch aus unterschiedlich substituierten Phenolen handelt (Bild 1). Deren Abbau erfordert die Induktion verschiedener Stoffwechselfolgen, so z.B. die ausschließliche Induktion des sogenannten (modifizierten) ortho-Weges für die Spaltung des Phenolringes bei der Konversion chlorierter Verbindungen oder des meta- bzw. des ortho-Weges bei Vorliegen methylierter oder unsubstituierter Verbindungen /1,2,3/. Die gleichzeitige Anwesenheit beider Sequenzen kann dazu führen, daß Metabolite einer Sequenz in einen »falschen« Stoffwechselweg eingeschleust werden und durch die Synthese nicht weiter metabolisierbarer Produkte den weiteren Stoffwechsel zum Erliegen bringen /4/. Neben diesen metabolisch bedingten Komplikationen muß in Betracht gezogen werden, daß die Eluate aus solchen Abbruchmaterialien stark alkalisch sind. Es werden pH-Werte von bis zu 12,5 beobachtet. Das schränkt die mikrobielle Artenvielfalt erheblich ein. In Anbetracht dieser Situation muß deshalb, wenn an die Dekontamination derartigen Materials mittels mikrobieller Aktivitäten gedacht wird, geprüft werden:

- Sind Mikroorganismen angesiedelt, wenn ja, welche Aktivitäten weisen sie bezüglich der residenten Schadstoffe auf?
- Können bzw. wie können diese Mikroorganismen auf dem Ausgangsmaterial (*in situ*) oder in einem anderen Umfeld (*ex situ*) vermehrt werden?
- Kann eine Dekontamination solchen Materials mit Hilfe dieser Mikroorganismen vorgenommen werden?

### Isolation und erste Charakterisierung von Mikroorganismen

In einem aeroben Verfahren wurde das Abbruchmaterial durch ein mineralisches Medium ständig im Kreislauf umspült. Während des 4-wöchigen Versuchsablaufes konnte tatsächlich ein mikrobielles Konsortium angereichert werden. In der weiteren Bearbeitung gelang eine Vermehrung unter alkalischen Bedingungen (pH 9 - 10) in Flüssigkultur durch vorsichtige Dosierung eines Herbizidgemisches, bestehend aus 2,4-Dichlorphenoxyacetat (2,4-D), 2-(2,4-Dichlorphenoxy)propionat (2,4-DP), 2-(4-Chlor-2-methylphenoxy)propionat (MCP) und 4-(4-Chlor-2-methyl-

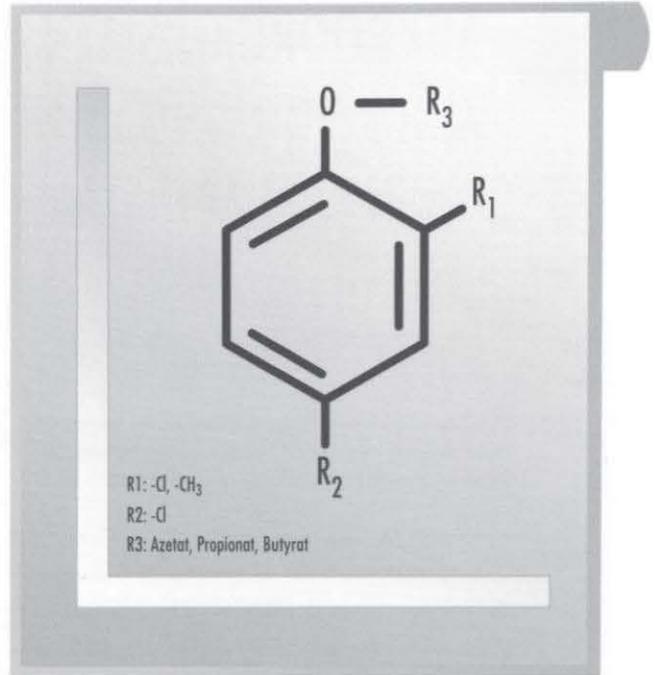


Bild 2 Strukturformel von Phenoxyalkansäuren

phenoxy)butyrat (MCPB). In diesem Konsortium wurden sieben morphologisch unterschiedliche Mikroorganismen (Morphotypen) nachgewiesen (Bild 3). Erste taxonomische Untersuchungen haben gezeigt, daß es sich in den meisten Fällen um Gram-positive Mikroorganismen<sup>1</sup> handelt. In einzelnen Fällen konnte eine Zuordnung zur Gattung *Corynebacterium* sowie zu den Spezies *Rhodococcus (Dietzia) maris* bzw. *Ochrobactrum anthropi* getroffen werden; die anderen Komponenten werden hinsichtlich ihrer taxonomischen Einordnung noch weiter untersucht. Alle Spezies wiesen ausnahmslos alkaliphile Wachstumsei-

| Substrat       | Konzentration (mg/l)               |     | Substanz-zulauftrate (mg/h) | Biomasse (mg/l) |
|----------------|------------------------------------|-----|-----------------------------|-----------------|
|                | S <sub>0</sub>                     | s   |                             |                 |
| MCPB           | 2140                               | 8.4 | 52.8                        | 1870            |
| 2,4-D          | 680                                | 3.6 | 16.8                        |                 |
| DCPP           | 93                                 | 5.3 | 2.3                         |                 |
| MCP            | 81                                 | 9.2 | 2.0                         |                 |
|                |                                    |     |                             |                 |
| S <sub>0</sub> | Ausgangs- (initiale) Konzentration |     |                             |                 |
| s              | End- (stationäre) Konzentration    |     |                             |                 |

