LEHRBUCH

Walter Reineke
Michael Schlömann

Umweltmikrobiologie

3. Auflage

Springer Spektrum

Umweltmikrobiologie

Walter Reineke
Michael Schlömann

Umweltmikrobiologie

3. Auflage

Springer Spektrum

Walter Reineke
Bergische Universität Wuppertal
Wuppertal, Deutschland

Michael Schlömann
TU Bergakademie Freiberg
Freiberg, Deutschland

ISBN 978-3-662-59654-8 ISBN 978-3-662-59655-5 (eBook)
https://doi.org/10.1007/978-3-662-59655-5

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über ► http://dnb.d-nb.de abrufbar.

© Springer-Verlag GmbH Deutschland, ein Teil von Springer Nature 2007, 2015, 2020
Das Werk einschließlich aller seiner Teile ist urheberrechtlich geschützt. Jede Verwertung, die nicht ausdrücklich vom Urheberrechtsgesetz zugelassen ist, bedarf der vorherigen Zustimmung des Verlags. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen, Bearbeitungen, Übersetzungen, Mikroverfilmungen und die Einspeicherung und Verarbeitung in elektronischen Systemen.
Die Wiedergabe von allgemein beschreibenden Bezeichnungen, Marken, Unternehmensnamen etc. in diesem Werk bedeutet nicht, dass diese frei durch jedermann benutzt werden dürfen. Die Berechtigung zur Benutzung unterliegt, auch ohne gesonderten Hinweis hierzu, den Regeln des Markenrechts. Die Rechte des jeweiligen Zeicheninhabers sind zu beachten.
Der Verlag, die Autoren und die Herausgeber gehen davon aus, dass die Angaben und Informationen in diesem Werk zum Zeitpunkt der Veröffentlichung vollständig und korrekt sind. Weder der Verlag, noch die Autoren oder die Herausgeber übernehmen, ausdrücklich oder implizit, Gewähr für den Inhalt des Werkes, etwaige Fehler oder Äußerungen. Der Verlag bleibt im Hinblick auf geografische Zuordnungen und Gebietsbezeichnungen in veröffentlichten Karten und Institutionsadressen neutral.

Planung/Lektorat: Stefanie Wolf
Springer Spektrum ist ein Imprint der eingetragenen Gesellschaft Springer-Verlag GmbH, DE und ist ein Teil von Springer Nature.
Die Anschrift der Gesellschaft ist: Heidelberger Platz 3, 14197 Berlin, Germany

Vorwort zur dritten Auflage

„Lehrbücher sind veraltet. Verschwenden Sie nicht Ihre Zeit mit dem Schreiben eines Lehrbuchs. Heutzutage laden Lehrer, Studenten und Praktiker alles herunter, was sie aus dem Internet wissen müssen. Sie sind nicht mehr auf Lehrbücher angewiesen.

Diese und andere ähnlich „ermutigende" Aussagen wurden von einigen lieben Kollegen (…) gemacht, (…), als wir unseren Plan verkündeten, eine 3. Auflage zu schreiben. Aber (…) zahlreiche andere haben uns motiviert, sich zusammenzusetzen und wieder über das (…) Feld (…) nachzudenken, das uns während unserer gesamten wissenschaftlichen Laufbahn begleitet hat. Und Sie gewannen. Hier ist sie, die 3. Auflage. Deshalb sind wir auch der Meinung, dass Lehrbücher mehr denn je gebraucht werden: in einer Zeit, in der die Zahl der wissenschaftlichen Publikationen weiter explodiert, besteht von Zeit zu Zeit die Notwendigkeit, den Stand der Technik in einem bestimmten Bereich ganzheitlicher zu bewerten und (…) zusammenzufassen, (…). Mit anderen Worten, zwischen zwei physischen oder imaginären Buchdeckeln, den Versuch zu machen, ein bestimmtes Feld zu definieren und einen Bericht zu geben, wo dieses Feld steht. Natürlich stellt ein solcher Versuch nur die voreingenommene, persönliche Sicht der Buchautoren dar, aber das ist vielleicht besser, als überhaupt keine Sicht zu haben."

(Übersetzung des Preface, Schwarzenbach, R. P., Gschwend, P. M., Imboden, D. M. 2016. Environmental Organic Chemistry. 3. Auflage. Wiley).

Wir können die Situation nicht besser beschreiben. Wir sind auch Wiederholungstäter. Was wurde alles geändert:

Jetzt soll eine On-Line-Version dem Leser zur Verfügung stehen. Dem Wunsch von Lesern entsprechend wurden farbige Abbildungen, wenn sinnvoll, erstellt.

Das Kapitel zur Abluftreinigung wurde auf den Hinweis von Christoph Sager (VDI) hin von Grund auf neu und umfassender dargestellt. Vielen Dank für die Anregungen.

Wenn neue Daten oder Forschungsergebnisse von Interesse auftauchten, wurden sie eingebaut.

Ohne die Unterstützung und Sachkunde des Verlages, insbesondere Kent Muller und sein Team, bei der Überarbeitung und redaktionellen Arbeit wäre die neue Auflage nicht entstanden.

Wir gedenken in Dankbarkeit des verstorbenen Begründers dieses Buches, Wolfgang Fritsche. Erinnert werden soll auch an David T. Gibson, den „Vater" des aeroben Aromatenabbaus und ein vorbildlicher wissenschaftlicher Motivator.

Walter Reineke
Michael Schlömann
Wuppertal und Freiberg
im Januar 2020

Vorwort zur zweiten Auflage

Viele Jahre sind vergangen, seit wir zu der Reise aufgebrochen sind, das Lehrbuch „Umweltmikrobiologie“ zu schreiben. Wir haben jetzt noch weitere Themen aus dem „alten“ Fritsche durchgearbeitet und in die 2. Auflage eingegliedert.

Dank geht zuerst an unsere Leserinnen und Leser für kritische Anmerkungen, Hinweise auf Fehler, Wünsche und Anregungen für Änderungen und Ergänzungen.

Was ist alles verändert und ergänzt worden: Es wurde versucht, das Kapitel „Globale Umwelt. Klima und Mikroorganismen“ mit Daten der IPCC auf den neusten Stand zu bringen. Dennoch bleibt es generell schwer, bei Zahlen immer aktuell zu sein. Doch auch alte Informationen sind wichtig dargestellt zu werden, wie das Haber-Bosch-Verfahren. „Mikroorganismen, Akteure in der Umwelt“ wurde neu geschrieben und Informationen zu Mykorrhiza und Marinen Symbiosen eingearbeitet. Beim mikrobiellen Stoffwechsel werden die Phototrophie und auch Autotrophietypen behandelt. Schwermetalle und andere toxische anorganische Ionen werden breiter diskutiert. Sehr aktuell sind kulturunabhängige Techniken zur Beschreibung von mikrobiellen Lebensgemeinschaften: Metagenomik, DNA-MicroArray. Doch auch die Diskussion um Künstliche Organismen wird angeregt. Biokorrosion und deren Auswirkungen werden angesprochen. Eigene Erfahrungen mit fremdstoffabbauenden Organismen fließen ein, um Gedanken zur Isolierbarkeit von Mikroorganismen anzuregen. Den Spezialisten, die wir beide nun einmal sind, interessierte Neues zur Biochemie von Aromaten und Methan im Grenzbereich von oxisch und anoxisch. Aktuelle Diskussionen wie Biosprit und Nachhaltigkeit sowie ihre Beurteilung wurden aufgegriffen. Ein faszinierendes Thema ist der Ozean mit seinen Habitaten, das erst in den letzten Jahren zugänglich wurde.

Für diese Auflage wurden also zahlreiche Kapitel neu geschrieben und erweitert. Es sollte dabei deutlich werden, dass das Zusammenwirken der Organismen im Naturhaushalt ohne eingehende Kenntnis der Physiologie der Bakterien nicht zu verstehen ist. Bakterien sind wichtige, unersetzliche Teilglieder in den Kreisläufen der Stoffe auf unserem Planeten.

Im Vorwort zur 1. Auflage des „Stryer-Biochemie“ stand der folgende treffende Spruch: „Wollte ich Vollkommenheit anstreben, würde mein Buch nie fertig“ (vom chinesischen Gelehrten Tai T’ung, der im 13. Jahrhundert lebte).

Dass jetzt ein „fertiges“ Buch vorliegt, verdanken wir dem Engagement und der Sachkunde des Verlages. Ohne die Unterstützung bei der Überarbeitung und redaktionellen Arbeit wäre die neue Auflage nicht entstanden.

Wir hoffen, dass das Buch in der vorliegenden Form seinen Zweck als verlässliche Hilfe beim Studium der Umweltwissenschaften erfüllt und dass die Arbeit mit diesem Buch Freude bereitet.

Wir wünschen, dass Leser und Leserinnen die Umweltmikrobiologie nicht nur als Lernstoff, sondern als faszinierende Wissenschaft begreifen, die alle Bereiche der Biologie, bis hin zur Landwirtschaft, bis in unser tägliches Leben beeinflusst.

Walter Reineke
Michael Schlömann
Wuppertal und Freiberg
im Januar 2014

Vorwort zur ersten Auflage

Vor etwa 20 Jahren kam ein klein-formatiges Buch „Umwelt-Mikrobiologie. Mikrobiologie des Umweltschutzes und der Umweltgestaltung“ von Wolfgang Fritsche in meine Hände, in einer Zeit als ich begann, eine erste Vorlesung über Umweltmikrobiologie zu entwickeln. Es war eine große Hilfe, in einer Zeit als Umwelthemen begannen, in der Öffentlichkeit registriert zu werden.

Dann 1998 wurde die zweite Auflage in einem größeren Format den Studenten und auch den Lehrenden unter dem Titel „Umwelt-Mikrobiologie. Grundlagen und Anwendungen“ in die Hand gegeben.

Jetzt wurde die Aufgabe der Auffrischung in unsere Hände gelegt. Jeder Stein wurde angefasst, hochgehoben, gedreht und dann je nach Beurteilung an den alten Platz zurückgelegt oder aussortiert und durch einen anderen Stein ersetzt oder vielleicht nur an einer anderen Stelle eingebaut. Man wird deshalb einiges wieder erkennen, sicherlich manches nicht. Es haben Personen mit einem anderen Umfeld, anderen Orientierungen, anderer Interessenlage an der Veränderung gearbeitet. Die bewährte „Umweltmikrobiologie“ von Fritsche wurde komplett überarbeitet. Insbesondere wurden methodische Aspekte zur Untersuchung mikrobieller Lebensgemeinschaften berücksichtigt. Hierbei wurde u. a. der Versuch unternommen, auch dem Nicht-Biologen die Prinzipien hinter den modernen molekulargenetischen Untersuchungsmethoden verständlich zu machen. Stärker berücksichtigt wurden auch physiologische Anpassungen der Mikroorganismen an unterschiedliche Lebensräume. Wie schon bisher wird die herausragende Rolle der Mikroorganismen in verschiedenen Stoffkreisläufen dargestellt. Globale und lokale Prozesse werden angesprochen sowie der mikrobielle Einfluss auf sie. Neben biochemischen Grundlagen zum Abbau von Umweltchemikalien wird auch der Einsatz von Mikroorganismen in umweltbiologischen Verfahren zur Reinhaltung bzw. Reinigung von Luft, Wasser und Boden diskutiert. Schließlich findet wie bisher der Einsatz von Mikroorganismen oder ihren Enzymen im Produkt-orientierten Umweltschutz eine Berücksichtigung.

Gedacht ist das Buch nicht nur für Biologen mit Interesse an umweltmikrobiologischen Fragen, sondern auch für Studierende der Verfahrenstechnik oder Umweltverfahrenstechnik, der Geoökologie oder Geologie sowie Studenten anderer Fachrichtungen, die die Umweltmikrobiologie nicht nur als *black box* betrachten, sondern einen Einblick in die Zusammenhänge und gegenseitigen Abhängigkeiten erhalten wollen.

Einiges aus unseren eigenen Vorlesungen ist hier unverkennbar in das Buch eingeflossen. Die Vorlesung „Umweltmikrobiologie“ sollte den Chemikern im Rahmen der „Umweltchemie“ biologische, biochemische Aspekte nahebringen, also ist die Chemie von Umweltchemikalien ein wichtiger Teil des „Neuen Fritsche“.

Fruchtbare, aber auch kritische Diskussionen fanden in den Seminaren und Vorlesungen statt, um eine realistische Einschätzung von Umweltproblemen zu erarbeiten.

Mikrobiologische Lösungswege bei Umweltproblemen wurden auf ihre Vor- und Nachteile gegenüber anderen Konzepten kritisch analysiert.

Auch unsere eigenen Wurzeln im Themengebiet der Umweltmikrobiologie sind sicherlich nicht zu übersehen. Vieles an unseren Kenntnissen zum Umweltverhalten von Chloraromaten ist also eingeflossen.

Es gibt heute methodische Möglichkeiten, die bei unseren eigenen anfänglichen Forschungen noch nicht zur Verfügung standen bzw. an die noch nicht gedacht worden ist: Die DNA ganzer Organismen ist heute sequenziert, über Biodiversität und Evolution lässt sich fundierter reden. Auch kann heute die ganze Breite der verschiedenen biologischen und chemischen Ebenen im Zusammenhang mit Umweltchemikalien analysiert werden: die Organismen, die Chemie von Abbauwegen, die Biochemie der Abbauwege, die zugrunde liegende Genstruktur bezüglich Strukturgenen sowie Regulation, sowie mögliche Ursprünge für die Abbausequenzen.

Doch sind wir bei der Beschreibung/Erklärung von Ökosystemen weiter gekommen? Schleifer und Ziegler (2002) schreiben:

„Seitdem es durch den Einsatz neuer, insbesondere molekularer Methoden gelungen ist, Mikroorganismen ohne vorherige Kultivierung zu identifizieren und Einblick in ihre Funktion zu erhalten, hat sich unser Wissen über das Vorkommen und die ökologische Bedeutung dieser Kleinstlebewesen enorm erweitert. Dennoch ist die Mehrzahl der Mikroorganismen auch heute noch nicht untersucht und ihre vielfältigen Funktionen im Ökosystem sind bei weitem noch nicht aufgeklärt."

Die biochemischen Leistungen der Mikroorganismen sind einzigartig und von globaler Bedeutung. Im vorliegenden Buch wurde eine Vielzahl dieser mikrobiellen Funktionen vorgestellt. Wir wollen mit dem Buch helfen, einige Umweltphänomene besser zu verstehen, wir wollen aufmerksam machen, eine sachliche Diskussion ermöglichen.

Wem müssen, wollen wir danken?
- Herrn Fritsche, dass er die Fortführung seines Werkes uns anvertraut hat.
- Dem Spektrum Verlag, Frau Martina Mechler und Herrn Dr. Ulrich Moltmann für außerordentlich viel Geduld und den festen Glauben, dass wir etwas sinnvolles, dann irgendwann abliefern werden.
- Herrn Christian Mandt für geduldige sehr fruchtbare Diskussionen. Immer dann, wenn der Biologe mal wieder einen Chemiker zur Klärung brauchte. Allgemein für sein großes nimmer müdes Interesse, seine Offenheit.
- Den Studenten, die mit viel Interesse, sich den Ihnen dargebotenen Themen der Umweltmikrobiologie gestellt haben, und mir mit Ihren kritischen Fragen zu neuen Ufern verholfen haben. Fast jede Veranstaltung war der Start zum weiteren Suchen und Klären.
- Nicht zuletzt gilt ein herzlicher Dank unseren Familien, ohne deren stete Hilfe das Buch nicht entstanden wäre.

Ein Buch kann nicht ohne Fehler sein. Wir freuen uns deshalb über jeden Kommentar der Nutzer dieses Buches. Mailen Sie uns unter:

reineke@uni-wuppertal.de oder michael.schloemann@ioez.tu-freiberg.de

Schleifer, K.-H., Ziegler, H. 2002. Vorwort. *In:* Bedeutung der Mikroorganismen für die Umwelt: Rundgespräch der Kommission für Ökologie, Bayerische Akademie der Wissenschaften. Verlag Dr. Friedrich Pfeil. Band 23, S. 9.

Walter Reineke
Michael Schlömann
im Dezember 2006

Schreibweisen und Abkürzungen

Zugunsten einer möglichst einfachen und übersichtlichen Darstellung der Stoffwechselprozesse sind konventionelle Unkorrektheiten mit Absicht übernommen worden. Ladungsverhältnisse bei organischen Verbindungen sind also nicht berücksichtigt. Organische Säuren wurden als Salz, z. B. Pyruvat statt Brenztraubensäure, Succinat statt Bernsteinsäure oder Benzoat statt Benzoesäure bezeichnet, aber durchweg als undissozierte Säure abgebildet, obwohl in der Zelle, in welcher der pH-Wert um 7 liegt, die dissoziierte Verbindung vorliegt.

Inhaltsverzeichnis

1 **Globale Umwelt. Klima und Mikroorganismen** 1
1.1 **Klimasystem** 3
1.1.1 Komponenten des Klimasystems 3
1.1.2 Wechselwirkungen zwischen den Komponenten 7
1.1.3 Energiebilanz der Erde 8
1.1.4 Klimaänderungen und ihre Auswirkungen 9
1.1.5 Welche Stoffe haben welchen Effekt auf das Klima 15
1.1.6 Projektionen 15
1.2 **Globale Kreisläufe mit Reservoirs und Stoffflüssen** 18
1.2.1 Globaler Kohlenstoffkreislauf 18
1.2.2 Globaler Stickstoffkreislauf 21
1.2.3 Globaler Schwefelkreislauf 27
1.2.4 Globaler Phosphorkreislauf 30
1.2.5 Zusammenfassung globale Kreisläufe 31
Literatur 33

2 **Mikroorganismen, Akteure in der Umwelt** 35
2.1 **Mikroorganismen, Zuordnung zu Gruppen** 36
2.2 **Mikroorganismen, der Vorteil einer geringen Größe** 40
2.3 **Mikroorganismen, klein aber viele** 41
2.4 **Mikroorganismen, leben nicht alleine** 42
Literatur 54

3 **Zusammenhang von mikrobieller Energiegewinnung und Stoffkreisläufen** 57
3.1 **Prinzipien der Energiegewinnung** 58
3.1.1 Atmungsketten und ATP-Synthase 64
3.2 **Haupttypen des mikrobiellen Stoffwechsels** 68
3.2.1 Phototrophie 68
3.2.2 Chemotrophie 71
3.2.3 Kohlenstoffquelle: Hetero- und Autotrophie 73
Literatur 74

4 **Kohlenstoffkreislauf** 77
4.1 **Entstehung der Erdatmosphäre und der fossilen Rohstoffe** 78
4.2 **Stoffflüsse im Kohlenstoffkreislauf** 79
4.3 **Autotrophe CO_2-Fixierung** 82
4.3.1 Calvin-Zyklus 85
4.3.2 Reduktiver Citrat-Zyklus 86
4.3.3 Reduktiver Acetyl-CoA-Weg (Acetogenese) 88
4.3.4 CO_2-Fixierungszyklus in *Crenarchaeota* 89
4.3.5 3-Hydroxypropionat-Bi-Zyklus 91
4.3.6 Vergleich der Prozesse der CO_2-Fixierung 93

4.4 **Abbau von Naturstoffen** ... 93
4.4.1 Abbau von Kohlenhydraten ... 93
4.4.2 Abbau von Proteinen ... 102
4.4.3 Abbau von Fetten ... 102
4.4.4 Abbau von pflanzlichen Substanzen/Lignin und anderen Naturstoffen/Humusentstehung ... 104
4.5 **Methankreislauf/methanogene Nahrungskette/Methanotrophie** ... 117
4.5.1 Methanbildung ... 117
4.5.2 Methanabbau ... 124
Literatur ... 133

5 **Umweltchemikalien** ... 137
5.1 **Chemikalien in der Umwelt: Ausbreitung und Konzentration** ... 138
5.1.1 Transportprozesse ... 140
5.1.2 Transferprozesse zwischen Umweltmedien oder Kompartimenten ... 141
5.1.3 Transformationsprozesse ... 144
5.2 **Beurteilung von Chemikalien: Allgemeine Prinzipien und Konzepte** ... 148
5.2.1 Abbaubarkeitstests ... 153
5.2.2 Toxizitäts- und Mutagenitätsprüfungen mit mikrobiellen Systemen ... 163
Literatur ... 171

6 **Mikrobieller Abbau von Schadstoffen** ... 173
6.1 **Abbau von Kohlenwasserstoffen** ... 175
6.1.1 Erdöl: Zusammensetzung und Eigenschaften ... 175
6.1.2 Der Ablauf einer Verölung im Meer ... 177
6.1.3 Abbau von Alkanen, Alkenen und cyclischen Alkanen ... 178
6.1.4 Abbau von monoaromatischen Kohlenwasserstoffen ... 186
6.1.5 Abbau und Humifizierung von Mehrkern-Kohlenwasserstoffen ... 208
6.1.6 Abbau von Heterocyclen ... 213
6.1.7 Bildung von Biotensiden/Aufnahme von Mineralöl-Kohlenwasserstoffen ... 219
6.2 **Abbau chlorierter Schadstoffe** ... 225
6.2.1 Abbau von Chloraromaten ... 225
6.2.2 Abbau von Hexachlorcyclohexan ... 242
6.2.3 Abbau von Triazinen ... 247
6.2.4 Abbau von Chloraliphatischen Verbindungen ... 249
6.2.5 Organohalogene aus der Natur/aus natürlichen Quellen ... 263
6.3 **Abbau und Humifizierung von Nitroaromaten** ... 265
6.3.1 Umweltproblem durch Nitroaromaten ... 265
6.3.2 Möglichkeit des mikrobiellen Abbaus von Nitroaromaten ... 266
6.3.3 Eliminierung von Trinitrotoluol durch Sequestierung an Boden ... 270
6.4 **Abbau von aromatischen Sulfonsäuren und Azofarbstoffen** ... 271
6.4.1 Aromatische Sulfonsäuren ... 271
6.4.2 Abbau von Azofarbstoffen ... 276
6.5 **Kunststoffe, Biokunststoffe** ... 277
6.5.1 Abbaubarkeit von Kunststoffen ... 279
6.5.2 Biokunststoff ... 283
6.5.3 Eine Einschätzung zur ökologischen Bewertung von Kunststoffen und Biokunststoffen ... 286

6.6 **Komplexbildner: Aminopolycarbonsäuren** ... 288
6.7 **Endokrin wirksame Verbindungen** ... 290
6.7.1 Tributylzinnverbindungen ... 290
6.7.2 Alkylphenole ... 291
6.7.3 Bisphenol A ... 293
6.8 **Methyl-*tert*-butylether** ... 293
6.9 **Glyphosat** ... 296
Literatur ... 298

7 **Der mikrobielle Stickstoffkreislauf** ... 305
7.1 **Stickstofffixierung** ... 307
7.2 **Ammonifikation** ... 311
7.3 **Nitrifikation** ... 311
7.4 **ANAMMOX** ... 315
7.5 **Nitratreduktion** ... 315
7.5.1 Denitrifikation ... 315
7.5.2 Dissimilatorische Nitratreduktion zu Ammonium ... 317
Literatur ... 318

8 **Kreisläufe von Schwefel, Eisen und Mangan** ... 321
8.1 **Schwefelkreislauf** ... 322
8.1.1 Sulfatreduktion ... 322
8.1.2 Reduktion von Elementarschwefel ... 326
8.1.3 Schwefeldisproportionierung ... 326
8.1.4 Oxidation von Sulfid und Elementarschwefel ... 326
8.1.5 Organische Schwefelverbindungen ... 331
8.2 **Der Eisenkreislauf** ... 333
8.2.1 Oxidation von zweiwertigem Eisen ... 334
8.2.2 Reduktion von dreiwertigem Eisen ... 341
8.3 **Der Mangankreislauf** ... 341
8.3.1 Oxidation von zweiwertigem Mangan ... 341
8.3.2 Reduktion von vierwertigem Mangan (Mn^{4+}): anaerobe Atmung ... 342
Literatur ... 342

9 **Schwermetalle und andere toxische anorganische Ionen** ... 345
9.1 **Toxizität** ... 346
9.2 **Umweltqualitätsnormen** ... 347
9.3 **Natürliche und anthropogene Vorkommen** ... 347
9.4 **Resistenz von Mikroorganismen** ... 350
9.5 **Quecksilber** ... 353
9.6 **Arsen** ... 356
9.6.1 Arsenitoxidation ... 357
9.6.2 Arsenatreduktion ... 357
9.6.3 Arsenatmethylierung ... 357
9.7 **Selen** ... 357
9.8 **Uran** ... 360
Literatur ... 361

10 **Mikroorganismen an unterschiedlichen Standorten: Lebensbedingungen und Anpassungsstrategien** 365
10.1 **Mikrobielle Konkurrenz und Kooperation** 370
10.1.1 Wachstumsraten und Nährstoffkonzentrationen 370
10.1.2 Adaptation 374
10.1.3 Mischsubstrate 382
10.1.4 Grenzkonzentrationen 383
10.1.5 Mikrobielle Kooperation 384
10.2 **Anheftung an Oberflächen und Biofilme** 385
10.2.1 Oberflächen 385
10.2.2 Biofilme 385
10.3 **Boden als mikrobielles Habitat** 388
10.4 **Aquatische Biotope** 395
10.4.1 Süßwasser Umgebung 395
10.4.2 Marine Umgebungen 399
Literatur 413

11 **Mikrobielle Lebensgemeinschaften. Strukturelle und funktionelle Analysen mit klassischer Vorgehensweise** 417
11.1 **Summarische Methoden** 418
11.1.1 Bestimmung von Keimzahlen und Biomassen 418
11.1.2 Bestimmung von Aktivitäten 423
11.2 **Nachweis bestimmter Mikroorganismen** 428
11.3 **Mikroorganismen, aus der Natur ins Labor, die Isolierung von Reinkulturen** 433
11.3.1 Organismen nicht kultivierbar? 433
11.3.2 Isolierung und Probleme 434
11.3.3 Anreicherungssystem 435
11.3.4 Analoganreicherung: Sinn oder Unsinn? 436
11.3.5 Impfmaterial für eine Anreicherungskultur 436
Literatur 440

12 **Mikrobielle Lebensgemeinschaften. Strukturelle und funktionelle Analysen mit molekularbiologischer Vorgehensweise** 443
12.1 **Grundlegende molekulargenetische Methoden zur Klassifizierung und Identifizierung von Reinkulturen** 445
12.2 **Molekulargenetische Methoden zur Charakterisierung von Lebensgemeinschaften** 456
12.3 **Metagenomik** 470
12.3.1 Gemeinschaft eines sauren Minenwassers 470
12.3.2 Gemeinschaft der Sargasso See 473
12.3.3 Die Global Ocean Sampling Expedition 475
12.3.4 Sequenzdaten und Funktionalität – eine kritische Sicht 480
Literatur 481

13 **Schäden an anorganischen Materialien durch mikrobielle Aktivitäten, Biokorrosion** 485
13.1 **Eisenkorrosion** 486

13.2 **Betonkorrosion** ... 489
13.3 **Gebäudekorrosion/Schädigung von Stein** ... 490
Literatur ... 490

14 **Biologische Abwasserreinigung** ... 491
14.1 **Entstehung und Zusammensetzung von Abwässern** ... 492
14.2 **Abwasserreinigung in mechanisch-biologischen Kläranlagen mit aerober Stufe** ... 495
14.3 **Biologische Phosphateliminierung** ... 502
14.4 **Stickstoffeliminierung bei der Abwasserreinigung** ... 506
14.5 **Anaerobe Schlammbehandlung, direkte anaerobe Abwasserreinigung und Biogasgewinnung** ... 510
14.6 **Reinigung von Industrieabwässern** ... 514
14.7 **Naturnahe Abwasserbehandlungsverfahren** ... 515
Literatur ... 516

15 **Biologische Abluftreinigung** ... 517
15.1 **Probleme mit Abluftströmen** ... 518
15.2 **Mikrobielle Abluftreinigung, allgemeine Grundlagen** ... 521
15.3 **Abluftreinigungssysteme: Biofilter** ... 526
15.4 **Abluftreinigungssysteme: Biowäscher** ... 529
15.5 **Abluftreinigungssysteme: Tropfkörper-Wäscher** ... 535
15.6 **Abluftreinigungssysteme: Membranreaktoren** ... 537
15.7 **Auswahlkriterien für Verfahrenswahl** ... 537
Literatur ... 540

16 **Biologische Bodensanierung** ... 545
16.1 **Altlasten-Problematik** ... 546
16.2 **Verfahren der biologischen Bodensanierung** ... 547
16.2.1 *Ex situ*-Verfahren ... 551
16.2.2 *In situ*-Bodensanierung ... 557
Weiterführende Literatur ... 565

17 **Biologische Abfallbehandlung** ... 567
17.1 **Abfall-Problematik** ... 568
17.2 **Verfahren der biologischen Abfallverwertung** ... 571
17.2.1 Der Kompostierungsprozess ... 571
17.2.2 Kompostierungsverfahren ... 573
17.2.3 Anaerobe Abfallbehandlung durch Vergärung ... 574
Literatur ... 575

18 **Biotechnologie und Umweltschutz** ... 577
18.1 **Biologische Schädlingsbekämpfung** ... 578
18.1.1 Bioinsektizide ... 578
18.1.2 Biofungizide und -herbizide ... 586
18.2 **Design neuer Chemikalien** ... 587
18.2.1 Struktur-Wirkungs-Beziehung/Vorhersage der Abbaubarkeit ... 588
18.2.2 Abbaubare Alternativen zu heutigen Chemikalien ... 592

18.3 **Produktintegrierter Umweltschutz durch Biotechnologie** ... 595
18.3.1 Verfahrensvergleich: Biotechnische und chemisch-technische Prozesse ... 598
18.3.2 Umweltentlastungseffekte durch Produktsubstitution ... 602
18.3.3 Zusammenfassung PIUS ... 602
18.4 **Biokraftstoffe** ... 604
18.4.1 Bioethanol ... 605
18.4.2 Biodiesel ... 606
18.4.3 Biomass-to-Liquid-Kraftstoff ... 607
18.5 **Strom aus Mikroorganismen** ... 607
18.5.1 Wasserstoff-Produktion in Bioreaktoren für konventionelle Brennstoffzellen ... 608
18.5.2 Mikrobielle Herstellung von Brennstoff im Anodenraum der Brennstoffzelle ... 608
18.5.3 Direkter Elektronentransport von der Zelle zur Elektrode ... 609
18.5.4 Mediatoren zum Elektronentransport ... 610
Literatur ... 612

19 **Denkanstöße** ... 617
19.1 **Nachhaltigkeit, der Begriff** ... 618
19.2 **Nachhaltigkeit, Umweltmikrobiologie ein Beitrag** ... 618
19.3 **Umwelt und Umweltmikrobiologie, Nachdenken** ... 619
Literatur ... 630

Serviceteil
Stichwortverzeichnis ... 635

Globale Umwelt. Klima und Mikroorganismen

1.1 Klimasystem – 3
1.1.1 Komponenten des Klimasystems – 3
1.1.2 Wechselwirkungen zwischen den Komponenten – 7
1.1.3 Energiebilanz der Erde – 8
1.1.4 Klimaänderungen und ihre Auswirkungen – 9
1.1.5 Welche Stoffe haben welchen Effekt auf das Klima – 15
1.1.6 Projektionen – 15

1.2 Globale Kreisläufe mit Reservoirs und Stoffflüssen – 18
1.2.1 Globaler Kohlenstoffkreislauf – 18
1.2.2 Globaler Stickstoffkreislauf – 21
1.2.3 Globaler Schwefelkreislauf – 27
1.2.4 Globaler Phosphorkreislauf – 30
1.2.5 Zusammenfassung globale Kreisläufe – 31

Literatur – 33

© Springer-Verlag GmbH Deutschland, ein Teil von Springer Nature 2020
W. Reineke und M. Schlömann, *Umweltmikrobiologie,* https://doi.org/10.1007/978-3-662-59655-5_1

1

Das Leben auf der Erde hat sich selbst die Atmosphäre geschaffen, die für sein Überleben notwendig ist. Das Weltklima ist nicht nur eine Funktion der Atmosphärenphysik, sondern auch der Atmosphärenchemie. Diese ist sehr dynamisch und zu einem großen Teil das Ergebnis der Biosphäre und damit mikrobieller Prozesse.

Die meisten Atmosphärengase unterliegen Zyklen, die mehr oder weniger durch die Biosphäre dominiert werden. So tragen die Leistungen der Mikroorganismen in den globalen Stoffkreisläufen in entscheidendem Maße zu dem Gleichgewicht bei, das sich in der Erdgeschichte herausgebildet hat. Die Bewahrung dieses Gleichgewichtes ist die Voraussetzung für die Sicherung der Lebensbedingungen auf der Erde. Um dies zu gewährleisten, müssen durch menschliche Aktivitäten entstandene Umweltprobleme erkannt und eine Beseitigung betrieben werden.

Mikroorganismen haben neben der bedeutenden Rolle in den globalen Stoffkreisläufen einen unverzichtbaren Anteil an der Bewältigung beziehungsweise Beseitigung von örtlich begrenzten Umweltproblemen.

Beispiele für globale Umweltprobleme

- Verschlechterung der Luftqualität: Globale Verschmutzung aufgrund industrieller Verbrennung und Biomasse-Verbrennung
- Anstieg des Vorkommens von troposphären Oxidanzien inklusive Ozon und ähnliche Einflüsse auf die Biosphäre und menschliche Gesundheit
- Änderungen in der Selbstreinigungskapazität der Atmosphäre und in der Verweildauer von anthropogenen Spurengasen
- Klimatische und umweltrelevante Änderungen im Landgebrauch wie zum Beispiel Abholzung von tropischem Regenwald, Trockenlegung von Sümpfen
- Störung der biogeochemischen Zyklen von Kohlenstoff, Stickstoff, Phosphor und Schwefel
- Saurer Regen
- Klimaänderungen (global Warming) resultierend aus der ansteigenden Emission von CO_2 und anderer Treibhausgase und Konsequenzen daraus
- Klimatische Wirkung (regionale Abkühlung) durch Sulfat-Aerosole aufgrund anthropogener SO_2-Emission
- Abnahme des stratosphärischen Ozons (Ozonloch) verbunden mit einem Anstieg der UV-B-Strahlung auf der Erdoberfläche mit ihren Wirkungen auf die Biosphäre und die menschliche Gesundheit

Beispiele für regionale (örtlich begrenzte) Umweltprobleme in Wasser und Boden (marine und terrestrische Biosphären)

- Massentierhaltung und die resultierende Kontamination des Grundwassers mit Nitrat
- Überdüngung und Abfluss in die Gewässer
- Verwendung von Bioziden und Verunreinigung des Grundwassers zum Beispiel mit Triazinen
- Abwasser und Verunreinigung von Fließgewässern, Seen und Meer mit Phosphaten zum Beispiel Eutrophierung – Sauerstoffzehrung, Störung der Selbstreinigungskraft der Gewässer
- Abwasser und die Wirkung von Schwermetallen auf die menschliche Gesundheit: zum Beispiel Minamata-Krankheit (Quecksilber), Itai-Itai-Krankheit (Cadmium)
- Unfälle in der Industrie: Verunreinigung des Rheins durch Chemiebrand in Basel
- Bodenkontamination und Verunreinigung von Gewässern durch Unfälle beim Transport von Chemikalien und Öl
- Boden- und Grundwasserkontamination durch Abflüsse von Deponien und Altlasten (Schadstoffe)

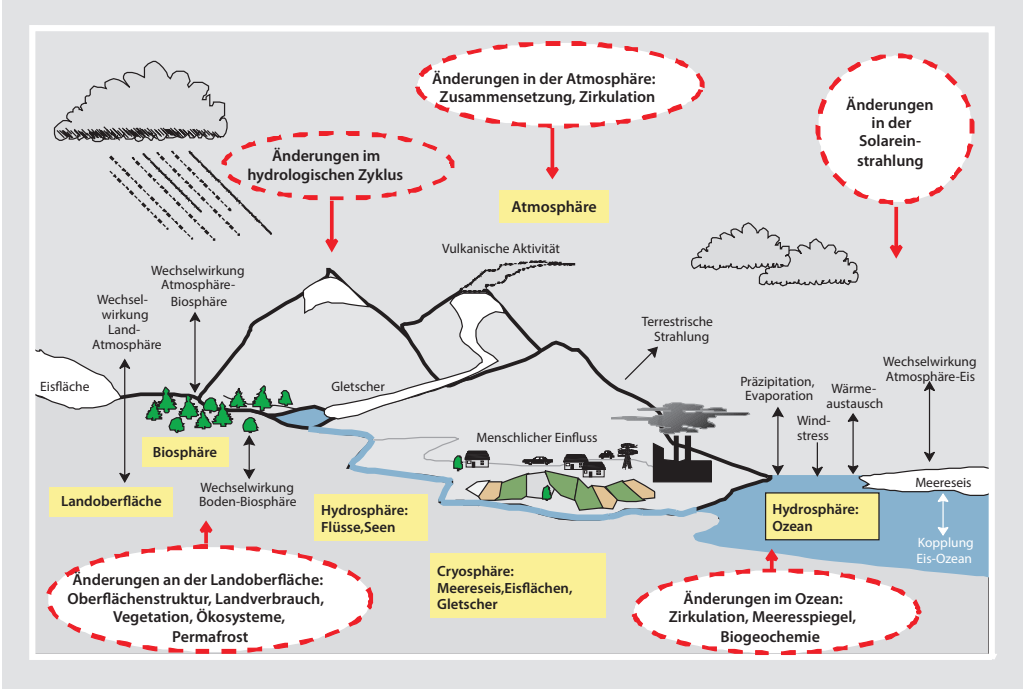
1.1 Klimasystem

1.1.1 Komponenten des Klimasystems

Das Klimasystem ist ein interaktives System, welches aus fünf Hauptkomponenten besteht (◘ Abb. 1.1): die Atmosphäre, die Hydrosphäre, die Cryosphäre, die Landoberfläche und die Biosphäre, angetrieben oder beeinflusst durch verschiedene externe Forcierungsmechanismen, wobei die Sonne der wichtigste ist. Aber auch den direkten Effekt durch menschliche Aktivitäten auf das Klimasystem betrachtet man als einen externen Antrieb.

Die **Atmosphäre** ist der am stärksten instabile und sich rasch ändernde Teil des Systems. Seine Zusammensetzung, welche sich im Laufe der Evolution der Erde geändert hat, ist von zentraler Bedeutung für das Problem des Klimas (zum Aufbau und der Orientierung in den verschiedenen Ebenen, siehe ◘ Abb. 1.2).

Die trockene Atmosphäre der Erde ist hauptsächlich aus Stickstoff (N_2), Sauerstoff (O_2) und Argon (Ar) zusammengesetzt. Diese Gase habe nur geringe Wechselwirkung mit der hereinkommenden Sonnenstrahlung und sie interagieren nicht mit der Infrarotstrahlung, die von der Erde emittiert wird. Es gibt jedoch eine Anzahl von Spurengasen, wie Kohlendioxid (CO_2), Methan (CH_4), Distickstoffmonoxid (N_2O, Lachgas) und Ozon (O_3), die Infrarotstrahlung absorbieren und emittieren. Diese sogenannten Treibhausgase, welche jedoch in trockener Luft weniger als 0,1 % des Gesamtvolumens ausmachen, spielen eine essenzielle Rolle im Energiehaushalt der Erde. Außerdem enthält die Atmosphäre Wasserdampf, welcher ebenfalls ein Treibhausgas ist. Sein Anteil am Volumen der Luft ist sehr



◘ **Abb. 1.1** Die klimabestimmenden Komponenten und ihre Wechselwirkungen. (Verändert nach IPCC, 2001, 2007)

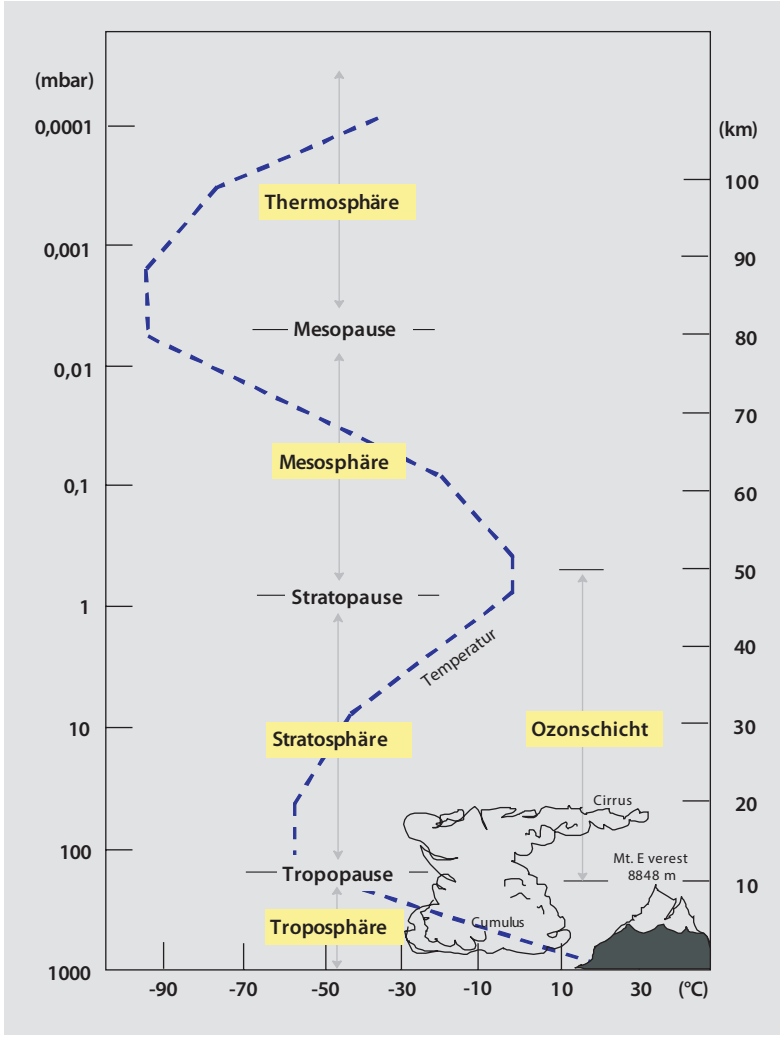


Abb. 1.2 Aufbau der Atmosphäre mit dem Temperaturprofil

variabel, aber er liegt in der Größenordnung von 1 %. Da diese Treibhausgase die Infrarotstrahlung, die von der Erde emittiert wird, absorbieren und sie herauf und herunter emittieren, führen sie zum Anstieg der Temperatur in der Nähe der Erdoberfläche. Wasserdampf, CO_2 und O_3 absorbieren auch die kurzwellige Strahlung (Tab. 1.1).

Die Verteilung von Ozon in der Atmosphäre und seine Rolle im Energiehaushalt der Erde sind einzigartig. Ozon wirkt im unteren Teil der Atmosphäre, der Troposphäre und der unteren Stratosphäre als Treibhausgas. Höher in der Stratosphäre gibt es eine natürliche Schicht von hoher Ozonkonzentration, welche ultraviolette Sonnenstrahlung absorbiert. So spielt die sogenannte Ozonschicht eine essenzielle Rolle im Strahlungsgleichgewicht der Stratosphäre, gleichzeitig filtert sie die schädliche Form der Strahlung heraus.

Neben diesen Gasen enthält die Atmosphäre feste und flüssige Partikel (Aerosole) und Wolken, welche mit der ein- und heraustretenden Strahlung in einer komplexen und

Tab. 1.1 Chemische Zusammensetzung der Atmosphäre. (Nach Brasseur et al., 1999; Conrad, 1996; Schlesinger, 1997)

Substanz	Formel	Anteil in trockener Luft	Hauptquelle	Einfluss auf Atmosphäre	Halbwertszeit
Stickstoff	N_2	78,084 %	Biologisch	Kein	
Sauerstoff	O_2	20,948 %	Biologisch		
Argon	Ar	0,934 %		Inert	
Kohlendioxid	CO_2	360 ppmv	Verbrennung, Ozean, Biosphäre	Treibhauseffekt	
Neon	Ne	18,18 ppmv		Inert	
Helium	He	5,24 ppmv		Inert	
Methan	CH_4	1,7 ppmv	Biologisch und anthropogen	Treibhauseffekt, Troposphären- und Stratosphärenchemie	9 Jahre
Wasserstoff	H_2	0,55 ppmv	Biologisch, anthropogen, photochemisch	Unbedeutend	3 Jahre
Distickstoffmonoxid	N_2O	0,31 ppmv	Biologisch und anthropogen	Treibhauseffekt, stratosphären Chemie	120 Jahre
Kohlenmonoxid	CO	50–200 ppbv	Anthropogen und photochemisch	Troposphärenchemie	60 Tage
Ozon (Troposphäre)	O_3	10–500 ppbv	Photochemisch	Treibhauseffekt	
Ozon (Stratosphäre)	O_3	0,5–10 ppbv	Photochemisch		
Nicht-Methan Kohlenwasserstoffe	Zum Beispiel Isopren	5–20 ppbv	Biologisch und anthropogen		<1 Tag
Halokohlenwasserstoffe		3,8 ppbv	85 % anthropogen	Zum Teil Ozonloch	
Stickstoffspezies	NO_x	10 ppt–1 ppm	Böden, Blitze, anthropogen		1 Tag
Ammoniak	NH_3	10 ppt–1 ppb	Biologisch		5 Tage
Partikuläre Nitrate	NO_3^-	1 ppt–10 ppb	Photochemisch, anthropogen		

(Fortsetzung)

Tab. 1.1 (Fortsetzung)

Substanz	Formel	Anteil in trockener Luft	Hauptquelle	Einfluss auf Atmosphäre	Halbwertszeit
Partikuläres Ammonium	NH_4^+	10 ppt–10 ppb	Photochemisch, anthropogen		
OH-Radikal	$OH^{\cdot}$	0,1–10 ppt	Photochemisch	Reinigung der Atmosphäre	
Peroxy-Radikal	$HO_2^{\cdot}$	0,1–10 ppt	Photochemisch	Reinigung der Atmosphäre	
Wasserstoffperoxid	H_2O_2	0,1–10 ppb	Photochemisch		
Formaldehyd	CH_2O	0,1–1 ppb	Photochemisch		
Schwefeldioxid	SO_2	10 ppt–1 ppb	Photochemisch, vulkanisch, anthropogen		3 Tage
Dimethylsulfid	CH_3SCH_3	10–100 ppt	Biologisch	Wolkenbildung	1 Tag
Schwefelkohlenstoff	CS_2	1–300 ppt	Biologisch, anthropogen		
Kohlenoxidsulfid	COS	500 pptv	Biologisch, vulkanisch, anthropogen	Aerosolbildung	5 Jahre
Schwefelwasserstoff	H_2S	5–500 ppt	Biologisch, vulkanisch		4 Tage
Partikuläres Sulfat	SO_4^{2-}	10 ppt–10 ppb	Photochemisch, anthropogen		

teilweise sich ändernden Weise wechselwirken. Die am stärksten variable Komponente der Atmosphäre ist Wasser in seinen verschiedenen Formen als Dampf, Wolkentropfen und Eiskristalle. Wasserdampf ist das stärkste Treibhausgas. Der Transfer zwischen den verschiedenen Formen (Verdampfen/Kondensieren/Erstarren) nimmt viel Energie auf beziehungsweise gibt sie frei. Wasserdampf ist aus diesen Gründen bedeutend für das Klima und seine Variabilität und Änderung.

Die **Hydrosphäre** ist die Komponente, die das unterirdische Wasser und die gesamte flüssige Oberfläche umfasst, sowohl Süßwasser der Flüsse, Seen und Grundwasserleiter als auch Salzwasser der Ozeane und Meere. Der Abfluss von Süßwasser vom Land in die Ozeane durch die Flüsse beeinflusst die Zusammensetzung und Zirkulation. Die Ozeane bedecken ungefähr 70 % der Erdoberfläche. Sie speichern und transportieren eine große Menge an Energie und lösen und speichern große Mengen an CO_2.