Tab. 1 Stationäre Wachstumsbedingungen des bakteriellen Konsortiums auf einem Herbizidgemisch bei pH 9,6 und 30°C



*Bild 3 Koloniewachstum einer bakteriellen Mischkultur auf Peptonagar. Gezeigt ist die Zusammensetzung der Population nach chemostatischer Kultivierung auf einem Herbizidgemisch entsprechend der Angaben in Tab. 1.*

genschaften mit einem Optimum im pH-Bereich von 9 bis 11 auf. Die Verwertung der o.g. Herbizide durch die jeweiligen Bakterienspezies als alleinige Kohlenstoff- und Energiequelle, einzeln oder im Gemisch, konnte nicht zweifelsfrei nachgewiesen werden. Das deutet darauf hin, daß der Abbau der einzelnen Substanzen bzw. des Gemisches nur durch synergistische Aktivitäten vonstatten geht. Der Mechanismus der Wechselwirkungen zwischen den einzelnen Spezies beim Abbau des Herbizidgemisches ist derzeit noch nicht bekannt und bleibt zu untersuchen.

### *Kultivierung*

Das Konsortium konnte kontinuierlich vermehrt werden. Das gelang nach dem Chemostat-Prinzip bei sehr geringen Durchflußraten /5/. Unter solchen Bedingungen und bei Dosierung eines Herbizidgemisches konnten stabile (stationäre) Wachstumsbedingungen unter Verwertung aller Substrate erhalten werden (Tab. 1). Das ist in Anbetracht des Vorliegens eines Substratgemisches mit den unter-



*Bild 4 Gerätekonfiguration zur Kultivierung von Mikroorganismen (Fermenter) mit peripheren Geräten zur Steuerung und Kontrolle der Substratzufuhr sowie zur on-line Messung zellulärer Signale und Parameter der Substratkonversion.*

schiedlichen metabolischen Erfordernissen bemerkenswert und weist auf eine wohlkoordinierte intra- und interzelluläre Regulation der erforderlichen Enzymaktivitäten hin. Man stellt allerdings fest, daß es bei einer Forcierung des Substratangebots sehr schnell zu Störungen der Substratverwertung, vermutlich unter Bildung von Stoffwechselprodukten, kommt. Die unter diesen Bedingungen erzeugte Bakteriensuspension wurde konzentriert bei 4°C bis zu einer weiteren Verwendung gelagert.

### *Applikation*

In einer ersten Stufe wurde geprüft, inwieweit die angesiedelte Mikroorganismenflora in der Lage ist, die residenten Schadstoffe in Eluaten dieses Abbruchmaterials abzubauen. Dazu wurde in einem geschlossenen System Abbruchmaterial im kg-Maßstab mit einem alle anorganischen Wachstumskomponenten enthaltenden wäßrigen Medium berieselt und die Flüssigkeit im Kreislauf zurückgeführt (Perkolationsprinzip). Unter aeroben Bedingungen und mit einem Feststoff/Wasser-Verhältnis von 4 konnte über 30 Tage kein anhaltender und umfassender Abbau aller über Hochdruck-Flüssigchromatographie (HPLC) erfaßten Komponenten nachgewiesen werden /5/. In einer zweiten Phase wurde deshalb die chemostatisch auf einem Herbizidgemisch erzeugte Biomasse zugesetzt (3,7 g Bakterientrockenmasse/kg Abbruchmaterial). Das führte dazu, daß sofort ein signifikanter Abbau aller Komponenten erfolgte, der nach weiteren 30 Tagen zu einer nahezu völligen Eliminierung der Herbizide im Eluat führte (Bild 5).

### *Ausblick*

Die Ergebnisse zeigen, daß selbst an extremen Standorten Mikroorganismen angesiedelt sind und dem dort herrschenden Milieu adäquate physiologische Eigenschaften aufweisen. Zudem wird deutlich, daß es durchaus sinnvoll sein kann, Abbauprozesse durch Beimpfung (Starterkulturen) zu initiieren bzw. in zeitlich überschaubare Dimensionen zu versetzen. Das gilt insbesondere für solche Biotope, die für das Leben und die Vermehrung von Mikroorganismen extreme Bedingungen aufweisen.

Nachdem die Dekontamination solchen Materials im Labormaßstab nachgewiesen werden konnte, ist jetzt zu prüfen, ob und wie eine Kultivierung des Konsortiums sowie eine Dekontamination des Abbruchmaterials modellhaft in

größerem Maßstab erfolgen kann und wie daraus Ableitungen für ein Verfahren in der Praxis gezogen werden können.