Die Zirkulation, die durch den Wind und Dichteunterschiede aufgrund des Salzgehaltes und Temperaturgradienten *(thermohaline circulation)* angetrieben wird, ist sehr viel langsamer als die Zirkulation in der Atmosphäre.

Hauptsächlich aufgrund der starken thermischen Trägheit der Ozeane, dämpfen sie starke und schnelle Temperaturänderungen und fungieren als Regulator des Erdklimas und als Quelle für natürliche Klimaschwankungen über einen weiten Zeithorizont.

Die **Cryosphäre,** die die Eisflächen Grönlands und der Antarktis, kontinentale Gletscher und Schneefelder, Meereseis und Permafrostböden umfasst, hat ihre Bedeutung für das Klimasystem aus der hohen Reflektion (Albedo) für Sonnenstrahlung, ihrer geringen thermischen Leitfähigkeit, ihrer großen thermischen Trägheit. Sie spielt eine besonders kritische Rolle beim Antrieb der Zirkulation des Tiefenwassers der Ozeane. Da die Eisschichten große Mengen an Wasser speichern, sind Änderungen im Volumen eine mögliche Quelle für Varianz des Meeresspiegels.

Die Vegetation und die Böden der **Landoberfläche** beeinflussen, wieviel der von der Sonne erhaltenen Energie wieder in die Atmosphäre zurückgeführt wird. Einiges kehrt als Infrarotstrahlung zurück und erwärmt die Atmosphäre, wenn die Landoberfläche sich erwärmt. Ein Teil der Energie bewirkt das Verdampfen von Wasser entweder aus Boden oder aus Blättern der Pflanzen und führt so Wasser in die Atmosphäre zurück. Da das Verdampfen von Bodenfeuchte Energie benötigt, hat die Bodenfeuchte einen starken Einfluss auf die Oberflächentemperatur. Die Textur der Landoberfläche (seine Rauigkeit) beeinflusst die Atmosphäre dynamisch durch Wind über der Oberfläche. Die Rauigkeit ist beeinflusst durch die Topographie und Vegetation. Wind bläst zudem Staub von der Oberfläche in die Atmosphäre, welcher wiederum mit der atmosphärischen Strahlung wechselwirkt.

Die marinen und terrestrischen **Biosphären** haben einen bedeutenden Einfluss auf die Zusammensetzung der Atmosphäre. Die Lebewesen beeinflussen die Aufnahme und Abgabe der Treibhausgase. Durch die photosynthetischen Prozesse speichern marine und terrestrische Pflanzen (besonders Wälder) bedeutende Mengen Kohlenstoff. Deshalb spielt die Biosphäre auch eine zentrale Rolle im Kohlenstoffkreislauf wie auch im Haushalt vieler anderer Gase wie Methan und N_2O. Andere Emissionen der Biosphäre sind die sogenannten „volatile organic compounds (VOC)", welche bedeutende Effekte auf die Atmosphärenchemie, die Aerosolbildung und deshalb das Klima haben.

Da die Speicherung an Kohlenstoff und der Austausch der Spurengase durch das Klima beeinflusst werden, können Rückkopplungen zwischen Klimaänderung und Konzentrationen der Spurengase in der Atmosphäre erfolgen. Der Einfluss des Klimas auf die Biosphäre ist konserviert in Fossilien, Jahresringen der Bäume, Pollen und anderen Aufzeichnungen, sodass die Kenntnisse über früheres Klima von solchen Bioindikatoren stammen.

1.1.2 Wechselwirkungen zwischen den Komponenten

Viele physikalische, chemische und biologische Wechselwirkungsprozesse geschehen zwischen den verschiedenen Komponenten des Klimasystems in einem großen Raum und über lange Zeiträume. Sie machen das System extrem komplex. Obwohl die Komponenten des Klimasystems sich sehr in ihrer Zusammensetzung, ihrer physikalischen und chemischen Eigenschaften, Strukturen und Verhalten unterscheiden, sind sie über Massenflüsse, Hitze und Bewegung gekoppelt: alle Subsysteme sind offen und zusammenhängend.

Als ein Beispiel dafür: die Atmosphäre und die Ozeane sind streng gekoppelt und tauschen Wasserdampf und Wärme durch Evaporation aus. Dies ist Teil des hydrologischen Kreislaufes und führt zur Kondensation, Wolkenbildung, Präzipitation und Abfluss, und speist Energie in das Wettersystem. Auf der anderen Seite hat die Präzipitation einen Einfluss auf den Salzgehalt, seine Verteilung und die *thermohaline circulation.* Atmosphäre und Ozeane tauschen unter anderen Gasen auch CO_2 aus, sie unterhalten ein Gleichgewicht zwischen dem Lösen im kalten Polarwasser, dem Absinken in die Tiefen des Ozeans und

dem Ausgasen aus relativ warmem, aufsteigendem Wasser in der Nähe des Äquators.

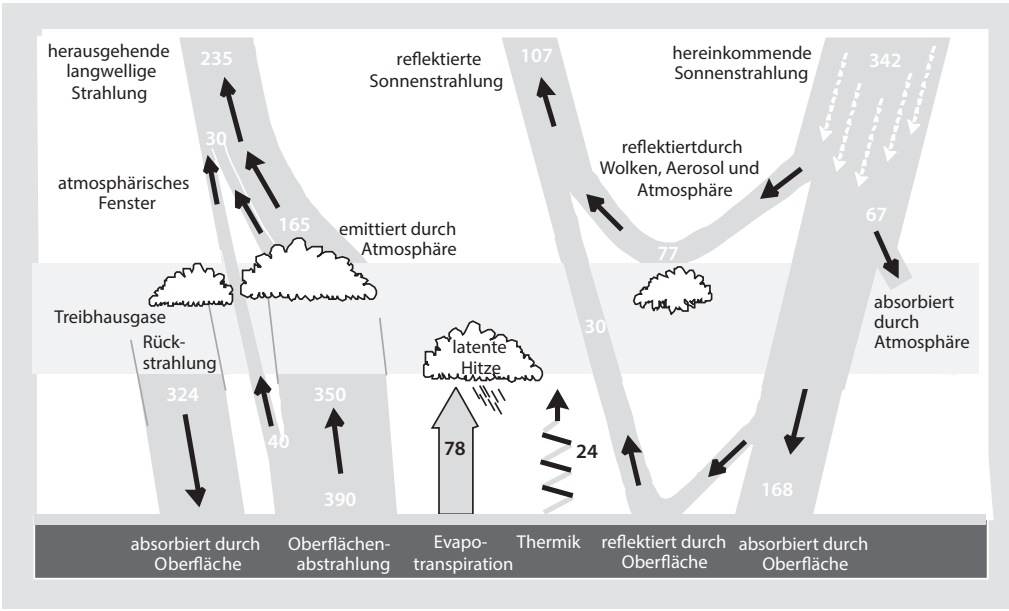
Einige andere Beispiele: Das Eis des Meeres verhindert den Austausch zwischen Atmosphäre und Ozeanen. Die Biosphäre beeinflusst die Konzentration an CO_2 durch Photosynthese und Atmung, welche umgekehrt durch das Klima beeinflusst wird. Der Eintrag von Wasser in die Atmosphäre wird durch Evapotranspiration der Biosphäre bestimmt. Das Strahlungsgleichgewicht wird beeinflusst von der Menge an Sonnenstrahlung, die zurückgestrahlt wird, die Albedo.

Abschließend, jede Änderung der Komponenten des Klimasystems und ihrer Wechselwirkungen oder externen Kräfte, ob natürlich oder anthropogen bedingt, können zu klimatischen Änderungen führen.

1.1.3 Energiebilanz der Erde

Der fundamentale Grund für die Existenz des **„Treibhauseffektes"** ist, dass die Temperatur mit der Höhe in der Troposphäre abnimmt. Strahlungsaktive Gase (CO_2, H_2O) wie auch Wolken absorbieren die Strahlung, die durch die wärmere Oberfläche emittiert wird, während die Emission der Strahlung in den Weltraum durch kältere Atmosphärentemperatur erfolgt. Das Abfangen von IR-Strahlung durch strahlungsaktive Moleküle erzeugt einen Anstieg der Oberflächentemperatur von etwa 33 °C (unter der Annahme, dass keine Änderung der Albedo vorliegt, wenn die Atmosphäre beseitigt ist). Ohne den „Treibhauseffekt" wäre die mittlere Temperatur auf der Oberfläche nur −18 °C und Leben wäre auf der Erde nicht möglich. In größerer Höhe trägt die Strahlungsemission zum Weltraum hin durch die 15 µm Bande des CO_2 zur Abkühlung in der Stratosphäre und der Mesosphäre bei.

Das Oberflächenklima wird direkt durch das Strahlungsgleichgewicht zwischen der eintretenden Sonnenstrahlung und der heraustretenden Strahlung (reflektierte Sonnenstrahlung und Infrarotstrahlung) beeinflusst. Der globale Energiehaushalt der Erde kann in etwa wie folgt dargestellt werden (◘ Abb. 1.3):



◘ **Abb. 1.3** Energiebilanz der Erde. (Verändert nach Kiehl und Trenberth, 1997). Angaben in W m^{-2} pro Jahr

Die Sonnenenergie, die auf die Erde trifft, macht etwa 342 W m^{-2} aus, wovon ungefähr 107 W m^{-2} (oder 31 %) in den Weltraum reflektiert werden (22 % aufgrund der Reflektion durch Wolken, Luftmoleküle und Partikel, und 9 % aufgrund der Reflektion durch die Erdoberfläche). 67 W m^{-2} (oder 20 %) werden in der Atmosphäre, durch Ozon in der Stratosphäre und durch Wolken und Wasser in der Troposphäre absorbiert.

Die verbleibenden 168 W m^{-2} (oder 49 %) werden von der Erdoberfläche absorbiert. Von der terrestrischen Energie, die von der Oberfläche abgestrahlt wird (390 W m^{-2} oder 114 %), gelangen nur 40 W m^{-2} (12 % der eintretenden Sonnenstrahlung) durch das atmosphärische Fenster (wolkenloser Himmel) direkt in den Weltraum. Die verbliebenen 350 W m^{-2} (oder 102 %) werden in der Troposphäre durch Wasserdampf, CO_2, O_3, und andere Treibhausgase sowie Wolken und Aerosole absorbiert. Schließlich wird Energie in der Größenordnung 324 W m^{-2} (oder 95 %) zurück zur Oberfläche geführt, während 195 W m^{-2} (oder 57 %) in den Weltraum emittiert werden. Der Überschuss an Energie, den die Oberfläche erhält, wird durch nicht-strahlende Prozesse wie Evaporation (latenter Wärmestrom von 78 W m^{-2} oder 23 %) und Turbulenz (fühlbarer Wärmestrom von 24 W m^{-2} oder 7 %) kompensiert.

Man beachte die Differenz zwischen der Strahlungsemission von der Erdoberfläche (390 W m^{-2}) und der gesamten Infrarotemission zum Weltraum ($40 + 195 = 235$ W m^{-2}). Die Energie, die von der Atmosphäre abgefangen wird, repräsentiert den Treibhauseffekt.

Unter den in der Atmosphäre vorkommenden Gasen kommt der größte Beitrag zum Treibhauseffekt vom Wasserdampf, gefolgt von CO_2 und anderen Spurengasen wie CH_4, N_2O, O_3 und Fluorchlorkohlenwasserstoffe (FCKWs).

Wolken absorbieren und emittieren auch Infrarot-Strahlung. Zusätzlich steigern sie die globale Albedo. Der Gesamteffekt auf das Klima ist sehr komplex. Man glaubt, dass die Cirrus-Wolken großer Höhe zur Erwärmung, während die Stratus-Wolken geringerer Höhe zur Abkühlung beitragen. Insgesamt führt die Gegenwart von Wolken zur Abkühlung der Erde. Jedoch können die komplizierten Rückkopplungseffekte zum Erwärmen wie auch Abkühlen führen, abhängig von der Änderung der Wolken aufgrund der sich ändernden Klimaverhältnisse.

Da die Konzentration einiger strahlungsaktiver Gase aufgrund menschlicher Aktivitäten sich erhöht hat, gibt es große Unruhe bezüglich des möglichen Anstiegs der Treibhauskräfte. Wenn die Konzentration eines strahlungsaktiven Gases ansteigt, wird zuerst die langwellige Strahlung in den Weltraum erniedrigt. Folge davon ist, dass der Energiehaushalt an der Spitze der Atmosphäre aus dem Gleichgewicht kommt. Zur gleichen Zeit, falls das Gas die Absorption der Sonnenstrahlung nicht beeinflusst, wird die gesamte Strahlungsenergie in der unteren Atmosphäre sowie der Erdoberfläche ansteigen. Das Energiegleichgewicht wird durch die Erwärmung des Oberflächen-Troposphären-Systems wieder hergestellt.

1.1.4 Klimaänderungen und ihre Auswirkungen

Die für das Klimasystem verantwortlichen Änderungen der Strahlungsbilanz werden vorwiegend durch Kohlendioxid (66 %), in kleinerem Umfang durch andere Treibhausgase (Methan und Lachgas, 33 %) verursacht. Änderungen der solaren Einstrahlung haben dagegen nur einen geringen Einfluss.

1

Änderungen im Klimasystem werden der Öffentlichkeit vom IPCC berichtet

Das *Intergovernmental Panel on Climate Change* (IPCC) wurde 1988 von der *World Meteorological Organisation* (WMO) und dem *United Nations Environment Programme* (UNEP) eingesetzt. Das IPCC hat die Aufgabe, in regelmäßigen Abständen den Zustand des Klimasystems und seine Auswirkungen auf die menschlichen Gesellschaftssysteme festzustellen und Möglichkeiten der politischen Gegensteuerung zu benennen. Das IPCC betreibt keine eigene Forschung, sondern bedient sich der wissenschaftlichen Literatur. Seine Berichte werden im Wesentlichen durch Wissenschaftler erstellt, die im *World Climate Research Programme* (WCRP) tätig sind. Im Zeitraum 1990 bis 2013 wurden fünf Sachstandsberichte erstellt. Informationen zum IPCC findet man unter ► http://www.ipcc.ch und zum WCRP unter ► http://wcrp.wmo.int.

Die beobachteten Folgen im Klimasystem sind Temperaturzunahme und daraus bedingt ein Anstieg des Meeresspiegels, eine Abnahme der Eisflächen sowie Änderungen der Häufigkeit und Intensität von extremen Wetterereignissen (Sturm, Niederschläge und Dürren).

1. Erwärmung
   Die Erwärmung des Klimasystems ist für den Zeitraum 1906 bis 2005 ohne jeden Zweifel vorhanden. Die globale mittlere Oberflächentemperatur ist um 0,74 °C gestiegen. Von den letzten 12 Jahren waren 11 die wärmsten seit Beginn der Aufzeichnungen. Die Temperaturzunahme der letzten 50 Jahre ist doppelt so hoch wie die der letzten 100 Jahre. Satellitenmessungen seit 1978 und Wetterballonmessungen zeigen, dass sich die Temperatur der unteren 8 km der Atmosphäre um +0,05 ±0,10 °C pro Jahrzehnt erhöht hat.
   Extreme Tiefstemperaturen waren nach 1950 seltener, mit einem schwachen Anstieg von extremen Höchsttemperaturen.
   Im Mittel nahm zwischen 1950 und 1993 das nächtliche Tagesminimum über dem Land um etwa 0,2 °C pro Jahrzehnt zu.
   Rekonstruierte Daten aus Beobachtungen und anderen Quellen, wie zum Beispiel Baumringdaten, deuten darauf hin, dass die Temperaturen der letzten 50 Jahre sehr wahrscheinlich höher waren als jemals zuvor in den vergangenen 500 Jahren und wahrscheinlich höher als in den vergangenen 1300 Jahren.
   Die Arktis hat sich doppelt so stark erwärmt wie das globale Mittel.
   Die Erhöhung der Meerestemperatur über die letzten 100 Jahre war etwa halb so hoch wie die der mittleren Lufttemperatur über Land (◘ Abb. 1.4).
2. Meeresspiegel
   Die Ozeane sind im globalen Mittel bis zu Tiefen von 3000 m wärmer geworden. Diese Erwärmung hat zum Anstieg des Meeresspiegels beigetragen. Seit 1993 ist der Meeresspiegel durchschnittlich um etwa 3 mm pro Jahr gestiegen, im 20. Jahrhundert um insgesamt 17 cm. Davon ist etwas mehr als die Hälfte durch thermische Ausdehnung des wärmeren Ozeans verursacht, etwa 25 % durch Abschmelzen der Gebirgsgletscher (0,8 mm pro Jahr) und etwa 15 % durch das Abschmelzen der Eisschilde auf Grönland und der Antarktis (0,4 mm pro Jahr).
   Ein Indikator für die Änderungen von Niederschlag und Verdunstung und für den verstärkten Transport von Wasserdampf in der Atmosphäre von niedrigen zu höheren Breiten ist die beobachtete Änderung des Salzgehaltes im Ozean.
3. Gletscher, Eisschilde und Permafrost
   Die schneebedeckte Fläche hat seit 1980 um etwa 5 % abgenommen. Die Gletscher schrumpfen weltweit. Das Meereseis verzeichnet in der Arktis seit 1978 einen Rückgang im Jahresmittel um 8 % und im Sommer um 22 %. Die Dicke

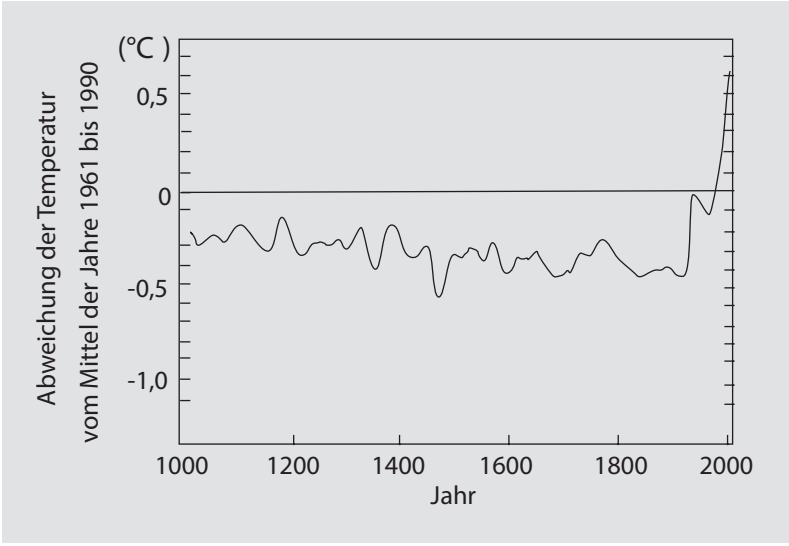


Abb. 1.4 Erwärmung in den letzten 1000 Jahren auf der Nordhalbkugel. (Nach IPCC, 2001). Die Daten wurden durch Thermometermessungen ab 1861 erhalten, frühere Daten stammen aus Messungen von Jahresringen von Bäumen, von Korallenwachstum, aus Untersuchungen von Eiskernsonden und historischen Berichten

des arktischen Meereseises während des späten Sommers und Herbstes nahm um 40 % im letzten Jahrzehnt ab.
Die Eisschilde auf Grönland und der Antarktis verlieren gegenwärtig Masse durch Schmelzen und Gletscherabbrüche.

Die Temperaturen in den oberen Schichten des Permafrostbodens haben sich seit 1980 um 3 °C erhöht, und die Ausdehnung des saisonal gefrorenen Bodens hat seit 1900 um 7 % abgenommen, im Frühling sogar um 15 %.

UN-Experten warnen vor Gefahr durch auftauende Dauerfrostböden

Permafrostböden machen rund 24 % der Landoberfläche in der nördlichen Hemisphäre aus. Vor allem in Kanada, Russland, den USA und China sind große Flächen dauernd gefroren. Bislang tauen sie höchstens im Sommer an der Oberfläche vorübergehend auf.
Die arktischen Böden enthalten einem UN-Bericht zufolge rund 1700 Gt (Milliarden Tonnen) Kohlenstoff – doppelt so viel, wie der der zurzeit in der Atmosphäre kursiert. Dieser Kohlenstoff wird beim Auftauen nach und nach als Kohlendioxid (CO_2) und in Form des noch stärkeren Treibhausgases Methan irreversibel freigesetzt.
Das Auftauen der Böden wird dem Bericht zufolge den globalen Klimawandel deutlich verstärken. Der Anstieg der Lufttemperatur wird in der Arktis und in den Alpen etwa doppelt so schnell verlaufen wie der des globalen Durchschnittes.
Klimavorhersagen deuten auf einen substanziellen Verlust der Permafrostböden hin. Der sich erwärmende Permafrostboden kann bis 2100 Treibhausgase freisetzen, die dem Klimaeffekt von 45 bis 135 Gt Kohlendioxid entsprechen. Bis 2200 können es 246 bis 415 Gt sein.
Permafrost kann schließlich einen Anteil von 39 % an den gesamten Emissionen haben.

Die jährliche Vereisung von Flüssen und Seen in mittleren und höheren Breiten der Nordhalbkugel verringerte sich um etwa zwei Wochen im 20. Jahrhundert.

4. Niederschläge
   Die Häufigkeit heftiger Niederschläge hat zugenommen.
   Die **Präzipitation** ist über den mittleren und höheren Breiten der Nordhalbkugel um 0,5 bis 1 % pro Jahrzehnt im 20. Jahrhundert angestiegen. Regenfälle waren über den tropischen Ländern um 0,2 bis 0,3 % pro Jahrzehnt häufiger. Es scheint jedoch so, dass die Regenfälle über den subtropischen Gebieten der Nordhemisphäre um 0,3 % pro Jahrzehnt abgenommen haben.
   In den mittleren und höheren Breiten der Nordhalbkugel haben sich im letzten Teil des 20. Jahrhunderts die Fälle von schwerer Präzipitation um 2 bis 4 % vermehrt. Dies kann auf Änderungen des atmosphärischen Wassergehaltes, Gewitter und großflächige Stürme zurückgeführt werden. Über dem Land der mittleren und höheren Breiten soll ein Anstieg der Bedeckung mit Wolken um 2 % im 20. Jahrhundert erfolgt sein.

Im Vergleich zu den 100 Jahren vorher sind seit der Mitte der 1970er Jahre Warmperioden des El Niño-Phänomen (El Niño-Southern Oscillation phenomenon, ENSO) häufiger, dauerhafter und intensiver aufgetreten.

El Niño

Ein und dasselbe Phänomen, bekannt unter den Bezeichnungen „El Niño" oder „Südliche Oszillation", hat seinen Ursprung in außergewöhnlichen meteorologischen Bedingungen, wie sie in mehrere tausend Kilometer voneinander entfernten Regionen auftreten. Gewöhnlich ergießen sich über Indonesien und Nordaustralien ergiebige Regen, während die Küstenregionen von Ecuador und Peru als Folge der Zirkulation, die sich zwischen West- und Ostpazifik einstellt, nur sehr wenig Regen erhalten. Über Indonesien steigt die Luft auf, während sie über den Regionen im Südostpazifik, zwischen den Osterinseln und Peru, niedersinkt. Bei der aufsteigenden Bewegung kühlt sich die Luft, die an der Meeresoberfläche mit Feuchtigkeit beladen wird, ab und kondensiert. Dadurch wird eine große Menge Energie freigesetzt, die die Konvektion aufrechterhält. Im Gegensatz dazu bringt die kalte Luft, die über Peru absinkt, fast nur Trockenheit. Dieser Kreislauf ist beim El Niño-Phänomen in großem Maßstab gestört. Die konvektive Aktivität, die gewöhnlich über Indonesien liegt, verlagert sich in die Mitte des Pazifiks. Dadurch erhalten die Gebiete im Westpazifik weniger Regen, das Zentrum und der Ostpazifik dagegen mehr. Eine Verlagerung der Konvektion über dem Westpazifik in Richtung Pazifikmitte tritt im Mittel nur alle 3–4 Jahre auf. Das Zeitintervall zwischen zwei aufeinanderfolgenden Ereignissen schwankt. Es kann in 2 oder 10 Jahren wiederkehren.
Die Südliche Oszillation geht mit einer deutlichen Erhöhung der Temperatur der Oberflächengewässer des Ostpazifiks einher. In einem riesigen Gebiet um den Äquator erhöht sich die Wassertemperatur, die normalerweise zwischen 20 und 25 °C liegt, um einige Grad, was mit einer Zunahme der Regenfälle einhergeht. Dieses Ereignis findet im Allgemeinen zu Weihnachten statt und wird im Südamerikanischen, nach der spanischen Bezeichnung für das Jesuskind, El Niño genannt. Das El Niño-Phänomen ist allerdings nicht auf die Weihnachtszeit beschränkt, so können zwischen Erscheinen und Verschwinden des warmen Wassers im Ostpazifik zwischen 12 und 18 Monate vergehen. In normalen Zeiten entstehen die kalten Küstengewässer durch den Aufstieg von Wassermassen aus großen Tiefen. Dieses Ereignis ist unter der englischen Bezeichnung *upwelling* bekannt. Die Zirkulation bringt zahlreiche Nährstoffe wie Phosphate und Sulfate an die Oberfläche, die für die Vermehrung von Phytoplankton sorgen. Anlässlich eines El Niño-Ereignisses ist dieser Aufstieg von Tiefenwasser an die Oberfläche blockiert, und die gesamte Nahrungskette wird unterbrochen. Das

Phytoplankton geht zurück, sodass das Zooplankton verschwindet, das sich vom Phytoplankton ernährt, was das Absterben oder das Abwandern der Fische in fruchtbarere Gewässer nach sich zieht (◘ Abb. 1.5).
El Niño ist ein Phänomen, das aus dem Zusammenspiel zwischen Atmosphäre und tropischem Ozean resultiert. In einer sogenannten „normalen" Periode liegt die Wassertemperatur im tropischen Westpazifik nahe 28–29 °C, während sie im Osten nicht mehr als 20–25 °C erreicht. Diese starke Asymmetrie der Temperatur steuert die atmosphärische Zirkulation, die wiederum den Temperaturgradienten aufrechterhält. Die wärmsten Gewässer liefern nämlich die notwendige Wärme und Feuchtigkeit, um eine starke konvektive Aktivität über dem Westpazifik zu entwickeln, die die Passatwinde antreibt. Die Passatwinde halten ihrerseits den Ost-West-Gradienten der Temperatur aufrecht. Im Ostpazifik induzieren sie auf der Nordhalbkugel einen nach rechts abgelenkten Oberflächenstrom. Auf der Südhalbkugel wird dieser Strom aufgrund der Erdrotation nach links abgelenkt. Er transportiert das Oberflächenwasser beiderseits des Aquators und bewirkt so zum Ausgleich einen Aufstieg von kaltem Wasser. Außerdem wird das Oberflächenwasser nach Westen verfrachtet, wo es den *Upwelling-Prozess* unterbindet. Aufgeheizt durch die Sonne erreichen diese Wässer die höchsten ozeanischen Temperaturen, wodurch eine intensive Konvektion begünstigt wird. Im Verlauf eines El Niño-Ereignisses wechseln sich ozeanische und atmosphärische Zirkulation in einem Prozess gegenseitiger Aktion und Reaktion ab. Insbesondere die Erwärmung des Zentralpazifiks erzeugt 28–29 °C warmes Wasser, wodurch die starke konvektive Aktivität nach Osten verlagert wird. Daraus ergibt sich eine Schwächung der Passatwinde im Westpazifik, ja sogar eine Umkehr ihrer Richtung. Bei schwachen Passatwinden nimmt die Energie des Oberflächenstroms ab, und die warmen Wasser des Westpazifiks fließen nach Osten. Das hat im Gegenzug eine Erwärmung des Zentralpazifiks und die Unterbrechung des Aufstiegs von kaltem Wasser vor der südamerikanischen Küste zur Folge.
In El Niño-Jahren wird die ohnehin schon ansteigende Menge an Treibhausgasen wie Kohlendioxid (CO_2) in der Atmosphäre zusätzlich erhöht. Das mächtige El Niño-Ereignis 2015–2016 – das drittstärkste seit den 1950er Jahren – hat einen großen Einfluss auf das natürliche Klimasystem der Erde ausgeübt.
Der El Niño 2015/2016 ließ etwa 8,8 Mrd. t CO_2 zusätzlich in die Atmosphäre gelangen. Das entspricht etwa einem Viertel der Menge, die weltweit jedes Jahr durch menschliche Aktivitäten freigesetzt wird. Zum Vergleich: Im Jahr 2015 wurden in Deutschland rund 0,8 Mrd. t CO_2 aus fossilen Brennstoffen emittiert.
Die neue Zahl von 8,8 Mrd. t zusätzlichen Kohlendioxids legt nahe, dass die durch Feuer entstandenen Emissionen nur einen nachgeordneten Effekt auf den Kohlenstoffgehalt der Atmosphäre haben. Deutlich stärker macht sich wohl bemerkbar, dass die durch El Niño ausgelöste unter Dürre leidende Vegetation auf der Südhalbkugel nicht so viel CO_2 aufnehmen konnte wie gewöhnlich.
Der übermäßige CO_2-Fluss resultiert also hauptsächlich aus der Verringerung der Vegetationsaufnahme aufgrund von Dürre und in geringerem Maße aus erhöhter Biomasseverbrennung (Patra et al., 2017).

Global gesehen war auf den Landmassen zwischen 1900 und 1995 kein Anstieg der Anzahl an heftiger Dürre und Nässe zu verzeichnen. In einigen Regionen Asiens und Afrikas ist Dürre in den letzten Jahrzehnten jedoch häufiger und stärker aufgetreten.

Entgegen früheren Annahmen haben einige für das Klima wichtige Aspekte jedoch **nicht** stattgefunden. Auf wenigen Bereichen der Erde war keine Erwärmung festzustellen, so zum Beispiel über den Ozeanen der südlichen Hemisphäre und Teilen der Antarktis.

Es gab keinen deutlichen Trend bezüglich der globalen Häufigkeit und Intensität von tropischen und extra-tropischen Stürmen im 20. Jahrhundert, von einigen lokalen Variationen abgesehen. Systematische Änderungen bei der Häufigkeit von Tornados, Gewittertagen und Hagelniederschlägen waren nicht feststellbar.

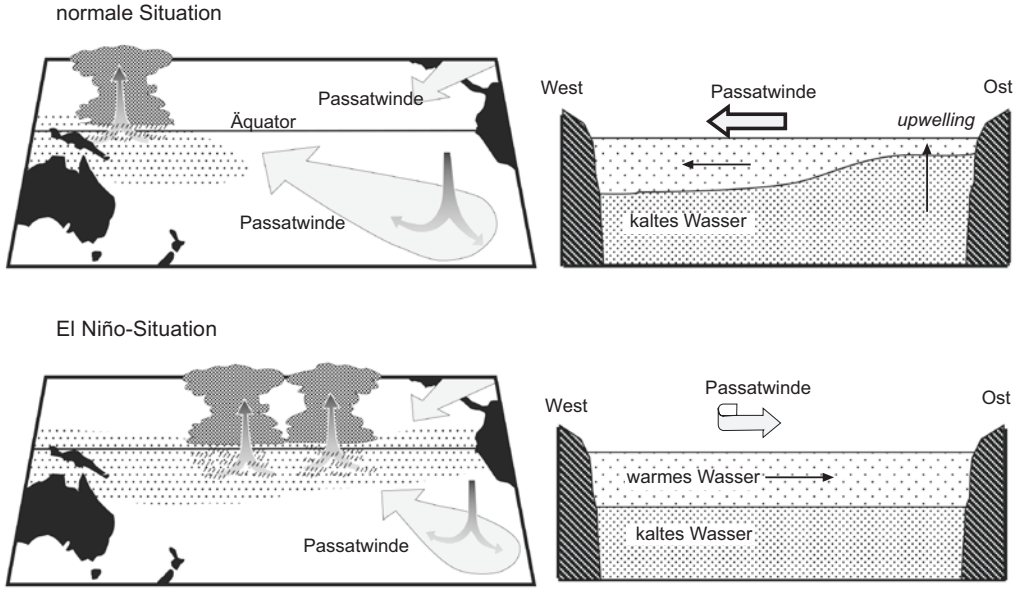


Abb. 1.5 Vergleichende Darstellung der normalen und der El Niño-Situation *über* dem Pazifik (links) und *im* Pazifik (rechts)

2017 war eines der drei wärmsten Jahre seit Beginn der Aufzeichnungen

Nach dem 28. Bericht über den Zustand des Klimas war 2017 das drittwärmste Jahr für die Erde nach 2016 und 2015. Der Planet erlebte zudem ein Rekordhoch der Konzentrationen der Treibhausgase sowie des Anstieges des Meeresspiegels. Bemerkenswerte Ergebnisse aus dem internationalen Bericht der *American Meteorological Society* sind:

- **Die Konzentrationen der Treibhausgase waren die höchsten seit Beginn der Aufzeichnungen.** Die Konzentrationen der Treibhausgase in der Atmosphäre – darunter Kohlendioxid (CO_2), Methan und Lachgas – erreichten neue Höchststände. Die durchschnittliche globale CO_2-Konzentration im Jahr 2017 betrug 405 ppm. Dies ist der höchste Wert, der in den modernen 38-jährigen globalen Klimadatensätzen und Aufzeichnungen aus Eiskernproben gemessen wurde.
- **Der Anstieg des Meeresspiegels erreichte einen neuen Höchststand – etwa 7,7 cm höher als der Durchschnitt von 1993.** Der globale Meeresspiegel steigt mit einer durchschnittlichen Rate von 3,1 cm pro Jahrzehnt.
- **Die globale Oberflächentemperatur von Land und Meer erreichte nahezu ein Rekordniveau.** Abhängig vom Datensatz lagen die durchschnittlichen globalen Oberflächentemperaturen bei 0,38–0,48 °C über dem Durchschnitt von 1981–2010. Dies markiert das Jahr 2017 als das mit der zweit- oder drittwärmsten jährlichen globalen Temperatur seit Beginn der Aufzeichnungen in der Mitte bis Ende des 19. Jahrhunderts.
- **Die Temperaturen an der Meeresoberfläche erreichten nahezu ein Rekordhoch.** Obwohl die globale durchschnittliche Temperatur der Meeresoberflächen im Jahr 2017 leicht unter dem Wert von 2016 lag, blieb der langfristige Trend aufwärts gerichtet.
- **In den obersten 700 m der Weltmeere erreichte die Temperatur ein Rekordhoch,** was die fortgesetzte Akkumulation von thermischer Energie widerspiegelt.
- **Die Trockenheit sank und erholte sich.** Die globale Zone der Dürre ging Anfang 2017 stark zurück, um dann später

im Jahresverlauf auf überdurchschnittliche Werte anzusteigen.
- **Die maximale Eisbedeckung der Arktis fiel auf ein Rekordtief.** Die maximale Ausdehnung des arktischen Meereises im Jahr 2017 war die geringste in der 38-jährigen Aufzeichnung. Das Minimum des Meereises vom September 2017 war das acht-niedrigste seit 25 Jahren und lag 25 % unter dem langjährigen Durchschnitt.
- **Die Antarktis verzeichnete eine rekord-niedrige Bedeckung mit Meereis,** die deutlich unter dem Durchschnitt von 1981–2010 lag. Am 1. März 2017 fiel die Ausdehnung des Meereises auf 2,1 Mio. Quadratkilometer, der niedrigste beobachtete Wert der kontinuierlichen Satellitenaufzeichnung, die 1978 begann.
- **Noch nie dagewesene Korallenbleiche in mehreren Jahren:** Die weltweite Korallenbleiche dauerte von Juni 2014 bis Mai 2017 und führte zu beispiellosen Auswirkungen auf Riffe. Mehr als 95 % der Korallen in einigen Riffgebieten starben.
- **Die Gesamtzahl der tropischen Wirbelstürme lag insgesamt leicht über dem Durchschnitt.** Im Jahr 2017 gab es 85 benannte tropische Wirbelstürme, etwas mehr als der Durchschnitt von 82 Stürmen im Zeitraum 1981–2010.

Bulletin of the American Meteorological Society *State of the Climate in 2017 report* Vol. 99. No. 8, August 2018
Bericht basiert auf der Beteiligung von mehr als 500 Wissenschaftlern aus 65 Ländern.
► http://www.noaa.gov/news/2017-was-one-of-three-warmest-years-on-record-international-report-confirms

1.1.5 Welche Stoffe haben welchen Effekt auf das Klima

Der Einfluss der verschiedenen Komponenten der Atmosphäre auf das Klima ist in ◘ Abb. 1.6 dargestellt. Es wird deutlich, dass einige Komponenten zu einer Erwärmung führen, andere einen Beitrag zur Abkühlung der Erde leisten. Ferner fällt auf, dass für die meisten klimarelevanten Parameter noch relativ große Schwankungsbreiten angegeben werden. Hier ist die Auswirkung der Aerosole besonders anzusprechen.

Die Konzentration der Treibhausgase nimmt systematisch zu (◘ Abb. 1.7). Der Kohlendioxidgehalt der Luft hat von 1750 bis 2005 um 35 % von 280 auf 379 ppm zugenommen. Der heutige Wert ist der größte in den letzten 650.000 Jahren. Die Zuwachsrate der letzten 10 Jahre ist die höchste seit 50 Jahren. Auf die Nutzung fossiler Brennstoffe geht die Erhöhung hauptsächlich zurück.

Die Konzentrationen von Methan und Lachgas, langlebigen Treibhausgasen, haben seit 1750 um 148 bzw. 18 % zugenommen. Dies ist in erster Linie durch die Landwirtschaft verursacht.

1.1.6 Projektionen

Klimamodelle sagen für die nächsten 100 Jahre – je nach Energienutzung – eine weitere Temperaturerhöhung und einen Meeresspiegelanstieg voraus.

1. Erwärmung
   Für die letzte Dekade des 21. Jahrhunderts ist der wahrscheinlichste Wert der globalen Erwärmung für das niedrigste Szenario 1,1–2,9 °C und für das höchste Szenario 2,4–6,4 °C. Die größte Erwärmung findet dabei in hohen nördlichen Breiten statt. Für die nächsten 2–3 Jahrzehnte hängt die projizierte Erwärmung nur wenig von den Annahmen über zukünftige Emissionen ab, und selbst bei einem sofortigen Ende aller Emissionen würde durch die Trägheit des

1

Global Warming Potential

Zur Charakterisierung der Auswirkungen verschiedener klimabeeinflussender Faktoren werden vorwiegend folgende Maßzahlen herangezogen: **Treibhauspotenzial, Radiative Forcing** und **Global Warming Potential.**

- Unter *Treibhauspotenzial* versteht man das Ausmaß, zu dem verschiedene Treibhausgase bei einer Erhöhung ihrer Konzentration zusätzliche Strahlungsenergie absorbieren können, was von ihren Absorptions-, Emissions- und Streuungseigenschaften abhängt.
- Während sich das Treibhauspotenzial somit ausschließlich auf den Faktor Strahlung beschränkt, wurde für den Vergleich unterschiedlicher Einflussfaktoren das Konzept des **Radiative Forcing (Strahlungsantrieb)** entwickelt. Dieses bezeichnet die Änderung des globalen Mittels der Strahlungsbilanz an der Stratopause und ist somit ein Maß für die Störung des Gleichgewichts zwischen einstrahlender Solarenergie und an den Weltraum abgegebener langwelliger Strahlung.
- Das Konzept des **Global Warming Potential (GWP)** baut auf jenem des Radiative Forcing auf und umfasst die Summe aller Radiative Forcing – Beiträge eines Gases bis zu einem gewählten Zeithorizont, die durch die einmalige Freisetzung einer Maßeinheit am Beginn des Zeitraumes verursacht werden. Somit ist es möglich, die Klimawirksamkeit von Treibhausgasen für unterschiedliche Zeithorizonte in die Zukunft zu extrapolieren. Meist wird das Global Warming Potential bezogen auf 100 Jahre angegeben: CO_2: 1; CH_4: 30; N_2O: 300; SF_6 (Schwefelhexafluorid): 23900; HFKWs (teilfluorierte Kohlenwasserstoffe): 2530 (Mittelwert); FKWs (vollfluorierte Kohlenwasserstoffe): 7614 (Mittelwert)

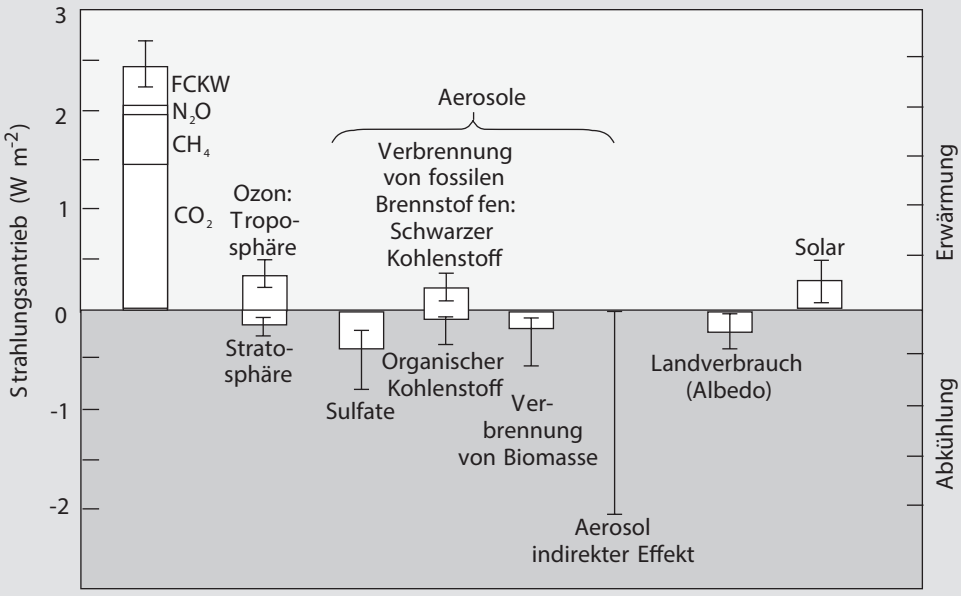


Abb. 1.6 Einfluss von verschiedenen Komponenten auf die Strahlungsbilanz der Erde. (Verändert nach IPCC, 2001)

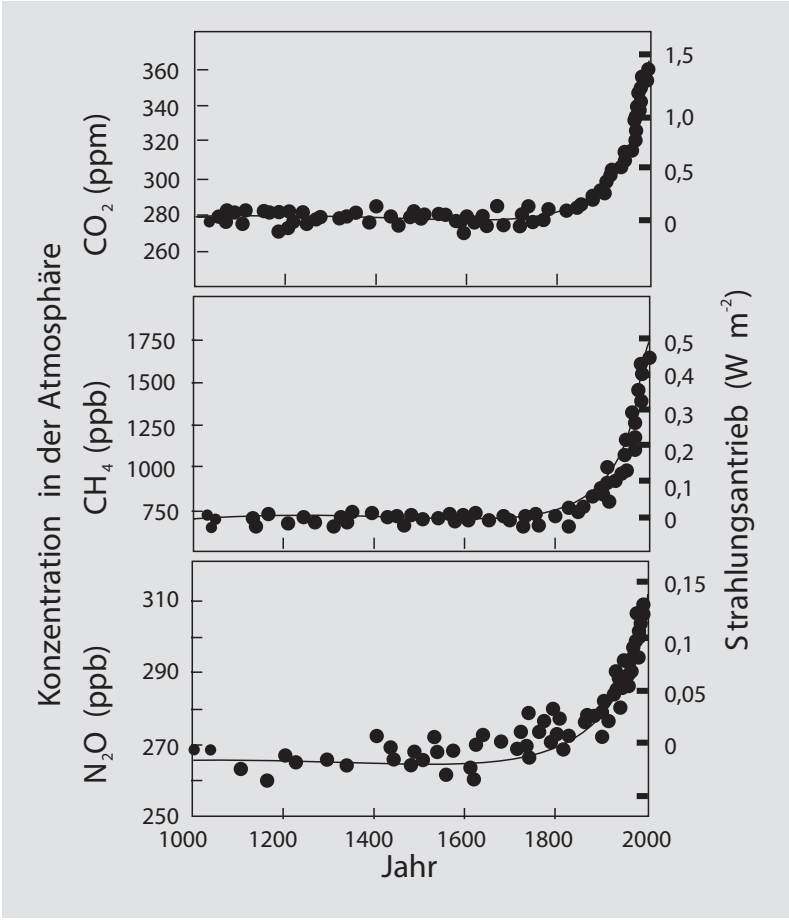


Abb. 1.7 Globale Konzentration in der Atmosphäre von drei gut durchmischten Treibhausgasen CO_2, CH_4, N_2O. (Verändert nach IPCC, 2001)

Klimasystems ein weiterer Temperaturanstieg bis zu ca. 0,6 °C erfolgen.

2. Meeresspiegel
   Für den Anstieg des Meeresspiegels sind die Projektionen für 2090–2100: 18–38 cm für das niedrigste und 26–59 cm für das höchste Szenario. Auch nach vollständigem Ende der Emissionen wird der Meeresspiegel über viele Jahrhunderte ansteigen, bedingt durch weitere Erwärmung des tiefen Ozeans.
3. Gletscher und Eisschilde
   Es gibt eine erhebliche Unsicherheit hinsichtlich der weiteren Entwicklung des grönländischen und des antarktischen Eisschildes. Eine dauerhafte Erwärmung deutlich über 3 °C über Jahrtausende würde zu einem vollständigen Abschmelzen des grönländischen Inlandeises führen, entsprechend einem Meeresspiegelanstieg um 7 m.
4. Golfstrom
   Es ist sehr wahrscheinlich, dass die meridionale Umwälzbewegung im Atlantik um durchschnittlich 25 % im 21. Jahrhundert abnehmen wird. Die Temperaturen in der Atlantischen Region werden dennoch zunehmen, da der Einfluss der globalen Erwärmung überwiegt. Es ist allerdings sehr unwahrscheinlich, dass es

zu einem abrupten Zusammenbruch im 21. Jahrhundert kommt.

5. Niederschläge
   Der Niederschlag wird in höheren Breiten sehr wahrscheinlich zunehmen, während es in den Tropen und Subtropen (einschließlich der Mittelmeerregion) wahrscheinlich zu einer Verminderung des Niederschlages kommen wird.

1.2 Globale Kreisläufe mit Reservoirs und Stoffflüssen

Biologische Kreisläufe sind wichtige Teile der globalen Stoffflüsse, die ihrerseits von Relevanz für das Klima sind. So haben Mikroorganismen eine zentrale Bedeutung bei der Mineralisierung von Stoffen. Biologische Kreisläufe wie die Stickstoff- und Schwefelkreisläufe oder die Metallreduktionen und -oxidationen sind auf die Aktivität von Prokaryoten angewiesen. Zudem stellen Prokaryoten bedeutende Pools dar. Ca. 500 Mrd. t Kohlenstoff sind in den Bakterien und Archaeen gebunden, was etwa die Hälfte des gesamten in der Biomasse vorkommenden Kohlenstoffes ausmacht. Bezogen auf Stickstoff und Phosphor sind sogar fast 90 % in Prokaryoten gebunden.

1.2.1 Globaler Kohlenstoffkreislauf

Global gesehen wandert Kohlenstoff durch alle wichtigen Kohlenstoffreservoire der Erde: die Atmosphäre, das Land (organischer Kohlenstoff im Humus), die Meere und andere aquatische Umgebungen (Carbonat, Bicarbonat und gelöstes CO_2), Sedimente und Gesteine (Carbonate; organischer Kohlenstoff biologischen Ursprungs festgelegt als fossile reduzierte Kohlenstoffreserven in Kohle, Naturgas, Mineralöl und Sedimenten) sowie Biomasse (lebend und tot).

◘ Abb. 1.8 zeigt die Reservoirs und die Stoffflüsse. Das größte Kohlenstoffreservoir befindet sich in den Sedimenten und Gesteinen der Erdkruste, doch ist die Umsatzzeit hier so lang, dass der Fluss aus diesem Bereich für menschliche Maßstäbe relativ unbedeutend ist. Vom Standpunkt der Lebewesen betrachtet kommt eine große Menge organischen Kohlenstoffes in Landpflanzen vor, die die Hauptmenge der Biomasse der Landoberfläche ausmachen. Dies ist der Kohlenstoff der Wälder und Steppen, welche die wichtigsten Orte für die photosynthetische CO_2-Fixierung sind (► Abschn. 3.2). In totem organischem Material, Humus, ist jedoch mehr Kohlenstoff enthalten als in Lebewesen. Humus ist eine komplexe Mischung aus organischen Stoffen. Er stammt zum Teil aus den Bestandteilen von Bodenmikroorganismen, die einer Zersetzung widerstanden haben, und zum Teil aus nicht abbaubaren pflanzlichen Stoffen. Einige Humussubstanzen sind recht stabil, mit einer globalen Umsatzrate von etwa 40 Jahren, während andere Humusbestandteile viel schneller abgebaut werden.

Die schnellste Art der globalen Kohlenstoffübertragung ist über das CO_2 der Atmosphäre. Kohlendioxid wird hauptsächlich durch die Photosynthese von Landpflanzen aus der Atmosphäre entfernt und durch die Atmung von Tieren und chemoorganotrophen Mikroorganismen (► Abschn. 3.2) wieder an die Atmosphäre abgegeben. Eine Analyse der verschiedenen Prozesse lässt vermuten, dass die mikrobielle Zersetzung toter organischer Stoffe, einschließlich Humus, der bedeutendste Beitrag zum CO_2-Gehalt der Atmosphäre ist.

Die Ozeane und Meere haben eine schwer quantifizierbare Primärproduktion. Sie wird auf 45×10^9 t C geschätzt. Da die Biomasse des Phytoplanktons mit etwa 3×10^9 t C wesentlich geringer als die der Landpflanzen ist, bedeutet das, dass in den Ozeanen ein höherer Turnover als auf den Kontinenten stattfindet.

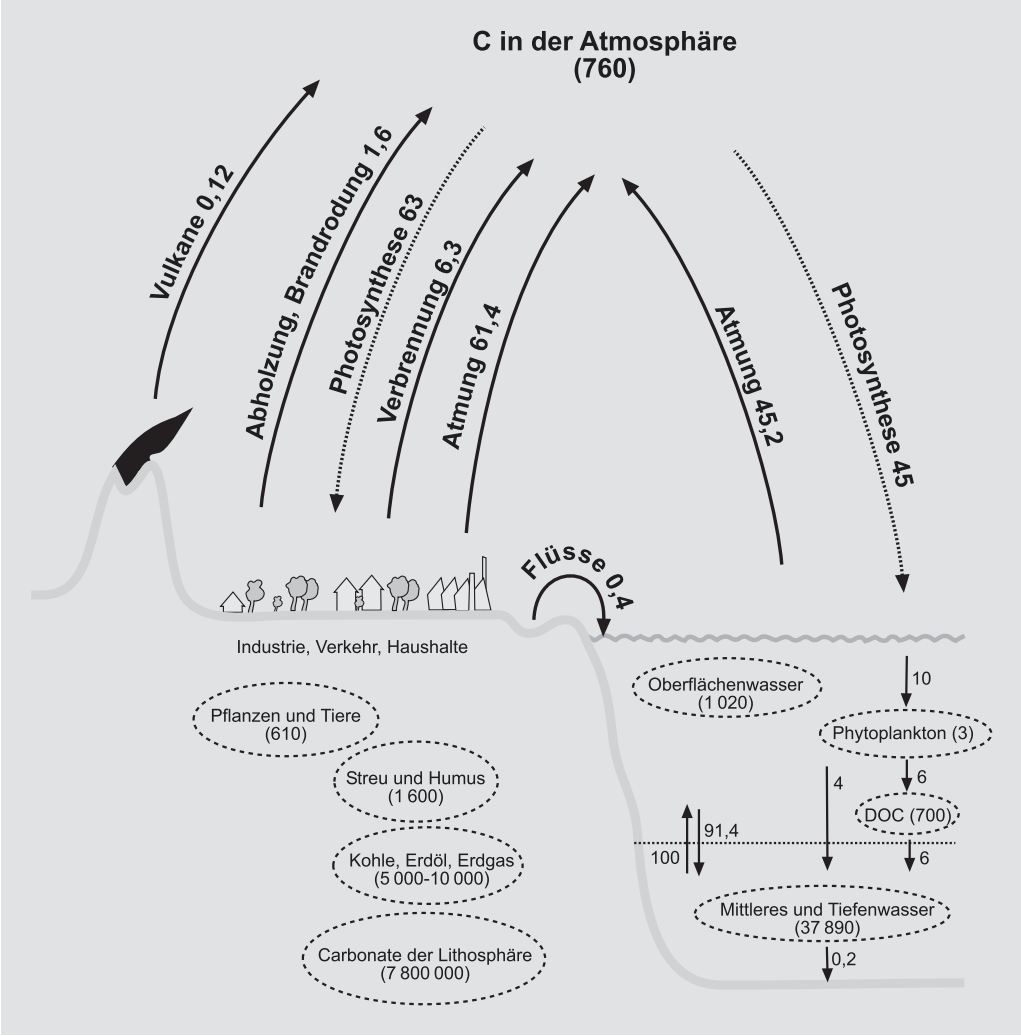


Abb. 1.8 Der globale Kohlenstoffkreislauf. Die Zahlenangaben an den Pfeilen geben die Fluxraten in 10^9 t Kohlenstoff pro Jahr an, die Zahlen in den Klammern den C-Gehalt der verschiedenen Reservoirs in 10^9 t Kohlenstoff. (Nach Mackenzie, 1997; ► http://www.pmel.noaa.gov/co2/)

Die Meere fungieren als CO_2-Senke. Sie haben einen internen CO_2- beziehungsweise Bicarbonatkreislauf. Über die Meeresoberfläche findet ein CO_2-Austausch statt. Der Austausch zwischen Oberflächen- und Tiefenwasser erfolgt sehr langsam. Die Sedimentation von C-Verbindungen liegt in der Größenordnung von $0{,}2 \times 10^9$ C t pro Jahr.

Der Anstieg des CO_2-Gehaltes der Atmosphäre hat seine Ursache in der zunehmenden Verbrennung fossiler Energieträger wie Kohle und Erdöl und in Waldrodungen. Hierdurch tritt eine zusätzliche CO_2 Bildung von 8×10^9 t C ein.

Die Dimension der natürlichen Stoffumsetzungen liegt etwa zwei Zehnerpotenzen über der der anthropogenen Produktion.

▪ Kohlenmonoxid (CO)

Kohlenmonoxid ist eine relativ geringe Komponente der Atmosphäre verglichen mit CH_4 and CO_2 und hat einen geringen Einfluss

bezüglich Klimagas (GWP = 1,4). Es wird als indirektes Klimagas angesprochen, da es eine zentrale Rolle in der Chemie der Troposphäre einnimmt. CO ist signifikant an der Kontrolle der $OH^{\bullet}$-Radikale und der Produktion von Ozon beteiligt. Ein deutlicher jährlicher Anstieg von ~6 % in der globalen mittleren Troposphären-Konzentration wurde in der Mitte der 80er Jahre beobachtet. Natürliche Quellen für CO in die Atmosphäre stammen aus dem Pfad der $OH^{\bullet}$-Radikale wie auch aus Kohlenwasserstoffen, die von Pflanzen emittiert werden wie Terpene, aber auch Buschfeuer und ozeanische Quellen.

Natürliche Quellen machen etwa 45 % des globalen CO-Haushalts aus, während der Rest aus anthropogenen Quellen stammt (Verbrennung fossiler Brennstoffe, anthropogenes CH_4, Brandrodung und Savannenbrände zur Erzeugung von landwirtschaftlichen Flächen).

Troposphärische Senken beinhalten die Weiteroxidation von CO durch $OH^{\bullet}$-Radikale. Zusätzlich kann eine Anzahl von Bakterien und Pilzen CO verwerten, Böden können CO der Atmosphäre verbrauchen. Insgesamt ist die globale Bedeutung der Böden als Senken nicht bekannt.

▪ Methan (CH_4)

Atmosphärisches CH_4 hat in den letzten 15 Jahren eine rätselhafte Dynamik erfahren. Nach einer Periode relativer Stagnation in den frühen 2000er Jahren (ein Anstieg von +0,5 ± 3,1 ppb pro Jahr im Durchschnitt im Zeitraum 2000–2006) haben sich die atmosphärischen Methankonzentrationen seit 2007 mehr als zehnmal erhöht (+6,9 ± 2,7 ppb pro Jahr für den Zeitraum 2007–2015, Dlugokencky, 2016). Die Wachstumsrate von Methan in der Atmosphäre beschleunigte sich 2014 auf +12,5 ppb und 2015 auf +9,9 ppb und erreichte im Jahr 2015 eine jährliche durchschnittliche Konzentration von 1834 ppb (Dlugokencky, 2016). Diese aufkommende Dynamik unterstreicht den wachsenden Beitrag von Methan zur globalen Erwärmung gegenüber den beobachteten langsameren Wachstumsraten von CO_2 in den letzten drei Jahren (Jackson et al., 2016; Le Quéré et al., 2016) und die relativ konstante Wachstumsrate von N_2O (Hartmann et al., 2013).

Basierend auf neuen atmosphärischen Studien wird die globale Emission auf 559 [540–568] Tg CH_4 pro Jahr für den Zeitraum 2003–2012 geschätzt (Saunois et al., 2016a, b). Tropische Quellen, einschließlich natürlicher und anthropogener Quellen, repräsentieren zwei Drittel der gesamten globalen Emissionen und werden von Emissionen aus Feuchtgebieten dominiert. Ungefähr zwei Drittel der weltweiten Emissionen sind auch auf anthropogene Aktivitäten zurückzuführen, einschließlich jener aus den mittleren Breiten und den Tropen.

Wesentliche Endprodukte der anaeroben Mineralisierung von organischen Verbindungen sind Methan und CO_2. Durch Methanogenese (▶ Abschn. 4.5) werden etwa 10 % der anfallenden organischen Stoffe mineralisiert. Trotz der obligaten Anaerobiose und des spezialisierten Stoffwechsels der methanogenen Bakterien sind sie auf der Erde recht weit verbreitet. Obwohl die Methanogenese nur in anoxischen Umgebungen stark ist, wie in Sümpfen oder im Pansen der Wiederkäuer, findet der Prozess auch in Biotopen statt, die normalerweise als oxisch gelten könnten, wie in Wald- und Steppenböden. In solchen Biotopen erfolgt die Methanogenese in anaeroben Mikroumgebungen, zum Beispiel in der Mitte von Erdkrümeln. Einen Überblick über die Rate der Methanogenese in unterschiedlichen Biotopen gibt ◘ Tab. 1.2. Beachtenswert ist, dass die biogene Produktion von Methan durch methanogene Archaea die Produktionsrate von Gasquellen und anderen abiogenen Quellen übersteigt. Jährlich entweichen etwa 1×10^9 t CH_4 in die Atmosphäre. Davon stammen etwa 75 % aus mikrobiellen Prozessen, etwa 25 % sind industriellen Ursprungs (Verbrennungsprozesse, undichte Erdgaslager und -leitungen).

Methan ist eines der klimarelevanten Gase, welches mit etwa 15 % zum Treibhauseffekt beiträgt

- Es absorbiert lang-wellige Strahlung und ist deshalb ein Treibhausgas.
- Auf der molekularen Grundlage hat Methan ein etwa 30-fach höheres Treibhauspotenzial als CO_2.
- Es ist recht reaktiv und spielt deshalb in der troposphären und stratosphären Chemie eine bedeutende Rolle.
- Die Oxidation von Methan durch $OH^{\cdot}$ in der Troposphäre führt zur Bildung von Formaldehyd, CO und in der Umgebung von genügend NO_X zum Ozon.
- In der Stratosphäre fungiert Methan als Senke für Chloratome und ist deshalb wichtig für die stratosphären Ozonchemie.
- Methan-Oxidation durch $OH^{\cdot}$ ist eine Hauptquelle für Wasserdampf in der Stratosphäre.
- Die Halbwertszeit von Methan in der Atmosphäre liegt bei 8–10 Jahren.

Die mikrobielle Methanbildung erfolgt zu je einem Drittel im Wiederkäuerpansen, in Reisfeldern und in natürlichem Feuchtland wie Sümpfen. Daneben ist die Bildung von Methan in Termiten eine beachtenswerte Größe. Die Steigerung des Reisanbaus und der Rinderzucht ist eine wichtige Ursache für den Anstieg der Methanbildung.

Ein außerordentlich großes Methanvorkommen stellen die **Methanhydrate** am Meeresboden und in Permafrostböden dar (► Abschn. 4.5). Die vor allem an den Kontinentalrändern der Ozeane lagernden Methanhydrate übertreffen die C-Mengen der bekannten Erdöl-, Erdgas- und Kohlevorkommen. Die Vorkommen haben sich in Jahrmillionen bei bestimmten Kombinationen von erhöhtem Druck und niedrigen Temperaturen gebildet, wenn ausreichend Methan zur Verfügung stand.

1.2.2 Globaler Stickstoffkreislauf

Die wesentlichen Reaktionen des globalen Stickstoffkreislaufes sind in ◘ Abb. 1.9 zusammengefasst.

Für die pflanzliche Primärproduktion, die tierische und menschliche Konsumption ist Stickstoff in gebundener Form notwendig. Als Stickstoffquellen verwerten die Pflanzen Nitrat und Ammonium, Tiere und Mensch Eiweiße beziehungsweise Aminosäuren. Für die terrestrische Pflanzenproduktion von jährlich etwa 180×10^9 t Trockenmasse werden etwa $1{,}8 \times 10^9$ t N benötigt. Die Biomasse des Phytoplanktons der Meere ist zwar wesentlich geringer, sie hat aber zugleich einen viel größeren Turnover als die Landpflanzen. Der Stickstoffverbrauch dürfte in der gleichen Größenordnung wie bei der Landvegetation sein. Aus den Dimensionen des jährlichen Verbrauches lässt sich ableiten, dass der größte Teil des Stickstoffs durch die Mineralisierungsprozesse im Boden und in den Gewässern wieder rezyklisiert wird.

Transfer von Stickstoff in und aus der Atmosphäre erfolgt zum größten Teil als N_2 (biologische Bindung des elementaren Stickstoffs [N_2]) (► Abschn. 7.1) und die Freisetzung von gebundenem Stickstoff aus Böden und Gewässern durch die Denitrifikation (► Abschn. 7.5.1) und kleineren Transfermengen von N_2O und NO sowie gasförmigem Ammoniak.

Im Vergleich zu den biologischen Prozessen haben die Umsatzraten der anthropogen verursachten Stoffflüsse ein geringeres Ausmaß.

Im Bereich des Festlandes wie der Meere bewirkt die bakterielle Luftstickstoffbindung die wesentliche Zufuhr von gebundenem Stickstoff. Im terrestrischen Bereich liegt sie vergleichbar hoch wie die chemische Stickstoffdüngerproduktion.

Düngung mit mineralischen und organischen Düngern wird zur Steigerung der landwirtschaftlichen Produktivität eingesetzt. Etwa 9×10^7 t mineralischer N-Dünger

1

Tab. 1.2 Quellen und Senken von Methan in der Atmosphäre. (Nach IPCC, 1994, 1996)

Quellen und Senken	10^6 t CH_4 pro Jahr
Natürliche Quellen	
Feuchtgebiete	
• Tropen	65
• Nördliche Breiten	40
• andere	10
Termiten	20
Ozean	10
Süßwasser	5
Geologisch	10
Gesamt Natürliche Quellen	160
Anthropogene Quellen	
Fossile Energieträger	
• Kohlenbergbau	30
• Natürliches Gas	40
• Ölindustrie	15
• Kohleverbrennung	15
Abfallbeseitigungssysteme	
• Deponien	40
• Tierabfälle	25
• Häusliche Abfälle	25
Fermentation Wiederkäuer	85
Verbrennung von Biomasse (Brandrodung)	40
Reisfelder	60
Gesamt Anthropogene Quellen	375
Gesamt Quellen[a]	535
Senken	
Reaktion mit OH	490
Entfernung in der Stratosphäre	40
Entfernung im Boden	30
Gesamt Senken[a]	560
Anstieg in der Atmosphäre[b]	37

[a]kalkulierte Daten; [b]gemessene Daten (Erklärung für die Diskrepanz!)

werden jährlich produziert. Die übliche Methode ist die Vereinigung von Wasserstoff und Stickstoff im Verhältnis 3:1 bei hoher Temperatur (300–500 °C) und hohem Druck (400–1000 atm) in Gegenwart eines Katalysators (meist reduziertes Eisen) (siehe Box ► Haber-Bosch-Prozess).

$$N_2 + 3\,H_2 \rightarrow 2\,NH_3$$

Um Nitratdünger zu produzieren wird Ammoniak zu Nitrat oxidiert. Da während dieses Prozesses CO_2 und N_2O emittiert werden, ist die Produktion von Nitrat an der Emission von Treibhausgasen beteiligt.

Für die Rückführung von Stickstoff ist neben der biologischen Stickstoffbindung die Fixierung durch atmosphärische Prozesse (Gewitter, UV) eine nicht zu vernachlässigende Größe. Etwa 10 % des gebundenen Stickstoffs werden auf diesem Wege aus der Atmosphäre der Erdoberfläche zugeführt.

Ein weiterer wichtiger Stickstoff-Flux aus terrestrischen Systemen ist die Verflüchtigung des Ammoniums, das durch Niederschläge zum Teil wieder aus der Atmosphäre auf die Erdoberfläche zurückgeführt wird. Die Ammoniumfreisetzung geht auf den mikrobiellen Abbau organischer Verbindungen zurück.

Eine maßgebliche Größe im globalen Stickstoffkreislauf ist der Eintrag von organischgebundenen Stickstoffverbindungen sowie Ammonium- und Nitrationen durch die Flüsse in die Meere (etwa $3{,}6 \times 10^7$ t/Jahr).

▪ Distickstoffmonooxid (N_2O)

In der globalen Atmosphäre führt die Anreicherung von N_2O (Distickstoffmonooxid, Lachgas) zur Zerstörung der Ozonschicht in der Stratosphäre und zum Treibhauseffekt.

Zusätzlich zur natürlichen Distickstoffbildung entsteht diese gasförmige Verbindung vor allem bei hohen Stickstoffdüngergaben. N_2O wird durch Nebenreaktionen der Denitrifikation und der Nitrifikation gebildet. Sauerstofflimitation und ein hohes N:C-Verhältnis fördern die Bildung.

Haber-Bosch-Prozess

Die industrielle Synthese von Ammoniak aus Stickstoff und Wasserstoff hatte eine größere fundamentale Bedeutung für die moderne Welt als die Erfindung des Flugzeugs, der Nuklearenergie, der Raumfahrt oder des Telefons. Die Ausweitung der Weltpopulation von 1,6 Mrd. Menschen im Jahre 1900 auf heutige sieben Milliarden wäre ohne die Synthese von Ammoniak durch den Haber-Bosch-Prozess nicht möglich gewesen.
Während des 20. Jahrhunderts ist die katalytische Ammoniaksynthese zu einem der wichtigsten industriellen Prozesse gewachsen.
Ammoniak ist heute neben Schwefelsäure die wichtigste Massenchemikalie. Es werden Hunderte von meist großen Anlagen betrieben, um letztendlich Düngemittel herzustellen.
Die heutige Ammoniaksynthese ist in vielen Einzelheiten stark optimiert worden und funktioniert mit besserer Energieeffizienz als zu Beginn. Heute werden noch mehr als 1 % der gesamten globalen Energienutzung für die Ammoniakproduktion verwendet. Eine weitere Optimierung könnte folglich einen nicht geringen Einfluss auf den Verbrauch von fossilen Energieträgern haben.
Trotz der kontinuierlichen Anstrengungen zur Optimierung des Haber-Bosch-Prozesses wird auch heute noch ein eisenbasierter Katalysator verwendet, der dem von Mittasch und Mitarbeitern entwickelten ähnelt.
Der globale Ausstoß von Ammoniak liegt bei 130 Mio. t, wobei 4/5 in Düngemittel geht, mit Harnstoff als dem bedeutendsten Dünger.
Ohne die obige Synthese gäbe es etwa 2/5 der gegenwärtigen Weltbevölkerung nicht. Diese Abhängigkeit wird weiter steigen, wenn ein Anstieg von 7 auf 9 oder 10 Mrd. Menschen erfolgt.
Ein Erwachsener enthält ungefähr 1 kg Stickstoff im Körper.
In einigen Ländern ist die Anwendung von Dünger auf mehr als 50 kg Stickstoff pro Kopf gestiegen (das globale Mittel liegt bei etwa 13 kg).
Die Mengen des im Dünger festgelegten Stickstoffs sind vergleichbar mit der Hälfte des durch Bakterien in allen natürlichen terrestrischen Ökosystemen fixierten.

Im terrestrischen Bereich bewirken die Stickstoffverbindungen die Überdüngung der Wälder (Neuartige Waldschäden aufgrund territorial gehäuft freigesetzten Ammoniaks der industriellen Tierproduktion), in aquatischen Systemen die Eutrophierung der Gewässer und die Nitratbelastung des Grundwassers.

Distickstoffmonooxid (N_2O) ist eines der klimarelevanten Gase

- N_2O wird überwiegend aus Boden und Wasser in die Atmosphäre freigesetzt.
- Tropische Böden sind die wichtigsten natürlichen Quellen von N_2O.
- Global gesehen lassen Böden der gemäßigten Breiten etwa halb so viel N_2O wie tropische Böden entweichen.
- Emission von N_2O aus gedüngten landwirtschaftlichen Flächen ist die größte anthropogene Einzelquelle zur globalen Menge an N_2O. Andere Quellen (industrielle Aktivitäten, Verbrennung von Biomasse, Entgasen von Grundwasser, welches für die Bewässerung gebraucht wird) werden als geringer eingeschätzt, wenngleich keine Quantifizierung vorliegt.
- Die Entfernung von N_2O aus der Atmosphäre findet primär durch Photolyse in der Stratosphäre statt.
- Der Verbrauch durch Böden ist eine andere, nicht quantifizierte Senke von N_2O.
- N_2O ist eine Quelle für reaktive Stickoxide in der Stratosphäre.
- Es spielt eine bedeutende Rolle bei der Zerstörung der Ozonschicht der Stratosphäre.
- Es ist an der Klimaerwärmung beteiligt.
- Globale Halbwertszeit von N_2O in der Atmosphäre ist 130–150 Jahre.
- Als Treibhausgas ist es um den Faktor 300 effektiver als CO_2 (◘ Tab. 1.3).

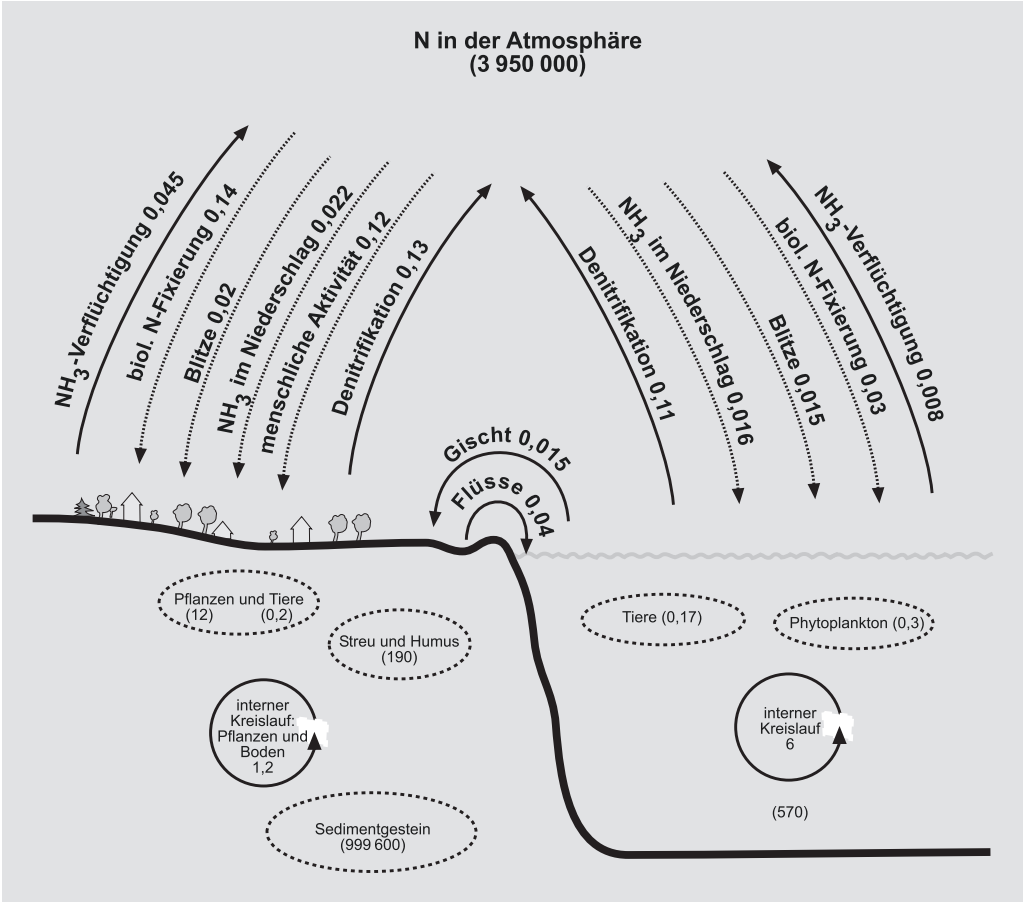


Abb. 1.9 Der globale Stickstoffkreislauf. Die Zahlenangaben an den Pfeilen geben die Stoffflüsse in 10^9 t Stickstoff pro Jahr an, die Zahlen in den Klammern den N-Gehalt der verschiedenen Reservoirs in 10^9 t Stickstoff. (Nach Mackenzie, 1997; Dentener und Crutzen, 1994; ► http://ic.ucsc.edu/~envs23/lecture14N-cycle_prt.htm; Mosier et al., 1998; Kätterer, 2001)

Wie bereits erwähnt, trägt N_2O zur Zerstörung der Ozonschicht in der Stratosphäre und zum Treibhauseffekt bei. Auch wenn die freigesetzten Mengen sehr gering sind, so ist N_2O ein sehr effektives Klimagas, da es sowohl sehr stabil ist (Halbwertzeit 150 Jahre) als auch eine etwa 300-mal höhere thermische Absorption als CO_2 verursacht. Von den derzeitigen globalen N_2O-Emissionen gehen etwa 25 % auf die Düngung, 3 % auf Verbrennungsprozesse zurück, der überwiegende Anteil stammt aus natürlichen biogenen Prozessen. Trotzdem führt die zusätzliche anthropogen bedingte N_2O-Freisetzung zu Umweltbelastungen.

Tierzucht und Klimawandel

Der Tierzuchtsektor spielt aus globaler Sicht in den Kohlenstoff- und Stickstoffzyklen eine wichtige Rolle. Bezüglich Tierzucht sind C- und N-Zyklen eng mit der Rolle der Tierzucht bei der Landnutzung und der Änderung der Landnutzung verbunden. Die Landnutzung für die Tierzucht beinhaltet das Weideland und die landwirtschaftlich genutzten Flächen, die für die Produktion von Viehfutter eingesetzt werden. Wenn man die Emissionen über die gesamte Erzeugerkette berücksichtigt, so ist die Tierzucht gegenwärtig mit etwa 18 % an der globalen Klimaerwärmung beteiligt. Die Tierzucht steuert etwa 9 % der gesamten CO_2-Emissionen bei. Aber 37 % des Methans und 65 % des N_2O stammen aus der Tierzucht. Die letztere Emission wird in den kommenden Jahrzehnten beträchtlich ansteigen, da die Naturweide gegenwärtig in den meisten Regionen der Erde die größtmögliche Fläche erreicht hat. Das Wachstum des Tierzuchtsektors kann aber in der Zukunft nur durch den Anbau von Futterpflanzen gewährleistet werden.

- **Ammonium (NH_4^+)**

Der Großteil der organischen Dünger stammt aus Viehausscheidungen und Klärschlamm. Auf diesem Wege wird ein Teil des Stickstoffes des Kots und Urins in der Landwirtschaft wieder verwendet. Jedoch sind die Ammoniakverluste aus den Ausscheidungen sehr hoch, wenn die stickstoff-reichen Viehabfälle wieder verwenden werden. Die Ammoniakemissionen aus den Ausscheidungen der weidenden Tiere sind zudem hoch. Neuere Schätzungen besagen, dass in Europa bis zu 90 % der gesamten Ammoniakemissionen in die Atmosphäre aus der Landwirtschaft stammen, wobei Viehabfälle die Hauptquelle sind.

Ammonium (NH_4^+)

- NH_3 ist das dritt-häufigste Stickstoffgas in der Atmosphäre (nach N_2 und N_2O).
- Ammoniak besitzt eine relativ kurze Halbwertszeit von ungefähr 10 Tagen.
- NH_3 ist primär ein Produkt biologischer Aktivität wie auch ein Nebenprodukt der landwirtschaftlichen Aktivität sowie der Produktion und Verarbeitung von Abfall.
- Die atmosphären Konzentrationen sind über den Kontinenten höher als über den Ozeanen.
- Es gibt geringen Transport von NH_3 oder NH_4^+ vom Ozean auf die Landmassen.
- Der Transport von den Landmassen zum Ozean ist beträchtlich.
- Ammoniak ist das einzige alkalische Gas in der Atmosphäre und deshalb ein wichtiger Neutralisierer der anthropogenen Säuren durch Reaktionen wie

$$2\,NH_3 + H_2SO_4 \rightarrow (NH_4)_2SO_4$$

- Hauptsenke von atmosphärischem NH_3 ist die Umwandlung zu ammoniumenthaltenden Aerosolen, welche durch trockene Deposition oder Präzipitation niedersinken.
- $(NH_4)_2SO_4$-Aerosole haben eine andere Strahlungseigenschaft als H_2SO_4-Aerosole

Rinderhaltung, besonders Milchwirtschaft, wird als größte Tierhaltungsquelle für die Ammoniakfreisetzung angesehen (Bussink und Oenema, 1998). Verluste von NH_3 entstehen während der Schlammverwendung, Schlammlagerung, Beweidung, Düngerverwendung und aus Kulturpflanzen. Die Gesamtverluste belaufen sich auf 17 bis 46 kg

1

Tab. 1.3 Quellen und Senken für N_2O. (Nach IPCC, 1994)

Quellen und Senken	10^6 t N_2O pro Jahr
Natürliche Quellen	
Tropische Böden	
• nasse Wälder	3
• trockene Savanne	1
Böden gemäßigter Breiten	
• Wälder	1
• Grasland	1
Ozean	3
Gesamt Natürliche Quellen	9
Anthropogene Quellen	
Kultivierte Böden	3,5
Verbrennung von Biomasse (Brandrodung)	0,5
Industrielle Quellen	1,3
Rinderherden	0,4
Gesamt Anthropogene Quellen	5,7
Gesamt Quellen[a]	14,7
Senken	
Entfernung in der Stratosphäre Photochemie	12,3
Entfernung im Boden	?
Gesamt Senken[a]	12,3
Anstieg in der Atmosphäre[b]	3,9

[a]kalkulierte Daten; [b]gemessene Daten

Tab. 1.4 Quellen und Senken für NH_3. (Nach Dentener und Crutzen, 1994)

Quellen und Senken	10^6 t N pro Jahr
Quellen	
Haustiere	21,3
Menschliche Ausscheidungen	32,6
Bodenemission	16
Brandrodung	5,7
Wildtiere	10,1
Industrie	10,2
Düngerverlust	9
Verbrennung fossiler Brennstoffe	0,1
Ozean	8,2
Senken	
Nasse Präzipitation (Land)	11
Nasse Präzipitation (Ozean)	10
Trockene Deposition (Land)	11
Trockene Deposition (Ozean)	5
Reaktion mit OH	3

N pro Jahr pro Kuh, je nach Mengen und Zusammensetzung der Ausscheidungen, der Behandlung der Schlämme und der Boden- und Umweltbedingungen (Bussink und Oenema, 1998). Hohe Temperaturen, hoher pH und gute Belüftung fördern die Ammoniakverdampfung. Folglich ist ein schneller Transport der Viehausscheidungen in anaerobe Speicher und eine schnelle Einarbeitung in den Boden nach der Ausbringung ein Weg, um die Ammoniakfreisetzung zu reduzieren. Eine Reduktion der Freisetzungsverluste kann auch erreicht werden, wenn eine gut ausgewogene Tierfütterung erfolgt, in welcher eine Kombination von Aminosäuren auf einen effizienten hohen Stickstoffverbrauch der Tiere und folglich geringere Stickstoffkonzentration in den Viehausscheidungen optimiert ist (Tab. 1.4).

NO

- NO ist ein reaktives Gas, welches eine Hauptrolle in der Photochemie der Troposphäre spielt und damit zum Sauren Regen beiträgt.
- Die Photochemie von NO ist bedeutend für die Bildung von troposphärischem O_3 und es reguliert damit die oxidierende Kapazität der Troposphäre.
- Hochlandböden sind als Hauptquelle am troposphärischen NO beteiligt.

- **Stickstoffmonoxid (NO)**

Die Verbrennung von Brennstoffen führt zur Emission von NO. In der Atmosphäre wird NO zu Stickstoffdioxidgas (NO_2) oxidiert, welches sich im Wasser löst und zu HNO_3 reagieren kann, eines der Hauptkomponenten des sauren Regens. NO spielt auch eine bedeutende Rolle in der Atmosphärenchemie, da es am Gleichgewicht der Oxidanzien in der Atmosphäre beteiligt ist.

1.2.3 Globaler Schwefelkreislauf

Der globale Transportkreislauf des Schwefels ist in ◘ Abb. 1.10 dargestellt.

Hauptreservoire sind das Sulfat im Meer (bedeutendstes Schwefelreservoir für die Biosphäre) sowie die Festlegung in Sedimentgestein (in Form von Sulfatmineralien, hauptsächlich Gips, $CaSO_4$, und Sulfidmineralien, hauptsächlich Pyrit, FeS_2).

Schwefel ist ein chemisches Element, das essenziel für das Leben auf der Erde ist. Schwefel macht etwa 0,2 % der Biomasse aus. Lebende Organismen, inklusive der Pflanzen assimilieren Schwefel während gleichzeitig Schwefel in den verschiedensten Formen durch Lebewesen als Endprodukte des Stoffwechsels freigesetzt wird.

Die Hauptschwefelgase sind Dimethylsulfid (CH_3SCH_3 oder DMS), Carbonylsulfid (OCS), Schwefelwasserstoff (H_2S), Dimethyldisulfid (DMDS), Schwefelkohlenstoff (CS_2) und Schwefeldioxid (SO_2) Über das letzte Jahrhundert hinweg wurde der Schwefelkreislauf immer stärker durch menschliche Aktivität beeinflusst. Heute machen global gesehen die anthropogenen Emissionen etwa 75 % der gesamten Schwefelemissionen aus, davon 90 % auf der Nordhalbkugel. Wenn man die Verbrennung von Biomasse ausschließt, so machen die natürlichen Emissionsquellen (marine, terrestrische und vulkanische) 24 % der Gesamtemission aus, mit 13 % in der Nord- und 11 % in der Südhemissphäre. Obwohl die anthropogenen Emissionen (hauptsächlich SO_2) deutlich in gewissen Regionen dominieren, besonders im Nordosten der USA und Bereichen Europas und Asiens, beeinflussen sowohl natürliche und anthropogene Quellen die globale Verteilung von Schwefel in der Atmosphäre.

Die in der Biosphäre und der Hydrosphäre produzierten reduzierten Schwefelverbindungen, DMS, H_2S, CS_2 und OCS, sind flüchtig und werden leicht mit der Atmosphäre ausgetauscht.

Da die Atmosphäre als Oxidationsmedium wirkt, wird reduzierter Schwefel in SO_2 und weiter in Schwefelsäure (H_2SO_4) umgewandelt. Sulfatpartikel, die durch homogene und heterogene Keimbildung von H_2SO_4 entstanden sind, sollen die Hauptquelle der Wolkenkondensationskerne sein. Die Entfernung von Schwefel aus der Atmosphäre erfolgt durch trockene und feuchte Deposition an der Oberfläche mit folgenschweren Konsequenzen für die Umwelt. Die saure Präzipitation und andere ähnliche negative Einflüsse auf Lebewesen werden in einigen Regionen der Nord-Hemisphäre beobachtet.

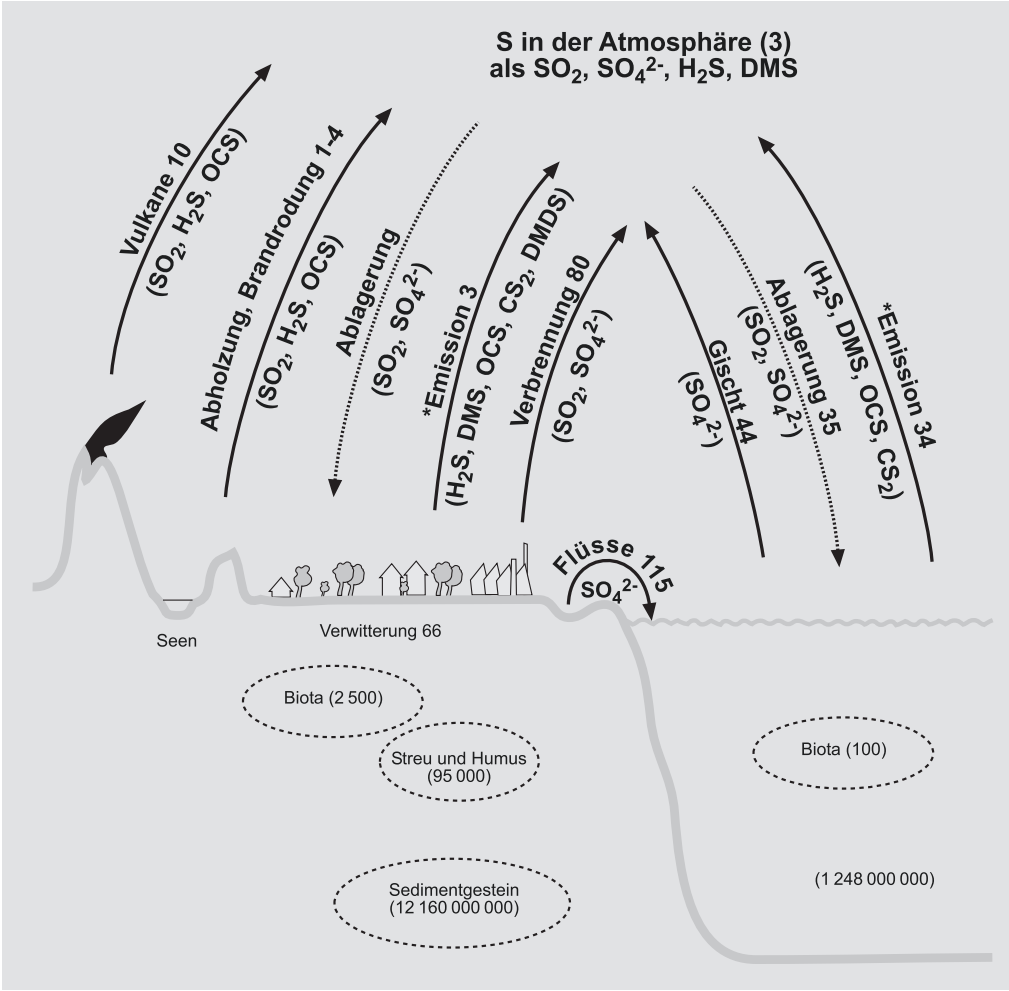


Abb. 1.10 Der globale Schwefelkreislauf. Die Zahlenangaben an den Pfeilen geben die Stoffflüsse in 10^6 t Schwefel pro Jahr an, die Zahlen in den Klammern den Schwefelgehalt der verschiedenen Reservoirs in 10^6 t Schwefel. *Prozess, der teilweise oder ausschließlich auf mikrobielle Aktivität zurückgeht. (Nach Madigan et al., 2009; Bates et al., 1992; Mackenzie, 1997)

Wenn DMS, H_2S, CS_2 und OCS in die Atmosphäre gelangt sind, so werden sie in erster Linie durch Oxidation mit $OH^{\bullet}$ zum SO_2 umgewandelt, möglicherweise auch zu H_2SO_4 oder CH_3SO_3H (Methansulfonsäure). Sulfate kehren durch trockene und feuchte Deposition auf die Oberfläche zurück. Die Reaktion von OCS mit $OH^{\bullet}$ ist sehr langsam und deshalb findet Transport in die Stratosphäre statt. Dort in der Stratosphäre wird OCS photolysiert, SO_2 und letztendlich H_2SO_4-Aerosole werden gebildet.

Quelle und biogeochemische Bedeutung von Dimethylsulfoniumpropionat und Dimethylsulfid

- Dimethylsulfoniumpropionat (DMSP) ist eine Sulfoniumverbindung, die in hoher Konzentration in marinen Micro- und Macroalgen sowie halophytischen Pflanzen zur Kontrolle des inneren osmotischen Druckes gebildet wird.
- DMSP ist allgegenwärtig im marinen Oberflächenwasser mit Konzentrationen von weniger als 1 nM im offenen Ozean bis zu einigen micromolar in der Phytoplankton-Blüte.
- Seine Freisetzung in das Ozeanwasser erfolgt durch Ausströmen, Tod oder Beweidung und ist eine der bedeutendsten Schwefel- und Kohlenstoffquellen für marine Bakterien.
- Eines der Abbauprodukte von DMSP ist das flüchtige Dimethylsulfid (DMS), welches mit signifikanter Rate in die Atmosphäre entweicht.
- DMS ist nur schlecht im Wasser löslich, doch das Wasser der Ozeane ist übersättigt.
- Dimethylsulfid ist als Gas die primäre Ursache für die Belastung der Atmosphäre mit Nicht-Seesalz Sulfaten.
- Die Emission von DMS aus den Ozeanen bedingt atmosphärische DMS-Aerosole oder –Tröpfchen. Deren Oxidation erzeugt Schwefelsäure, die als Kondensationskeim bei der Wolkenbildung fungiert und damit zur Rückstrahlung von Sonnenenergie führt. Modellrechnungen haben gezeigt, dass die Reduktion der Menge des Sonnenlichtes, welches die Erdoberfläche erreicht, aufgrund von Änderung der Konzentration von DMS theoretisch eine Erniedrigung der globalen mittleren Temperatur bewirken würde. DMS ist damit ein „klimakühlendes" Gas.
- Der jährliche Gesamtfluss von biogenem DMS aus dem Ozean wurde auf 13 bis 37 Tg (T = Tera = 10^{12}) geschätzt. Dies ist eine Größenordnung höher als der jährliche Gesamtfluss aus allen anderen Quellen, wie Boden, Pflanzen, Salzmarschen und Frischwassersümpfen. Die Menge ist besonders bemerkenswert, da zwischen 50 und 85 % des freigesetzten DSMP demethyliert und eine Fraktion von DMS durch Bakterien in der Wassersäule oxidiert wird, bevor es die Atmosphäre erreicht.
- Obwohl der Gesamtfluss von DMS nur halb so groß wie die anthropogenen Schwefeldioxidemissionen ist, führt die längere Verweilzeit der DMS-Oxidationsprodukte in der Atmosphäre und die globale Verbreitung der DMS-Freisetzung dazu, dass ein größerer Anteil an der atmosphärischen Schwefelbelastung vom DMS herrührt.
- DMS wurde als die fehlende Gaskomponente identifiziert, die gebraucht wurde, um den steady-state Fluss von Schwefel zwischen terrestrischen und marinen Umgebungen zu verstehen. Dies macht die DMS-Emissionen zu einem Schlüsselschritt des globalen Schwefelkreislaufes und zu einem Transporter zwischen See und Land.
- DMS ist damit die wichtigste organische Schwefelverbindung mit globaler ökologischer Bedeutung.
- Einen Zusammenhang zwischen der Sonneneinstrahlung und der DMS-Konzentration ist als die CLAW-Hypothese bekannt. Darin wird behauptet, dass das ansteigende Niveau der Sonneneinstrahlung und die damit verbundenen höheren Temperaturen das Wachstum von DMSP-produzierenden marinem Phytoplankton fördern und sich damit die gesamte DMSP-Produktion erhöht.

1

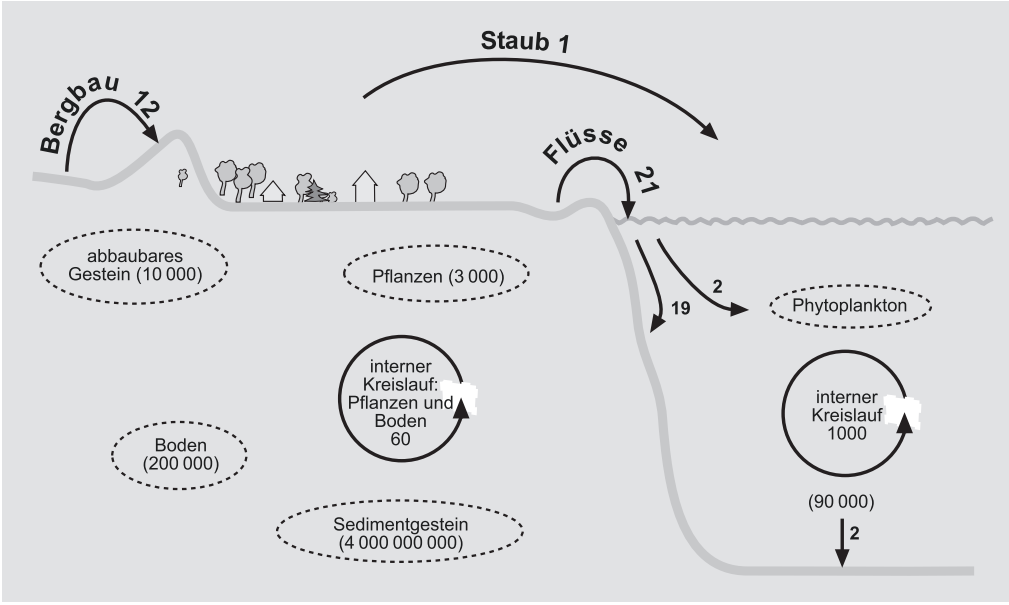
Carbonylsulfid (OCS)

- Aufgrund seiner geringen chemischen Reaktivität ist OCS das am meisten vorhandene Schwefelgas in der Atmosphäre.
- Die hauptsächlichen, troposphärischen Senken sind die Aufnahme durch Böden und die Hydrolyse durch natürliche Wässer.
- Die globale Lebensdauer von OCS ist etwa 1,5 Jahre.
- Es kann in die Stratosphäre transportiert werden, wo es durch solare UV-Strahlung photolysiert wird und als Quelle von SO_2 und Sulfatpartikeln fungiert.
- Die Summe der bekannten OCS Quellen ist ungefähr 50 % größer als die der bekannten Senken.