Literatur

/1/

Dagley, S. (1985) Microbial metabolism of aromatic compounds. In: Comprehensive Biotechnology (Ed. M. Moo-Young). Pergamon Press Oxford, New York, Toronto, Sydney, Frankfurt. Vol. 1 (Eds. A.T. Bull and H. Dalton) pp. 483-505.

/2/

Reineke, W., Knackmuss, H.J. (1988) Microbial degradation of haloaromatics. Ann. Rev. Microbiol. 42, 263-287.

/3/

Pieper, H.P., Reineke, W., Engesser, K.H., Knackmuss, H.J. (1988) Metabolism of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, 4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid and 2-methylphenoxyacetic acid by *Alkaligenes eutrophus* JMP 134. Arch. Microbiol. 150, 95-102.

/4/

Bartels, I., Knackmuss, H.J., Reineke, W. (1984) Suicide inactivation of catechol 2,3-dioxygenase from *Pseudomonas putida* mt-2 by 3-halocatechols. Appl. Environm. Microbiol. 47, 500-505.

/5/

Müller, R.H. und Babel, W. (1994) Biodegradative properties of alkaliphilic microorganisms from building materials of herbicide production plants. IChem<sup>94</sup>, 2<sup>nd</sup> U.K. Congress of Biotechnology, Second International Symposium on Environmental Biotechnology, pp 73 - 75. Brighton July 4 - 6, 1994.

<sup>1</sup> Differenzierung von Mikroorganismen durch Färbung

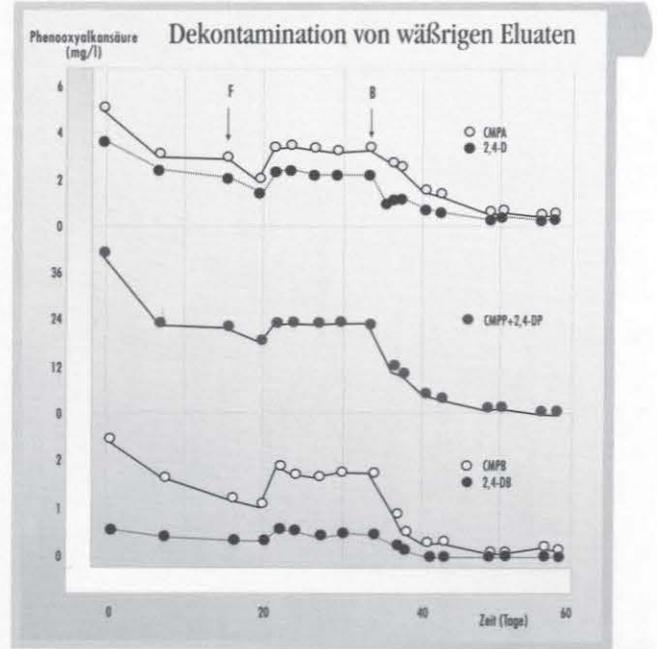


Bild 5 Dekontamination von wässrigen Eluaten aus Abbruchmaterial einer Herbizidproduktionsanlage.

Die Zahlen in den einzelnen Teilabbildungen entsprechen den Peaks der HPLC-Chromatographie lt. Bild 1.

B externe Zugabe von auf Herbiziden kultivierter Biomasse

F Störung im Flüssigkeitskreislauf

# JAHRESBERICHT / ANNUAL REPORT

1992-95 – Vier Jahre UFZ

Gewässerforschung Magdeburg  
RS

Helmholtz-Zentrum für  
Umweltforschung GmbH - UFZ  
Zentralbibliothek  
Permoserstraße 15  
D - 04318 Leipzig

12-496 MA

## *Jahresbericht 1992-1995*

### *Herausgeber:*

UFZ-Umweltforschungszentrum  
Leipzig-Halle GmbH  
Mitglied der Arbeitsgemeinschaft  
der Großforschungseinrichtungen (AGF),  
ab November 1995  
Hermann von Helmholtz – Gemeinschaft  
Deutscher Forschungszentren (HGF)  
Permoserstraße 15  
04318 Leipzig  
Telefon 0341/235-0

### *Redaktion:*

Dipl.-Chem. Doris Böhme  
Dipl.-Agr.-Päd. Susanne Hufe  
Telefon 0341/235-2278

### *Translation:*

Dipl.-Päd. Rita Gelke

### *Fotos:*

Norma Neuheiser u.a.

### *Gesamtgestaltung und Herstellungsleitung:*

Peter Barczewski  
Hendrik Schubert

### *Druck und Verarbeitung:*

Messedruck Leipzig

© Januar 1996

Abdruck (auch von Teilen) oder sonstige  
Verwendung nur nach vorheriger Absprache  
mit dem UFZ gestattet.

Gedruckt auf umweltfreundlichem, chlorfrei  
gebleichtem Papier

ISSN 0948-6925