1.2.4 Globaler Phosphorkreislauf

Der globale Kreislauf von Phosphor ist einzigartig unter den Kreisläufen der biogeochemischen Hauptelemente, da er keine bedeutende gasförmige Komponente hat. Der Transfer von Phosphor über die Atmosphäre durch Staub und Meeresgischt (1×10^6 t P/Jahr) ist sehr viel geringer als der anderer Transfers im globalen Phosphorkreislauf. Dennoch ist bekannt, dass er einen bedeutenden Beitrag zur Versorgung mit verfügbarem Phosphor leistet, wenn der Niederschlag in einigen tropischen Wäldern und im offenen Ozean niedergeht (◘ Abb. 1.11).

Anders als die Transfers im globalen Stickstoffkreislauf wird die Hauptquelle von reaktivem Phosphor nicht durch mikrobielle Reaktionen gespeist. Fast der gesamte Phosphor in terrestrischen Ökosystemen stammt ursprünglich von der Verwitterung von Calciumphosphatmineralien, besonders Apatit [$Ca_5(PO_4)_3OH$]. Es gibt keinen der Stickstofffixierung äquivalenten Prozess, der einen deutlichen Anstieg der Verfügbarkeit von Phosphor für Pflanzen in



◘ **Abb. 1.11** Der globale Phosphorkreislauf. Die Zahlenangaben an den Pfeilen geben die Stoffflüsse in 10^6 t Phosphor pro Jahr an, die Zahlen in den Klammern den Phosphorgehalt der verschiedenen Reservoirs in 10^6 t Phosphor. (Nach Schlesinger, 1997)

phosphorlimitierten Habitaten bewirkt. Der Phosphatgehalt der meisten Gesteine ist nicht sehr hoch und in den meisten Böden gibt es nur eine kleine Fraktion des Gesamtphosphors, die für Lebewesen verfügbar ist. Deshalb existieren die Lebewesen an Land und auf See nur aufgrund eines gut-entwickelten „Recyclings" von Phosphor in der organischen Form.

Der Hauptstrom von Phosphor im globalen Kreislauf wird durch die Flüsse durchgeführt, welche etwa 21×10^6 t P/Jahr ins Meer transportieren. Etwa 10 % davon sind für marine Lebewesen zugänglich, der Rest ist festgebunden an Bodenpartikel und sedimentiert schnell auf den Festlandssockeln. Die Konzentration von PO_4^{3-} in den Oberflächenwassern der Ozeane ist niedrig, aber das große Volumen an Tiefenwasser beinhaltet ein beträchtliches Reservoir an Phosphor. Die Verweilzeit für reaktiven, nicht-gebundenen Phosphor im Meer ist etwa 25.000 Jahre. Der Umsatz von Phosphor aus dem organischen Reservoir im Oberflächenwasser der Ozeane findet in wenigen Tagen statt und der Rest wird im Tiefenwasser mineralisiert. Phosphor sedimentiert am Meeresboden, welcher das größte Reservoir von Phosphor in der Nähe der Erdoberfläche darstellt. Etwa 2×10^6 t P/Jahr werden zu den Sedimenten des offenen Ozeans hinzugefügt – in etwa die Menge, die über die Flüsse in die Meere gelangt. Auf einer Zeitskala von hunderten von Millionen Jahren findet ein „Anheben" der Sedimente und Gesteinsverwitterung statt und es wird so der globale Kreislauf geschlossen.

Die Menschen haben in vielen Gebieten durch Abbau von Phosphatgestein für Düngemittel die Verfügbarkeit von Phosphor erhöht. Die meisten der ökonomisch sinnvollen Ablagerungen von Phosphat sind Sedimentgestein marinen Ursprungs, sodass die Bergbauaktivitäten direkt den Umsatz im globalen Phosphorkreislauf erhöht haben. Der Strom (Flux) von Phosphor über die Flüsse als Folge von Erosion, Verschmutzung und Abfluss von Dünger ist sehr viel höher als der in prähistorischer Zeit.

1.2.5 Zusammenfassung globale Kreisläufe

Kleine biogeochemische Kreisläufe von Stickstoff und Phosphor mit relativ raschem Umsatz sind an große Reservoirs mit relativ langsamem Turnover gekoppelt. Das große Reservoir für Phosphor bilden die unverwitterten Gesteine und Boden, während die Atmosphäre das Hauptreservoir für Stickstoff darstellt. Der biogeochemische Kreislauf für Stickstoff beginnt mit der Fixierung atmosphärischen Stickstoffs, welche eine geringe Menge des inerten N_2 in die Biosphäre transferiert. Dieser Transfer wird durch die Denitrifikation ausgeglichen, welche N_2 wieder in die Atmosphäre zurückführt. Die Ausgewogenheit dieser Prozesse erhält eine Fließgleichgewichtskonzentration von N_2 in der Atmosphäre mit einer Turnoverzeit von 10^7 Jahren. In der Abwesenheit der Denitrifikation würde das meiste des Stickstoffbestandes auf der Erde schließlich im Ozean und in organischen Sedimenten verschwunden sein. Die Denitrifikation schließt also den globalen Stickstoffkreislauf und sie bewirkt, dass Stickstoff schneller als Phosphor, welches keine Gasphase hat, umgesetzt wird. Die mittlere Verweilzeit von Phosphor in Sedimentgesteinen ist 10^8 Jahre und der Phosphorkreislauf ist nur vollständig als Folge von tektonischen Bewegungen der Erdkruste.

Erst in der Biosphäre sind die Umwandlungen von Stickstoff und Phosphor sehr viel schneller als in ihren globalen Kreisläufen. So gibt es Umsatzraten im Bereich von Stunden (für löslichen Phosphor im Boden) bis hunderten von Jahren (für Stickstoff in Biomasse).

Aufgrund von Limitierungen an Nährstoffen erlaubt biologisches „Recycling" in terrestrischen und marinen Habitaten sehr viel höhere Raten an „Net primary production" als es die Raten der Stickstofffixierung und Gesteinsverwitterung alleine zulassen würden. Die hohe Effizienz des Nährstoff „recyclings" kann auch erklären, warum trotz der verbreiteten Stickstofflimitierung nur etwa 2,5 % der globalen „Netto Primärproduktion" über die Stickstofffixierung abläuft.

Menschliche Einflussnahme auf die globalen Stickstoff- und Phosphorkreisläufe sind vielfältig und dramatisch. Durch die Produktion von Dünger haben die Menschen die Rate verdoppelt, mit der Stickstoff in den biogeochemischen Kreislauf an Land gelangt. Es ist nicht klar, wie schnell die Denitrifikation auf diesen globalen Anstieg an Stickstoffverfügbarkeit antworten wird, aber die steigende Konzentration des atmosphärischen N_2O ist sicherlich ein Anzeichen für die stattfindende biologische Antwort. Die steigende Stickstoffverfügbarkeit hat zum lokalen Aussterben von Spezies in verunreinigten Ökosystemen geführt und hat die Limitierung der „Net primary production" in diesen Systemen vom Stickstoff zum Phosphor verschoben. Verstärkter Transport von Stickstoff und Phosphor durch die Flüsse hat viele Flussmündungsgebiete und Küstenökosysteme verändert.

Das Hauptreservoir von Schwefel im globalen Kreislauf sind die Mineralien der Erdkruste Gips und Pyrit. Zusätzlich gibt es Schwefel gelöst im Ozean als Sulfat. Bezüglich des Reservoirs ähnelt der globale Schwefelkreislauf dem des globalen Kreislaufs des Phosphors, während im Gegensatz das größte Reservoir des Stickstoffes in der Atmosphäre zu finden ist. In einer anderen Beziehung gibt es jedoch starke Ähnlichkeit von globalem Stickstoff- und Schwefelkreislauf. In beiden Fällen erfolgt der Hauptumsatz der Elemente über die Atmosphäre. Unter natürlichen Bedingungen ist der größte Anteil des Umsatzes die Bildung von reduzierten Gasen von Stickstoff und Schwefel durch Lebewesen. Diese Gase führen Stickstoff und Schwefel in die Atmosphäre zurück und bewirken so einen geschlossenen Kreislauf mit relativ schnellem Umsatz. Im Gegensatz dazu ist der endgültige Weg von Phosphor die Einlagerung in Meeressedimenten, von wo der Kreislauf von Phosphor nur aufgrund von Auftrieb von Sedimenten über sehr lange Zeiträume vollständig ist. Biogeochemie übt einen großen Einfluss auf den globalen Schwefelkreislauf aus. Das größte Reservoir von Schwefel an der Erdoberfläche wird als Folge der Sulfatreduktion als Pyrit der Sedimente gefunden. Die Daten von Sedimenten zeigen, dass das relative Ausmaß der Sulfatreduktion über die geologischen Zeiträume variiert hat. In der Abwesenheit von sulfatreduzierenden Bakterien wäre die Konzentration von SO_4^{2-} im Seewasser höher und die von O_2 in der Atmosphäre niedriger als die Werte von heute.

Die gegenwärtige menschliche Einflussnahme auf den Schwefelkreislauf führt zu einer in etwa Verdoppelung der jährlichen Mobilisierung von Schwefel aus der Erdkruste. Als Folge der Verbrennung von fossilen Energieträgern erhalten Landschaften auf der Abwindseite von Industriegebieten große Mengen an saurem Niederschlag aus der Atmosphäre. Dieses Übermaß an Säure führt zu Änderungen der Gesteinsverwitterung, des Wachstums von Wäldern und der Produktivität in den Ozeanen.

? Testen Sie Ihr Wissen

Nennen Sie globale und lokale Umweltschäden.

Welche Bestandteile der Atmosphäre stehen im direkten Zusammenhang mit biologischen Aktivitäten?

Welche in der auf Seiten 5 + 6 aufgeführten Liste **nicht** genannte Verbindung hat ein hohes Treibhauspotenzial? Hinweis: Es steht in der ersten Zeile „Anteil in trockener Luft".

Warum dauerte es so lange, bis die FCKWs die Ozonschicht der Stratosphäre erreichten? Warum verteilen sich Substanzen schnell oder langsam?

Nennen Sie biologische Methoden der Bestimmung der Temperatur auch ohne Thermometer.

Vergleichen Sie CO_2, N_2O und Methan als Klimagase.

Was verbirgt sich hinter El Niño?

Was haben Umwelt und Mikroorganismen mit einander zu tun?

Auf welchem Wege düngen die „Holländer" die Ackerflächen in Nordrhein-Westfalen und Niedersachsen?

Nennen Sie klima-relevante N- und S-Verbindungen

Welche Senken für CO_2 kennen Sie?

Literatur

Bates, T. S., Lamb, B. K., Guenther, A., Dignon, J., Stoiber, R. E. 1992. Sulfur emissions to the atmosphere from natural sources. J. Atmos. Chem. 14:315–337.

Brasseur, G. P., Orlando, J. J., Tyndall, G. S. 1999. Atmospheric chemistry and global change. Oxford University Press, Oxford, UK.

Bussink, D. W., Oenema, O. 1998. Ammonia volatilization from dairy farming systems in temperate areas: a review. Nutr. Cycl. Agroecosyst. 51:19–33.

Conrad, R. 1996. Soil microorganisms as controllers of atmospheric trace gases (H_2, CO, CH_4, OCS, N_2O, and NO). Microbiol. Rev. 60:609–640.

Dentener, F. J., Crutzen, P. J. 1994. A three-dimensional model of the global ammonia cycle. J. Atmos. Chem. 19:331–369.

Dlugokencky, E. J. 2016. NOAA/ESRL (► www.esrl.noaa.gov/gmd/ccgg/trends_ch4/) (Accessed: 18 July 2016).

Hartmann, D. L., Klein Tank, A. M. G., Rusticucci, M., Alexander, L. V., Brönnimann, S., Charabi, Y., Dentener, F. J., Dlugokencky, E. J., Easterling, D. R., Kaplan, A., Soden, B. J., Thorne, P. W., Wild, M., Zhai, P. M. 2013. Observations: Atmosphere and Surface. *In:* Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [Stocker, T. F., Qin, D., Plattner, G.-K., Tignor, M., Allen, S. K., Boschung, J., Nauels, A., Xia, Y., Bex, V., Midgley, P. M. (eds.)]. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.

Jackson, R. B., Canadell, J. G., Le Quéré, C., Andrew, R. M., Korsbakken, J. I., Peters, G. P., Nakicenovic, N. 2016. Reaching peak emissions. Nature Climate Change 6:7–10. ► http://www.earth-syst-sci-data.net/8/605/2016/doi:10.5194/essd-8-605-2016.

IPCC. 1994. Climate Change 1994: Radiative Forcing of Climate Change and an Evaluation of the IPCC IS92 Emission Scenarios. Houghton, J. T., Meira Filho, L., Bruce, G. J., Lee, H., Callander, B. A., Haites, E. F., Harris, N., Maskell, K. (eds.), Intergovernmental Panel on Climate Change, Cambridge University Press, Cambridge, UK.

IPCC. 1996. Climate Change 1995: The Science of Climate Change. Houghton, J. T., Meira Filho, L. G., Bruce, J., Lee, H., Callander, B. A., Haites, E. F., Harris, N., Maskell, K. (eds.), Intergovernmental Panel on Climate Change, Cambridge University Press, Cambridge, UK.

IPCC. 2001. Climate Change 2001: The Scientific Basis. Houghton, J. T., Ding, Y., Griggs, D. J., Noguer, M., van der Linden, P. J., Dai, X., Maskell, K., Johnson, C. A. (eds.), Intergovernmental Panel on Climate Change, Cambridge University Press, Cambridge, UK.

IPCC. 2007. Summary for Policymakers. Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Solomon, S., Qin, D., Manning, M., Chen, Z., Marquis, M., Averyt, K. B., Tignor, M., Miller, H. L. (eds.). Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.

Kätterer, T. 2001. Nitrogen budgets. Encyclopedia of Life Sciences. John Wiley & Sons, Ltd./► www.els.net.

Kiehl, J. T., Trenberth, K. E. 1997. Earth´s annual global mean energy budget. Bull. Am. Met. Soc. 78:197–208.

Le Quéré, C., Andrew, R. M., Canadell, J. G., Sitch, S., Korsbakken, J. I., Peters, G. P., Manning, A. C., Boden, T. A., Tans, P. P., Houghton, R. A., Keeling, R. F., Alin, S., Andrews, O. D., Anthoni, P., Barbero, L., Bopp, L., Chevallier, F., Chini, L. P., Ciais, P., Currie, K., Delire, C., Doney, S. C., Friedlingstein, P., Gkritzalis, T., Harris, I., Hauck, J., Haverd, V., Hoppema, M., Klein Goldewijk, K., Jain, A. K., Kato, E., Körtzinger, A., Landschützer, P., Lefèvre, N., Lenton, A., Lienert, S., Lombardozzi, D., Melton, J. R., Metzl, N., Millero, F., Monteiro, P. M. S., Munro, D. R., Nabel, J. E. M. S., Nakaoka, S.-I., O'Brien, K., Olsen, A., Omar, A. M., Ono, T., Pierrot, D., Poulter, B., Rödenbeck, C., Salisbury, J., Schuster, U., Schwinger, J., Séférian, R., Skjelvan, I., Stocker, B. D., Sutton, A. J., Takahashi, T., Tian, H., Tilbrook, B., van der Laan-Luijkx, I. T., van der Werf, G. R., Viovy, N., Walker, A. P., Wiltshire, A. J., Zaehle, S. 2016. Global Carbon Budget 2016. Earth Syst. Sci. Data, 8:605–649, ► https://doi.org/10.5194/essd-8-605-2016, 2016.

Madigan, M. T., Martinko, J. M., Dunlap, P. V., Clark, D. P. 2009. Brock-Biology of Microorganisms. 12th International Edition. Pearson Benjamin Cummings, San Francisco, CA94111.

Mackenzie, F. T. 1997. Our Changing Planet. An introduction to earth system science and global environmental change. Second edition. Prentice Hall. Upper Saddle River, NJ07458.

Mosier, A., Kroeze, C., Nevison, C., Oenema, O., Seitzinger, S., van Cleemput, O. 1998. Closing the global N_2O budget: nitrous oxide emissions through the agricultural nitrogen cycle. Nutr. Cycl. Agroecosyst. 52:225–248.

Patra, P. K., Crisp, D., Kaiser, J. W., Wunch, D., Saeki, T., Ichii, K., Sekiya, T., Wennberg, P. O., Feist, D. G., Pollard, D. F., Griffith, D. W. T., Velazco, V. A., De Maziere, M., Sha, M. K., Roehl, C., Chatterjee, A., Ishijima, K. 2017. The Orbiting Carbon Observatory (OCO-2) tracks 2–3 peta-gram increase in carbon release to the atmosphere during the 2014–2016 El Niño. Sci Rep. 2017 Oct 19;7(1):13567. ► https://doi.org/10.1038/s41598-017-13459-0.

Saunois, M., Bousquet, P., Poulter, B., Peregon, A., Ciais, P., Canadell, J. G., Dlugokencky, E. J., Etiope, G., Bastviken, D., Houweling, S., Janssens-Maenhout, G., Tubiello, F. N., Castaldi, S., Jackson, R. B., Alexe, M., Arora, V. K., Beerling, D. J., Bergamaschi, P., Blake, D. R., Brailsford, G., Brovkin, V., Bruhwiler, L., Crevoisier, C., Crill, P., Covey, K., Curry, C., Frankenberg, C., Gedney, N., Höglund-Isaksson, L., Ishizawa, M., Ito, A., Joos, F., Kim, H.-S., Kleinen, T., Krummel, P., Lamarque, J.-F., Langenfelds, R., Locatelli, R., Machida, T., Maksyutov, S., McDonald, K. C., Marshall, J., Melton, J. R., Morino, I., Naik, V., O'Doherty, S., Parmentier, F.-J. W., Patra, P. K., Peng, C., Peng, S., Peters, G. P., Pison, I., Prigent, C., Prinn, R., Ramonet, M., Riley, W. J., Saito, M., Santini, M., Schroeder, R., Simpson, I. J., Spahni, R., Steele, P., Takizawa, A., Thornton, B. F., Tian, H., Tohjima, Y., Viovy, N., Voulgarakis, A., van Weele, M., van der Werf, G. R., Weiss, R., Wiedinmyer, C., Wilton, D. J., Wiltshire, A., Worthy, D., Wunch, D., Xu, X., Yoshida, Y., Zhang, B., Zhang, Z., Zhu, Q. 2016a. The global methane budget 2000–2012. Earth Syst. Sci. Data, 8:697–751, ► https://doi.org/10.5194/essd-8-697-2016, 2016.

Saunois, M., Jackson, R. B., Bousquet, P., Poulter, B., Canadell, J. G. 2016b. The growing role of methane in anthropogenic climate change. Environ. Res. Lett. 11:120207 ► https://doi.org/10.1088/1748-9326/11/12/120207.

Schlesinger, W. H. 1997. Biogeochemistry. An Analysis of Global Change. Second edition. Academic Press, San Diego, USA.

Weiterführende Literatur

Clarke, A. J. 2014. El Niño physics and El Niño predictability. Annu. Rev. Marine Sci. 6:79–99.

Conrad, R. 2012. Bericht der American Academy of Microbiology. Mikroorganismen und Klima. BIOSpektrum 18:336.

Diekert, G. 1997. Grundmechanismen des Stoffwechsels und der Energiegewinnung. *In:* Umweltbiotechnologie, Ottow, J.C.G., Bidlingmaier, W. (Hrsg.). Gustav Fischer, Stuttgart.

Ehrlich, H. L., Oremland, R. S., Zehr, J. P. 2001. Biogeochemical cycles. Encyclopedia of Life Sciences. John Wiley & Sons, Ltd./► www.els.net.

Fritsche, W. 1998. Umweltmikrobiologie. Grundlagen und Anwendungen. Gustav Fischer, Stuttgart.

Jacobsen, C. J. H. 2000. Novel class of ammonia synthesis catalysts. Chem. Commun. 1057–1058.

IPCC. 2013. Summary for Policymakers. Climate Change 2013: The Physical Science Basis. Contribution of Working Group I to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Stocker, T. F., Qin, D., Plattner, G.-K., Tignor, M., Allen, S. K., Boschung, J., Nauels, A., Xia, Y., Bex, V., Midgley, P. M. (eds.). Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA.

Karl, D. M. 2014. Microbially mediated transformations of phosphorus in the sea: New views of an old cycle. Annu. Rev. Marine Sci. 6:279–337.

Kolasinski, K. W. 2008. Surface Science: Foundations of Catalysis and Nanoscience, 2nd ed., John Wiley and Sons, Chichester, UK, 486 pages.

Mittasch, A. 1950. Early studies of multicomponent catalysts. Adv. Catal. 2:81–104.

Reisch, C. R., Moran, M. A., Whitman, W. B. 2011. Bacterial catabolism of dimethylsulfoniopropionate (DMSP). Frontiers in Microbiology 2: Article 172.

Smil, V. 2004. Enriching the Earth: Fritz Haber, Carl Bosch, and the Transformation of World Food Production, MIT Press, Cambridge, MA, 338 pages.

Steinfeld, H., Gerber, P., Wassenaar, T., Castel, V., Rosales, M., de Haan, C. 2006. Livestock´s long shadow. Environmental issues and options. Kapitel 3. Livestock´s role in climate change and air pollution. Report Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome.

Steinfeld, H., Wassenaar, T. 2007. The Role of Livestock Production in Carbon and Nitrogen Cycles. Annu. Rev. Environ. Resour. 32:271–294.

United Nations Environment Programme. UNEP Report 2012. Policy Implications of Warming Permafrost. ► http://www.unep.org/pdf/permafrost.pdf.

Whitman, W. B., Coleman, D. C., Wiebe, W. J. 1998. Prokaryotes: The unseen majority. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95:6578–6583.

Yoch, D. C. 2002. Dimethylsulfoniopropionate: Its sources, role in the marine food web, and biological degradation to dimethylsulfide. Appl. Environ. Microbiol. 68:5804–5815.

► http://ic.ucsc.edu/~envs23/lecture14N-cycle_prt.htm.

► http://www.pmel.noaa.gov/co2/.

Bulletin of the American Meteorological Society *State of the Climate in 2017 report* Vol. 99. No. 8, August 2018. ► http://www.noaa.gov/news/2017-was-one-of-three-warmest-years-on-record-international-report-confirms.

Mikroorganismen, Akteure in der Umwelt

2.1 Mikroorganismen, Zuordnung zu Gruppen – 36

2.2 Mikroorganismen, der Vorteil einer geringen Größe – 40

2.3 Mikroorganismen, klein aber viele – 41

2.4 Mikroorganismen, leben nicht alleine – 42

Literatur – 54

© Springer-Verlag GmbH Deutschland, ein Teil von Springer Nature 2020
W. Reineke und M. Schlömann, *Umweltmikrobiologie,* https://doi.org/10.1007/978-3-662-59655-5_2

Verschiedene Gruppen von Organismen siedeln sich in der Umwelt in den verschiedenen Stufen eines Ökosystems an. Die Pflanzen fungieren als Primärproduzenten, die Tiere und der Mensch als Konsumenten und die Mikroorganismen – Bakterien und Pilze – als Destruenten. Den Mikroorganismen kommt in dieser Funktion auch bei der Bewältigung von Umweltproblemen eine entscheidende Rolle zu. Sie sind essenzielle Teilglieder in Stoffkreisläufen (siehe ► Kap. 4, 6 und 7).

Mikroorganismen sind Objekte, die einzeln mit dem bloßen Auge nicht sichtbar sind, weil sie kleiner als die Auflösungsgrenze des menschlichen Auges von etwa 20 µm sind. Man sieht sie selbst nicht, sieht oder riecht aber das Ergebnis ihrer Stoffwechselaktivität oder sieht sie beim Massenauftreten in der Natur. So zeigt sich die Massenvermehrung von Cyanobakterien im Sommer als „Wasserblüte" in eutrophierten Seen. An extremen Standorten wie Salz- und Alkaliseen oder anaeroben, sulfidreichen Seen können Bakterien zu extrem großen phototrophen oder halophilen Populationen heranwachsen und anhand der Purpurfarbe des Wassers sichtbar werden, wie dem Lake Cisó, im Nordosten von Spanien, dem Lake Tyrrell in Australien oder dem Lake Magadi in Kenia. Die auffällige Schichtung des Farbenstreifenwatts in den Gezeitenzonen des Meeres ist ein weiteres Beispiel für das Sichtbarwerden mikrobieller Populationen (siehe ► Abschn. 10.4). Der Kampf gegen Plaque-Bildung durch Mikroorganismen wird von jedem täglich durchgeführt (siehe ► Abschn. 10.2, Biofilm auf Zähnen). Eine riesige Anzahl von Hefezellen hat jedermann schon in der Form eines Würfels Presshefe zum Bereiten eines Pizzateiges in der Hand gehabt.

Zu den Mikroorganismen gehören grundverschiedene Organismen:

1. **Prokaryoten** stehen im Mittelpunkt der allgemeinen Mikrobiologie und auch der Umweltmikrobiologie. Prokaryoten haben einfach gebaute Zellen ohne abgegrenzten Zellkern. Zu ihnen zählen die *Eubacteria* und *Archaea.*
2. Einzeller mit echtem Zellkern **(Eukaryoten)** können sowohl den Tieren (Urtierchen oder Protozoen) als auch den Pflanzen (Algen oder Pilze) zuzuordnen sein.

2.1 Mikroorganismen, Zuordnung zu Gruppen

Nachdem die RNA der Ribosomen, die rRNA, einer großen Zahl von Bakterien isoliert und die Nucleotidsequenz bestimmt worden war, gelangte man zu einem phylogenetischen Stammbaum der Prokaryoten. Aus dem Grad der Ähnlichkeit der Sequenzen verschiedener Prokaryoten ließ sich die Schlussfolgerung ziehen, dass alle Lebewesen eine gemeinsame Wurzel haben und dass sich die Prokaryoten früh in zwei große Gruppen aufgespalten haben, die *Eubacteria* und die *Archaea.* Diese beiden **Reiche** stehen gleichberechtigt neben dem Reich der Eukaryoten (oder *Eukarya*) (◘ Abb. 2.1).

Eubacteria und *Archaea* haben große Ähnlichkeit in der mikroskopischen Zellstruktur. Die Prokaryoten sind insgesamt morphologisch relativ wenig differenziert. Der Gestalt nach lassen sich nur wenige Formen unterscheiden, die sich durchweg auf die Kugel sowie gerade und gekrümmte Zylinder als Grundform zurückführen lassen. Dieser Einförmigkeit steht aber eine stoffwechselphysiologische Vielseitigkeit und Flexibilität sondergleichen gegenüber. Auch im Energie- und Bausteinstoffwechsel zeigen sich Ähnlichkeiten zwischen *Eubacteria* und *Archaea* (◘ Tab. 2.1).

Hinsichtlich der Molekularbiologie der Zelle, beispielsweise in der DNA-, RNA- und Proteinsynthese, besitzen *Archaea* Ähnlichkeit mit den Eukaryoten.

Neben den zwei großen Gruppen der Pflanzen und Tiere gehören die Pilze zu den *Eukarya.* Dass die Pilze tatsächlich einen eigenen, selbstständigen Rang einnehmen, wurde durch phylogenetische Analysen mit molekularbiologischen Methoden bestätigt.

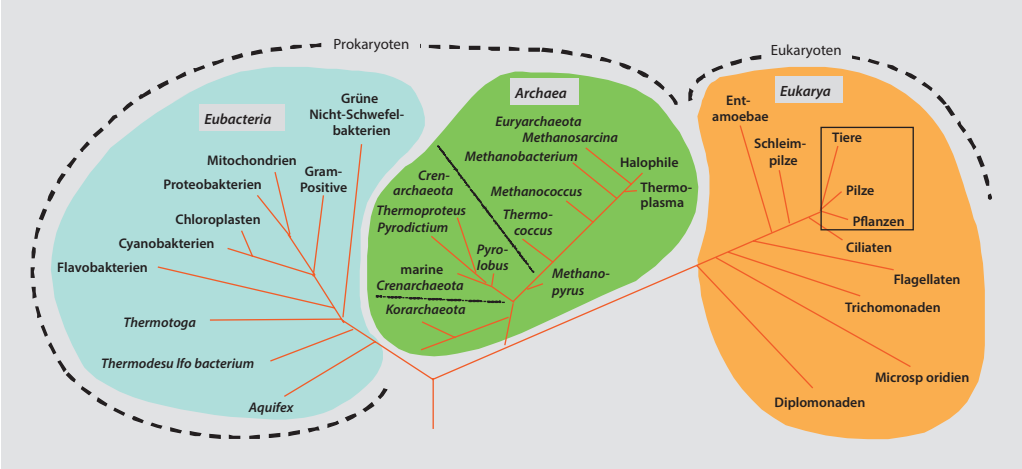


Abb. 2.1 Phylogenetischer Stammbaum der Organismen. Der Baum besteht aus den drei Domänen: den *Eubacteria* und den *Archaea,* die prokaryotische Zellen besitzen, und den Eukaryoten. In jeder Domäne sind nur wenige Organismen eingezeichnet. Die im Kasten unterlegten Gruppen sind Makroorganismen. Alle anderen Organismen des Stammbaums sind Mikroorganismen. Die Länge der Äste ist ein Maß für die Veränderung der ribosomalen DNA-Gene, deren Sequenzvergleich dem Stammbaum zugrunde liegt

Tab. 2.1 Unterschiede zwischen *Eubacteria, Archaea* und *Eukarya*

Charakteristikum	*Eubacteria*	*Archaea*	*Eukarya*
Organisationsform	Einzellig	Einzellig	Ein- oder mehrzellig
Organellen	Nein	Nein	Ja
Membranumhüllter Zellkern	Nein	Nein	Ja
Membranaufbau	Esterlipide	Etherlipide	Esterlipide
Zellwand enthält Murein	Ja	Nein	Nein
Zellwand enthält Pseudomurein	Nein	Ja	Nein
Zellwand enthält Chitin	Nein	Nein	Ja
Ribosomen	70S (30S + 50S)	70S (30S + 50S)	80S (40S + 60S) (70S: Mitochondrien, Plastiden)
RNA Polymerase(n)	Eine (4 Untereinheiten)	Mehrere (je 8–12 Untereinheiten)	Drei (je 12–14 Untereinheiten)
Transkriptions-faktoren	Nein	Ja	Ja
Empfindlichkeit gegenüber Chloramphenicol/Streptomycin	Ja	Nein	Nein

Die pilzliche Zelle entspricht in ihrem Aufbau der typischen Eucyte mit Zellkern, intrazellulären Membranen, Vesikeln, Vakuolen und Mitochondrien. Die Zelle ist von einer Membran umgeben, an die sich die Zellwand anschließt. Neben Proteinen und anderen Polysacchariden enthalten sie in der Zellwand als wichtigen Strukturbestandteil Chitin.

Innerhalb der sogenannten *Echten Pilze* gibt es sowohl Organismen, die als Einzelzellen leben und sich durch hefeartige Sprossung oder Zweiteilung vermehren, als auch filamentös wachsende Formen, die ein zusammenhängendes Myzel bilden, das Septen zur Abgrenzung zwischen den Zellen enthält. Durch Verzweigung der Hyphen entsteht ein Myzelium (Box-Hallimasch). Bei einigen Pilzen kommen beide Wachstumsformen nebeneinander vor.

Für die Funktion der Mikroorganismen in der Umwelt ist es wichtig, ihre Artenzahl sich zu vergegenwärtigen. Es sind heute etwa 5000 Bakterien- und 100.000 Pilzarten beschrieben worden. Viele Hinweise sprechen dafür, dass erst ein geringer Prozentsatz der vorkommenden Arten von Mikroorganismen isoliert und charakterisiert worden ist, aber eine viel größere Zahl (bis zu 99,9 %, siehe ► Kap. 11) überhaupt nicht (mit den heutigen Methoden) isolierbar ist.

Proteobacteria

Die *Proteobacteria* bilden die bei weitem größte Gruppe unter den *Eubacteria.* Dieses Phylum setzt sich aus sechs Klassen zusammen, *Alpha-, Beta-, Gamma-, Delta-, Epsilon-* und *Zetaproteobacteria,* die bis auf die Ausnahme der Zetaproteobacteria jeweils mehrere Gattungen enthalten. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (2005) bietet die Beschreibung von mehr als 2000 Spezies in 538 Genera, welche dem Phylum *Proteobacteria* zugeordnet sind (◘ Abb. 2.2).

Obwohl die 16S rRNA Untersuchungen zeigen, dass die *Proteobacteria* phylogenetisch verwandt sind, differieren sie merklich in vielerlei Hinsicht. Als Gruppe sind diese Organismen allesamt gram-negativ. Die Morphologie von diesen Bakterien reicht von einfachen Stäbchen und Kokken zu Genera von gestielten, prostekaten (mit Anhängen versehen) und kospenden Bakterien sowie sogar solchen mit Fruchtkörpern.

Mitglieder der photosynthetischen Purpurbakterien wurden innerhalb der *Alpha-, Beta-* und *Gammaproteobacteria* gefunden. Dies hat zu der Annahme geführt, dass sich die *Proteobacteria* aus einem photosynthetischen Vorfahren entwickelt haben, mutmaßlich ähnlich den Purpurbakterien. Anschließend ging die Photosynthese durch verschiedene Ereignisse verloren. Neue metabolische Fähigkeiten wurden erworben, da die Bakterien sich an verschiedene ökologische Nischen adaptierten.

Physiologisch können die *Proteobacteria* entweder phototroph, chemolithotroph oder chemoorganotroph sein, sie sind damit die metabolisch vielfältigste Gruppe aller bekannten Bakterien. Es gibt offensichtlich kein gemeinsames Muster im Metabolismus, der Morphologie oder der reproduktiven Strategie der *Proteobacteria.*

Sie repräsentieren die Mehrheit aller bekannten gram-negativen Bakterien von medizinischer, industrieller und ökologischer Bedeutung.

Alphaproteobacteria beinhalten größtenteils zwei Hauptphänotypen: Nicht-Schwefelpurpurbakterien und aerobe bacteriochlorophyllbesitzende Bakterien. Sie sind für ihre Symbiose mit Pflanzen bekannt.

Betaproteobacteria beinhalten größtenteils Chemoheterotrophe und Chemoautotrophe, welche ihre Nährstoffe durch Zersetzung von organischem Material erhalten. *Betaproteobacteria* spielen eine Rolle bei der Stickstofffixierung in verschiedenen Typen von Pflanzen, oxidieren Ammonium zu Nitrit, eine wichtige Chemikalie für die Pflanzenfunktion. Viele von ihnen werden in Umweltproben wie Abwasser oder Boden gefunden.

Gammaproteobacteria beinhalten größtenteils fakultativ anaerobe und fermentative gram-negative Bakterien. *Gammaproteobacteria* weisen einige medizinisch und wissenschaftlich bedeutende Gruppen von Bakterien auf.

Eine Zahl von wichtigen Pathogenen gehören zu dieser Klasse, wie *Salmonella* spp., *Escherichia coli* und andere. Einige *Gammaproteobacteria* sind Methanoxidierer und viele von ihnen findet man in Symbiose mit Tieren, die geothermische Ausbruchkanäle im Ozean bewohnen. *Deltaproteobacteria* repräsentieren größtenteils morphologisch diverse, anaerobe Sulfidogene. Einige Mitglieder dieser Gruppe sind bakterielle Räuber, die bakteriolytische Eigenschaften haben. *Deltaproteobacteria* besitzen die Fähigkeit der Schwefel- oder Sulfatreduktion, andere anaerobe Bakterien haben eine andere Physiologie wie Eisenreduktion. *Epsilonproteobacteria* beinhalten größtenteils Chemoorganotrophe. Die meisten bekannten Spezies bewohnen den Darmtrakt von Mensch und Tier und dienen als Symbiont. Eine riesige Menge an Umweltsequenzen von *Epsilonproteobacteria* wurde aus der Tiefsee aus der Nähe von Habitaten der hydrothermalen Ausbruchkanäle und Kaltquellen gewonnen. *Zetaproteobacteria* beinhalten Chemolithotrophe und hat nur ein Mitglied, das 2010 beschriebene *Mariprofundus ferrooxydans,* welches der einzige bisher kultivierte Vertreter ist. Dieses eisenoxidierende Bakterium lebt unter microaeroben Bedingungen und ist weit verbreitet in Tiefseehabitaten. Ein Beispiel für die taxonomischen Zuordnung eines umweltrelevanten Bakteriums, dessen Metabolismus im Buch häufig besprochen wird, ist *Pseudomonas putida:*

- Domäne: *Bacteria*
- Phylum: *Proteobacteria*
- Klasse: *Gammaproteobacteria*
- Ordnung: *Pseudomonadales*
- Familie: *Pseudomonadaceae*
- Gattung: *Pseudomonas*
- Spezies: *Pseudomonas putida*

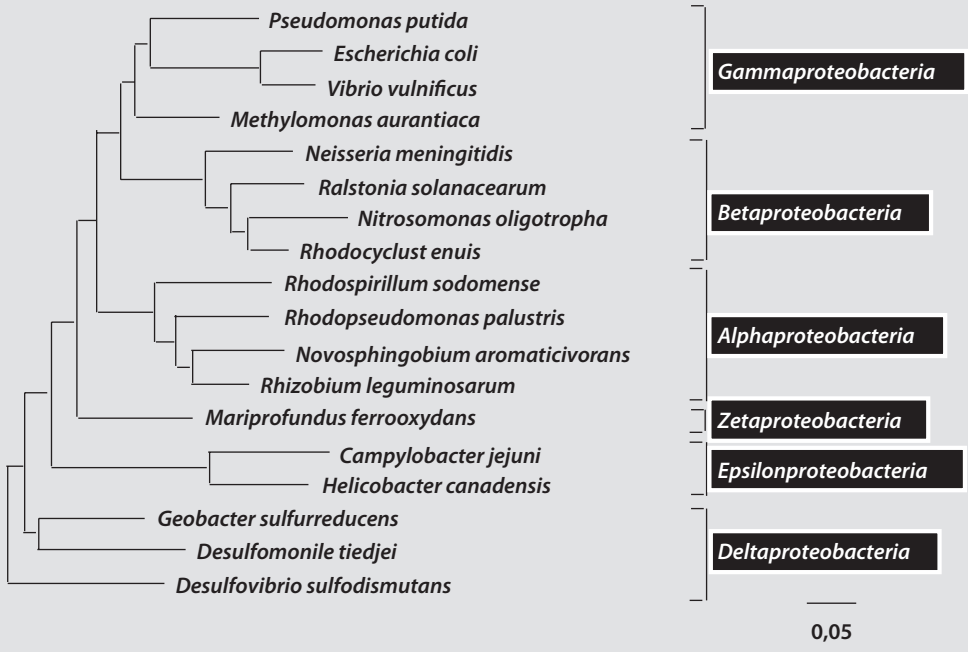


Abb. 2.2 Der Maximum-likelihood phylogenetische Stammbaum, der die evolutionäre Anordnung von Vertretern der Klassen der *Proteobacteria* zeigt. Die Maßstabsskala bedeutet, 5 Nucleotid-Substitutionen pro 100 Positionen

2.2 Mikroorganismen, der Vorteil einer geringen Größe

2

Die Zellgröße von Prokaryoten variiert von 0,1–0,2 bis zu 50 µm Durchmesser. Typische stäbchenförmige Prokaryoten wie *Escherichia coli* haben eine Größe von 1×3 µm. Typische Eukaryotenzellen können hingegen einen Durchmesser von 2 bis 200 µm aufweisen. Die Zellen der Prokaryoten sind also im Vergleich zu dem der Eukaryoten klein. Die geringe Größe beeinflusst eine Reihe der biologischen Eigenschaften. So ist die Geschwindigkeit, mit der Nähr- und Abfallstoffe in die Zelle eindringen, beziehungsweise sie wieder verlassen, im Allgemeinen umgekehrt proportional zur Zellgröße. Stoffwechsel- und Wachstumsraten werden von der Transportgeschwindigkeit stark beeinflusst. Diese ist wiederum in einem gewissen Maße eine Funktion der verfügbaren Membranoberfläche, die volumenbezogen in kleinen Zellen größer ist. Am Beispiel einer Kugel lässt sich dies verdeutlichen (◘ Tab. 2.2). Das Volumen ist eine Funktion der dritten Potenz des Radius, während die Oberfläche eine Funktion der zweiten Potenz ist. Eine Zelle mit einem kleineren Radius hat also ein größeres Verhältnis Oberfläche zu Volumen als eine größere Zelle und kann sich somit effektiver mit ihrer Umwelt austauschen als eine große Zelle. Dieser Vorteil erlaubt es den kleinen prokaryoten Zellen, in den meisten mikrobiellen Lebensräumen in der Regel schneller zu wachsen und größere Populationen zu bilden als eukaryotische Zellen. Dies beeinflusst wiederum die ökologischen Bedingungen, da große Mengen Zellen mit hoher Stoffwechselaktivität in relativ kurzer Zeit in einem Ökosystem zu starken physiko-chemischen Veränderungen führen können.

Das große Verhältnis von Oberfläche zu Volumen ermöglicht intensive Wechselwirkungen mit der Umwelt. Mikroorganismen haben eine „extrovertierte" Lebensweise. In Zusammenhang mit den relativ geringen Transportwegen in der Zelle führt das zu hohen Stoffwechselleistungen. Die Atmung ist ein Maß für den Stoffumsatz. Bei Bakterien liegt die Atmungsrate um 1000, bei Hefen um 100, bei tierischen und pflanzlichen Geweben um 1–10 (◘ Tab. 2.3). Für den bakteriellen Stoffumsatz gibt es ein anschauliches Bild. Ein Lactose vergärendes Bakterium setzt in einer Stunde das 1000 bis 10.000fache seines Eigengewichtes an Substrat um, ein Mensch würde für den 1000fachen Zuckerumsatz seines Eigengewichtes ungefähr 250.000 h benötigen. Dies entspricht der Hälfte seines Lebens.

Ein weiterer Ausdruck des hohen mikrobiellen Leistungspotenzials ist das Wachstum. Bakterien wie *Escherichia coli* haben unter günstigen Bedingungen eine Generationszeit von 20 min, Hefen von 2 h. In dieser Zeit verdoppelt sich jeweils die Biomasse. Das setzt sich in exponentieller Weise fort, wie im ► Kap. 9 erläutert wird. Aus Kalkulationen zur mikrobiellen Eiweißproduktion stammt der Vergleich, dass in einer Hefefabrik mit einer Ausgangsbiomasse von 500 kg Protein innerhalb von 24 h 50.000 kg Protein produziert werden können. Ein Rind von 500 kg bildet hingegen in einem Tag nur 0,5 kg Protein. Die

◘ **Tab. 2.2** Beziehung zwischen Oberfläche und Volumen am Beispiel von Kugeln

Kugel[a]	Radius, r (µm)	Oberfläche, $A = 4\pi r^2$ (µm²)	Volumen, $V = 4/3\pi r^3$ (µm³)	Oberfläche/ Volumen
●	1	12,6	4,2	3
⬤	2	50,3	33,5	1,5

[a]Größenvergleich

Tab. 2.3 Unterschiede zwischen pro- und eukaryotischen Zellen. Die Angaben sind Durchschnittszahlen, die Größenordnungen verdeutlichen sollen

Zelltyp	Durchmesser (µm)	Volumen (μm^3)	Atmungsrate (QO_2)	Generationszeit (h)
Bakterien	1	1	1000	0,3–1
Hefen	10	1000	100	2–10
Pflanzliche und tierische Zellen	100	>10.000	10	etwa 20

QO_2 = µl O_2/mg Trockensubstanz · h

Biomasse von jungen Rindern verdoppelt sich also in 1–2 Monaten (etwa 2000 h).

Zusammenfassend ist festzustellen, dass Mikroorganismen, bezogen auf die Biomasse, etwa 100—1000fach höhere Leistungen als Pflanzen und Tiere vollbringen können.

Während die höheren Organismen im Verlauf der Evolution eine große morphologisch-anatomische Differenzierung erreichten, besitzen die Mikroorganismen, vor allem die Bakterien, eine ausgeprägte stoffwechselphysiologische Vielseitigkeit und Flexibilität. Darauf beruht ihre große Bedeutung in den Stoffkreisläufen. Die biochemische Vielfalt kommt in den verschiedenen Typen der Energiegewinnung und Kohlenstoffassimilation zum Ausdruck (siehe später ► Kap. 3).

Für die Bakterien ist zudem ein hohes Adaptationsvermögen eine Notwendigkeit, die sich auf ihre geringen Abmessungen zurückführen lässt. Eine Zelle von *Micrococcus* bietet nur für einige 100.000 Proteinmoleküle Raum. Nicht benötigte Enzyme können daher nicht vorrätig gehalten werden. Zelluläre Regulationsmechanismen spielen also bei Mikroorganismen eine erheblich größere Rolle als bei anderen Lebewesen.

2.3 Mikroorganismen, klein aber viele

Die hohe Individuenzahl in Umweltmedien lässt die große Bedeutung von Mikroorganismen für die Umwelt erkennen. Für die Anzahl und Biomasse von Mikroorganismen in Böden sei eine Größenordnung für Waldböden angeführt. In 1 g Boden sind 10^6–10^9 Bakterienzellen und 10 bis 100 m Pilzmyzel enthalten. Das Verhältnis der Biomasse der Bakterien zu der der Pilze machen folgende Werte für die Zelltrockenmasse pro ha deutlich: Bakterien 40 kg, Pilze 400 kg. Waldböden sind zwar reicher an Pilzen als Ackerböden, doch zeigt die große Myzelmasse, dass die Bedeutung der Pilze häufig vernachlässigt wird. Da die Stoffwechselaktivität der Pilze, bezogen auf die Zellbiomasse, um etwa eine Zehnerpotenz geringer ist als die der Bakterien (Tab. 2.3), kommt den beiden Organismengruppen bei Stoffumsetzungen in Böden etwa die gleiche Bedeutung zu. Allerdings dürfen auch die anderen Bodenorganismen (Protozoa, Regenwürmer und andere) nicht außer Acht gelassen werden. Die Mikrofauna, die maßgeblich zur Zerkleinerung der pflanzlichen Biomasse in Böden beiträgt, entspricht mit etwa 40 kg/ha der Biomasse der Bakterien. Abschließend sei gesagt, dass 10^9 Bakterienzellen etwa das Trockengewicht von 1 mg haben. Eine einzelne Zelle von *Escherichia coli* hat im feuchten Zustand ein Gewicht von ca. $9{,}5 \times 10^{-13}$ g. Eine Milliarde Bakterienzellen ist die Größenordnung, die wir in 1 g nährstoffreichem Boden und auch in 1 ml Abwasser finden. Andere Zahlen sind: In 1 g Backhefe befinden sich etwa 1×10^{10} Zellen. Eine Zellpaste von *Escherichia coli* von 1 cm^3 besteht aus ungefähr $1{,}0 \times 10^{12}$ Zellen.

Mikroorganismen sind klein, aber ihre Biomasse auf der Erde ist gewaltig, selbst wenn

man sie mit der Biomasse höherer Organismen vergleicht. Schätzungen der Gesamtzahl mikrobieller Zellen auf der Erde und besonders der Zahl der Prokaryoten zeigen, dass diese Zahl im Bereich von 5×10^{30} Zellen liegt. Die Gesamtzahl des Kohlenstoffs, der in dieser sehr großen Zahl sehr kleiner Zellen vorkommt, entspricht der aller Pflanzen auf der Erde (und pflanzlicher Kohlenstoff übertrifft bei weitem den Kohlenstoff der Tiere). Außerdem beträgt der Stickstoff- und Phosphorgehalt aller prokaryotischen Zellen das Zehnfache des Gehalts der gesamten pflanzlichen Biomasse.

So klein prokaryotische Zellen also auch sein mögen, stellen sie doch einen Hauptanteil der Biomasse auf der Erde dar und sind das bedeutendste Reservoir lebenswichtiger Nährstoffe.

Mikroorganismen können riesig werden

Für gewöhnlich stehen Pilze und Bäume in einer fruchtbaren Beziehung. Das Myzel umschlingt den Baum und versorgt ihn mit Wasser und Aminosäuren. Dafür erhält der Pilz seinerseits Kohlenhydrate. Anders sieht es bei dem im Jahr 2000 aufgrund eines rätselhaften Waldsterbens entdeckten Myzel des Weißfäulepilzes *Armillaria ostoyae* im Malheur National Forest (Oregon, USA) aus. Wegen seiner Ausdehnung von über 880 ha, dem errechneten Alter von mindestens 2400 Jahren und seiner Masse von etwa 600 t wird er als das größte bekannte Lebewesen der Erde bezeichnet. Gen-Analysen belegen, dass das Pilzgeflecht zu ein und demselben Pilz gehört. Der Pilz bildet nur wenige Fruchtkörper aus und hat wahrscheinlich deshalb keine Ableger bekommen. Ohne die Konkurrenz anderer Pilze breitet er sich ungehindert aus. Das trockene Klima in Oregon scheint sein Wachstum zu begünstigen. Er durchdringt den Boden und die befallenen Bäume mit seinen millimeterdicken Fäden und entzieht dadurch den Bäumen die Nahrung. Etliche Tannen und Douglasfichten sind ihm bereits zum Opfer gefallen.
Europas größter Hallimaschklon (auch *Armillaria ostoyae*) wurde 2004 in der Schweiz beim Ofenpass entdeckt. Er bedeckt eine Fläche von rund von 500 m Breite und 800 m Länge – das entspricht einem Gebiet von etwa 35 ha. Man schätzt sein Alter auf mehr als 1000 Jahre.

2.4 Mikroorganismen, leben nicht alleine

In der Natur begegnet man Mikroorganismen nicht als Reinkulturen, sondern jeder Einzelorganismus kooperiert mit anderen oder steht in Konkurrenz zu ihnen. Mikroorganismen wechselwirken miteinander und mit der sie umgebenden Umwelt. Sie erfüllen dabei wichtige Funktionen beim Stoffumsatz und tragen wesentlich zur Gestaltung der physikalischen, chemischen und biologischen Gegebenheiten bei.

Pflanzen und Tiere haben sich in einer Umwelt entwickelt, in der nahezu alle prokaryotischen Stoffwechseltypen schon vorhanden waren. Es ist daher verständlich, dass sich zahlreiche partnerschaftliche Verhältnisse auch zwischen Mikroorganismen und den höheren Lebensformen entwickelt haben.

Hinsichtlich des relativen Nutzens, den Partner aus einem Zusammenleben ziehen, kann man zwischen mehreren Kategorien unterscheiden (◘ Tab. 2.4). Die Definitionen dürfen jedoch nicht zu einem vordergründigen Nutzen-Schaden-Denken verleiten, das jeweilige Zusammenleben ist komplexer Art. Ein Mit- und Gegeneinander ist nur scheinbar grundsätzlicher Art, es beinhaltet Interaktionen verschiedenen Grades.

Generell gilt, Hunger ist die typische Lebenssituation für Mikroorganismen.

Tab. 2.4 Kategorien biologischer Wechselwirkungen zwischen Mikroorganismen untereinander beziehungsweise zwischen Mikroorganismen und anderen Organismen (Erweitert nach Alexander, 1977)

Kategorien/Typen	Charakteristika
a. **Neutralismus**	Das Vorkommen von zwei Populationen verschiedener Mikroorganismen, die keinerlei erkennbare Interaktionen aufweisen
b. **Mutualismus**	Eine interaktive Assoziation zwischen zwei Populationen verschiedener Mikroorganismen, aus der beide einen geringen Vorteil ziehen
c. **Synergismus**	Eine nicht obligatorische interaktive Assoziation zwischen Angehörigen von zwei Populationen oder einer Population, von der beide Populationen oder alle Angehörigen der einen Population profitieren. Beim Synergismus führt das mutualistische Zusammenleben zu Wirkungen, die die Leistungen der Partner qualitativ und quantitativ übertreffen
d. **Syntrophismus**	Zwei Organismen ergänzen sich gegenseitig mit Nährstoffen oder mit katabolischen Enzymen, die für die Verwertung eines Substrates erforderlich sind (siehe ► Abschn. 10.1.5)
e. **Symbiose**	Eine obligatorische interaktive Assoziation zwischen Angehörigen von zwei Populationen. Beide Partner werden durch das Zusammenleben gefördert Es handelt sich dabei um einen stabilen Zustand, in dem beide Organismen zu ihrem gegenseitigen Vorteil in unmittelbarer Nachbarschaft (Ektosymbiose) bzw. in direktem Kontakt (Endosymbiose) leben
f. **Protocooperation**	Eine Symbiosis, die aber nicht obligat ist
g. **Kommensalismus**	Eine Art nutzt die Stoffwechselprodukte einer anderen Art, ohne diese zu beeinflussen Eine interaktive Assoziation zwischen zwei Populationen verschiedener Mikroorganismen, bei welcher eine Population von der Assoziation profitiert, während die andere weder positiv noch negativ beeinflusst wird
h. **Kompetition**	Eine interaktive Assoziation (ein Kampf) zwischen zwei Populationen verschiedener Mikroorganismen, die beide einen limitierenden abiotischen Faktor (zum Beispiel Nährstoffe, Licht, Sauerstoff oder Raum/Oberfläche) benötigen. Teilen sich beide diesen Faktor, wachsen beide mit suboptimaler Rate; wird der Faktor nur von einer Population genutzt/verwertet, wächst nur diese.
i. **Amensalismus**	Eine interaktive Assoziation zwischen zwei Populationen verschiedener Mikroorganismen, durch die eine geschädigt wird, während die andere weder positiv noch negativ beeinflusst wird
j. **Antagonismus**	Eine interaktive Assoziation zwischen zwei Populationen verschiedener Mikroorganismen, in der die eine einen negativen Effekt (Hemmung, Schädigung, Abtötung) auf die andere ausübt
k. **Parasitismus**	Eine interaktive Assoziation zwischen zwei Organismen, von welchen der kleinere (Parasit) profitiert und durch welche der größere (Wirt) geschädigt wird.

Während eine unter (b) bis (f) aufgeführte Interaktion nützlich für beide Partner oder zumindest einen von ihnen ist, erleidet zumindest ein Partner einen Nachteil bei der unter (g) bis (k) charakterisierten

Im Folgenden sind einige Beispiele aufgeführt, um das Vorliegen von Interaktionen zu verdeutlichen:

In vielen Fällen können Partner ohne gegenseitige Beeinflussung zusammenleben **(Neutralismus).** Dies kann jedoch nur auftreten, wenn die Populationsdichten gering sind, wie in marinen Habitaten oder oligotrophen Seehabitaten. Bei hohen Zelldichten kommt es zur Konkurrenz um Nahrungsstoffe oder Licht. Keine Beeinflussung kann auch vorliegen, wenn die verschiedenen Populationen extrem unterschiedliche metabolische Eigenschaften haben, sie sich also keine Stoffe gegenseitig streitig machen.

Hat eine Lebensgemeinschaft auf beide Partner einen günstigen oder positiven Effekt, so spricht man von **Symbiose** im engeren Sinne oder einer mutualistischen Symbiose **(Mutualismus).** Ein solches Zusammenleben kann unterschiedliche Ausmaße der räumlichen Verbundenheit erreichen: Lebt der eine Partner außerhalb der Zellen des anderen Partners, spricht man von **Ektosymbiose.** Die intrazelluläre Ansiedlung des Partners bezeichnet man als **Endosymbiose.**

Flechten sind Beispiele hoch entwickelter Ektosymbiosen zwischen Mikroorganismen. In einer **Flechte** sind ein Pilz und eine Alge derart miteinander assoziiert, dass sie einen einzigen einheitlichen Vegetationskörper bilden. Aus der Lebensgemeinschaft ziehen beide Partner Nutzen. In der Regel ist der pilzliche Bestandteil der Flechte, der Mykobiont, formgebend. Der Pilz bezieht von den Algen organische Nährstoffe, die CO_2-Fixierungsprodukte. Er versorgt im Gegenzug die Algen mit Mineralien und schützt sie vor ungünstigen Umwelteinflüssen, insbesondere vor Austrocknung. Grünalgen und Cyanobakterien können als Phycobionten in den Flechten auftreten. Die Flechten besiedeln extreme Ökosysteme, in denen keiner der Partner für sich allein existieren könnte.

Bei einigen Flechten ist ein Dritter im Bunde

Bei der weit verbreiteten kräftig gelben Flechte der Gattung *Vulpicida canadensis,* welche auf Baumrinden in Nordamerika wächst, gesellt sich eine Hefe zur symbiotischen Lebensgemeinschaft von Alge und Pilz.
Dank neuer Methoden zur Gen-Analyse wurde die Hefe als Partner der Flechte identifiziert. Die systematische Untersuchung von Flechten aus der ganzen Welt ergab, dass eine Hefe in häufig auftretenden Arten von Flechten von der Antarktis bis Japan, von Südamerika bis ins Äthiopische Hochland auftrat.
„Die Erkenntnis erschüttert unser grundlegendes Wissen über Flechten. Wir müssen von Neuem untersuchen, wie diese Lebewesen entstehen und wer welche Funktionen in der Gemeinschaft übernimmt", erklärt der Evolutionsbiologe die fundamentale Bedeutung der Entdeckung (Spribille et al., 2016).

Bestimmte Pilze haben im Laufe ihrer Entwicklungsgeschichte gelernt, eine äußerst erfolgreiche Symbiose im Boden mit Pflanzen einzugehen, der **Mykorrhiza** (siehe **BOX** ► Mykorrhiza). Die Mykorrhizapilze helfen Pflanzen, sich auf nährstoffarmen Böden ausreichend mit Wasser, Nährsalzen und Spurenelementen zu versorgen. Sie fördern entscheidend Diversität und Produktivität von Pflanzengesellschaften. Mykorrhizierte Pflanzen zeigen eine erhöhte Widerstandsfähigkeit gegen Pathogenbefall. Der Pilz erhält dafür im Gegenzug von der Pflanze Kohlenhydrate in Form einfacher Zucker.

Mykorrhiza

Mit **Mykorrhiza** bezeichnet man eine Form der Symbiose von Pilzen und Pflanzen, in der ein Pilz mit dem Feinwurzelsystem einer Pflanze in Kontakt ist. Etwa 80 % der Gefäßpflanzen der Welt bilden sogenannte arbuskuläre Mykorrhiza oder **Endomykorrhiza.** Bei der großen Zahl der verbleibenden Pflanzen findet man **Ektomykorrhiza,** während nur eine Minderheit von Pflanzen keine Mykorrhiza hat. **Endomykorrhiza** dominiert im Weideland und speziesreichen Wäldern, während **Ektomykorrhiza** in Wäldern dominiert, in denen eine einzige oder wenige Spezies vorherrschen. Viele Pflanzen können mehr als einen Typ von mykorrhizischen Gemeinschaften bilden (◘ Abb. 2.3).

Ektomykorrhiza

Die Ektomykorrhiza **(EM),** die zumeist bei Waldbäumen vorkommt, ist nur eine der bekannten Mykorrhizatypen. Hier bleiben die Pilze in ihrem Wachstum auf den Apoplasten des äußeren Wurzelrindengewebes von Kurzwurzeln beschränkt (ektotrophe Mykorrhiza) und bilden mitunter mächtige, die Wurzeln umhüllende Hyphenmäntel.
Die Ektomykorrhizapilze können unabhängig von den Pflanzenwurzeln leben, was anhand des Wachstums in Petrischalen gezeigt worden ist.
Diese Pilze bilden häufig oberirdische Fruchtkörper, die uns als Gift- und Speisepilze bekannt sind. Pilzpartner der Ektomykorrhiza sind die meisten Hutpilze (Basidiomyceten) des Waldes wie Röhrlinge, Täublinge und Milchlinge. Manche dieser Mykorrhizapilze können nur mit wenigen Baumarten in Symbiose leben, wie der Goldröhrling mit Lärche und Kiefer. Andere Pilzarten sind weniger spezialisiert, wie der Steinpilz und der Fliegenpilz, die beide eine Mykorrhiza mit Birke, Buche, Eiche, Fichte, Kiefer, Lärche und Tanne ausbilden können. Die Wirtsspezifität einzelner Mykorrhizapilze ist auch im Namen erkennbar, beispielsweise beim Birkenpilz *(Leccinum scabrum)* oder Lärchenröhrling *(Suillus viscidus)*. Während die Pilze oft auf wenige Baumarten spezialisiert sind, zeigen Bäume keine Präferenz für bestimmte Pilze.
Die Ektomykorrhizapilze bilden ein ausgedehntes Myzel im Waldboden und sind damit besonders wichtig für das Ökosystem. Da ein Baum mit mehreren Pilzen gleichzeitig Mykorrhiza bilden und jeder Pilz durch das Myzel im Boden mehrere Baumpartner miteinander verbinden kann, bilden viele Bäume in einem Wald ein großes Netzwerk, das die relative Stabilität des Ökosystems Wald mit begründet. Wird die Mykorrhiza geschädigt, stirbt zumeist nicht nur ein einzelner Baum, sondern ganze Schläge zeigen Baumschäden, wie dies beim „Baumsterben" in Folge von saurem Regen und hoher Schadstoffbelastung zu beobachten war.
Viele Waldbäume (Buche, Eiche, Fichte, Kiefer, Tanne) sind ohne eine die Wurzeln völlig ummantelnde Ektomykorrhiza nicht lebensfähig, da diese nicht nur Nährstoffe und Wasser für den Wirt aufnimmt, sondern auch vor bodenbürtigen Krankheitserregern schützt.

Endomykorrhiza

Die heute weit verbreitete arbuskuläre Mykorrhiza **(AM)** ist insbesondere unter widrigen Bedingungen (Nährstoffmangel, Trocken-, Salz- oder Schwermetallstress sowie Pathogenbefall) für die Pflanze von Nutzen.
Die arbuskuläre Mykorrhiza tritt bei den meisten Vertretern der Angiospermen auf, ist aber auch bei einigen Gymnospermen und Farnpflanzen, weniger bei Moosen und Bärlappgewächsen, zu finden. Heute findet man sie bei mehr als achtzig Prozent überwiegend krautiger Pflanzen.
Weitere Endomykorrhizae sind die **ericoide Mykorrhiza,** die für Ericaceen-Gewächse in Moor- und Heidelandschaften eine entscheidende Bedeutung für die Phosphaternährung hat, und die **Mykorrhiza der Orchideen.**
Obwohl AM-Wirtspflanzen überleben können, wenn man den pilzlichen Symbionten entfernt, ist diese Bedingung in der Natur nicht bekannt. Der AM-Pilz fungiert als wirklicher Helfermikroorganismus und steigert damit die allgemeine Pflanzenfitness. Versuche zum Pflanzenwachstum unter künstlichen, nicht-symbiontischen Bedingungen haben gezeigt, dass die AM-Pilze deutlich an der Aufnahme von Bodenmineralstoffen beteiligt sind. Sie erhöhen die Pflanzenbiomasse und sind der Pflanze bei der Resistenz gegenüber Stress und gegen Pathogene behilflich.

Im Gegensatz dazu, haben sich die AM-Pilze als nicht-kultivierbar ohne den Wirt erwiesen. Da die Pilze unfähig sind, Kohlenhydrate – mit Ausnahmen innerhalb der Pflanzenzelle – aufzunehmen, sind sie strikt von ihren grünen Wirten für das Wachstum und die Reproduktion abhängig, welches ihnen den Status eines obligaten Biotrophs/Symbionten gibt. Eine saprophytische Lebensweise ohne Wirt ist für die AM-Pilze nicht möglich. AM-Pilze gehören dem Phylum *Glomeromycota* an, einer monophyletischen Gruppe, die von denselben gemeinsamen Vorfahren wie *Ascomycota* und *Basidiomycota* abstammen. Aus einem evolutionären Blickwinkel betrachtet zeigt der ökologische Erfolg der AM-Pilze, dass der Vorteil einer strikten Gesellschaft mit der Pflanze die Risiken beseitigt, die mit dem Verlust von saprophytischen Eigenschaften verbunden sind.

Nährstoffaustausch der Symbiosepartner

Die Pilze liefern der Pflanze Nährsalze und Wasser und erhalten ihrerseits einen Teil der durch die Photosynthese der Pflanzen erzeugten Assimilate. Diese Versorgung des Pilzes mit Kohlenhydraten ist für die Pflanze mit erheblichen „Kosten" verbunden. Schätzungen gehen davon aus, dass der Anteil der Primärproduktion, der an den Pilz weitergegeben wird, bis zu 25 % betragen kann.
Im Gegensatz zu anderen Bodenpilzen fehlen vielen Mykorrhizapilzen die Enzyme, die notwendig sind, um komplexe Kohlenhydrate abzubauen. Deshalb sind sie auf die Versorgung durch die Pflanze angewiesen.
Die von der Mykorrhiza ausstrahlenden Pilzhypen vergrößern die Kontaktfläche mit dem Boden. Pilzhyphen mit ihrem geringen Durchmesser (2–12 μm) können Nährstoffe und Wasser aus einem Porenraum aufnehmen, der für die Wurzeln nicht erreichbar ist. Die Mykorrhizapilze verfügen damit über ein im Vergleich zur Pflanze erheblich größeres Vermögen, Mineralstoffe und Wasser aus dem Boden zu lösen. Häufig wird also die Wasser-, Stickstoff- und Phosphatversorgung der „infizierten" Pflanzen verbessert (◘ Abb. 2.4).

Die unterschiedliche Sichtweise bezüglich Schaden-Nutzen kann man hier wie folgt verdeutlichen: So wird der Mutualismus bei der Endomykorrhiza durch das parasitäre Eindringen des Pilzpartners in die Pflanzenzelle eingeleitet. In späteren Entwicklungsstadien „verdaut" die Pflanze den Pilz. Insgesamt „profitieren" aber beide Partner von der Symbiose.

Ähnlich sieht es auch für eine weitere Lebensgemeinschaft von Mikroorganismen und Pflanzen aus, die eine erhebliche Bedeutung für die Landwirtschaft hat. So bilden stickstofffixierende Bakterien mit bestimmten, landwirtschaftlich bedeutsamen Schmetterlingsblütlern (Leguminosen) Wurzelknöllchen aus, über die sich die Pflanze mit Stickstoff versorgt, die aber auch erheblich zur natürlichen Stickstoffversorgung der Böden beitragen. Auch viele Bäume decken ihren Stickstoffbedarf aus dem Zusammenleben mit stickstofffixierenden Bakterien (siehe ► Abschn. 7.1).

Man erkennt heute, dass auch im Ozean eine Vielzahl von wichtigen Symbiosen vorhanden ist. Die geringe Verfügbarkeit von Nährstoffen und Energie hat zur Evolution von zahlreichen Strategien zur Überwindung dieser Begrenzungen geführt. Symbiotische Gemeinschaften verkörpern einen Schlüsselmechanismus. Besonders bemerkenswert sind Gemeinschaften zwischen chemosynthetischen Bakterien und marinen Tieren, die gut und erfolgreich in nährstoffarmen Bereichen wie der Tiefsee leben, da die Symbionten ihren Wirten erlauben, mit anorganischen Energie- und Kohlenstoffquellen wie Sulfid und CO_2 zu wachsen. Chemosynthetische Symbiosen zwischen Bakterien und marinen Tieren wurden vor etwa 30 Jahren an hydrothermalen Ausbruchkanälen des Galapagos Riffs entdeckt. Heute weiß man, dass chemosynthetische Symbiosen weltweit in einer großen Auswahl von Habitaten vorhanden sind (◘ Abb. 2.5).

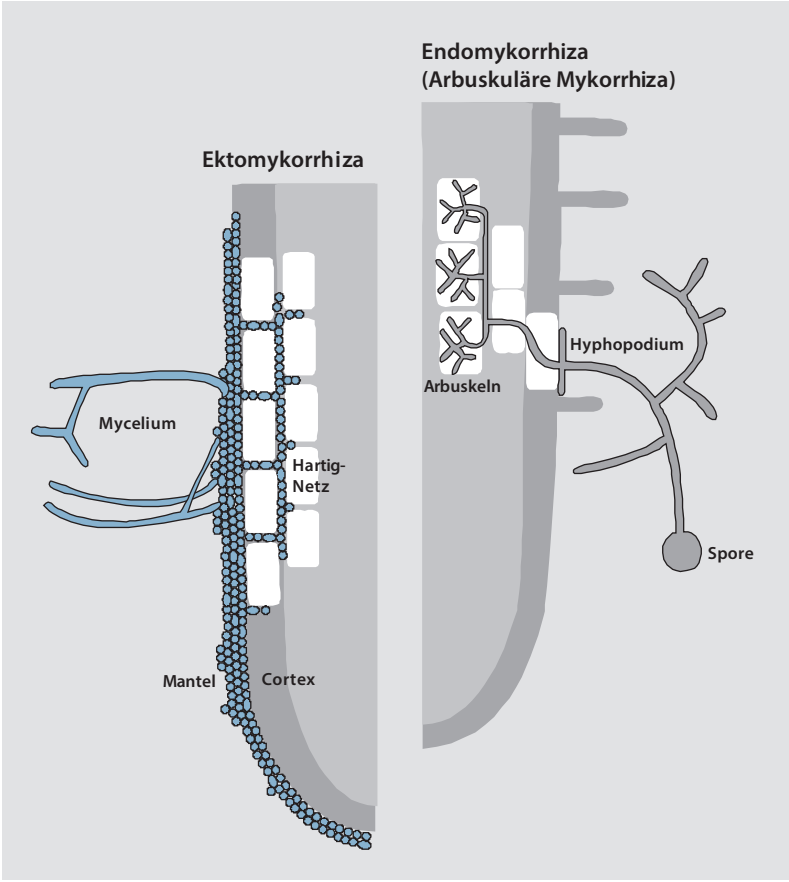


Abb. 2.3 Strukturen der Wurzelkolonisation bei Ektomykorrhiza und arbuskulärer Mykorrhiza (Endomykorrhiza). Der Pilz umschließt die Wurzelspitze bei der **Ektomykorrhiza** mit einem Mantel von eng aneinander gepressten Hyphen, während sich das Netzwerk der interzellulären Hypen (Hartig-Netz) um die epidermalen Zellen entwickelt. Im Falle der **arbuskulären Mykorrhiza** ist die Wurzelspitze normalerweise nicht kolonisiert. Die Hyphen entwickeln sich aus einer Spore und bilden ein Hyphopodium an der Wurzelepidermis. Die Kolonisierung innerhalb der Wurzel erfolgt intra- und interzellulär und führt schließlich zu der Bildung von Arbuskeln, kleinen pilzlichen Bäumchen innerhalb der inneren Cortexzellen. Dabei drängt die sich verzweigende Hyphe die Plasmamembran in den Protoplasten hinein, wobei diese und der Tonoplast der Zentralvakuole unversehrt bleiben. Die Bildung der Arbuskeln vergrößert so die Protoplastenoberfläche der Wirtszellen um ein Vielfaches, beim Mais zum Beispiel von durchschnittlich 20.000 auf 80.000 μm^2

Eine Vielzahl von Gruppen von Tieren haben Gemeinschaften mit chemosynthetischen Bakterien gebildet. Zurzeit sind sieben Phyla von Tieren bekannt, die solche Symbionten beherbergen (Tab. 2.5). Einige Wirtsgruppen findet man nur in einem Habitat, während andere in vielen verschiedenen vorkommen (siehe auch ► Abschn. 10.4 mit marinen Habitaten).

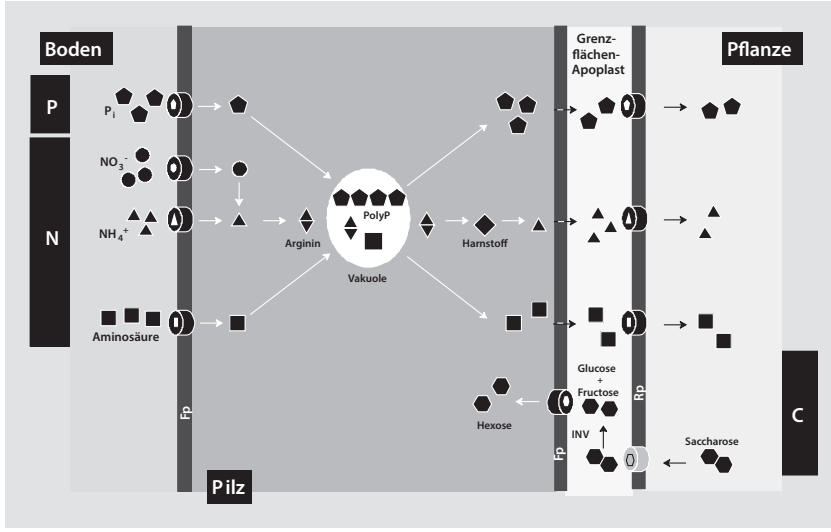


Abb. 2.4 Schematische Darstellung der hauptsächlichen Austauschprozesse von Nahrungsstoffen bei der EM- und AM-Symbiose. Es wird schwerpunktmäßig der Transport von Phosphor (P), Stickstoff (N) und Kohlenstoff (C) an der Grenze zwischen Boden-Pilz und Pilz-Pflanze gezeigt. Anorganisches P_i und mineralische oder organische Formen von N, wie NH_4^+, NO_3^- und Aminosäuren werden durch spezialisierte Transporterproteine, lokalisiert in der Pilzmembran, in das Myzel außerhalb der Wurzel geführt. NH_3/NH_4^+ und P_i (das letztere stammt in den AM-Pilzen aus der Hydrolyse von Polyphosphat) werden aus der symbiotischen Berührungsfläche in die Pflanzenzelle durch selektiven Transporter gebracht. Hexose-Transporter importieren den pflanzlich fixierten Kohlenstoff in den Pilz. Es ist fraglich, ob die Prozesse wirklich das Resultat von aktivem, Protein-vermitteltem Transport sind oder passive Exportmechanismen beinhalten. INV: pflanzliche Invertase; Fp: Fungi-Plasmamembran; Rp: Root-Plasmamembran

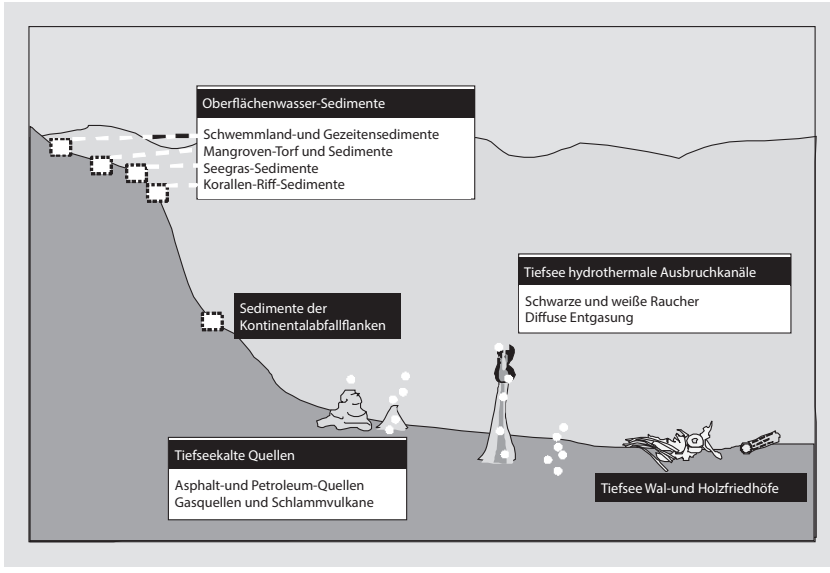


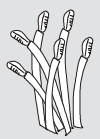
Abb. 2.5 Marine Habitate in denen chemosynthetische Symbiosen vorkommen

Tab. 2.5 Phyla mit chemosynthetischen Symbiosen im Ozean

Phylum	Beispiel		Vorkommen im Ozean	Ort der Mikroorganismen im Wirt	Stoffwechseltyp der Mikroorganismen
Ciliaten (Ciliophora)		Koloniebildende Ciliaten *Zoothamnium niveum*	Oberflächenwasser	Ectosymbionten bedecken vollständig die Oberfläche der Kolonie	Schwefeloxidierende Symbionten
Schwämme (Porifera)		Demospongiae, *Cladorhiza*	Tiefsee kalte Quellen	Intrazellular und extrazellular	Methanoxidierende Symbionten
Plattwürmer (Platyhelminthes)		Retronectidae, *Paracatenula*	Oberflächenwasser	Intrazellular in Trophosomen	Schwefeloxidierende Symbionten
Fadenwürmer (Nematoda)		*Astomonema*	Oberflächenwasser	Bakterien bewohnen den gesamten Darm	Schwefeloxidierende Symbionten

(Fortsetzung)

Tab. 2.5 (Fortsetzung)

Phylum	Beispiel		Vorkommen im Ozean	Ort der Mikroorganismen im Wirt	Stoffwechseltyp der Mikroorganismen
Ringelwürmer/ Gliederwürmer (Annelida)		*Alvinella* (Pompeii worm)	Tiefsee hydrothermale Ausbruchkanäle	Ektosymbionten wurden auf der dorsalen Oberfläche gefunden (Epibiont)	Chemoautotrophe Symbionten
		Röhrenwürmer der Familie Siboglinidae	Oberflächenwasser, Tiefsee: hydrothermale Ausbruchkanäle, kalte Quellen, Holzfriedhöfe	Endosymbionten kolonisieren die Trophosomen	Schwefel- und methanoxidierende Symbionten
		Oligochaet, *Olavius*	Oberflächenwasser	Bakterien sind Endo-symbioten, kommen gerade unter der Kutikular im extrazellularen Raum oberhalb der Epidermis-zellen vor (aber nicht intra-zellular)	Schwefeloxidierende und sulfatreduzierende Symbionten
Gliederfüßer (Arthropoda)		Ausbruchkanal-Krabbe, *Rimicaris*	Tiefsee hydrothermale Ausbruchkanäle	Ektosymbionten wurden im Mundbereich und in Kiemenkammern gefunden (Epibiont)	Chemoautotrophe Symbionten

(Fortsetzung)

Tab. 2.5 (Fortsetzung)

Phylum	Beispiel		Vorkommen im Ozean	Ort der Mikroorganismen im Wirt	Stoffwechseltyp der Mikroorganismen
Mollusken (Mollusca)		Gastropode, Schnecke	Tiefsee hydrothermale Ausbruchkanäle	Endosymbionten kommen intrazellular im Kiemengewebe vor	Schwefel- und methanoxidierende Symbionten
		Miesmuscheln	Tiefsee: hydrothermale Ausbruchkanäle, kalte Quellen, Wal- und Holzfriedhöfe	Endosymbionten kolonisieren das Kiemengewebe intrazellular und extrazellular	Schwefel- und methanoxidierende Symbionten
		Muscheln der Familie Vesicomyidae	Tiefsee: hydro-thermale Ausbruchkanäle, kalte Quellen, Walfriedhöfe	Endosymbionten kolonisieren intrazellular die Kiemen	Schwefeloxidierende Symbionten
		Muscheln der Familie Solemyidae	Oberflächenwasser	Symbionten sind intrazellular in den Kiemen	Schwefeloxidierende Symbionten
		Muscheln der Familie Lucinidae	Oberflächenwasser, Tiefsee: hydrothermale Ausbruchkanäle, kalte Quellen	Symbionten sind intrazellular in den Kiemen	Schwefel- und sulfidoxidierende Symbionten
		Muscheln der Familie Thyasiridae	Oberflächenwasser, Tiefsee: hydrothermale Ausbruchkanäle, kalte Quellen, Walfriedhöfe	Extrazellulare Symbionten, die zwischen den Microvilli der Epithelzellen vorkommen, in oder auf dem Kiemengewebe	Schwefeloxidierende Symbionten

Trophosom. Ausgewachsene Würmer besitzen weder einen Mund noch einen durchgehenden Darm oder einen After. Sie ernähren sich durch das Trophosom, ein aus dem Darm entwickeltes Organ, das bereits in einem frühen Larvenstadium als spezielles Gewebe angelegt wird
Thiotroph. Ein Organismus, der reduzierte Schwefelverbindungen wie Sulfid als Elektronendonoren nutzt, wird Thiotropher oder Schwefeloxidierer genannt
Epibiont. Ein Symbiont der auf der Oberfläche seines Wirtes lebt
Endobiont. Ein Symbiont der innerhalb seines Wirtes lebt

Der Elba-Wurm *Olavius algarvensis,* ein gut untersuchtes Beispiel für marine Symbiose

Mehr als 100 darmlose Oligochaetenarten sind weltweit in marinen Sedimenten bekannt. Darmlose Oligochaeten sind kleine Meereswürmer, die weder Mund noch Darm noch Nephridien also Exkretionsorgane besitzen. Stattdessen beherbergen sie bakterielle Endosymbionten, die die Funktion des Verdauungs- und Exkretionssystems übernommen haben.
Vor der Küste Elbas kommt der darmlose Oligochaet *Olavius algarvensis* besonders zahlreich in der Nähe von Seegraswiesen vor.
Seine charakteristische weiße Färbung erlangt der unscheinbare Wurm durch die Brechung des Lichts an Schwefelpartikeln in den Bakterien, die als Symbionten extrazellulär in einer Schicht unter der Wurmkutikula zwischen Ausläufern der epidermalen Zellen liegen. Das unterscheidet diese Oligochaeten deutlich von anderen marinen und macht die Identifizierung einfach.
Die Symbionten versorgen den Wurm mit Nahrung, indem sie reduzierte anorganische Schwefelverbindungen als Energiequelle nutzen, um Kohlendioxid in organische Stoffe zu fixieren.
Alle bisher untersuchten darmlosen Oligochaeten leben in Symbiose mit einem *Gammaproteobacterium,* das mit freilebenden schwefeloxidierenden Bakterien verwandt ist.
Diese γ1-Symbionten aus verschiedenen Wirtsarten sind phylogenetisch eng verwandt. Der thioautotrophe Charakter (schwefeloxidierender, CO_2-fixierender Stoffwechsel) der γ1-Symbionten wurde geklärt. Neben den γ-1-Symbionten beherbergen manche Wirtsarten ein zweites *Gammaproteobacterium* und bis zu drei verschiedene *Deltaproteobacteria,* während andere mit *Alphaproteobacteria* assoziiert sind.
In *Olavius algarvensis* sind die deltaproteobakteriellen Symbionten Sulfatreduzierer, die oxidierte Schwefelverbindungen wie Sulfat zu Sulfid veratmen. Das produzierte Sulfid kann von den sulfidoxidierenden Symbionten zur autotrophen Fixierung von CO_2 genutzt werden.
Zum Wachstum des Wurms und seiner Symbionten müssen Energiequellen, wie im Porenwasser gelöste organische Stoffe, aus der Umgebung aufgenommen werden.
Diese darmlosen Oligochaeten sind ein gutes Beispiel für eine mutualistische Assoziation mit mehreren Symbionten:

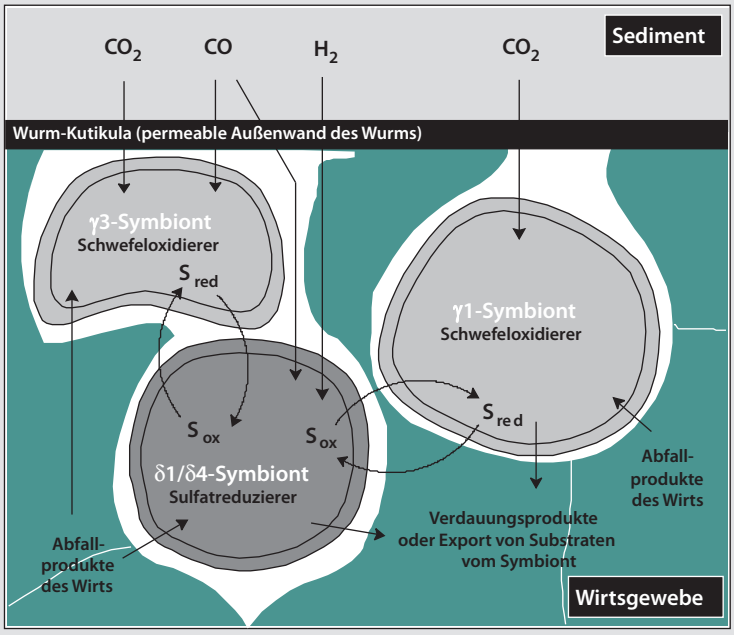
(i) Wirte, die sulfatreduzierende Bakterien als zusätzliche Symbionten aufnehmen, können sich an Veränderungen in der Umgebung – wie die Verfügbarkeit von Sulfid, die stark schwanken kann, aber für den γ1-Symbionten essenziell ist – anpassen.
(ii) Die sulfidoxidierenden und sulfatreduzierenden Symbionten scheinen nicht um Ressourcen zu konkurrieren, sondern profitieren stattdessen bei deren Umsetzung voneinander.

Jeder Symbiont nimmt durch seine Substratspezifität und -affinität eine Mikronische ein und bringt so der mobilen Multisymbiose Nutzen. Denn bei seiner Wanderung durch das Sediment passiert der Wurm Zonen mit unterschiedlichen Substratangeboten sowie Elektronendonoren und -akzeptoren, auf die sich die einzelnen Symbionten spezialisiert haben.
So erklärt sich vielleicht, warum trotz scheinbarer funktioneller Redundanz mit zwei schwefeloxidierenden γ-Symbionten in *O. algarvensis* ein selektiver Vorteil vorhanden ist. Die einzigen physiologischen Merkmale, welche von beiden Symbionten genutzt werden, sind der Gebrauch von reduziertem Schwefel und die Kohlenstofffixierung über den Calvin-Zyklus. Andererseits zeigen sie große Unterschiede im Gebrauch von zusätzlichen Energie- und Kohlenstoffquellen wie auch Elektronenakzeptoren. Die γ3-Symbionten können CO und auch den vom Wirt erzeugte Osmolyten Betain (*N,N,N*-Trimethylglycin) als weitere Energie- und Kohlenstoffquellen verwenden, während die γ1-Symbionten fermentative Abfallprodukte von ihren Wirten als zusätzliche Kohlenstoff-Quelle nutzen können. Weiterhin scheinen die γ1-Symbionten stark auf Speichersubstanzen wie Schwefel und Polyhydroxyalkanoate angewiesen zu sein, während Speichersubstanzen keine größere Rolle im Metabolismus der γ3-Symbionten zu spielen scheinen.
Die Ressourcenaufteilung wird auch sichtbar bei den Unterschieden in den Elektronenakzeptoren, die von den beiden Symbionten genutzt werden. Die γ1-Symbionten sind in erster Linie von Sauerstoff für ihre Atmung abhängig, während die

γ3-Symbionten wahrscheinlich diesen Elektronenakzeptor nicht nutzen können, sondern stattdessen das weniger energiegünstige Nitrat verwenden.
Metaproteomische Analysen zeigen zudem, dass trotz der genetischen Ähnlichkeiten funktionelle Unterschiede der metabolischen Schlüssel-Stoffwechselwege für die Chemosynthese der beiden Symbionten vorhanden sind.
Alle Symbionten in *O. algarvensis* scheinen eine bemerkenswert ähnliche metabolische Strategie zu nutzen: Alle expremieren Proteinen, die in hoch-effizienten Stoffwechselwegen für die Aufnahme, das Recycling und den Erhalt von Energie- und Kohlenstoffquellen fungieren. Diese Wege beinhalten

(i) mehrere Strategien des Recyclings von Abfallprodukten des Wirtes;
(ii) die mögliche Nutzung von anorganischen Energiequellen zusätzlich zu reduzierten Schwefelverbindungen, wie Wasserstoff und CO;
(iii) die extrem starke Expression von hoch-affinen Transportern, welche die Aufnahme einer großen Anzahl von Substraten bei sehr niedriger Konzentration ermöglichen; und
(iv) bisher nicht beschriebene energieeffiziente Schritte in den Wegen der Sulfatreduktion und CO_2-Fixierung (◘ Abb. 2.6).

Nimmt man den oligotrophen, nährstoff-armen Charakter der Umgebung des Elba-Wurms, in welcher organische Verbindungen nahe der Nachweisgrenzen vorliegen und reduzierte Schwefelverbindungen gerade noch nachweisbar sind, so muss der selektive Druck auf die metabolischen Wege sehr stark gewesen sein, der zur Bildung dieser Symbiose geführt hat, damit die Beschaffung und der Erhalt von Energie und Kohlenstoff auf ein Höchstmaß gebracht wurde.



◘ **Abb. 2.6** Schematisches Diagramm möglicher Energie- und Kohlenstoffquellen bei der Symbiose in *Olavius algarvensis*. Externe Quellen von Energie und Kohlenstoff können Kohlenmonoxid, Wasserstoff und Kohlendioxid beinhalten; interne Quellen können reduzierte Schwefelverbindungen S_{red} und Abfallprodukte des Wirtes wie Acetat und Glycinbetain (*N,N,N*-Trimethylglycin) sein. S_{ox} bedeuten oxidierte Schwefelverbindungen. Die δ1- und δ4-Symbionten sind als eine Zelle dargestellt

Kooperationen zwischen metabolisch verschiedenen Mikroorganismen sind insbesondere unter anaeroben Bakterien verbreitet (siehe später ► Abschn. 4.5). Ein Beispiel ist die Bildung und der Verbrauch von Wasserstoff im Faulturm einer Kläranlage oder im Pansen oder im Termitendarm und die resultierende Bildung von Methan. Eine solche anaerobe Fütterungskette im Pansen beinhaltet die Beteiligung einer großen Vielfalt von Mikroorganismen: Verwertern von Cellulose, Stärke und Hemicellulose, Zucker-Fermentierern, Fettsäuren-Nutzern, Methanogenen, proteolytischen und lipolytischen Bakterien.

Im Verdauungssystem von Tieren stehen Bakterien ihren Wirtsorganismen als Kooperationspartner gegenüber. Vor allem Pflanzenfresser haben hoch entwickelte Kooperationssysteme herausgebildet, die für beide Partner (Mikroorganismus und Kuh) in hohem Maße vorteilhaft sind.

Zieht aus der Lebensgemeinschaft nur ein Partner einen Nutzen, ohne dass der andere einen Schaden erleidet, spricht man von **Kommensalismus.** Eine typische Interaktion dieses Typs ist der Abbau von Cellulose durch cellulolytische Pilze, die organische Säuren produzieren, die dann als Substrate für nicht-cellulolytische bakterielle und pilzliche Spezies dienen.

Kommensalismus kann auch für die richtigen Bedingungen in einem Habitat für gewisse Mikroorganismen sorgen. Wenn zum Beispiel eine Population von fakultativ anaeroben Bakterien den toxischen Sauerstoff verbraucht, so erzeugt sie ein Habitat für das Wachstum von obligaten Anaerobiern.

Ein anderes Beispiel ist die Produktion und Ausscheidung von Vitaminen und Aminosäuren durch mikrobielle Populationen, die dann von anderen anspruchsvollen Mikroorganismen zum Wachstum genutzt werden können.

Die Beseitigung/Verbrauch von toxischen Faktoren wie H_2S durch eine Population von *Beggiatoa* ist ein Beispiel dafür, wie es H_2S-sensitiven aeroben Populationen ermöglicht wird zu wachsen. Im Gegensatz dazu brauchen photoautotrophe Bakterien H_2S für ihren Metabolismus. Geliefert wird er durch Sulfatatmer, die ihn aus Sulfat herstellen (siehe später ► Abschn. 7.1 und 8.1).

Ein weiteres Beispiel, welches man zu Kommensalismus rechnen kann, ist die Substratkette bei der Nitrifizierung: *Nitrosomonas* oxidiert Ammonium zu Nitrit, welches dann von *Nitrobacter* für seinen Metabolismus genutzt werden kann und Nitrat entsteht (siehe später ► Abschn. 6.3 und 7.3).

Die Hemmung von pathogenen Pilzen durch fluoreszente Pseudomonaden ist ein Beispiel für **amensalistische** Wechselbeziehung zwischen Mikroorganismen, bei welchem der bakterielle Partner gegen den Pilz durch *in situ* Produktion eines Antibiotikums des Typs Phenazine agiert.

Typische räuberische und **parasitische** Wechselbeziehung zwischen Mikroorganismen sind die Angriffe auf Bodenbakterien durch Protozoa auf der einen Seite und *Bdellovibrios* auf der anderen Seite.

Testen Sie Ihr Wissen

Vergleichen Sie Prokaryoten und Eukaryoten.

Wie wirkt sich eine geringe Größe von Zellen auf ihre Wachstumsgeschwindigkeit aus?

In welcher Anzahl findet man Bakterien im Boden oder Abwasser? Vergleichen Sie die Biomasse der Bakterien mit der der Pilze im Waldboden.

Welche Formen des Miteinanders sind positiv für beide Partner einer Lebensgemeinschaft?

Literatur

Alexander, M. 1977. Soil Microbiology. John Wiley & Sons, New York.

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2005. Volume 2 "The Proteobacteria" 2. ed.

Spribille, T., Tuovinen, V., Resl, P., Vanderpool, D., Wolinski, H., Aime, M. C., Schneider, K., Stabentheiner, E., Toome-Heller, M., Thor, G., Mayrhofer, H., Johannesson, H., McCutcheon, J. P. 2016. Basidiomycete yeasts in the cortex of ascomycete macrolichens. Science 353:488–492.

Weiterführende Literatur

Atlas, R. M., Bartha, R. 1997. Microbial Ecology: fundamentals and applications. 4th ed. Addison Wesley Longman. The Benjamin/Cumming Publishing Company, Inc., 694p.

Bendel, M., Kienast, F., Rigling, D. 2006. Genetic population structure of three *Armillaria* species at the landscape scale: a case study from Swiss Pinus mugo forests. Mycol. Res. 110:705–712.

Bonfante, P., Genre, A. 2010. Mechanisms underlying beneficial plant–fungus interactions in mycorrhizal symbiosis. Nat. Commun. 1:1–11.

Dubilier, N., Bergin, C., Lott, C. 2008. Symbiotic diversity in marine animals: the art of harnessing chemosynthesis. Nat. Rev. Microbiol. 6:725–740.

Emerson, D., Rentz, J. A., Lilburn, T. G., Davis, R. E., Aldrich, H., Chan, C., Moyer, C. L. 2007. A novel lineage of *Proteobacteria* involved in formation of marine Fe-oxidizing microbial mat communities. *PLoS ONE* **2**(8):e667. ► https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000667.

Fuchs, G. (Hrsg.) 2006. Allgemeine Mikrobiologie. 8. Auflage. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.

Hurst, C. J., Crawford, R. L., Knudsen, G. R., McInerney, M. J., Stetzenbach, L. D. 2002. Manual of Environmental Microbiology. 2nd edition. ASM Press. Washington, D.C.

Kleiner, M., Wentrup, C., Lott, C., Teeling, H., Wetzel, S., Young, J., Chang, Y. J., Shah, M., VerBerkmoes, N. C., Zarzycki, J., Fuchs, G., Markert, S., Hempel, K., Voigt, B., Becher, D., Liebeke, M., Lalk, M., Albrecht, D., Hecker, M., Schweder, T., Dubilier, N. 2012. Metaproteomics of a gutless marine worm and its symbiotic microbial community reveal unusual pathways for carbon and energy use. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 109:E1173–E1182.

Madigan, M. T., Martinko, J. M., Dunlap, P. V., Clark, D. P. 2009. Brock-Biology of Microorganisms. 12th International Edition. Pearson Benjamin Cummings, San Francisco, CA94111.

Rühland, C., Bergin, C., Lott, C., Dubilier, N. 2006. Darmlose marine Würmer. Symbiosen mit mikrobiellen Konsortien. **BIO**Spektrum 12:600–602.

Schaarschmidt, S., Hause, B., Strack, D. 2009. Einladung ans Buffet – Wege zur Endomykorrhiza. Biologie in unserer Zeit. 39:102–113.

Smith, C. R., Baco, A. R. 2003. Ecology of whale falls at the deep-sea floor. Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev. 41:311–354.

Smith, S. E., Read, D. J. 2008. Mycorrhizal Symbiosis, 3rd ed., Academic Press.

Stackebrandt, E., Murray, R. G. E., Trüper, H. G. 1988. Proteobacteria classis nov., a name for the phylogenetic taxon that includes the "Purple Bacteria and their relatives." Int. J. Syst. Bacteriol. 38:321–325.

Stackebrandt, E., Woese, C. R. 1984. The phylogeny of prokaryotes. Microbiol. Sci. 1:117–122.

Stolp, H. 1988. Microbial Ecology: Organisms, Habitats, Activities. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

Strack, D., Fester, T., Hause, B., Walter, M. H. 2001. Eine unterirdische Lebensgemeinschaft – Die arbuskuläre Mykorrhiza. Biologie in unserer Zeit. 31:286–295.

Woese, C. R. 1987. Bacterial evolution. Microbiol. Rev. 51:221–271.

Woese, C. R., Stackebrandt, E., Macke, T. J., Fox, G. E. 1985. A phylogenetic definition of the major eubacterial taxa. Syst. Appl. Microbiol. 6:143–151.

Zusammenhang von mikrobieller Energiegewinnung und Stoffkreisläufen

3.1 Prinzipien der Energiegewinnung – 58
3.1.1 Atmungsketten und ATP-Synthase – 64

3.2 Haupttypen des mikrobiellen Stoffwechsels – 68
3.2.1 Phototrophie – 68
3.2.2 Chemotrophie – 71
3.2.3 Kohlenstoffquelle: Hetero- und Autotrophie – 73

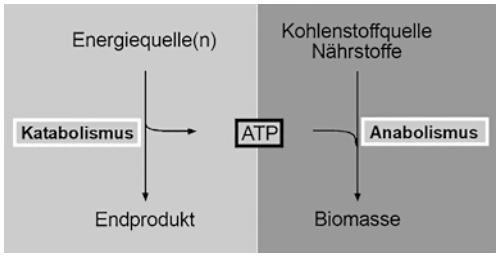
Literatur – 74

© Springer-Verlag GmbH Deutschland, ein Teil von Springer Nature 2020
W. Reineke und M. Schlömann, *Umweltmikrobiologie,* https://doi.org/10.1007/978-3-662-59655-5_3

Hauptgründe für die große Bedeutung der Mikroorganismen in vielen Stoffkreisläufen liegen in der Intensität ihrer Stoffwechselvorgänge und der Vielfalt ihrer Stoffwechselwege. Während die höheren Organismen, wie in ► Kap. 2 angesprochen, im Verlauf der Evolution eine große morphologisch-anatomische Differenzierung erreichten, besitzen die Mikroorganismen, betrachtet als Gesamtheit, eine ausgeprägte biochemische Differenzierung.

Jede Zelle ist ein Stoff- und Energieumwandler. Ziel dieser Stoff- und Energieumwandlungen ist die Erhaltung und/oder Vermehrung der Zellsubstanz. Jeder Organismus, auch jeder Mikroorganismus, muss, um wachsen und seine Zellstrukturen erhalten zu können, zunächst einmal biochemische Energie gewinnen. Die Zelle funktioniert als irreversibel arbeitender Bioreaktor, der Energie in Form von chemischer Energie oder von Lichtenergie aufnimmt und in der Regel in die chemische Energie der energiereichen Verbindung Adenosintriphosphat, ATP, (► Abschn. 3.1) umsetzt. Ziel ist dabei eine möglichst hohe Ausbeute an ATP. Die zur Energiegewinnung beitragenden Prozesse, oft Abbauprozesse, nennt man **Katabolismus** (◘ Abb. 3.1). Mit Hilfe der gewonnenen Energie und der verfügbaren Nährstoffe synthetisiert der Organismus dann Biomasse. Die hierzu ablaufenden Syntheseprozesse fasst man unter dem Begriff **Anabolismus** zusammen, wobei der Einbau von Kohlenstoffverbindungen, die Kohlenstoffassimilation, einen wichtigen Aspekt darstellt.

Die biochemische Vielfalt der Mikroorganismen kommt insbesondere in den verschiedenen Typen der Energiegewinnung und der Kohlenstoffassimilation zum Ausdruck. Im Folgenden sollen zunächst einige grundlegende Gedanken zur biochemischen Energiegewinnung erläutert werden. Anschließend wird ein erster Überblick über die vielfältigen, mikrobiellen Stoffwechseltypen gegeben.



◘ **Abb. 3.1** Zusammenhang von Energiegewinnung und Biomassebildung. Die Kohlenstoffquelle ist in vielen Fällen identisch mit einer der Energiequellen

3.1 Prinzipien der Energiegewinnung

Einige Mikroorganismen können Energie aus Licht gewinnen **(Phototrophie).** Noch mehr Mikroorganismen aber führen zur Energiegewinnung chemische Reaktionen durch **(Chemotrophie).**

In den meisten Fällen lässt sich der chemotrophe Energiestoffwechsel als **Redoxprozess** beschreiben. Makroskopisch betrachtet gibt es einen oxidativen und einen reduktiven Teil des Energiestoffwechsels. Im oxidativen Teil wird ein Substrat, der **Elektronendonor**, oxidiert, und sogenannte Reduktionsäquivalente (Wasserstoff oder Elektronen) werden verfügbar und auf einen Elektronenzwischenträger transferiert. Von diesem werden die Reduktionsäquivalente dann auf ein weiteres Substrat, den **Elektronenakzeptor**, übertragen, wobei dieser reduziert wird (◘ Abb. 3.2). Jedes gebildete Reduktionsäquivalent wird auch wieder verbraucht. Die Begriffe Elektronendonor und (terminaler) Elektronenakzeptor haben eine zentrale Bedeutung für die Charakterisierung mikrobieller Stoffwechselwege (► Abschn. 3.2).

Bezogen auf den Gesamtstoffwechsel bilden Elektronendonor und oxidiertes Produkt aus dem Elektronendonor (linke Seite in ◘ Abb. 3.2) ein Redoxpaar und Elektronenakzeptor sowie reduziertes Produkt aus dem Elektronenakzeptor (rechte Seite in ◘ Abb. 3.2) ein zweites Redoxpaar. Grundsätzlich stellt das Redoxpaar mit dem niedrigeren **Reduktionspotenzial** E den Elektronendonor, das mit dem höheren Reduktionspotenzial den Elektronenakzeptor. Dann ist die Differenz der Reduktionspotenziale ΔE der Reaktionspartner positiv. Aufgrund der Gleichung.

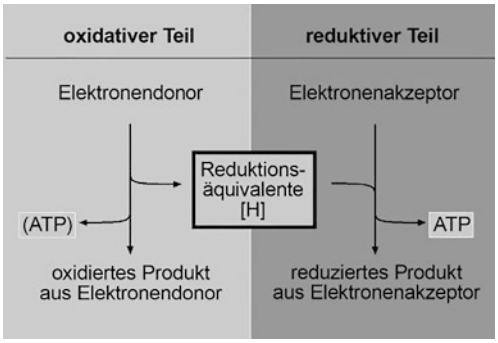


Abb. 3.2 Der Energiestoffwechsel als Redoxprozess. Energie in Form von ATP wird in der Regel im reduktiven Teil gewonnen, bei organischen Elektronendonoren zum Teil auch im oxidation Teil (daher ATP in Klammern)

$$\Delta G = -n \times F \times \Delta E \quad (n,\ \text{Zahl der übertragenen Elektronen;}\ F,\ \text{Faraday-Konstante, } 96.485\ J/V \cdot mol)$$

ist folglich die Änderung der **freien Enthalpie** (Gibbsschen freien Energie) ΔG negativ, und die Reaktion läuft freiwillig ab.

Für eine erste Abschätzung, in welche Richtung eine Redoxreaktion läuft, beziehungsweise wieviel Energie sie liefern kann, vergleicht man häufig die **biologischen Standard-Reduktionspotenziale $E^{0\prime}$** verschiedener Redoxpaare. Für einige im Hinblick auf den mikrobiellen Stoffwechsel besonders wichtige Redox-Paare sind die Reduktionspotenziale unter biologischen Standardbedingungen in ◘ Abb. 3.3 angegeben.

Grundlagen: Reduktionspotenzial

Mit dem **Reduktionspotenzial** E kennzeichnet man die Tendenz, mit der ein Redox-Paar Elektronen aufnimmt und so zur reduzierteren Form reagiert. Es wird im Vergleich zum Potenzial der Standard-Wasserstoff-Elektrode angegeben, das als 0 V definiert wird.

Das Reduktionspotenzial von Redoxpaaren hängt nicht nur von den beteiligten Spezies als solchen ab, sondern auch von der Konzentration bzw. dem Partialdruck (genauer der Aktivität), in der bzw. in dem Stoffe vorliegen. Um diesen Einfluss für den Vergleich verschiedener Reduktionspotenziale auszuschalten, wurde in der Chemie das **Standard-Reduktionspotenzial E^0** definiert, und zwar als das Reduktionspotenzial, bei dem der jeweilige Stoff rein oder in einer Lösung mit der Aktivität 1 bei einem Druck von 1 bar vorliegt.

Chemische Standardbedingungen würden bei Reaktionen, in denen Protonen übertragen werden, bedeuten, dass der pH bei 0 liegen müsste (das heißt die Protonenkonzentration wäre 1 M). Da eine solche Konzentration in den meisten biologischen Systemen nicht vorkommt, wurde das **Reduktionspotenzial unter biologischen Standardbedingungen $E^{0\prime}$** definiert. Es bezieht sich auf eine in wässriger Lösung bei pH 7 und einem Druck von 1 bar ablaufende Halbreaktion, bei der die übrigen Reaktionspartner in der Aktivität 1 vorliegen.

Der **Einfluss der Konzentration** der jeweiligen oxidierten und reduzierten Form auf das Reduktionspotenzial einer Halbreaktion lässt sich anhand der **Nernstschen Gleichung** errechnen:

$$E' = E^{0\prime} + \frac{R\,T}{n\,F} \ln \frac{[Aox]}{[Ared]}$$

Hierbei sind E′ das Reduktionspotenzial bei pH 7 und $E^{0\prime}$ das biologische Standard-Reduktionspotenzial für die Halbreaktion $A_{ox} + n\ e^- \rightarrow A_{red}$, n die Zahl der übertragenen Elektronen, F die Faraday-Konstante (96.485 J/V · mol), R die allgemeine Gaskonstante (8,3145 J/mol · K), T die absolute Temperatur, $[A_{ox}]$ die Konzentration der oxidierten Form des Reaktionspartners und $[A_{red}]$ die Konzentration der reduzierten Form.

Für eine Temperatur von 25 °C (298,15 °K) kann man die Formel (mit $\ln X = 2{,}303\ \lg X$) auch vereinfachen zu:

$$E' = E^{0\prime} + \frac{0{,}0592\ V}{n} \lg \frac{[Aox]}{[Ared]}$$

Um die für eine Stoffwechselreaktion insgesamt zur Verfügung stehende Triebkraft zu errechnen, bestimmt man die **Differenz der Reduktionspotenziale,** indem man vom Reduktionspotenzial der reduktiven Halbreaktion das der oxidativen Teilreaktion substrahiert. Zum Beispiel ergibt sich unter biologischen Standardbedingungen aus den

Daten von ◘ Abb. 3.3 für die Oxidation von Glucose zu CO_2 mittels Sauerstoff:

$$\text{Ox: } C_6H_{12}O_6 + 6H_2O \rightarrow 6CO_2 + 24e^- + 24H^+ \left(E^{0'} = -0{,}43\,V\right)$$

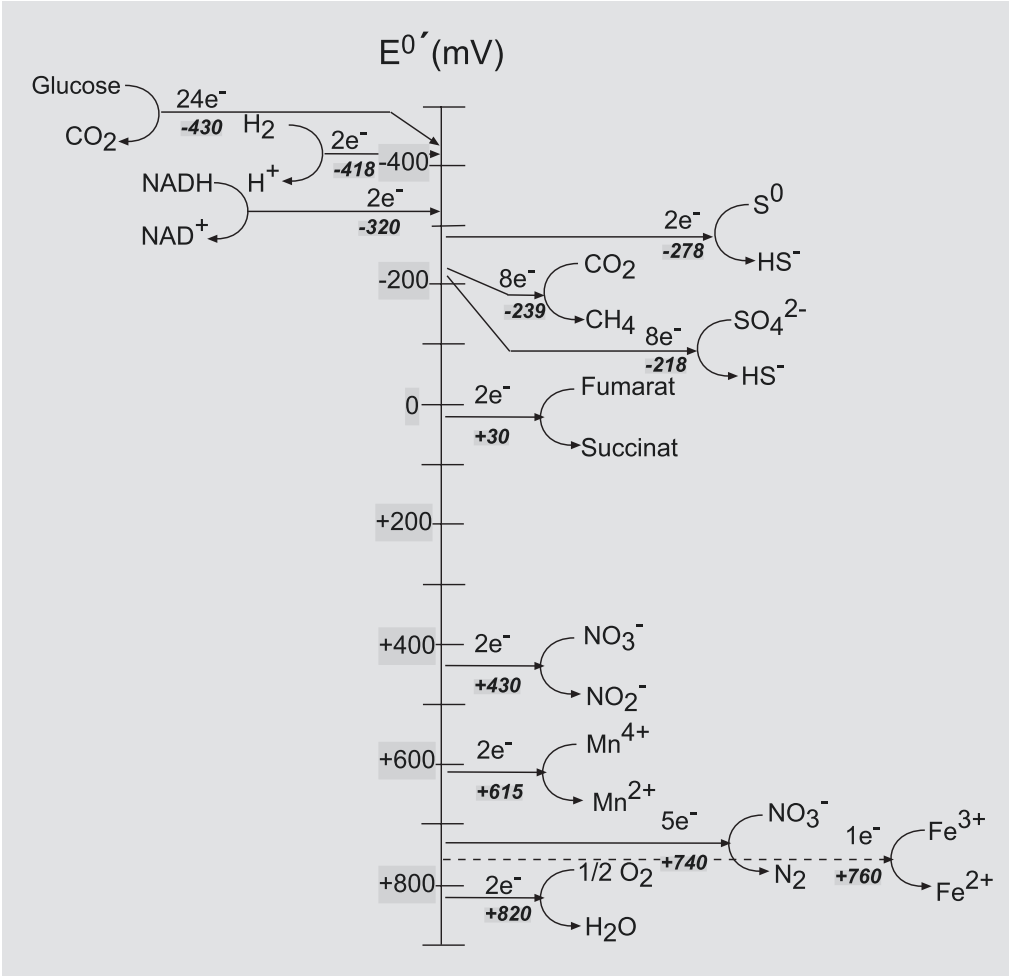
$$\text{Red: } 6O_2 + 24e^- + 24H^+ \rightarrow 12H_2O \left(E^{0'} = 0{,}82\,V\right)$$

$$\Delta E^{0'} = E^{0'}_{red} - E^{0'}_{ox} = 0{,}82\,V - (-0{,}43)\,V = 1{,}25\,V$$

Die bei einer solchen Reaktion pro Mol Glucose frei werdende Energie, die freie Enthalpie unter biologischen Standardbedingungen $\Delta G^{0'}$, ergibt sich als:

$$\Delta G^{0'} = -n \times F \times \Delta E^{0'} = -24 \times 96.485\,J/V \cdot mol \times 1{,}25\,V = -2890\,kJ/mol$$

Da die Konzentrationen der beteiligten Reaktionspartner praktisch nie den Standardbedingungen entsprechen, müssen für eine genauere Ermittlung der jeweiligen Reduktionspotenziale gemäß der Nernstschen Gleichung die jeweiligen **Konzentrationen** von Elektronendonor, Elektronenakzeptor

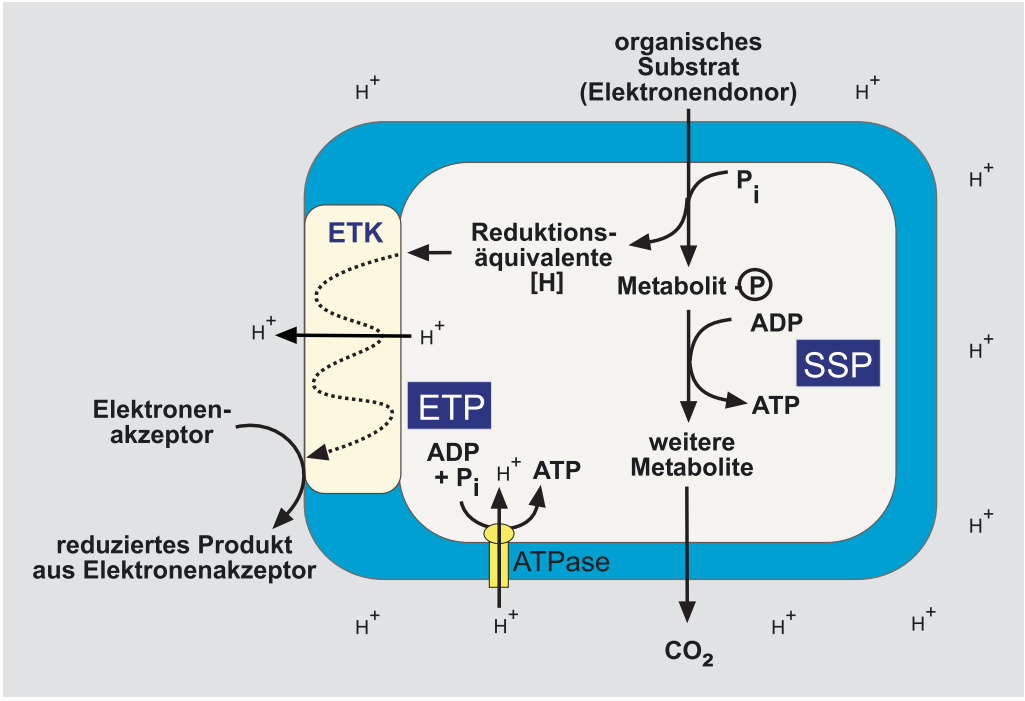


◘ **Abb. 3.3** Standard-Reduktionspotenziale bei pH 7 ($E^{0'}$) einiger für die mikrobielle Energiegewinnung wichtiger Redoxpaare bei einer Temperatur von 25 °C

sowie aus beiden gebildeten Produkten berücksichtigt werden. Die unter Berücksichtigung der tatsächlichen Konzentrationen der Reaktionspartner ermittelten Potenzialdifferenzen können erheblich von den aus ◘ Abb. 3.3 ermittelten $\Delta E^{0\prime}$-Werten abweichen. Folglich ergeben sich auch andere Werte für die freie Enthalpie ΔG der Reaktion als unter Standardbedingungen. Dieser Sachverhalt spielt insbesondere unter anoxischen (also sauerstofffreien) Bedingungen eine große Rolle. Wir werden in ► Abschn. 4.5.1 sehen, dass durch das Zusammenwirken verschiedener Stoffwechseltypen Reaktionen möglich werden, deren Ablauf unter Standardbedingungen unmöglich wäre.

Die durch die Redoxreaktionen verfügbar werdende freie Enthalpie wird zum Teil zur **Synthese von ATP** genutzt. Für viele Abbauprozesse ist dabei die energetische Effizienz, also die in ATP gespeicherte freie Enthalpie bezogen auf die freie Enthalpie der energieliefernden Reaktion, etwa 50 %. Die ATP-Synthese kann auf zwei prinzipiell unterschiedliche Weisen geschehen (◘ Abb. 3.4):

- Im oxidativen Teil des Energiestoffwechsels organischer Elektronendonoren kann ATP zum Teil dadurch gebildet werden, dass aus dem organischen Substrat phosphorylierte Metabolite gebildet werden und von diesen eine Übertragung einer Phosphatgruppe auf ADP erfolgt. Diese Art der Bildung von ATP nennt man **Substratstufen-Phosphorylierung.** Sie erfordert, dass phosphorylierte Metabolite vorkommen, die so energiereich sind, dass eine Übertragung der Phosphatgruppe auf ADP energetisch möglich ist. Hierzu ist ein $\Delta G^{0\prime}$ der Hydrolyse von etwa −44 kJ/mol erforderlich (► Box 3.Hintergrund: ATP).



◘ **Abb. 3.4** Möglichkeiten der ATP-Synthese durch Substratstufen-Phosphorylierung (SSP) und Elektronentransport-gekoppelte Phosphorylierung (ETP) am Beispiel der Energiegewinnung durch Oxidation eines organischen Elektronendonors. Metabolit-P kennzeichnet energiereiche, phosphorylierte Metabolite. ETK, Elektronentransportkette

- Im reduktiven Teil des Energiestoffwechsels werden die Reduktionsäquivalente dem Reduktionspotenzial folgend über eine Reihe von Elektronenzwischenträgern auf den terminalen Elektronenakzeptor übertragen. Durch diese Reihe von Redoxreaktion werden Protonen aus der Zelle (beziehungsweise bei höheren Zellen aus dem Inneren der Mitochondrien) heraus befördert. Es entsteht ein **Protonengradient** an der Cytoplasmamembran (beziehungsweise der inneren Mitochondrienmembran). Das durch den Protonengradienten gegebene elektrochemische Potenzial, die sogenannte protonenmotorische Kraft, kann zum einen direkt als Energiequelle für verschiedenen Prozesse (Membrantransport, Bewegung) dienen. Es kann zum anderen zur ATP-Synthese über die sogenannte **Elektronentransport-gekoppelte Phosphorylierung** genutzt werden. Hierbei koppelt ein ATP synthetisierendes, membranständiges Enzym, die ATP-Synthase (► Box ATPase), den Einstrom von Protonen an die Phosphorylierung von ADP zu ATP (◘ Abb. 3.4).

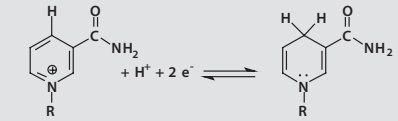
Im Gegensatz zur Substratstufen-Phosphorylierung muss die Oxidation eines Mols Substrat bei der Elektronentransport-gekoppelten Phosphorylierung nicht mindestens ein Mol ATP liefern. Phosphorylierung bei exergonen Reaktionen, die ein $\Delta G^{0'}$ von geringerem Betrag als −44 kJ/mol besitzen, sind dennoch möglich, da die aus den Redoxreaktionen abfließenden Elektronen zunächst nur für den Protonentransport durch die Membran genutzt werden. Der Protonengradient integriert gewissermaßen über die vielen kleinen Energiepakete und wird anschließend für die ATP-Produktion genutzt. Diese energetische Flexibilität ist wahrscheinlich eine Ursache für die weite Verbreitung der Elektronentransport-gekoppelten Phosphorylierung auch in anaeroben Bakterien, bei denen die geringen $\Delta G^{0'}$-Werte zum Teil keine Substratstufen-Phosphorylierung erlauben.

Hintergrund: ATP

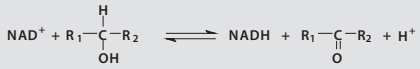
Die wichtigste Verbindung, in der Energie für Synthesen und andere Stoffwechselleistungen verfügbar gehalten werden kann, ist das Adenosintriphosphat, **ATP.** Es ist ein hervorragender Energiespeicher, weil in die Bildung seiner Phosphorsäureanhydrid-Bindungen erhebliche Energiemengen eingehen, die später sehr leicht entweder durch Hydrolyse oder durch Übertragung des Phosphatrestes in neue energiereiche Bindungen wieder verfügbar gemacht werden. Bei Hydrolyse der im ATP vorkommenden Phosphorsäureanhydrid-Bindung zu Adenosindiphosphat, ADP, und anorganischem Phosphat, P_i, wird Energie frei, weil 1) die Abstoßung der negativen Ladungen im ATP reduziert wird, 2) das anorganische Phosphat resonanzstabilisiert ist, 3) der neutrale pH-Wert die Ionisierung des entstehenden ADP fördert und weil 4) die geladenen Reaktionsprodukte durch Solvatation weiter stabilisiert werden (◘ Abb. 3.5).
Die tatsächlichen, von den Standardkonzentrationen abweichenden Konzentrationen von ATP, ADP und P_i in der Zelle führen dazu, dass der reale $\Delta G'$-Wert deutlich größer ist als der angegebene $\Delta G^{0'}$-Wert. Er kann sich zeitlich ändern und wird durch Bindung von ATP und ADP an Mg^{2+} und Proteine beeinflusst.
Die Größenordnung des $\Delta G^{0'}$-Wertes wird auf ca. 44 kJ/mol geschätzt (Lengeler et al., 1999).
Bei der Synthese von ATP muss mindestens der Energiebetrag, der bei der Hydrolyse frei wird, zur Verfügung stehen.

NADH und $FADH_2$ sind die wichtigsten Elektronencarrier

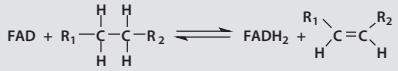
Das **Nicotinamidadenindinucleotid (NAD^+)** ist der wichtigste Elektronenakzeptor bei der Oxidation von Nahrungsstoffen (■ Abb. 3.6). Der reaktive Teil des NAD^+ ist sein Nicotinamidringsystem, ein Pyridinderivat. Bei der Oxidation eines Substrates nimmt der Nicotinamidring ein Proton und zwei Elektronen auf, was formal einem Hydridion entspricht. Die reduzierte Form dieses Carriers wird als NADH bezeichnet.



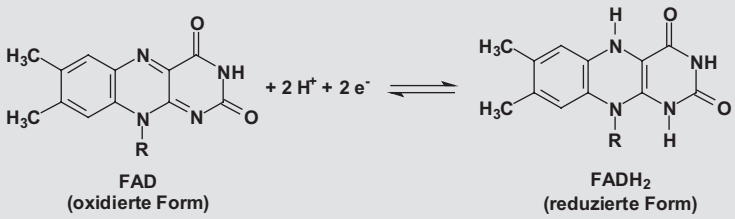
Das Stickstoffatom ist in der oxidierten Form formal vierbindig und positiv geladen, was durch NAD^+ angedeutet wird. In der reduzierten Form, NADH, ist es dreibindig.
NAD^+ tritt als mobiler Elektronenakzeptor in vielen Reaktionen des folgenden Typs auf:

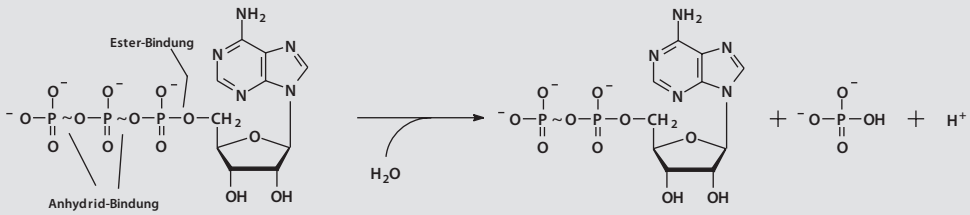


Bei dieser Dehydrogenierung wird ein Wasserstoffatom des Substrats direkt auf NAD^+ übertragen, während das andere in der Lösung erscheint. Beide Elektronen aus dem Substrat werden auf den Nicotinamidring übertragen.
Der andere wichtige Elektronencarrier bei der Oxidation von Nahrungsstoffen ist das **Flavinadenindinucleotid** (■ Abb. 3.6b). Für die oxidierte und die reduzierte Form verwendet man die Symbole FAD und $FADH_2$ als Abkürzung. FAD ist der Elektronenakzeptor bei Reaktionen des folgenden Typs:



Der reaktive Teil des FAD ist sein Isoalloxazinring (■ Abb. 3.6). Wie NAD^+ kann FAD zwei Elektronen aufnehmen. Anders als NAD^+ nimmt dabei FAD formal ein Proton und ein Hydridion auf.





■ **Abb. 3.5** Strukturen von ATP und den Hydrolyseprodukten ADP und P_i ($\Delta G^{0'} = -32$ kJ/mol)

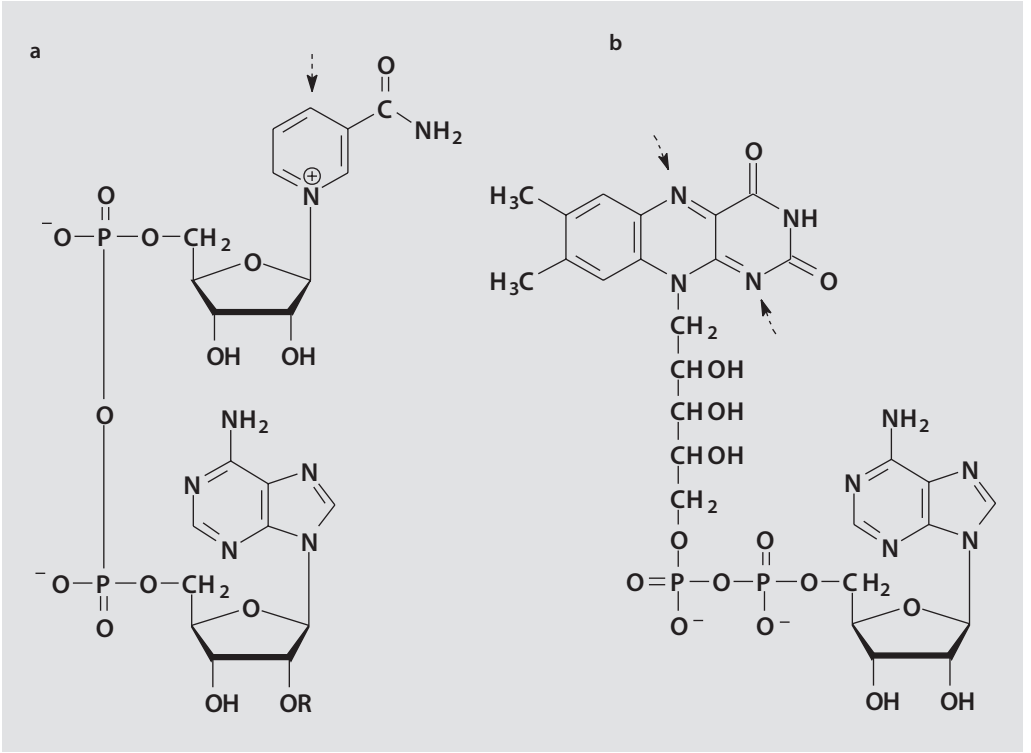


Abb. 3.6 Strukturen der oxidierten Form von **a** Nicotinamidadenindinucleotid (NAD^+, R = H) beziehungsweise Nicotinamidadenindinucleotidphosphat ($NADP^+$, R = Phosphat) und **b** Flavinadenindinucleotid (FAD). Die Pfeile zeigen die Reaktionsorte am Nicotinamid- und Isoalloxazinring

3.1.1 Atmungsketten und ATP-Synthase

Entscheidend für die Energiegewinnung von aeroben Organismen sowie von anaeroben Organismen mit anaerober Atmung ist der Punkt, dass die bei der Oxidation eines Substrates anfallenden reduzierten Wasserstoffzwischenträger (Reduktionsäquivalente oder auch besser Elektronenzwischenträger) NADH und $FADH_2$ als „Treibstoff" für die **Atmungskette** verwendet werden und dort über **Elektronentransport-Phosphorylierung** erheblich höhere Energiemengen liefern können als durch Substratstufen-Phosphorylierung möglich ist. Durch Übertragung der Reduktionsäquivalente über eine Reihe von Elektronenzwischenträgern auf den Elektronenakzeptor wird ein **Protonengradient** aufgebaut. Es kommt also zu einer Ladungstrennung, bei der das Äußere der Zelle beziehungsweise das Periplasma positiv geladen und leicht sauer ist. Dieser Protonengradient kann unmittelbar zum Beispiel für Bewegungsprozesse oder Membrantransport oder aber zur ATP-Synthese genutzt werden.

Ein Protonengradient kann zwangsläufig nur an einer für Protonen normalerweise nicht durchlässigen Membran, bei Prokaryoten der Zellmembran oder Einstülpungen hiervon, aufgebaut werden. Hierzu bedarf es Proteinen in der Membran, die die Protonen aus dem Cytoplasma nach außen beziehungsweise in das Periplasma befördern. Diese Proteine müssen korrekt ausgerichtet sein und mehrere von ihnen müssen sowohl zur Umgebung wie auch zum Inneren der Zelle Zugang haben (Transmembranproteine). Die für die Atmungskette angelieferten

Reduktionsäquivalente, also Wasserstoff gebunden an NAD^+ oder Chinone, trennen sich in die Protonen, die nach außen transportiert werden, und in die Elektronen, die nacheinander auf die verschiedenen Elektronenzwischenträger übertragen werden. Die Triebkraft für den Protonentransport nach außen ist dabei der Elektronentransport von einer Donorverbindung mit niedrigem Reduktionspotenzial, zum Beispiel NADH/NAD^+ ($E^{0'} = -320$ mV), zu einer Akzeptorverbindung mit höherem Reduktionspotenzial, z. B. O_2/H_2O ($E^{0'} = +820$ mV).

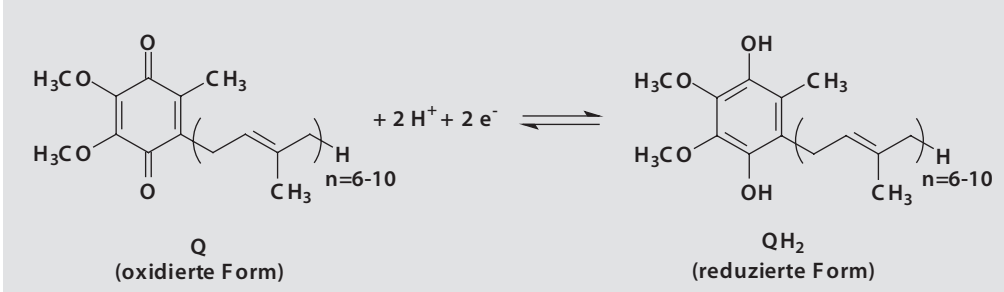
An der Schaffung des Protonengradienten sind in unterschiedlichen Bakterien und je nach Wachstumsbedingungen unterschiedliche Proteine beteiligt. In den meisten Fällen wird jedoch zunächst ein **Chinon** in der Membran, ein Ubichinon oder ein Menachinon, zu einem **Hydrochinon** (oder Chinol) reduziert, abgekürzt: $Q \rightarrow QH_2$ (◘ Abb. 3.7).

Diese Reaktion wird je nach Wasserstoffdonor von unterschiedlichen Dehydrogenasen katalysiert, zum Beispiel von einer NADH-Dehydrogenase. Wie das NAD^+ im Cytoplasma dienen die Chinone in der Membran dazu, Reduktionsäquivalente unterschiedlicher Herkunft zu sammeln. Die reduzierten Chinone können dann direkt von Chinol-Oxidasen mit Sauerstoff wieder oxidiert werden, womit in diesem Fall der Elektronentransport schon abgeschlossen wäre. Häufig werden die Elektronen aber zunächst noch auf ein **Cytochrom c,** ein kleines Protein mit einem Hämring, dessen Eisen reduziert werden kann, übertragen. In solchen Fällen überträgt erst die Cytochrom-Oxidase die Elektronen auf Sauerstoff unter Bildung von Wasser.

Es gilt festzuhalten, dass diese Prozesse ohne den terminalen Elektronenakzeptor O_2 nicht ablaufen.

Bei dem Elektronentransport über diese Stufen können je nach Organismus und Wachstumsbedingungen unterschiedliche Mechanismen in unterschiedlicher Kombination zur Ausbildung des Protonengradienten führen (◘ Abb. 3.8).

So gibt es **Protonenpumpen,** die beim Elektronentransport ihre Konformation ändern und hierbei Protonen nach außen (beziehungsweise in das Periplasma) abgeben. Dies trifft für manche NADH-Dehydrogenasen, Chinol-Oxidasen und Cytochrom-Oxidasen zu. Ein zweiter wichtiger Mechanismus ist der **Q-Zyklus.** Hierbei werden die Chinone an der Innenseite der Membran durch Aufnahme von Protonen aus dem Cytoplasma reduziert und an der Außenseite der Membran durch Abgabe von Protonen nach außen wieder oxidiert, wobei diese Orientierung durch die beteiligten Enzyme vorgegeben wird. Schließlich kann ein Protonengradient auch ohne Protonentransport durch die Membran vergrößert werden. Dies geschieht dann, wenn **Protonenfreisetzung und –verbrauch an**



◘ **Abb. 3.7** Struktur von Coenzym Q. Die C_5-Einheit in der Seitenkette ist ein Isoprenoid und besteht in Bakterien meist aus n = 6 Untereinheiten

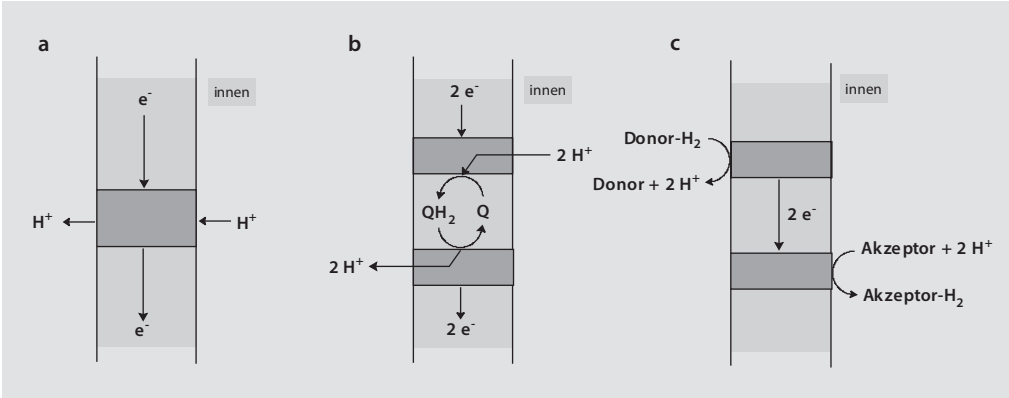


Abb. 3.8 Mechanismus der Erzeugung eines Protonengradienten an einer Membran durch Elektronentransport. Die Elektronentransportenzyme sind als graue Boxen in der Membran dargestellt. Q, Ubichinon oder Menachinon, **a** Protonenpumpe, **b** Q-Zyklus, **c** Redoxschleife, skalarer Mechanismus

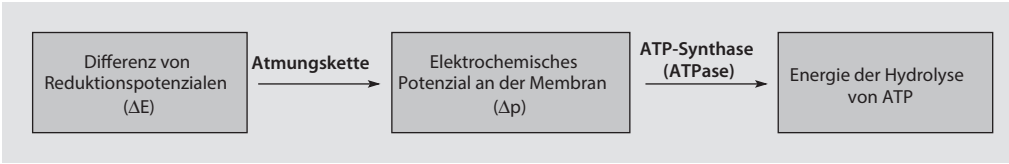


Abb. 3.9 Energiewandlung bei der ATP-Synthese durch Elektronentransport-Phosphorylierung

unterschiedlichen Membranseiten erfolgen, die Protonen also zum Beispiel an der Innenseite der Membran durch Übertragung auf den terminalen Elektronenakzeptor Sauerstoff verbraucht, aber an der Außenseite aus entsprechenden Donoren freigesetzt werden. Man nennt es einen **skalaren Mechanismus,** im Unterschied zum **vektoriellen Mechanismus,** bei dem Protonen von innen nach außen gepumpt werden.

Bei Vorliegen einer Atmungskette mit optimaler Nutzung der Möglichkeiten zur Ausschleusung von Protonen und bei guter Sauerstoffversorgung können pro NADH-Molekül, das mit Sauerstoff oxidiert wird, maximal etwa 10 Protonen ausgeschleust werden. Bei vielen Organismen und weniger optimalen Bedingungen kann der Wert jedoch auch deutlich darunter liegen.

Die Energie aus der Differenz der Reduktionspotenziale von Elektronendonor und -akzeptor ΔE wird zum Teil genutzt zur Ausbildung eines elektrochemischen Potenzials (Δp), der sogenannten protonenmotorischen Kraft, an der Membran (◘ Abb. 3.9). Der nächste hier zu betrachtende Schritt ist die Nutzung dieses elektrochemischen Potenzials zur Gewinnung von ATP.

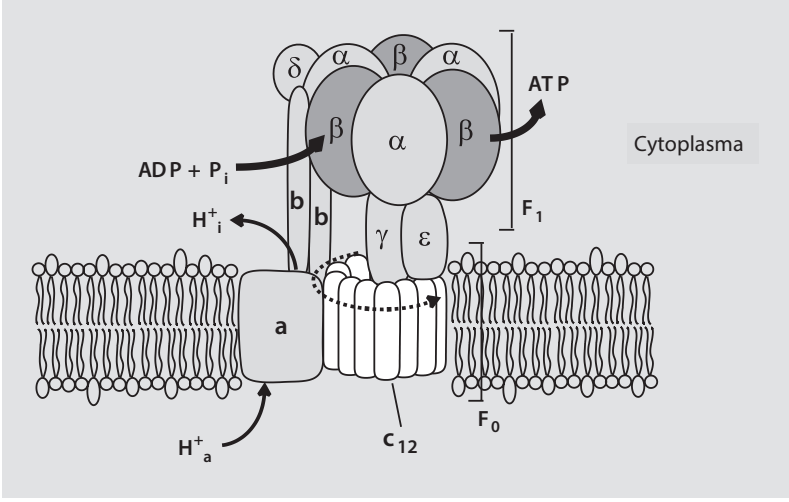
Die ATP-Synthese aus Elektronentransport-Phosphorylierung vollzieht sich bei allen Organismen an den **ATP-Synthasen**. Diese bei den verschiedenen Organismen relativ ähnlich gebauten Proteinkomplexe sind in der Membran verankert und reichen in das Cytoplasma der Zelle hinein. Sie nutzen den Protonengradienten, indem sie den Einstrom von Protonen an Konformationsänderungen bestimmter Untereinheiten koppeln und so für die Synthese von ATP aus ADP und anorganischem Phosphat ausnutzen. Bei dieser Kopplung spielt eine Rotationsbewegung einiger Untereinheiten gegenüber nicht

rotierenden anderen Untereinheiten eine entscheidende Rolle (► Box 3.ATPase).

Messungen der Stöchiometrie zwischen Protonen und ATP zeigen, dass pro gebildetem ATP vier Protonen verbraucht werden. Dies bedeutet, dass aus der Oxidation von NADH mit Sauerstoff etwa drei (rechnerisch 2,5) Moleküle ATP gebildet werden können. Die Oxidation von reduziertem FAD mit Sauerstoff geht von einem höheren Reduktionspotenzial aus und liefert deshalb nur zwei Moleküle ATP pro $FADH_2$.

ATPase

Die F_1/F_0-ATPase ist der kleinste bekannte biologische Motor. Die Bewegung der Protonen durch die Untereinheit **a** von $\mathbf{F_0}$ treibt die Rotation der c-Proteine an. Das erzeugte Drehmoment wird durch die Untereinheiten **γε** an $\mathbf{F_1}$ weitergegeben. Dies führt zu Konformationsänderungen in den β-Untereinheiten. Es handelt sich also um eine potenzielle Energie, die für die ATP-Bildung genutzt werden kann. Dies ist möglich, da die Konformationsänderungen in den Untereinheiten **β** die sequenzielle Bindung von ADP + P_i an jede Untereinheit erlauben. Die Umwandlung zu ATP erfolgt, wenn die β-Untereinheiten zu ihrer ursprünglich Konformation zurückkehren. Die $\mathbf{b_2}$δ-Untereinheiten von $\mathbf{F_I}$ fungieren als Ständer, um zu verhindern, dass die α- und β-Untereinheiten mit den Untereinheiten γε rotieren und die Konformationsänderungen in β beeinträchtigt werden. Die Rotation der ATPase wird also zur ATP-Synthese genutzt. Messungen der Stöchiometrie zeigen, dass 3 bis 4 Protonen pro gebildetes ATP durch die ATPase transportiert werden (◘ Abb. 3.10 und 3.11).



◘ **Abb. 3.10** Aufbau der ATPase mit seinen Untereinheiten in F_1 und F_0. H_i^+, Proton innerhalb, H_a^+, Proton außerhalb der Zelle. c_{12}: 12 Untereinheiten c

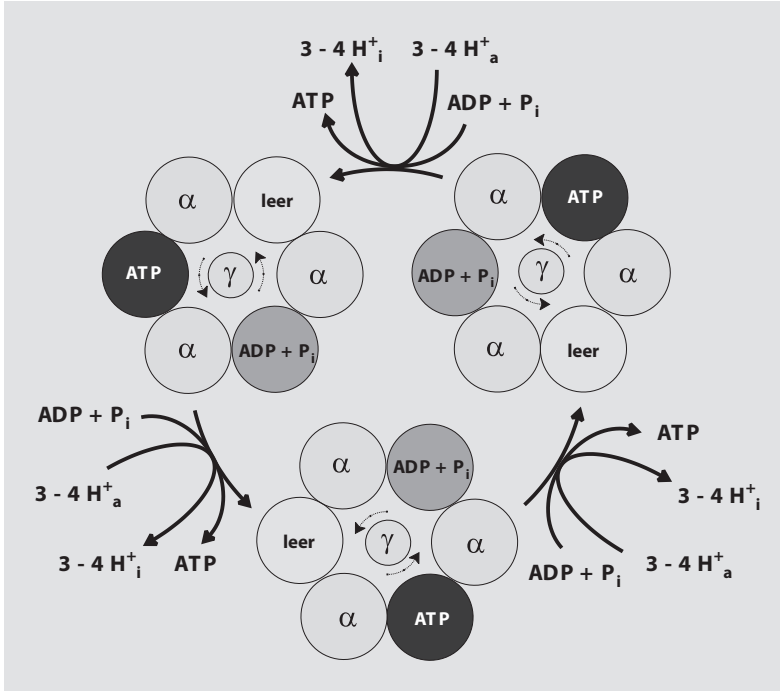


Abb. 3.11 Blick von oben auf die schematisch gezeigten, verschieden besetzten Konformationszustände der β-Untereinheiten der ATPase. Es sind die durch eine gesamte Drehung der Untereinheiten γε erfolgten Änderungen dargestellt

3.2 Haupttypen des mikrobiellen Stoffwechsels

Nachdem nun geklärt ist, dass für die meisten Energiegewinnungsprozesse Elektronendonor und terminaler Elektronenakzeptor entscheidende Bedeutung haben und dass die bei den Stoffwechselvorgängen gewonnene Energie in der Regel in Form von ATP (und/oder in Form eines Protonengradienten) verfügbar gemacht wird, sollen nun die verschiedenen Stoffwechseltypen überblicksartig dargestellt und klassifiziert werden.

Die Untergliederung von Stoffwechseltypen wird überwiegend nach der Art der **Energiegewinnung** vorgenommen, daneben auch nach der Art der **Kohlenstoffquelle,** die für den Aufbau der Zellsubstanz verwendet wird (siehe Abb. 3.12).

Im Hinblick auf die Energiegewinnung ist die Hauptunterteilung zunächst einmal die oben bereits angesprochene zwischen den Mikroorganismen, die das Licht, und denen, die chemische Reaktionen zur Energiegewinnung nutzen. Die erste Gruppe nennt man **Phototrophe**, die zweite **Chemotrophe**.

3.2.1 Phototrophie

Bei der Umwandlung der Lichtenergie in biochemische Energie, einem der bedeutsamsten biologischen Prozesse, lassen sich zwei Typen von Mechanismen unterscheiden. In beiden Fällen wird ein Protonengradient aufgebaut, der dann, wie vorne (► Abschn. 3.1.1) vorgestellt, zur ATP-Synthese genutzt wird.

Während bei den **„eigentlichen phototrophen Organismen"** ein lichtgetriebener Redoxprozess mit photosynthetischen Pigmenten wie Chlorophyll, verschiedenen Bakteriochlorophyllen sowie Carotinoiden und

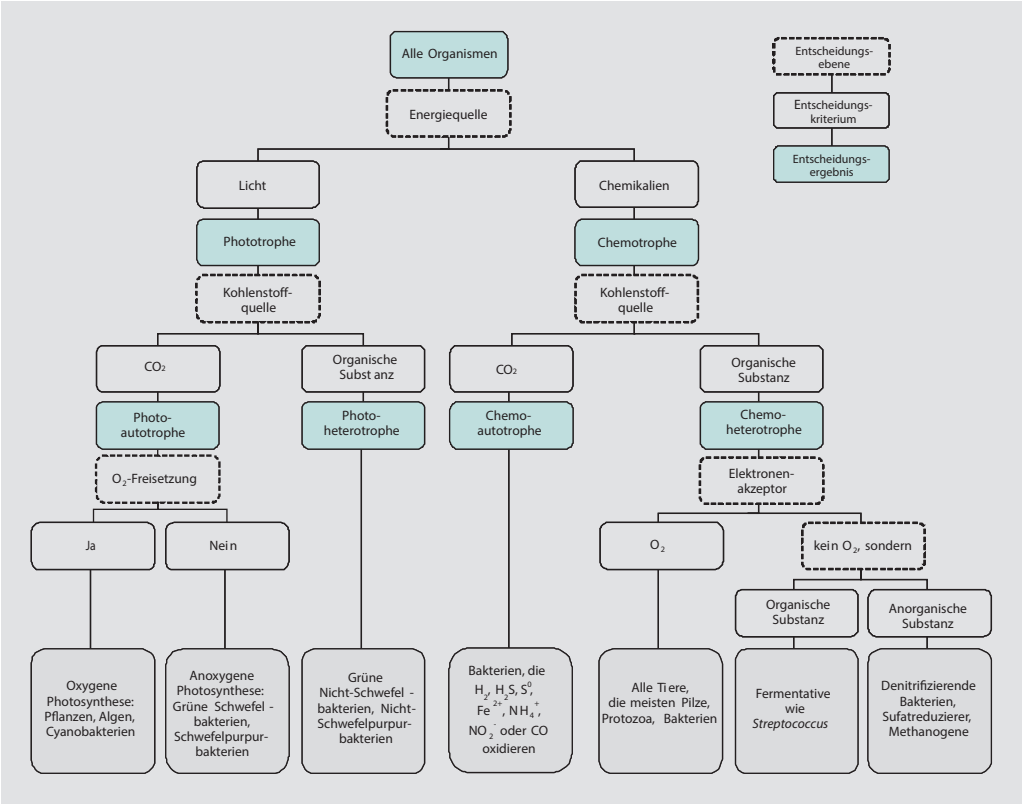


Abb. 3.12 Fließschema zur Unterteilung der Organismen in die Stoffwechseltypen

Phycobilinen vorzufinden ist, läuft der lichtgetriebene Aufbau des Gradienten bei **Halobakterien** an einer Purpurmembran ohne Redoxreaktion ab.

Die erst-genannten Organismen betreiben Photosynthese, also Energiegewinnung und gleichzeitige CO_2-Fixierung, mit anderen Worten eine Licht- und eine Dunkelreaktion. Eine Unterteilung der „eigentlichen phototrophen Organismen" wird danach getroffen, ob sie Sauerstoff bei der Photosynthese **(oxygene Photosynthese)** oder keinen **(anoxygene Photosynthese)** freisetzen. **Wasser** ist bei der oxygenen Photosynthese der Elektronendonor, bei der anoxygenen sind es häufig – aber nicht ausschließlich – **reduzierte anorganische Schwefelverbindungen** wie H_2S. Es handelt sich in beiden Fällen um lithotrophe Prozesse, da anorganische Elektronendonoren verwendet werden.

Im einfachen, chlorophyllfreien Photosystem der Halobakterien oder ähnlich in marinen Proteobakterien, mit dem bekanntesten Vertreter *Pelagibacter ubique* findet der zweite Mechanismus statt. Diese einfachen Systeme besitzen als zentrales Molekül **Retinal** in der Purpurmembran, welches durch eine lichtgetriebene Konformationsänderung den Protonentransport durchführt (Tab. 3.1).

Tab. 3.1 Lichtnutzung bei Pro- und Eukaryoten

Organismen	Lichtgetriebene Protonen-pumpe mit Redoxprozess	(Bakterio) Chloro-phylle	Proteo-rhodop-sine	Elektronen-donor	CO_2-Fixierung
Alle phototrophen Eukaryoten (Pflanzen und Algen)	+	+	–	H_2O	+
Cyanobakterien (zum Beispiel *Prochlorococcus*, *Synechococcus*)	+	+	–	H_2O	+
Schwefelpurpurbakterien (zum Beispiel *Chromatium*, *Thiocapsa*)	+	+	–	H_2S/organische Verbindungen	+
Nicht-Schwefelpurpurbakterien (zum Beispiel *Rhodobacter*, *Rhodospirillum*)	+	+	–	Organische Verbindungen	+
Grüne Schwefelbakterien (zum Beispiel *Chlorobium*, *Prosthecochloris*)	+	+	–	H_2S	+
Grüne Nicht-Schwefelbakterien (zum Beispiel *Chloroflexus*)	+	+	–	H_2/organische Verbindungen	±
Heliobakterien	+	+	–	Organische Verbindungen	?
Halobakterien	–	–	+		–

Prinzip der Photosynthese

Die Photosynthese ist ein lichtgetriebener Redoxprozess und nutzt Lichtenergie, um an Membranen einen Protonengradienten aufzubauen. Durch Lichtenergie angeregtes Chlorophyll spaltet im Reaktionszentrum ein Elektron ab, das auf ein Akzeptormolekül mit negativerem Redoxpotenzial angehoben wird. Nach der Ladungstrennung kehrt das Elektron über eine Elektronentransportkette in das oxidierte Reaktionszentrum zurück. Dabei wird ein Protonengradient aufgebaut. Dieser wird für die Synthese von ATP genutzt. Der Photosyntheseapparat besteht aus Antennen, Reaktionszentrum, Elektronentransportkomponenten und H^+-ATP-Synthase. Er ist in vielen Fällen auf intracytoplasmatischen Membranen lokalisiert (Abb. 3.13).

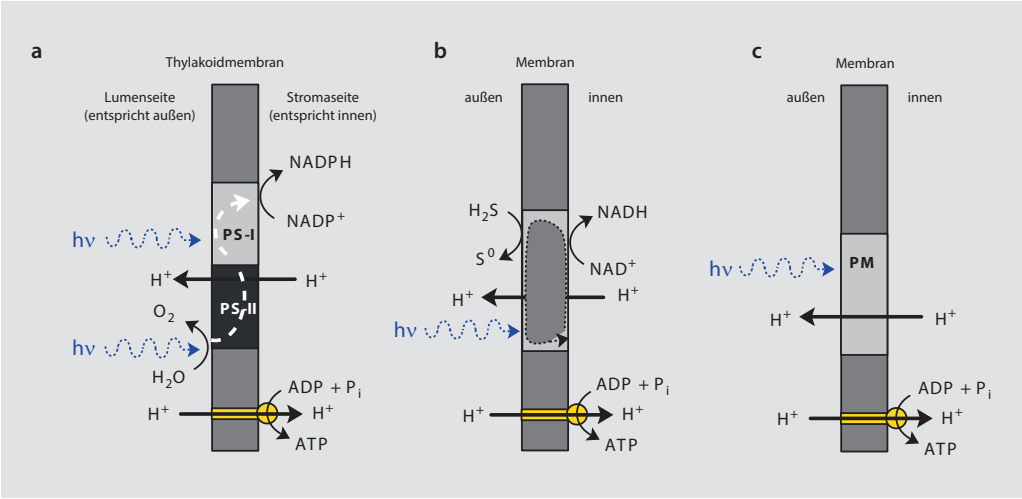


Abb. 3.13 Systeme der Photosythese. **a** In Cyanobakterien, wie in grünen Pflanzen und Algen, ist der Photosyntheseapparat in der Thylakoidmembran lokalisiert. Die oxygene Photosynthese verwendet zwei Photosysteme. Bei Photosystem II (PS-II) wird das abgeführte Elektron durch Oxidation von Wasser unter O_2-Freisetzung ersetzt. Wasserspaltung und Elektronentransport zwischen Photosystem II und I werden zur Erzeugung eines Protonengradienten benutzt. Photosystem I (PS-I) hebt das Elektron dann auf ein noch negativeres Potenzial und ermöglicht die $NADP^+$-Reduktion. **b** Die anoxygene Photosynthese verwendet nur ein Photosystem. Es arbeitet ohne Wasserspaltung und benutzt einen zyklischen Elektronenfluss, um das für die Energiekonservierung notwendige Protonenpotenzial zu erzeugen. Zur Reduktion von $NAD(P)^+$ werden anorganische oder organische Substrate (hier H_2S) oxidiert. **c** Ein besonders einfaches, chlorophyllfreies Photosystem stellt das Bakteriorhodopsin der Halobakterien dar. Dieses einfache System, die Purpurmembran (PM) wirkt als lichtgetriebene Protonenpumpe. Der erzeugte Protonengradient wird dann zur ATP-Synthese genutzt

3.2.2 Chemotrophie

3.2.2.1 Chemotrophie: Elektronendonor

Bei der Chemotrophie ist zwischen der Nutzung organischer und anorganischer Verbindungen als **Elektronendonor** zu unterscheiden:

- **Chemoorganotrophe** Organismen nutzen organische Verbindungen (wie zum Beispiel Kohlenhydrate, organische Säuren oder Aminosäuren) als Elektronendonor.
- **Chemolithotrophe** Organismen gewinnen Energie aus der Oxidation anorganischer Verbindungen wie Wasserstoff (H_2), Kohlenmonoxid (CO), Schwefelwasserstoff (H_2S), Schwefel (S^0), Ammonium (NH_4^+), Nitrit (NO_2^-), zweiwertiges Eisen (Fe^{2+}) oder zweiwertiges Mangan (Mn^{2+}), sodass jeweils die Oxidationsprodukte H_2O, CO_2, SO_4^{2-}, NO_2^-, NO_3^-, Fe^{3+} oder Mn^{4+} entstehen.

3.2.2.2 Chemotrophie: Elektronenakzeptor

In den bisher genannten Kennzeichnungen ist nicht die Angabe des **terminalen Elektronenakzeptors** enthalten. Wie bei den Elektronendonoren zeigen die Mikroorganismen auch bei der Nutzung der Elektronenakzeptoren eine große Vielfalt.

- Häufig ist, wie bei den meisten höheren Organismen, Sauerstoff der terminale Elektronenakzeptor. Der Stoffwechsel ist dann im Hinblick auf den Elektronenakzeptor eine normale, **aerobe Atmung**.
- Viele Mikroorganismen verwenden Nitrat (NO_3^-), dreiwertiges Eisen (Fe^{3+}), vierwertiges Mangan (Mn^{4+}), Sulfat (SO_4^{2-}), Schwefel (S^0) oder Kohlendioxid (CO_2) als terminalen Elektronenakzeptor für die Energiegewinnung. Wie bei der normalen, aeroben Atmung mit Sauerstoff wird

auch in diesen Fällen ATP vor allem durch Elektronentransport-gekoppelte Phosphorylierung gewonnen. Deshalb bezeichnet man die entsprechenden Energiegewinnungsprozesse auch als **anaerobe Atmung**, und zwar je nach terminalem Elektronenakzeptor mit Nitratatmung, Eisenatmung, Manganatmung, Sulfatatmung, Schwefelatmung oder Carbonatatmung.

- Noch üblicher sind jedoch zum Teil andere Bezeichnungen, je nach dem aus dem terminalen Elektronenakzeptor gebildeten Produkt. So reduzieren viele Bakterien das Nitrat zu molekularem Stickstoff, und dieser Vorgang wird statt als Nitratatmung meist als **Denitrifikation** bezeichnet. Statt von Carbonatatmung spricht man bei der Bildung von Methan (CH_4) als Produkt von **Methanogenese**, bei der Bildung von Essigsäure als Produkt von **Acetogenese.**
- Auch ungewöhnliche anorganische Ionen wie Arsenat (AsO_4^{3-}), Selenat (SeO_4^{2-}) und sechswertiges Uran (UO_2^{2+}) können offensichtlich als terminale Elektronenakzeptoren verwendet werden. Und selbst organische Verbindungen wie Fumarat und sogar Perchlorethen oder 3-Chlorbenzoat können terminale Elektronenakzeptoren zur Energiegewinnung mit Elektronentransport-gekoppelter Phosphorylierung darstellen. In diesen Fällen spricht man von Fumaratatmung beziehungsweise bei den halogenierten Verbindungen von Dehalorespiration (► Abschn. 6.2.1 und 6.2.4).
- Schließlich können beim Fehlen externer, terminaler Elektronenakzeptoren verschiedene organische Zwischenprodukte, die aus dem ursprünglichen Substrat gebildet wurden, als Elektronenakzeptoren dienen, ohne dass es hierbei zu einer Elektronentransport-gekoppelten Phosphorylierung kommt. Die Mikroorganismen gewinnen ihre Energie in diesen Fällen durch Substratstufen-Phosphorylierung. In solchen Fällen spricht man von einer **Gärung.** An die Stelle einer Redoxreaktion zwischen Elektronendonor und terminalem Elektronenakzeptor tritt bilanzmäßig in der Regel eine Disproportionierung des Substrates

Aerobe Anoxygene Phototrophe

Neben den oxygenen Phototrophen und Organismen, die Proteorhodopsin besitzen, gibt es andere Prokaryoten, die in marinen Gewässern Lichtenergie verwenden. Eine Besonderheit stellen diese **aeroben anoxygenen phototrophen Bakterien** dar. Wie anoxygene phototrophe Purpurbakterien besitzen sie Bakteriochlorophyll *a*. Jedoch anders als die anoxygenen Purpurbakterien, die nur unter anoxischen Bedingungen Photosynthese betreiben, führen die aeroben anoxygenen Phototrophen die Photophosphorylierung **nur unter aeroben Bedingungen** durch, sie sind deshalb streng aerob.

Es sind meist marine, organotrophe *Alphaproteobacteria* wie *Citromicrobium*, *Erythrobacter* oder *Roseobacter*, die zwischen Algen leben. Aerobe anoxygenische Phototrophe wachsen nicht autotroph und sind deshalb auf organischen Kohlenstoff als Kohlenstoffquelle angewiesen. So, wie bei *Pelagibacter* und seinen Proteorhodopsinen, verwenden die aeroben anoxygenen Phototrophen wahrscheinlich das über den Photokomplex gebildete ATP zur Ergänzung des andererseits benutzen chemotrophen Metabolismus. Proteorhodopsin ist bisher nicht in *Roseobacter* nachgewiesen worden. Eine große Vielfältigkeit an aeroben anoxygenen Phototrophen existiert in marinen Gewässern. *Roseobacter* Spezies machen bis zu 25 % der gesamten mikrobiellen Gemeinschaft in küstennahen Bereichen und polaren Ozeanen aus. Oligotrophe und hoch oxische Frischwasserseen sind auch Habitate dieser interessanten phototrophen Bakterien. Licht, Sauerstoff und organische Ausscheidungsprodukte der Algen geben ihnen einen Selektionsvorteil.

in eine oxidierte Verbindung (CO_2) und relativ reduzierte Verbindungen wie zum Beispiel Ethanol (C_2H_5OH), Milchsäure ($CH_3CHOHCOOH$), Buttersäure (C_3H_7COOH) oder asserstoff (H_2).

Unter den Mikroorganismen, die mit Sauerstoff, also aerob wachsen können, gibt es solche, die dies auch anaerob, also ohne Sauerstoff, tun. Diese bezeichnet man als **fakultativ anaerob.** Hierzu gehören beispielsweise viele Denitrifizierer. Andere Mikroorganismen können nur in Abwesenheit von Sauerstoff wachsen und werden als **obligat anaerob** bezeichnet.

Schon aus den obigen Aufzählungen von möglichen Elektronendonoren und Elektronenakzeptoren ergibt sich, dass bei chemotrophen Organismen eine Vielzahl verschiedener Kombinationen und damit verschiedener Stoffwechseltypen vorkommt. Einige Beispiele sind in ◘ Tab. 3.2 zusammengestellt.

3.2.3 Kohlenstoffquelle: Hetero- und Autotrophie

Die Art der **Kohlenstoffquelle** wird häufig zusätzlich zur Kennzeichnung des Stoffwechseltyps verwendet:

- Organismen, die organische Stoffe zum Aufbau der Zellsubstanz nutzen, bezeichnet man als **heterotroph**,
- solche, die CO_2 assimilieren, als **autotroph**.

◘ **Tab. 3.2** Beispiele chemotropher Stoffwechseltypen

Elektronendonor	Terminaler Elektronenakzeptor	Kohlenstoffquelle	Bezeichnung des Stoffwechseltyps nach	
			Elektronendonor und Kohlenstoffquelle	Terminalem Elektronenakzeptor (beziehungsweise reduzierten Produkten)
Organische Substanz	O_2	Organische Substanz	Chemoorganoheterotroph	Aerobe Atmung
Organische Substanz	NO_3^-	Organische Substanz	Chemoorganoheterotroph	Nitratatmung (Denitrifikation)
Organische Substanz	SO_4^{2-}	Organische Substanz	Chemoorganoheterotroph	Sulfatatmung
NH_4^+	O_2	CO_2	Chemolithoautotroph (Nitrifikation)	Aerobe Atmung
H_2S	O_2	CO_2	Chemolithoautotroph (Sulfidoxidation)	Aerobe Atmung
H_2	SO_4^{2-}	CO_2	Chemolithoautotroph	Sulfatatmung
H_2	CO_2	CO_2	Chemolithoautotroph	Carbonatatmung (Methanogenese, Acetogenese)
CH_4, CH_3OH	O_2	CH_4, CH_3OH	Chemolithotroph (Methylotrophie)	Aerobe Atmung
Organische Substanz	Organisches Intermediat	Organische Substanz	Chemoheterotroph	Gärung

Die genannten Kennzeichnungen der Energiegewinnung und der Kohlenstoffquelle werden häufig kombiniert. So bauen zum Beispiel viele chemolithotrophe Bakterien ihre Zellsubstanz aus CO_2 auf, und man bezeichnet sie deshalb als **chemolithoautotroph**.

Phototrophe Bakterien sind, wie oben angedeutet, auch autotrophe Organismen, da CO_2 über unterschiedliche Fixierungswege, die Dunkelreaktion, (siehe später ► Abschn. 4.3) assimiliert werden kann.

Einige Phototrophe nutzen Licht als Energiequelle, können aber CO_2 nicht in Zucker umwandeln. Diese **Photoheterotrophen** brauchen organische Substanzen wie Alkohole, Fettsäuren, andere organische Säuren und Kohlenhydrate als Kohlenstoffquelle. Sie sind anoxisch. Grüne Nicht-Schwefelbakterien wie *Chloroflexus* und Nicht-Schwefelpurpurbakterien wie *Rhodopseudomonas* sind Photoheterotrophe.

Ohne Licht gibt es fakultative Chemotrophie bei Cyano-, Schwefelpurpur-, Nicht-Schwefelpurpur- und Grünen Nicht-Schwefelbakterien.

Die Halobakterien und aeroben anoxygenen phototrophen Bakterien können kein CO_2 fixieren und sind also heterotroph.

Die obige Darstellung zeigt zum einen, dass Mikroorganismen über die Oxidation organischer Verbindungen zu CO_2 und die Fixierung von CO_2 in organischen Verbindungen eine große Bedeutung für den Kohlenstoffkreislauf haben. Sie zeigt zum anderen, dass auch andere Elemente wie Stickstoff, Schwefel oder Eisen je nach Umweltbedingungen von manchen Mikroorganismen oxidiert und von anderen Mikroorganismen reduziert werden können. Hierauf beruht die herausragende Bedeutung der Mikroorganismen in den Stoffkreisläufen, die in den folgenden Kapiteln näher betrachtet werden sollen.

? Testen Sie Ihr Wissen

Befindet sich ein gut ernährtes Lebewesen im thermodynamischen Gleichgewicht? Begründen Sie Ihre Meinung!

Nennen Sie mindestens sechs verschiedene anorganische Elektronendonoren sowie die hieraus in Stoffwechselprozessen gebildeten Produkte!

Nennen Sie verschiedene mögliche Elektronenakzeptoren sowie die hieraus entstehenden Produkte und ordnen Sie diese Paare danach, in welchem Ausmaß sie eine Energiegewinnung mit organischen Verbindungen als Elektronendonor ermöglichen!

Wenn an einem Standort mit hohen Konzentrationen an organischem Kohlenstoff kein Sauerstoff vorkommt, wohl aber ernsthafte Konzentrationen an Sulfat, Fe(III), Nitrat und CO_2, mit welchen dominierenden Stoffwechselprozessen ist dann zu rechnen? Warum?

Kennzeichnen und benennen Sie die beiden grundlegend verschiedenen Möglichkeiten der ATP-Synthese!

Was unterscheidet eine Gärung von anderen, unter anaeroben Bedingungen auftretenden Stoffwechseltypen?

Kennzeichnen Sie folgende Stoffwechseltypen und geben Sie die wahrscheinlichen Stoffwechselprodukte an. a) Elektronendonor und C-Quelle Acetat, Elektronenakzeptor NO_3^-. b) Elektronendonor NO_2^-, C-Quelle CO_2, Elektronenakzeptor O_2. c) Elektronendonor H_2, C-Quelle CO_2, Elektronenakzeptor NO_3^-. d) Elektronendonor und C-Quelle Fructose, Elektronenakzeptor SO_4^{2-}.

Literatur

Animation ATPase: ► www.sigmaaldrich.com/Area_of_Interest/Life_Science/Metabolomics/Key_Resources/Metabolic_Pathways/ATP_Synthase.html.

Berg, J. M., Tymoczko, J. L., Stryer, L. 2007. Biochemie. 6. Auflage. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg.

Boyer, P. D. 1993. The binding change mechanism for ATP synthase – some probabilities and possibilities. Biochim. Biophys. Acta 1140:215–250.

Boyer, P. D. 1997. The ATP synthase – a splendid molecular machine. Annu. Rev. Biochem. 66:717–749.

Fuchs, G. (Hrsg.) 2006. Allgemeine Mikrobiologie. 8. Auflage. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.

Kato-Yamada Y., Noji, H., Yasuda, R., Kinosita, K. Jr., Yoshida, M. 1998. Direct observation of the rotation of epsilon subunit in F1-ATPase. J. Biol. Chem. 273:19375–19377.

Lengeler, J. W., Drews, G., Schlegel, H. G. (Hrsg.) 1999. Biology of the prokaryotes. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.

Madigan, M. T., Martinko, J. M., Dunlap, P. V., Clark, D. P. 2009. Brock-Biology of Microorganisms. 12th International Edition. Pearson Benjamin Cummings, San Francisco, CA94111.

Noji, H., Hasler, K., Junge, W., Kinosita, K. Jr., Yoshida, M., Engelbrecht, S. 1999. Rotation of *Escherichia coli* F(1)-ATPase. Biochem. Biophys. Res. Commun. 260:597–599.

Noji, H., Yasuda R, Yoshida M, Kinosita K Jr. 1997. Direct observation of the rotation of F1-ATPase. Nature 386:299–302.

Yurkov, V. V., Beatty, J. T. 1998. Aerobic anoxygenic phototrophic bacteria. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 62:695–724.

Kohlenstoffkreislauf

4.1 Entstehung der Erdatmosphäre und der fossilen Rohstoffe – 78

4.2 Stoffflüsse im Kohlenstoffkreislauf – 79

4.3 Autotrophe CO_2-Fixierung – 82
4.3.1 Calvin-Zyklus – 85
4.3.2 Reduktiver Citrat-Zyklus – 86
4.3.3 Reduktiver Acetyl-CoA-Weg (Acetogenese) – 88
4.3.4 CO_2-Fixierungszyklus in *Crenarchaeota* – 89
4.3.5 3-Hydroxypropionat-Bi-Zyklus – 91
4.3.6 Vergleich der Prozesse der CO_2-Fixierung – 93

4.4 Abbau von Naturstoffen – 93
4.4.1 Abbau von Kohlenhydraten – 93
4.4.2 Abbau von Proteinen – 102
4.4.3 Abbau von Fetten – 102
4.4.4 Abbau von pflanzlichen Substanzen/Lignin und anderen Naturstoffen/Humusentstehung – 104

4.5 Methankreislauf/methanogene Nahrungskette/ Methanotrophie – 117
4.5.1 Methanbildung – 117
4.5.2 Methanabbau – 124

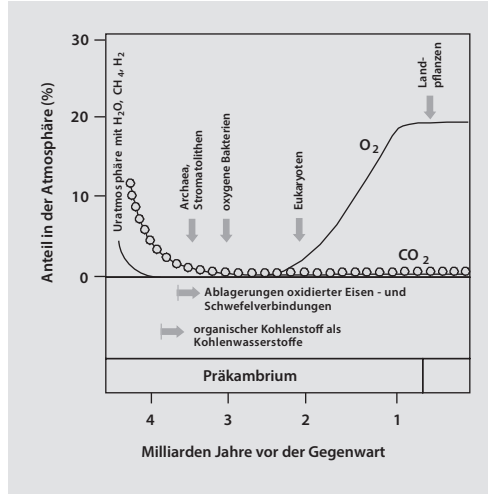
Literatur – 133

© Springer-Verlag GmbH Deutschland, ein Teil von Springer Nature 2020
W. Reineke und M. Schlömann, *Umweltmikrobiologie,* https://doi.org/10.1007/978-3-662-59655-5_4

4.1 Entstehung der Erdatmosphäre und der fossilen Rohstoffe

Die Zusammensetzung der heutigen Erdatmosphäre geht auf biologische Prozesse im Verlauf der Erdgeschichte zurück. Die Uratmosphäre enthielt vor vier Milliarden Jahren vor allem Wasser, CO_2 und reduzierte Verbindungen. Wahrscheinlich wurden CH_4, H_2 und H_2S durch die Vorfahren der Archaea, deren Entstehung vor etwa 3,8 Mrd. Jahren angenommen wird, assimiliert. Aus dieser anoxischen Frühphase sind erste Ablagerungen von organischem Kohlenstoff in Sedimenten nachgewiesen worden. Erste Stromatolithe wurden in 3,5 Mrd. Jahren alten präkambrischen Sedimenten (Warrawoona Gruppe, Australien) gefunden. Stromatolithe sind biogene Sedimentgesteine, die wahrscheinlich ähnlich wie bei den heutigen Bakterienmatten durch mikrobielle Aktivitäten aus Sediment bildenden Mineralien entstehen. Die Sedimente haben eine lamelläre Struktur.

Für die Evolution der oxygenen Photosynthese gibt es Beweise aus 3,5 Mrd. Jahre alten Eisenoxidablagerungen. Der durch eine biologische Photolyse gebildete Sauerstoff hat über Milliarden Jahre das durch Verwitterung vorliegende zweiwertige Eisen zu Fe_2O_3 oxidiert. Die Eisenoxide sind unlöslich und haben sich als gebänderter Eisenstein (Banded Iron Formations = BIFs) in Meeresbecken abgesetzt (siehe ► Abschn. 8.2.1 für alternative Hypothese der BIFs). Neben dem zweiwertigen Eisen wurden auch Sulfide zu Sulfaten oxidiert. Eine weitere Art der Sauerstoffbindung sind die „red beds", Rotsteinablagerungen auf den Urkontinenten. Erst nachdem die reduzierten Eisen- und Schwefelverbindungen oxidiert waren, wurde Sauerstoff an die Atmosphäre abgegeben. Dieser Prozess setzte vor etwa 2 Mrd. Jahren ein und führte, wie in ◘ Abb. 4.1 dargestellt ist, zur allmählichen Bildung unserer heutigen Atmosphäre. Wahrscheinlich sind nur 4 % des in der Evolution gebildeten Sauerstoffs in die Atmosphäre abgegeben worden, der größte



◘ **Abb. 4.1** Erdgeschichtliche Zeiträume der Entstehung der Erdatmosphäre und der fossilen Kohlenstoffablagerungen. Durch die Photosynthese wird H_2O gespalten, mit dem entstehenden Wasserstoff wird CO_2 zu organischen Substanzen reduziert. Der Sauerstoff reicherte sich allmählich in der Atmosphäre an, nachdem die Eisenverbindungen in den Meeren und auf dem Festland oxidiert waren. Die Pfeile zeigen den Beginn der jeweiligen Prozesse an

Teil liegt in mineralisch gebundener Form vor. Die Sauerstoffanreicherung führte zur Ausbildung des Ozonschildes gegen die UV-Strahlung.

Wie aus der Summengleichung der Photosynthese

$$n\ CO_2 + n\ H_2O \rightarrow [CH_2O]_n + n\ O_2$$

ersichtlich wird, ist die Sauerstoffbildung mit dem CO_2-Verbrauch und der Bildung organischer Substanz, vereinfacht als $[CH_2O]_n$ dargestellt, verbunden. Diese in einem stöchiometrischen Verhältnis zu Sauerstoff gebildeten organischen Substanzen haben sich in Sedimenten angereichert und sind durch geochemische Prozesse in vielfältiger Weise umgewandelt worden. Es sind Kohlenwasserstoffe, die meist in dispergierter Form vorliegen, sie werden als Kerogen bezeichnet. Das sind die Anfänge der Erdölbildung. Schon in archaischen Ablagerungen lassen sich Kohlenwasserstoffe mit verzweigten Ketten nachweisen, die wahrscheinlich auf die

Isoprenoidstruktur der Zellmembran der Archaea zurückgehen.

Höher organisierte und strukturierte eukaryotische Mikroorganismen entstanden vor etwa zwei Milliarden Jahren. Sie entwickelten einen effektiven Energiewechsel in Form der Atmung und gleichzeitig Mechanismen, das oxidative Agens Sauerstoff zu entgiften. Nach der Endosymbiontentheorie gehen die Organellen der Eukaryotenzelle auf phylogenetische Vorläufer der Prokaryoten zurück, die Chloroplasten auf Cyanobakterien und die Mitochondrien auf heterotrophe, atmende Bakterien. Die Eukaryotenzelle war das „Ausgangsmaterial" für die Evolution der Artenvielfalt, die vor 700 Mio. Jahren, beim Übergang vom Präkambrium zum Kambrium, einsetzte.

Erdgeschichtliche Entwicklung, organismische Evolution und Bildung fossiler Rohstoffe sind eng miteinander verbunden. Die Erdöl- und Erdgaslager sind aus marinen Mikroorganismen, vor allem Bakterien und Algen, entstanden. Die abgestorbene Biomasse setzte sich als eine Art von Faulschlamm (Sapropel) ab, in dem aus Sauerstoffmangel keine Mineralisierung der organischen Stoffe stattfand. Die Bildung der Stein- und Braunkohlenlagerstätten aus der Landvegetation des Carbons und Tertiärs durch Prozesse, die wir heute bei der Torfbildung beobachten können, ist gut bekannt. Alle diese fossilen Rohstoffe sind Produkte der vor Milliarden Jahren einsetzenden Photosynthese. Durch diesen Prozess wurden zwei für unsere Existenz entscheidende Werte geschaffen, die Sauerstoff enthaltende Atmosphäre und die fossilen Energieträger. Letztere sind über Jahrmillionen gespeicherte Sonnenenergie. Durch die Photosynthese wurde das CO_2 zu energiereichen Verbindungen reduziert und festgelegt.

In den erdgeschichtlichen Zeiträumen der biogeochemischen Bildung fossiler Rohstoffe überwog bei weitem die Produktion den Verbrauch, dadurch kam es zu dem hohen Nettogewinn an Biomasse. In der Gegenwart haben wir ein sehr ausgewogenes und empfindliches Gleichgewicht zwischen Primärproduktion und Abbau, Photosynthese und Atmungs- sowie Mineralisationsprozessen, das erhalten werden muss.

4.2 Stoffflüsse im Kohlenstoffkreislauf

Die Photosynthese und die Chemosynthese (CO_2-Fixierung durch Chemolithotrophe) stellen die einzigen bedeutenden Wege dar, um neuen organischen Kohlenstoff auf der Erde zu synthetisieren.

Phototrophe und **chemolithotrophe Organismen** bilden daher die Grundlage des Kohlenstoffkreislaufes. Phototrophe Organismen kommen in der Natur fast ausschließlich in Biotopen vor, wo Licht verfügbar ist. **Oxygene phototrophe Organismen** können in zwei große Gruppen eingeteilt werden: höhere Pflanzen und Mikroorganismen. Höhere Pflanzen sind die dominanten phototrophen Organismen in terrestrischen Biotopen, während phototrophe Mikroorganismen die vorherrschenden Photosynthetisierer in aquatischen Biotopen sind. **Anoxygene phototrophe Organismen** sind weitere aquatische Autotrophe. Chemolithoautotrophie findet man unter aeroben Bedingungen zum Beispiel bei den **Nitrifizierern** oder **Schwefeloxidierern,** aber auch in Abwesenheit von Sauerstoff zum Beispiel bei den **Methanogenen** und **Acetogenen.**

Der Redoxzyklus für Kohlenstoff ist in ◘ Abb. 4.2 dargestellt. Der gesamte Kohlenstoffkreislauf basiert auf einem positiven Nettogleichgewicht der Rate der Photosynthese gegenüber der der Atmung, die wiederum zur Bildung von CO_2 führt.

Photosynthetisch fixierter Kohlenstoff wird mit der Zeit von verschiedenen Mikroorganismen abgebaut, im Wesentlichen zu zwei Oxidationszuständen: Kohlendioxid (CO_2) und Methan (CH_4). Diese beiden gasförmigen Produkte werden durch die Aktivität von verschiedenen Chemoorganotrophen durch aerobe Atmung, anaerobe

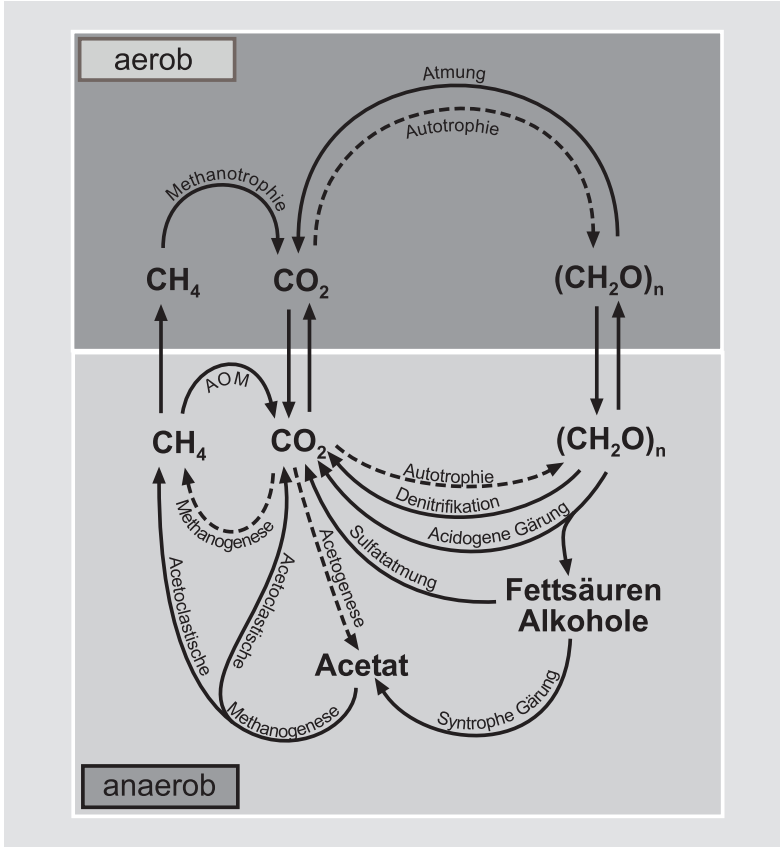


Abb. 4.2 Der Kohlenstoffkreislauf. $(CH_2O)_n$ steht für Kohlenhydrate (Zellmaterial). Zum CO_2 führende Wege sind mit durchgezogenen Pfeilen gezeigt, vom CO_2 wegführende wie Fixierungsreaktionen sind mit unterbrochenen dargestellt

Atmung (dissimilatorische Denitrifikation) oder Gärung (CO_2) oder Methanogenese (CH_4) gebildet.

Methan, das in anoxischen Biotopen produziert wird, ist nahezu unlöslich (35 mL in 1 L Wasser bei 17 °C) und wird leicht in oxische Umgebungen transportiert, wo es von Methanotrophen zu CO_2 oxidiert wird. Der gesamte organische Kohlenstoff kehrt schließlich zu CO_2 zurück, von wo aus der autotrophe Stoffwechsel des Kohlenstoffkreislaufes erneut beginnt.

Das Gleichgewicht zwischen den oxidativen und reduktiven Anteilen des Kohlenstoffkreislaufes ist sehr wichtig; die Stoffwechselprodukte einiger Organismen bilden die Substrate für andere. Daher muss der Kreislauf im Gleichgewicht bleiben, wenn er so weitergehen soll, wie er viele Milliarden Jahre lang gelaufen ist. Was den Abbau angeht, so übertrifft die CO_2-Freisetzung durch mikrobielle Aktivitäten bei weitem die durch Eukaryoten, und zwar besonders in anoxischen Umgebungen.

Tab. 4.1 Prozesse im Kohlenstoffkreislauf

Prozess mit Funktion	Organismen
Autotrophe CO_2-Fixierung [$CO_2 \rightarrow (CH_2O)_n$] Aerob: phototroph Chemolithotroph Anaerob: phototroph Chemolithotroph [H_2 als Elektronendonor]	Pflanzen, Algen, Cyanobakterien Nitrifizierer, *Thiobacillus* Schwefelbakterien: *Chromatiaceae, Chlorobiaceae* Acetogene, Methanogene, Sulfidogene
Atmung [$(CH_2O)_n \rightarrow CO_2$]	Heterotrophe Organismen
Denitrifizierer [$(CH_2O)_n \rightarrow CO_2$] Nitratatmung, dissimilatorische Nitrat-Reduktion	*Pseudomonas, Paracoccus*
Acidogene Gärung [$(CH_2O)_n \rightarrow$ Fettsäuren, CO_2]	*Enterobacteriaceae, Clostridium,* Propionibakterien
Sulfidogene [Fettsäuren $\rightarrow CO_2$] vollständige Oxidation	*Desulfobacter, Desulfobacterium, Desulfococcus, Desulfonema*
Syntrophe Gärer [Fettsäuren → Acetat] sekundäre Gärer	*Syntrophomonas wolfei, Syntrophobacter* sp.
Sulfidogene [Fettsäuren → Acetat] unvollständige Oxidation	*Desulfovibrio, Desulfomicrobium, Desulfomaculum, Desulfobulus*
Carbonatatmung (CO_2 → Acetat) CO_2 als terminaler Elektronenakzeptor, homoacetogene Bakterien	*Clostridium thermoaceticum, Acetobacterium woodii*
Acetoclastische Methanogene [Acetat $\rightarrow CO_2 + CH_4$]	*Methanosarcina, Methanotrix*
Carbonat-Atmung [$CO_2 \rightarrow CH_4$] CO_2 als terminaler Elektronenakzeptor	Methanogene: *Methanococcus, Methanomicrobium, Methanospirillum, Methanothermus*
Methanotrophe [$CH_4 \rightarrow CO_2$] Kohlenstoff- und Energiequelle: aerob	*Methylomonas, Methylobacter, Methylococcus, Methylosinus, Methylocystis,* einige Hefen
Methanotrophe [$CH_4 \rightarrow CO_2$] anaerob: AOM	Syntrophie zwischen anaeroben Methanoxidierern und sulfidogenen Organismen

Allgemeines zur autotrophen CO_2-Fixierung

Die Assimilation von CO_2 (Oxidationzahl von +4) zu zellulärem Kohlenstoff (Durchschnittsoxidationszahl von 0, wie in Kohlenhydraten) braucht 4 Reduktionsäquivalente.
Auch eine Energiezufuhr wird für die reduktive Umwandlung von CO_2 in Zellkohlenstoff benötigt. Geliefert wird diese durch die Hydrolyse von ATP.
Sowohl anaerobe als auch aerobe autotrophe Fixierungswege haben sich entwickelt.
Während Aerobier gewöhnlich auf NAD(P)H als Reduktionsmittel zurückgreifen, verwenden anaerobe Organismen für die CO_2-Fixierung oft Elektrondonoren mit einem niedrigen Potenzial wie reduziertes Ferredoxin (Ferredoxin, $E^{0'} \approx -400$ mV; NADPH, $E^{0'} = -320$ mV).
Da reduziertes Ferredoxin mehr Energie beinhaltet als NADPH, benötigen aerobe Fixierungswege gewöhnlich mehr ATP-Äquivalente als die anaeroben.
Carboxylierende Enzyme hängen entweder CO_2 oder HCO_3^- an organische Akzeptormoleküle, die dann in den nachfolgenden Schritten der Aufbauwege wieder bereitgestellt werden müssen.
Diese anorganischen Kohlenstoffspezies stehen in einem pH-abhängigen Gleichgewicht zueinander in Beziehung:

$$CO_2 + H_2O \rightleftharpoons H_2CO_3 \rightleftharpoons H^+ + HCO_3^- \rightleftharpoons 2H^+ + CO_3^{2-},$$

$$\text{mit einem } pK_a\left[HCO_3^-/CO_2\right] \text{ von } 6{,}3.$$

Die Konzentration von CO_2 in Wasser im Äquilibrium mit Luft beträgt 0,012 mM bei

pH 7,4 und 20 °C. Hingegen liegt die von Bicarbonat bei 0,26 mM im Meerwasser, das einen pH-Wert zwischen 7,5 und 8,4 hat. Folglich ist die Bicarbonatkonzentration unter leicht alkalischen Bedingungen in marinem Wasser viel höher als die Konzentration des gelösten CO_2. Die Verwendung von Bicarbonat anstelle von CO_2 ist also ein Vorteil.
Die Produkte der autotrophen Aufbauwege sind zentrale Metabolite wie Acetyl-CoA, Succinyl-CoA, Pyruvat, Phosphoenolpyruvat, Malat, Oxalacetat, aus denen Kohlenhydrate, Proteine, Nucleinsäuren und Lipide aufgebaut werden.
Alle anaeroben autotrophen Fixierungswege führen zum Acetyl-CoA. Die Biosynthese von C_3 bis C_6-Verbindungen bedarf deshalb ein „Anheben" ausgehend vom Acetyl-CoA. Alle drei anaeroben Wege haben den identischen Abschnitt der reduktiven Umwandlung von Acetyl-CoA zum Succinyl-CoA.

4.3 Autotrophe CO_2-Fixierung

Kohlendioxid ist eine reichlich vorhandene Kohlenstoffquelle, die zu Zellmaterial der Stufe $(CH_2O)_n$ reduziert werden muss. Der Prozess benötigt Reduktionskraft und Energie.

Organismen, die CO_2 als primäre Kohlenstoffquelle brauchen, sind **Autotrophe** und sie dienen als Primärproduzenten in Ökosystemen. Die autotrophe CO_2-Fixierung ermöglicht es den **phototrophen** und **chemolithotrophen Organismen**, unabhängig von einer von außen zugeführten organischen Kohlenstoffquelle zu leben.

Autotrophe Kohlendioxidfixierung in Eukaryoten erfolgt einzig durch den **Calvin-Benson-Bassham-Zyklus (CBB-Zyklus)**. Er ist auch der Hauptmechanismus mit dem viele Prokaryoten CO_2 in Biomasse fixieren. Obwohl die hauptsächliche globale Kohlenstofffixierung über diesen Zyklus stattfindet, sind gegenwärtig fünf weitere Wege der Kohlenstofffixierung bekannt. Diese sind

1. der **reduktive** oder **umgekehrte Citrat-Zyklus** oder **reduktive Tricarbonsäure-Zyklus (rTCA-Zyklus)**
2. der **reduktive Acetyl-CoA-Weg** oder die **Acetogenese** oder der **Wood-Ljungdahl-Weg (WL-Weg)**
3. der **3-Hydroxypropionat-/4-Hydroxybutyrat-Zyklus (3-HP-/4-HB-Zyklus)**
4. der **Dicarboxylat-/4-Hydroxybutyrat-Zyklus (DC-/4-HB-Zyklus)** und
5. der **3-Hydroxypropionat-Bi-Zyklus (3-HP-Bi-Zyklus)**.

Die Tatsache, dass fünf alternative autotrophe Fixierungswege in Prokaryoten vorhanden sind, wird oft nicht beachtet. Diese eingeschränkte Sicht kann zu erheblichen Fehleinschätzungen in Modellen des globalen Kohlenstoffkreislaufes, bei Hypothesen zur Evolution von Metabolismen und Interpretationen von geologischen Daten führen.

Es wurde gefunden, dass der rTCA-Zyklus und der WL-Weg in sehr verschiedenen Gruppen von Mikroorganismen arbeiten (◘ Abb. 4.3). Der rTCA-Zyklus scheint auf Bakterien beschränkt zu sein und fungiert in *Aquificales, Chlorobiales, Epsilonproteobacteria, Nitrospirae* und einzelnen Stämmen anderer *Proteobacteria*-Gruppen.

Der WL-Weg, der in Bakterien (*Deltaproteobacteri*a, *Firmicutes, Planctomycete*s, *Spirochaeta*) wie auch in *Archaea* (*Euryarchaeot*a) abläuft, ist wahrscheinlich der älteste der Fixierungswege.

Die anderen Wege scheinen seltener vorzukommen. So arbeiten in *Chloroflexaceae* der 3-HP-Bi-Zyklus, während in *Crenarchaeota* die beiden 3-HP/4-HB- und DC/4-HB-Zyklen zu finden sind.

Die Verbreitung der sechs autotrophen Wege ist in ◘ Tab. 4.2 zusammengestellt.

Die sogenannten alternativen Kohlenstofffixierungswege leisten einen relevanten Beitrag zur Fixierung in einer Anzahl von ozeanischen Umgebungen. Besonders beachtenswert sind die an hydrothermalen Tiefseeausbruchkanälen, dem meso- und bathypelagischen Ozean sowie in Sauerstoff-Mangelzonen und Redoxschichten als auch im euxinischen Wasser.

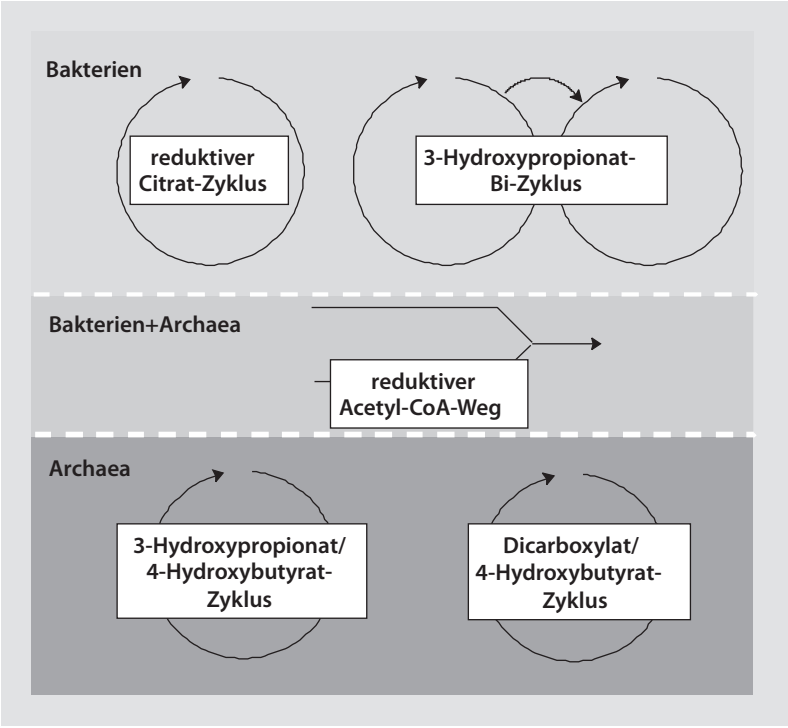


Abb. 4.3 Verbreitung der alternativen Wege der autotrophen CO_2-Fixierung in Archaea und Bakterien

Von besonderer Relevanz sind:

- der **rTCA-Zyklus,** welcher der hauptsächliche Kohlenstofffixierungsweg an Tiefseeausbruchkanälen zu sein scheint,
- der **3-HP/4-HB-Zyklus,** der sehr wahrscheinlich in nitrifizierenden *Crenarchaea* in den dunklen pelagischen Bereichen abläuft, und
- der **WL-Weg,** der in methanogenen *Archaea* und möglicherweise in Anammox-katalysierenden *Planctomycetes* arbeitet.

Der rTCA-Zyklus scheint der vorherrschende Weg in Habitaten zu sein, die durch Temperaturen zwischen 20 und 90 °C charakterisiert sind. Im Gegensatz dazu sind der CBB-Zyklus und andere Fixierungswege, wie der WL-Weg oder der DC/4-HB-Zyklus, die Hauptwege unterhalb von 20 °C und oberhalb von 90 °C. Der CBB-Zyklus läuft in einigen Thermophilen ab, aber niemals in Hyperthermophilen – die obere Temperaturgrenze scheint hier bei etwa 70 bis 75 °C zu liegen. Die Hitzeinstabilität einiger Intermediate des Zyklus, hauptsächlich von Glyceraldehyd-3-phosphat, ist eine Erklärung für diese obere Grenze.

An hydrothermalen Tiefseeausbruchkanälen gibt es eine deutliche Nischenbildung der Kohlenstofffixierungswege bezüglich der Temperatur. Diese spiegelt sich auch in der Gegenwart von Sauerstoff wider, da in Habitaten mit hoher Temperatur generell eine geringere Sauerstoffkonzentration als in solchen mit tiefer vorhanden ist.

Es ist anzumerken, dass bisher der reduktive Acetyl-CoA-Weg der einzige CO_2-Fixierungsweg ist, der sowohl bei Bakterien als auch den Archaea vorkommt.

Tab. 4.2 Die sechs Wege der autotrophen CO_2-Fixierung

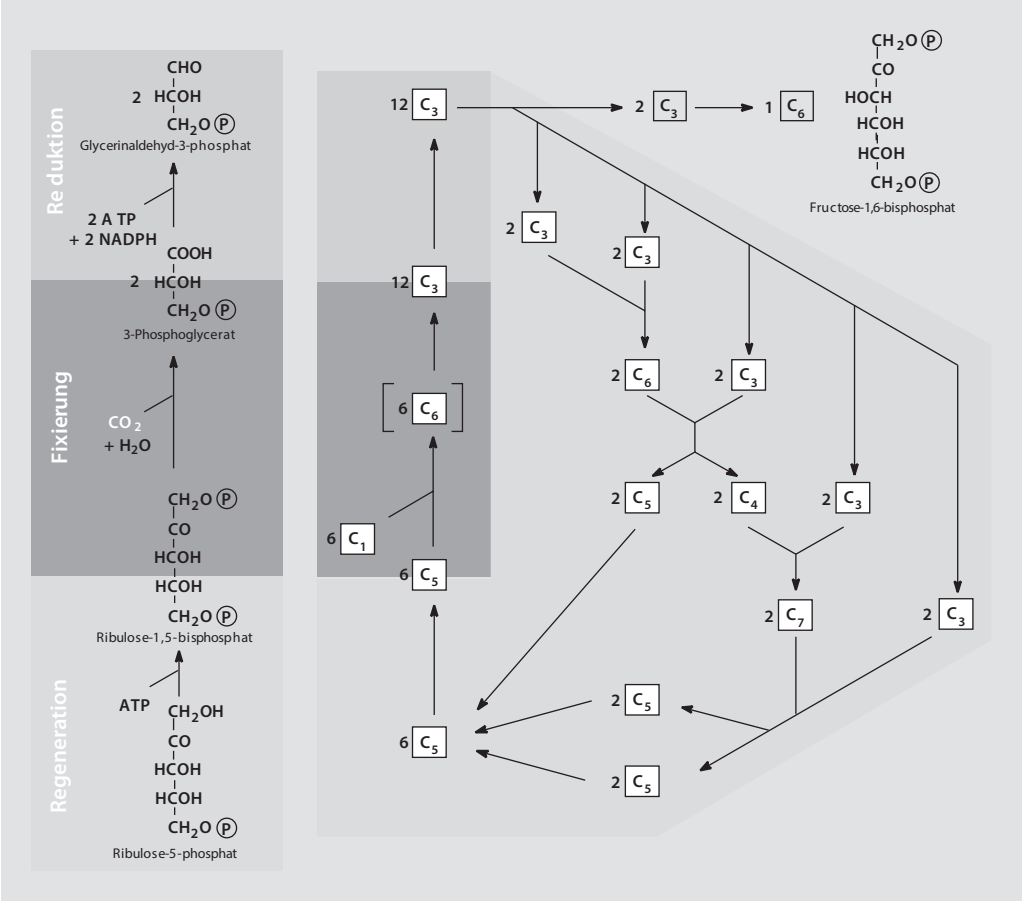
Weg	Organismengruppe	Repräsentative Organismen
Calvin-Zyklus	Höhere Pflanzen und Algen	Pflanzliche Chloroplasten *Anabaena cylindrica*
	Oxygene phototrophe Bakterien	
	Anoxygene phototrophe Bakterien	*Chromatium vinosum* *Rhodospirillum rubrum* *Rhodobacter sphaeroides*
	Chemolithoautotrophe Bakterien	Nitrifizierer, Schwefeloxidanten, Wasserstoff- und Carboxydobakterien, Eisenoxidierer *Thiobacillus ferrooxidans* *Cupriavidus necator*
Reduktiver Citrat-Zyklus	Grüne Schwefelbakterien	*Chlorobium limicola* *Chlorobium thiosulfatophilum*
	Thermophile Wasserstoffbakterien	*Hydrogenobacter thermophilus*
	Wenige sulfatreduzierende Bakterien	*Desulfobacter hydrogenophilus* *Aquifex pyrophilus*
Reduktiver Acetyl-CoA- Weg	Homoacetogene Gärer	*Clostridium thermoaceticum* *Acetobacterium woodii* *Sporomusa* sp.
	Meiste sulfatreduzierende Bakterien	*Desulfobacterium autotrophicum* *Desulfovibrio baarsii* *Archaeoglobus lithotrophicus*
	Methanogene	*Methanobacterium thermoautotrophicum* *Methanosarcina barkeri* *Methanococcus jannaschii*
	Denitrifizierer	*Ferroglobus placidus*
	Euryarchaeota, Planctomycetes, Spirochaetes	
3-Hydroxypropionat-/4-Hydroxybutyrat-Zyklus	*Sulfolobales*, marine *Crenarchaeota* Gruppe I	
		Sulfolobus metallicus
Dicarboxylat-/4-Hydroxybutyrat-Zyklus	*Desulfurococcales, Thermoproteales*	*Pyrolobus fumarii, Thermoproteus neutrophilus*
3-Hydroxypropionat-Bi-Zyklus	Grüne Nichtschwefelbakterien	*Chloroflexus aurantiacus*

4.3.1 Calvin-Zyklus

Der **Calvin-Zyklus (= reduktiver Pentosephosphat-Zyklus)** (◘ Abb. 4.4), der zuerst in den Grünalgen entdeckt wurde, ist bei vielen photolithotrophen und chemolithotrophen Bakterien vorhanden, wo er als Hauptmechanismus der Kohlenstoffassimilation dient. Der CBB-Zyklus arbeitet in Pflanzen, Algen, *Cyanobacteria,* und vielen aeroben oder fakultativ aeroben *Proteobacteria* welche zu den *alpha-*, *beta-* und *gamma*-Untergruppen gehören. Er wurde auch in *Sulfobacillus* spp., eisen- und schwefeloxidierenden Mitgliedern der *Firmicutes,* einigen *Mycobacteria* und Grünen Nicht-Schwefelbakterien des Genus *Oscillochloris* (Phylum *Chloroflexi*) gefunden.

Der Erfolg des CBB-Zyklus erklärt sich wahrscheinlich durch die enorme Robustheit seiner Enzyme gegenüber molekularem Sauerstoff.

Der Zyklus lässt sich in drei Phasen gliedern, die Fixierungs-, Reduktions- und Regenerationsphase. Er erfordert NAD(P)H und ATP sowie die beiden Schlüsselenzyme, **Ribulosebisphosphat-Carboxylase** (kurz RubisCO) und **Phosphoribulose-Kinase**.



◘ **Abb. 4.4** Der Calvin-Zyklus. Um die Bildung eines C_6-Körpers aus 6 CO_2-Molekülen deutlich zu machen, werden im Schema 6 Moleküle Ribulose-1,5-bisphosphat eingesetzt, die mit 6 CO_2-Molekülen 12 C_3-Körper ergeben. Hieraus wird ein C_6-Körper, das Fructose-1,6-bisphosphat, gebildet, während die restlichen 10 C_3-Körper wieder in 6 C_5-Körper umgewandelt werden

Die RubisCO ist das am häufigsten vorkommende Protein auf der Welt und kann bis zu 50 % des gesamten löslichen Proteins in Chloroplasten der C_3-Pflanzen oder in Bakterien, die diesen Zyklus benutzen, ausmachen. Diese Tatsache ist Konsequenz der bekannten katalytischen Ineffizienz der RubisCO: niedrige Affinität zum CO_2, niedrige katalytische Umsatzrate und eine verheerende Oxygenase-Seitenreaktion, die für die Photorespiration verantwortlich ist, sodass in einer sinnlosen Spaltung des Substrates das toxische Seitenprodukt Phosphoglycolat gebildet wird.

Der erste Schritt im Calvin-Zyklus wird also von der **Ribulosebisphosphat-Carboxylase** katalysiert. CO_2 wird an Ribulose-1,5-bisphosphat gebunden. Das Produkt dieser Reaktion zerfällt spontan zu zwei Molekülen 3-Phosphoglycerat. In einer Reaktion, die in Gegenrichtung zu der der Glykolyse (siehe ▶ Abschn. 4.4.1.2) läuft, wird 3-Phosphoglycerat durch die bereitgestellten Reduktionsäquivalente, NAD(P)H, unter Wasserabspaltung und ATP-Verbrauch reduziert, wodurch Glycerinaldehyd-3-phosphatentsteht.Glycerinaldehyd-3-phosphat ist ein Schlüsselzwischenprodukt der Glykolyse. Von da aus lässt sich Glucose durch die Umkehr der ersten Schritte der Glykolyse bilden, indem zuerst zwei Moleküle Triosephosphat in Fructose-1,6-bisphosphat umgewandelt werden.

Die CO_2-Fixierung ist im Wesentlichen mit der Bildung von Triosephosphat abgeschlossen, es bleibt die Regeneration des C_5-Akzeptormoleküls für die Fixierung des CO_2. In einer Folge von Umwandlungsreaktionen, bei denen jeweils phosphorylierte Zucker beteiligt sind, beziehungsweise als Intermediate auftauchen (zum Beispiel auch C_4 und C_7), werden aus 10 Triosephosphat (C_3) 6 Ribulose-5-phosphat (C_5) synthetisiert. Durch einen abschließenden Phosphorylierungsschritt entsteht schließlich wieder das Ribulose-1,5-bisphosphat. Die Phosphoribulose-Kinase ist ein weiteres Enzym, das nur im Calvin-Zyklus vorkommt.

Insgesamt sind zur Reduktion von 6 CO_2-Molekülen 12 NADPH nötig. Es werden 18 ATP verbraucht, 6 für die Phosphorylierung der 6 Ribulose-5-phosphatmoleküle und 12 während der Reduktionsphase, der Erzeugung der 12 Glycerinaldehyd-3-phosphate.

Die Bilanz für die Bildung eines Zuckers lautet:

$$6\,CO_2 + 18\,ATP + 12\,NAD(P)H \rightarrow$$
$$\text{Hexose-P} + 18\,ADP + 12\,NAD(P)^+ + 17\,P_i$$

P_i = anorganisches Phosphat.

Die Kohlendioxidfixierung über den Ribulosebisphosphat-Zyklus ist die heute in der Biosphäre wichtigste Reaktionsfolge zur Synthese von organischer Substanz aus CO_2. Sie ist jedoch nicht die einzige Form. Autotrophe Bakterien und Archaea verfügen über weitere Mechanismen der CO_2-Assimilation.

4.3.2 Reduktiver Citrat-Zyklus

Alternative Mechanismen für die autotrophe CO_2-Fixierung finden sich bei den Grünen Schwefelbakterien – *Chlorobiaceae* – und den Grünen Nicht-Schwefelbakterien. Bei *Chlorobium limicola* erfolgt die CO_2-Fixierung durch die Umkehr von Schritten des Citrat-Zyklus (siehe ▶ Abschn. 4.4.1.3), ein Weg, der als **reduktiver** oder **umgekehrter Citrat-Zyklus** bezeichnet wird (◘ Abb. 4.5) *Chlorobium* enthält zwei an Ferredoxin gekoppelte Enzyme, welche die reduktive Fixierung von CO_2 katalysieren. Es sind dies die Carboxylierung von Succinyl-CoA zu 2-Oxoglutarat und die Carboxylierung von Acetyl-CoA zu Pyruvat. Eine weitere reduktive Carboxylierung von 2-Oxoglutarat findet statt.

Die meisten Reaktionen des umgekehrten Citrat-Zyklus werden von Enzymen katalysiert, die auch entgegen der normalen oxidativen Richtung des Zyklus arbeiten. Die *Chlorobiaceae* haben jedoch die Succinat-Dehydrogenase durch eine **Fumarat-Reduktase** ersetzt, eine **2-Oxoglutarat-Dehydrogenase-Ferredoxin-Oxidoreduktase (2-Oxoglutarat-Synthase)** gegen den normalen

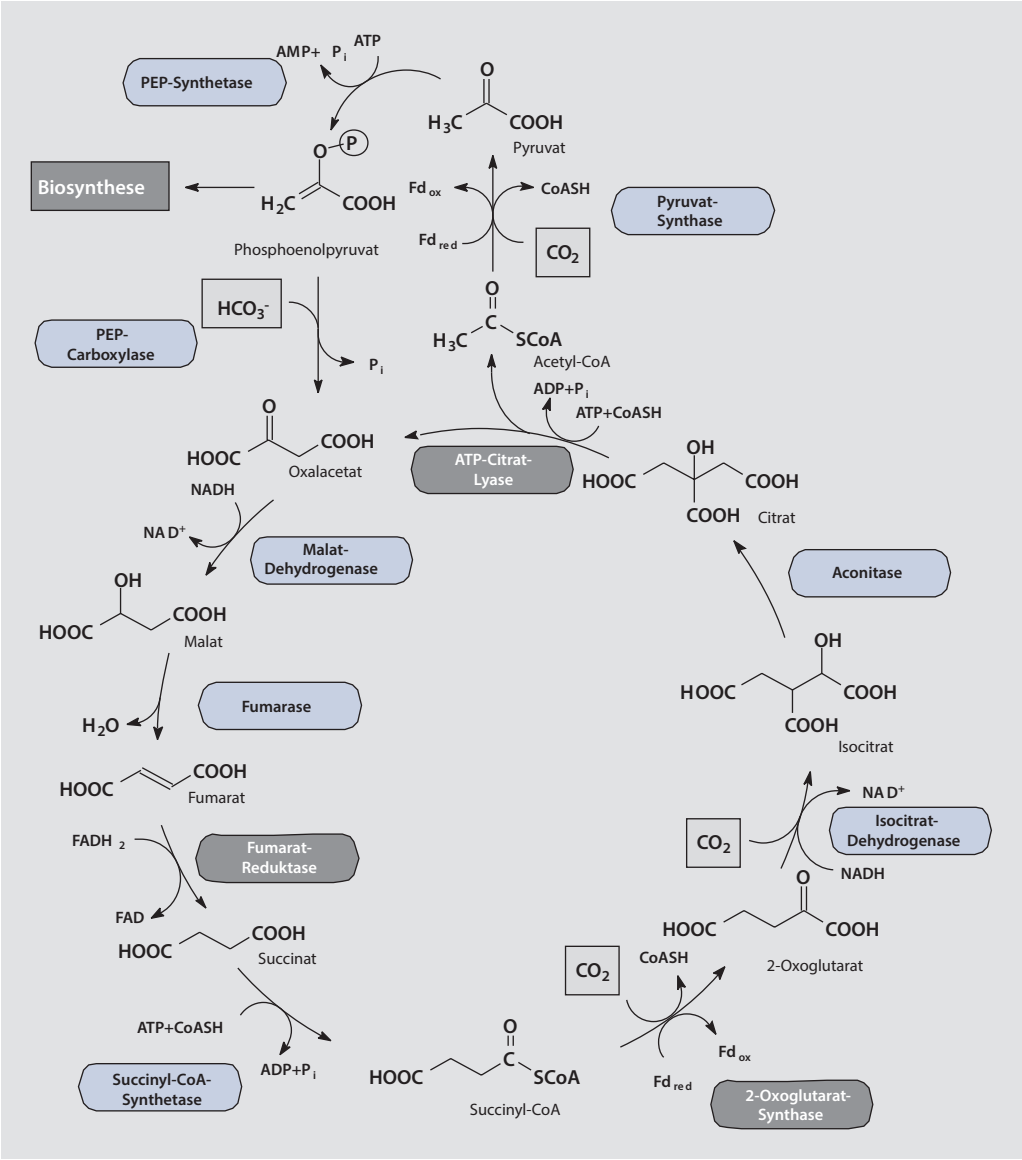


Abb. 4.5 Der reduktive oder rückläufige Citrat-Zyklus. Die besonderen Enzyme sind dunkelgrau angezeigt Sie wurden in *Hydrogenobacter thermophilus* untersucht

2-Oxoglutarat-Dehydrogenase-Komplex ausgetauscht und die irreversible Citrat-Synthase durch eine **ATP-Citrat-Lyase** ausgewechselt.

Seit der Entdeckung in den *Chlorobiaceae* ist dieser reduktive Tricarbonsäure-Zyklus auch in dem *delta*-Subphylum der *Proteobacteria* – *Desulfobacter hydrogenophilus* –, in microaerophilen Mitgliedern *Aquifex* und *Hydrogenobacter thermophilus* des Phylums *Aquificae,* einem sehr früh vom phylogenetischen Baum der Bakterien abzweigenden Autotrophen, und in anaeroben Mitgliedern der *Crenarchaeota* – *Sulfolobus* – gefunden worden.

Am intensivsten wurde der Zyklus in dem thermophilen aeroben, wasserstoffoxidierenden Bakterium *Hydrogenobacter thermophilus (Aquificae)* untersucht. Der eigentlich anaerobe Fixierungszyklus kann dort in Gegenwart von Sauerstoff ablaufen, da die Löslichkeit von Sauerstoff bei der optimalen Wachstumstemperatur von *Hydrogenobacter* (70 °C) stark reduziert ist (microaerophile Bedingungen).

4.3.3 Reduktiver Acetyl-CoA-Weg (Acetogenese)

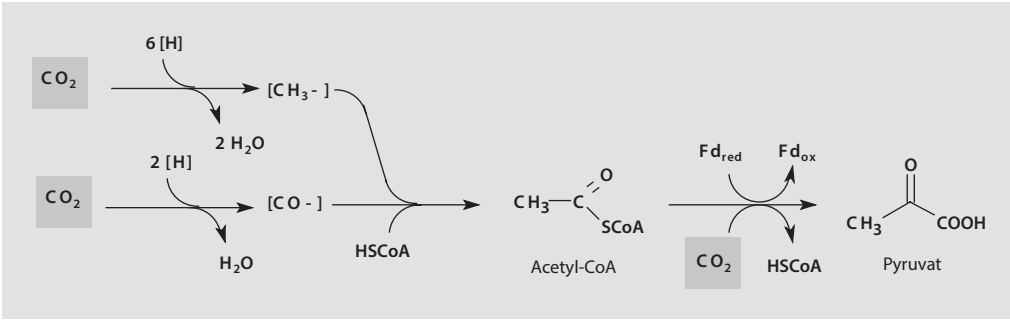
Dieser Fixierungsweg wird von Prokaryoten bevorzugt, die nahe am thermodynamischen Limit leben wie acetogene Bakterien und methanogene Archaea (◘ Abb. 4.6).

Durch chemolithotrophe Methanogene, Sulfidogene und Homoacetogene, die Wasserstoff oder Kohlenmonoxid als H-Donor nutzen, wird unter anaeroben Bedingungen der reduktive Acetyl-CoA-Weg als CO_2-Fixierungsweg verwendet. Dabei werden 2 CO_2 zu Acetyl-CoA umgesetzt. Der Stoffwechselweg ist weitgehend identisch mit der Acetatsynthese aus 2 CO_2, wie er im Energiestoffwechsel der homoacetogenen Bakterien katalysiert wird.

Im Gegensatz zu anderen autotrophen Wegen wie dem Calvin-Zyklus oder dem umgekehrten Citrat-Zyklus ist der Acetyl-CoA-Weg der CO_2-Fixierung kein Zyklus. Stattdessen erfolgt bei ihm die Reduktion von CO_2 auf zwei linearen Wegen – ein Molekül CO_2 wird zur Carbonylgruppe reduziert, das andere CO_2-Molekül zur Methylgruppe von Acetat – worauf sie am Ende zu Acetyl-CoA zusammengefügt werden. Ein Schlüsselenzym des Acetyl-CoA-Weges ist die Kohlenmonoxid-(CO)-Dehydrogenase. Das produzierte CO bildet die CO-Gruppe der Carboxylfunktion des Acetats. Die Methylgruppe des Acetats stammt aus der Reduktion von CO_2 durch eine Reihe von Reaktionen, an denen das Coenzym Tetrahydrofolat beteiligt ist. Die Methylgruppe, die sich bildet, wird vom Tetrahydrofolat auf ein Enzym übertragen, das Vitamin B12 als Cofaktor enthält. Im letzten Schritt des Weges wird die CH_3-Gruppe in der CO-Dehydrogenase mit CO verbunden und bildet Acetat. Der Reaktionsmechanismus erfordert die Verbindung der CH_3-Gruppe, die an ein Nickel-Atom des Enzyms gebunden ist, mit CO, das an ein Fe-Atom des Enzyms gebunden ist, zusammen mit Coenzym A, um das Endprodukt Acetyl-CoA zu bilden.

Die Energie aus Acetyl-CoA kann als ATP im Katabolismus konserviert oder für Biosynthesen genutzt werden.

Das Acetyl-CoA wird reduktiv zu Pyruvat carboxyliert, eine Reaktion, die einen Elektronendonor mit negativem Redoxpotenzial erfordert (zum Beispiel Ferredoxin ox/red, $E^{0'} = -390$ mV). Pyruvat kann aus thermodynamischen Gründen nicht direkt zu PEP umgesetzt werden. Die PEP-Synthese kostet 2 ATP. Von PEP ausgehend wird dann Triosephosphat über eine Umkehrung der Glykolyse gebildet.



◘ **Abb. 4.6** Schematische Darstellung des reduktiven Acetyl-CoA-Weges (sonstige Einzelheiten siehe bei Acetogenese ► Abschn. 4.5.1.1)

Der acetogene Weg ist für einen Großteil der in anoxischen Habitaten vorkommenden CO_2-Fixierung verantwortlich.

4.3.4 CO_2-Fixierungszyklus in *Crenarchaeota*

In *Crenarchaeota* gibt es zwei unterschiedliche autotrophe Kohlenstofffixierungszyklen. Den einen findet man in anaeroben, den anderen in aeroben Organismen. Beide Zyklen unterscheiden sich darin, wie sie an den zentralen Metabolismus gekoppelt sind. Sie haben jedoch den identischen Abschnitt der Umsetzung von Succinyl-CoA zu Acetyl-CoA.

4.3.4.1 Dicarboxylat-/4-Hydroxybutyrat-Zyklus

Der Dicarboxylat-/4-Hydroxybutyrat-Zyklus fungiert in den **anaeroben** autotrophen Mitgliedern der *Desulfurococcales* und *Thermoproteales,* aber auch in *Pyrolobus fumarii (Desulfurococcales),* welcher sich an einen fakultativ, aeroben Energiemetabolismus mit niedrigem Sauerstoffpartialdruck adaptiert hat.

Der Kreislauf kann in zwei Teile aufgeteilt werden (◘ Abb. 4.7a). Im ersten Teil werden Acetyl-CoA, ein CO_2 und ein Bicarbonat über C_4-Dicarbonsäuren in Succinyl-CoA umgewandelt. Im zweiten Teil wird Succinyl-CoA über 4-Hydroxybutyrat in zwei Moleküle Acetyl-CoA transfomiert. Ein Acetyl-CoA kann für die Biosynthese verwendet werden, während das andere als CO_2-Akzeptor in der nächsten Runde des Kreislaufes dient.

Der Kreislauf beginnt mit der reduktiven Carboxylierung von Acetyl-CoA zum Pyruvat und wird durch Pyruvat-Synthase katalysiert, einem Sauerstoff-empfindlichen Enzym, welches Ferredoxin als Elektronendonor benötigt. Dies erklärt, warum diese Reaktionen auf strikte Anaerobe oder allenfalls Microaerobe beschränkt sind.

Pyruvat wird in Phosphoenolpyruvat (PEP) umgewandelt, gefolgt von der Carboxylierung von PEP zu Oxalacetat, katalysiert durch eine Archaea-PEP-Carboxylase. Die Anbindung an den zentralen Kohlenstoffmetabolismus ist mit diesen Metaboliten hergestellt. Die nachfolgende Oxalacetatreduktion beinhaltet einen unvollständigen reduktiven Citrat-Zyklus der bei Succinyl-CoA anhält.

Succinyl-CoA wird weiter zu 4-Oxobutyrat und dann zu 4-Hydroxybutyrat reduziert. Die Verbindung wird letztlich in zwei Acetyl-CoA Moleküle gespalten, welches das Schlüsselenzym 4-Hydroxybutyryl-CoA-Dehydratase benötigt. Dies ist ein [4Fe-4 S] cluster- und FAD-enthaltendes Enzym, welches die Eliminierung von Wasser aus 4-Hydroxybutyryl-CoA bewerkstelligt. Das Produkt, Crotonyl-CoA, wird in zwei Moleküle Acetyl-CoA über normale β-Oxidationsreaktionen umgesetzt.

4.3.4.2 3-Hydroxypropionat-/4-Hydroxybutyrat-Zyklus

Dieser Kreislauf läuft in aeroben autotrophen *Crenarchaeota* der Ordnung *Sulfolobales* – *Metallosphaera sedula* – einschließlich dem strikt anaeroben *Stygiolobus azoricus,* welcher sich zum anaeroben Lebensstil zurück entwickelt hat. Diese Gruppe beinhaltet extrem Thermoacidophile aus Vulkanbereichen, die am besten bei pH ~2 und einer Temperatur von 60 bis 90 °C wachsen.

Die Enzyme des Kreislaufes sind sauerstofftolerant, wie es für ein Leben mit Sauerstoff notwendig ist. Eines der Schlüsselenzyme, 4-Hydroxybutyryl-CoA-Dehydratase ist ausreichend unempfindlich gegenüber Sauerstoff in *Sulfolobales,* um unter microoxischen oder sogar oxischen Bedingungen zu funktionieren. In den mesophilen marinen Gruppe I *Crenarchaeota,* wie *Cenarchaeum symbiosum* und *Nitrosopumilus maritimus* sowie verwandten, sehr verbreiteten marinen *Archaea* als auch entsprechenden Bodenspezies ist wahrscheinlich ein ähnlicher Kreislauf vorhanden.

In dem Kreislauf wird ein Molekül Acetyl-CoA aus zwei Molekülen Bicarbonat gebildet (◘ Abb. 4.7b). Das carboxylierende Enzym ist

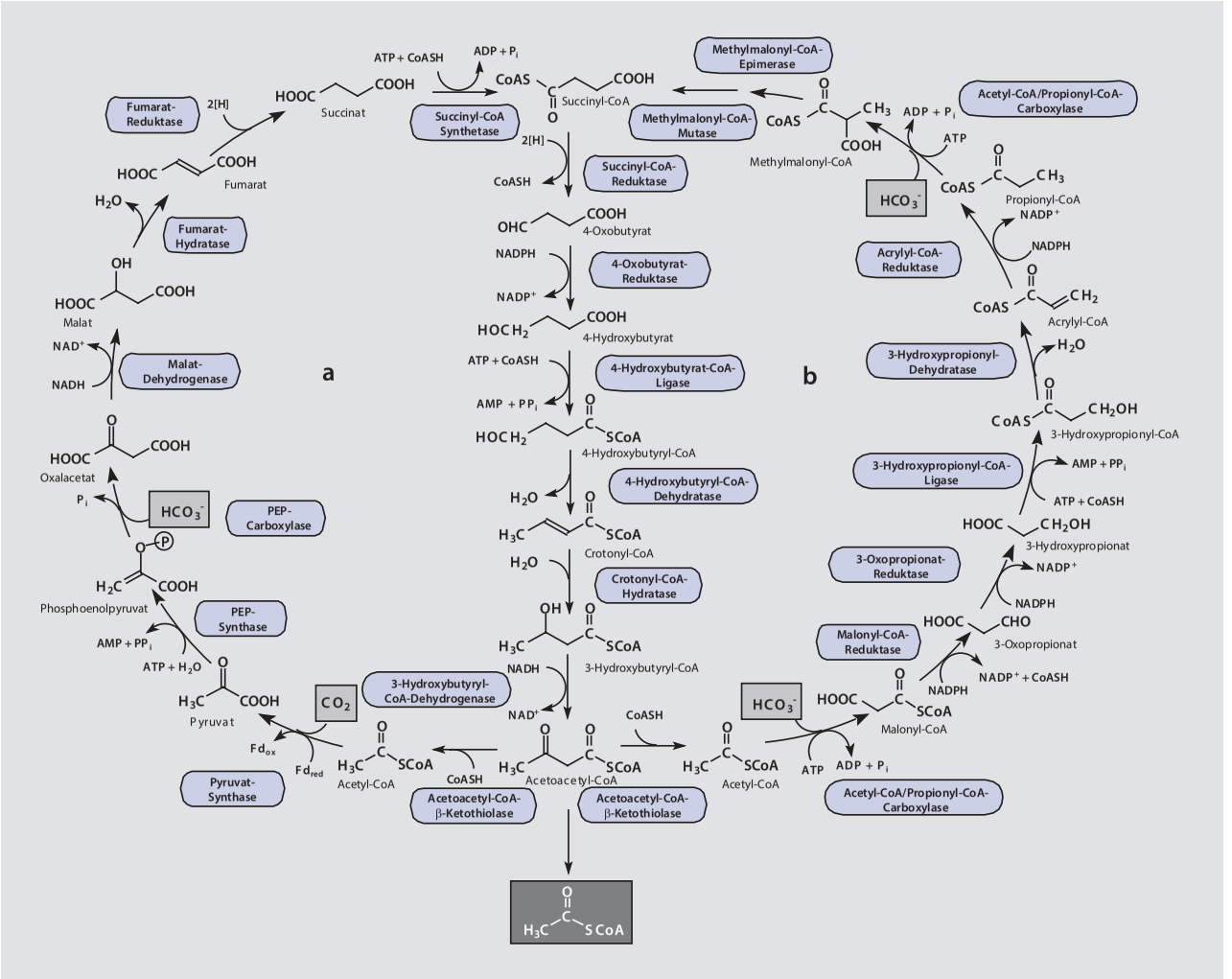


Abb. 4.7 **a** Dicarboxylat-/4-Hydroxybutyrat-Zyklus. Anaerober Stoffwechsel. Die Enzyme sind in *Thermoproteus neutrophilus* untersucht worden. **b** 3-Hydroxypropionat-/4-Hydroxybutyrat-Zyklus. Aerober Stoffwechsel. Die Enzyme sind in *Metallosphaera sedula* untersucht worden

eine bifunktionale biotin-abhängige Acetyl-CoA-/Propionyl-CoA-Carboxylase.

Der Zyklus kann in zwei Abschnitte aufgeteilt werden. Der erste Abschnitt wandelt Acetyl-CoA und zwei Bicarbonatmoleküle über 3-Hydroxypropionat in Succinyl-CoA um, wie es später auch für den 3-Hydroxypropionat-Bi-Zyklus beschrieben wird. Jedoch sind die Enzyme für die Synthese von Propionyl-CoA aus Malonyl-CoA nicht homolog, obwohl die Intermediate identisch sind. Der zweite Abschnitt ist augenscheinlich allgemein gebräuchlich in autotrophen *Crenarchaeota,* da er auch in den beiden Ordnungen *Desulfurococcales* und *Thermoproteales* auftritt, die den Dicarboxylat/4-Hydroxybutyrat-Zyklus für die autotrophe Kohlenstofffixierung benutzen. Er wandelt wiederum Succinyl-CoA über 4-Oxobutyrat, 4-Hydroxybutyrat, 4-Hydroxybutyryl-CoA, Crotonyl-CoA, 3-Hydroxyacetyl-CoA und Acetoacetyl-CoA in zwei Moleküle Acetyl-CoA um. Eine Drehung des Kreislaufes führt also zur Regeneration des CO_2-Akzeptors und bildet ein zusätzliches Molekül Acetyl-CoA aus zwei Molekülen Bicarbonat.

Acetyl-CoA und Succinyl-CoA sind mögliche Intermediate für den zentralen Kohlenstoffmetabolismus. Es hat sich gezeigt, dass Succinyl-CoA als Hauptvorstufe für zellulären Kohlenstoff dient. Acetyl-CoA plus weitere zwei Bicarbonatmoleküle werden deshalb durch eine weitere halbe Drehung des Kreislaufes zu Succinyl-CoA umgesetzt. Succinyl-CoA wird dann über oxidative Decarboxylierung von Malat durch Malic enzyme zu Pyruvat transformiert: Das heißt insgesamt **eineinhalb** Drehungen des Kreislaufes werden benötigt, um dieses Succinyl-CoA aus vier Molekülen Bicarbonat zu bilden.

Diese Strategie der Pyruvatbildung unterscheidet sich also von der der anaeroben Wege, in welcher Acetyl-CoA mit Ferredoxin reduktiv zu Pyruvat carboxyliert wird.

4.3.5 3-Hydroxypropionat-Bi-Zyklus

Das photrophe Grüne Nicht-Schwefelbakterium *Chloroflexus aurantiacus* und andere verwandte *Chloroflexi* benutzt den 3-Hydroxypropionat-Bi-Zyklus für die autotrophe CO_2-Fixierung. Der Kreislauf startet mit Acetyl-CoA. Normale ATP- und biotinabhängige Acetyl-CoA- und Propionyl-CoA-Carboxylasen arbeiten als Carboxylierungsenzyme.

Jeder Umlauf des ersten Kreislaufs ergibt ein Molekül Glyoxylat bei einer Fixierung von zwei Molekülen Bicarbonat (◘ Abb. 4.8). Acetyl-CoA wird durch Acetyl-CoA-Carboxylase zum Malonyl-CoA carboxyliert. Die Reduktion von Malonyl-CoA zu Propionyl-CoA wird allein durch zwei Enzyme, die bifunktionale Malonyl-CoA-Reduktase und die trifunktionale Propionyl-CoA-Synthase katalysiert. Propionyl-CoA wird zu Methylmalonyl-CoA carboxyliert, gefolgt von einer Isomerisierung zum Succinyl-CoA. Diese Reaktionen werden in vielen Organismen für die Propionatassimilation verwendet.

Es ist zu beachten, dass diese Schritte identisch zu denen aus dem ersten Teil des 3-Hydroxypropionat/4-Hydroxybutyrat-Zyklus sind. Succinyl-CoA wird für die Aktivierung des *(S)*-Malats durch CoA-Transfer gebraucht, welches Succinat und *(S)*-Malyl-CoA erzeugt. Das Succinat andererseits wird zu *(S)*-Malat oxidiert. Im letzten Schritt wird *(S)*-Malyl-CoA in Acetyl-CoA und Glyoxylat gespalten. Acetyl-CoA dient dann wieder als Startermolekül für eine weitere Runde. Da Glyoxylat keine direkte Vorstufe für die Bildung von Zellbausteinen ist, muss es in der Runde 2 (daher der Begriff Bi-Zyklus) erst metabolisiert werden. Dies geschieht indem es mit Propionyl-CoA kombiniert, dem Intermediat der Runde 1, und β-Methylmalyl-CoA gebildet wird. Dieser Kondensation folgt eine Reihe von C_5-Umwandlungsreaktionen,

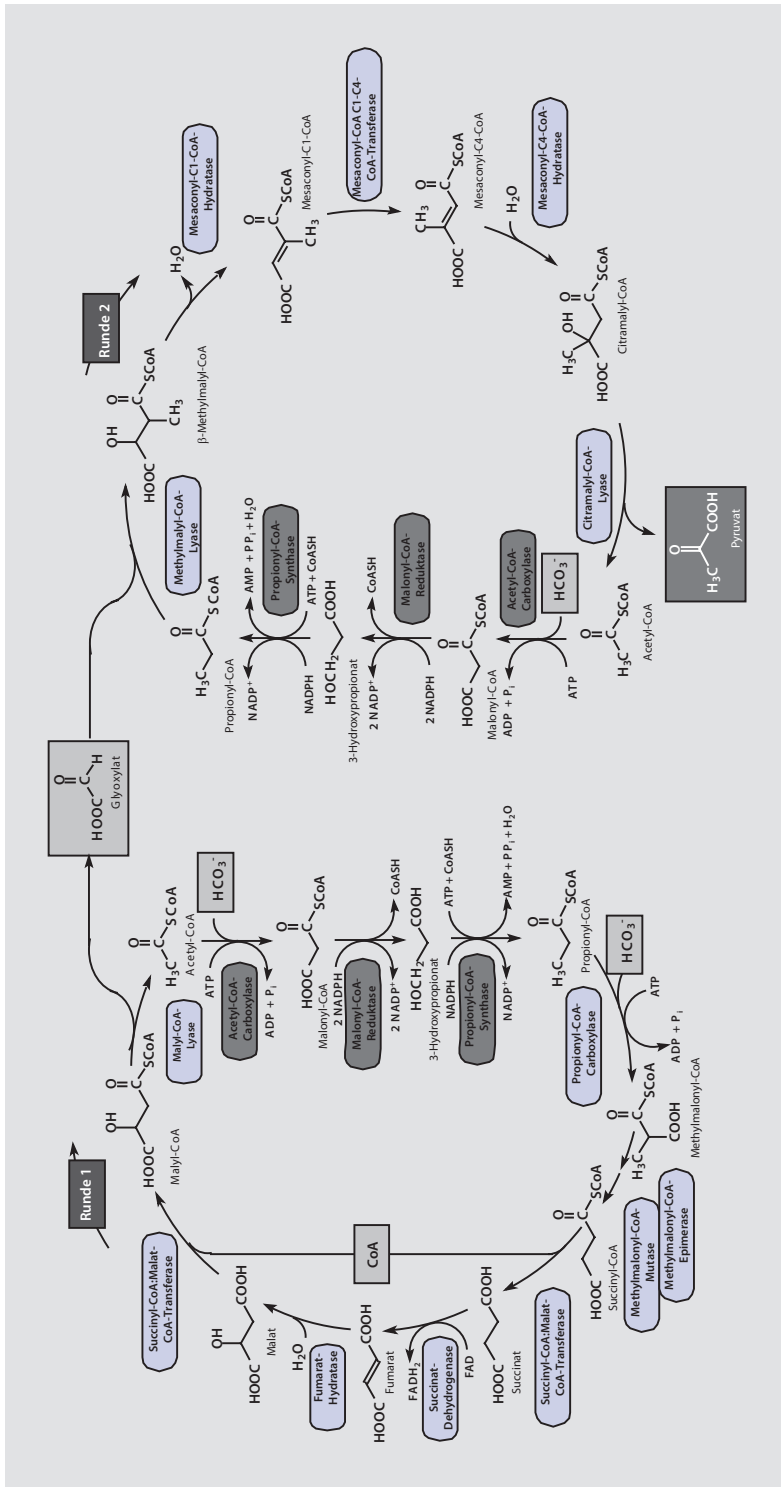


Abb. 4.8 3-Hydroxypropionat-Bi-Zyklus in *Chloroflexus aurantiacus*

sodass *(S)*-Citramalyl-CoA entsteht. *(S)*-Citramalyl-CoA wird dann zu Acetyl-CoA und Pyruvat durch eine trifunktionale Lyase gespalten, welche vorher *(S)*-Malyl-CoA gespalten und β-Methylmalyl-CoA gebildet hat.

Die verwirrende Disproportionierung von Glyoxylat und Propionyl-CoA zu Acetyl-CoA und Pyruvat wird ohne irgendeine Redoxreaktion auf eine elegante und ökonomische Weise gelöst und nur drei zusätzliche Enzyme werden benötigt. Der gesamte Bi-zyklische Kreislauf führt zur Bildung von Pyruvat aus drei Molekülen Bicarbonat. 19 Reaktionsschritte werden von nur 13 Enzymen durchgeführt.

4.3.6 Vergleich der Prozesse der CO_2-Fixierung

Thermodynamisch ist mehr Energie für die Reduktion von CO_2 zu organischem Kohlenstoff in aerober, oxidierter Umgebung notwendig im Vergleich zu den in anaeroben, reduzierten Habitaten.

Neben den thermodynamischen Gründen sind es auch biochemische, die erklären, warum aerobe Chemolithoautotrophe hauptsächlich den sauerstoff-toleranten, aber energiezehrenden CBB-Zyklus benutzen. In anaeroben, gewöhnlich energielimitierten Chemolithoautotrophen sind die energieeffizienteren, aber sauerstoffsensitiven Kohlenstoffixierungswege in Gebrauch.

Die anaeroben Prozesse arbeiten erheblich wirtschaftlicher als die aeroben: So erfordern die CO_2-Fixierungswege, die von den anaeroben oder microaerophilen Mikroorganismen benutzt werden (reduktiver Acetyl-CoA-Weg, rTCA-Zyklus, DC/4-HB-Zyklus) für die Synthese von 1 mol Pyruvat aus 3 mol CO_2 1–5 ATP. Die Wege, die unter völlig aeroben Bedingungen funktionieren (CBB-Zyklus, 3-HP-Bi-Zyklus, 3-HP-/4-HB-Zyklus) benötigen 7–9 ATP. Dies macht auch Sinn, da die Anaerobier durch das Fehlen der Atmungskette viel weniger Energie zur Verfügung haben. Aerobe Fixierungswege benötigen also gewöhnlich mehr ATP-Äquivalente als die anaeroben. Dafür ist aber in den Anaerobiern Ferredoxin als Reduktionsmittel notwendig. Reduziertes Ferredoxin beinhaltet mehr Energie als NADPH (◘ Tab. 4.3).

4.4 Abbau von Naturstoffen

Naturstoffe kommen in der Natur zum großen Teil als Polymere vor. In dieser Form sind sie zu groß, um einfach durch die Zellmembran aufgenommen zu werden. Zudem sind Prokaryoten nicht zur Phagocytose befähigt.

Die Makromoleküle werden außerhalb der Zelle durch **Exoenzyme** in kleinere Bausteine zerlegt, damit letztere dann in die Zelle aufgenommen werden können (◘ Abb. 4.9). Bei Bakterien handelt es sich hierbei in der Regel um hydrolytische Enzyme, bei Pilzen zum Teil auch um Oxidasen.

Die entstandenen Monomere gehen nach Aufnahme in verschiedene Bereiche des Intermediärstoffwechsels ein und werden mineralisiert. Die zentrale Stellung von Pyruvat und insbesondere Acetyl-CoA sowie des Citrat-Zyklus für den Stoffwechsel wird in ◘ Abb. 4.9 deutlich.

4.4.1 Abbau von Kohlenhydraten

Im letzten Kapitel wurde verdeutlicht, dass im mikrobiellen Stoffwechsel Energie aus Reduktions-Oxidations-Reaktionen in Form von ATP bzw. eines Protonengradienten für verschiedene Zellfunktionen konserviert wird. Auf die hierbei ablaufenden Reaktionen soll zunächst am Beispiel des aeroben Kohlenhydrat-Stoffwechsels genauer eingegangen werden.

Der Kohlenhydratstoffwechsel ist zum Ersten rein quantitativ von herausragender Bedeutung, da Cellulose in den Zellwänden der grünen Pflanzen sowie weitere polymere Kohlenhydrate (Hemicellulosen, Chitin, Stärke) der größte Vorrat des organisch gebundenen Kohlenstoffes darstellen. Zum Zweiten sind die

Tab. 4.3 Vergleich von Energieeinsatz für autotrophe CO_2-Fixierung

Weg der CO_2-Fixierung	Menge an ATP	Menge an Reduktionsmittel	Verhalten zum Sauerstoff
	Für die Synthese von 1 Pyruvat		
Calvin-Zyklus	7	5 NAD(P)H	Aerob
Reduktiver Citrat-Zyklus	2–3	2 NAD(P)H, 2 Ferredoxin, 1 NADH oder unbekannter Elektronen-Donor für Fumarat-Reduktase	Anaerob/microaerob
Reduktiver Acetyl-CoA-Weg	~1	NAD(P)H, Ferredoxin, $F_{420}H_2$	Strikt anaerob
Dicarboxylat-/4-Hydroxybutyrat-Zyklus	5	1–2 NAD(P)H, 2–3 Ferredoxin, unbekannter Elektronen-Donor für Fumarat-Reduktase	Anaerob/microaerob
3-Hydroxypropionat-/4-Hydroxybutyrat-Zyklus	9	6 NAD(P)H	Aerob
3-Hydroxypropionat-Bi-Zyklus	7	6 NAD(P)H	Aerob

am Kohlenhydratstoffwechsel beteiligten Wege konsequenterweise von vielen Bakterien bis zum Menschen sehr weit verbreitet. Zum Dritten stellt der Kohlenhydratstoffwechsel in vielen Organismen gewissermaßen das Zentrum des Stoffwechsels dar, in das viele andere Abbauwege münden und aus dem heraus die Bausteine der Biomasse wie Aminosäuren, Lipide oder DNA-Bausteine synthetisiert werden können (Abb. 4.9).

4.4.1.1 Glykolyse

Die bereits vorhandene oder aus Stärke oder Cellulose gebildete Glucose wird in mehreren Schritten umgesetzt, wobei zunächst die Bildung von C_3-Körpern aus dem C_6-Körper im Vordergrund steht. Ein bei aeroben wie anaeroben Organismen besonders weit verbreiteter biochemischer Weg für den Abbau der Glucose ist die **Glykolyse**, nach den wichtigsten Entdeckern auch **Embden-Meyerhof-Weg** oder nach dem charakteristischen Intermediat auch **Fructose-1,6-bisphosphat-Weg** genannt.

Die Glykolyse umfasst diejenigen Reaktionen, die die Glucose in zwei Moleküle Pyruvat (Brenztraubensäure) überführen. Die bei dieser Oxidation anfallenden Reduktionsäquivalente werden auf NAD^+ übertragen, sodass pro Glucosemolekül 2 Moleküle NADH gebildet werden. Insbesondere für die anaeroben Mikroorganismen ist von entscheidender Bedeutung, dass ein Teil der bei diesem Oxidationsprozess frei werdenden Energie in Form von 2 Molekülen ATP pro Molekül Glucose gespeichert werden kann. Für die Glykolyse ergibt sich als Summenreaktionsgleichung:

$$C_6H_{12}O_6 + 2\ NAD^+ + 2\ ADP + 2\ P_i \rightarrow 2\ C_3H_4O_3 + 2\ NADH + 2\ ATP + 2\ H_2O$$

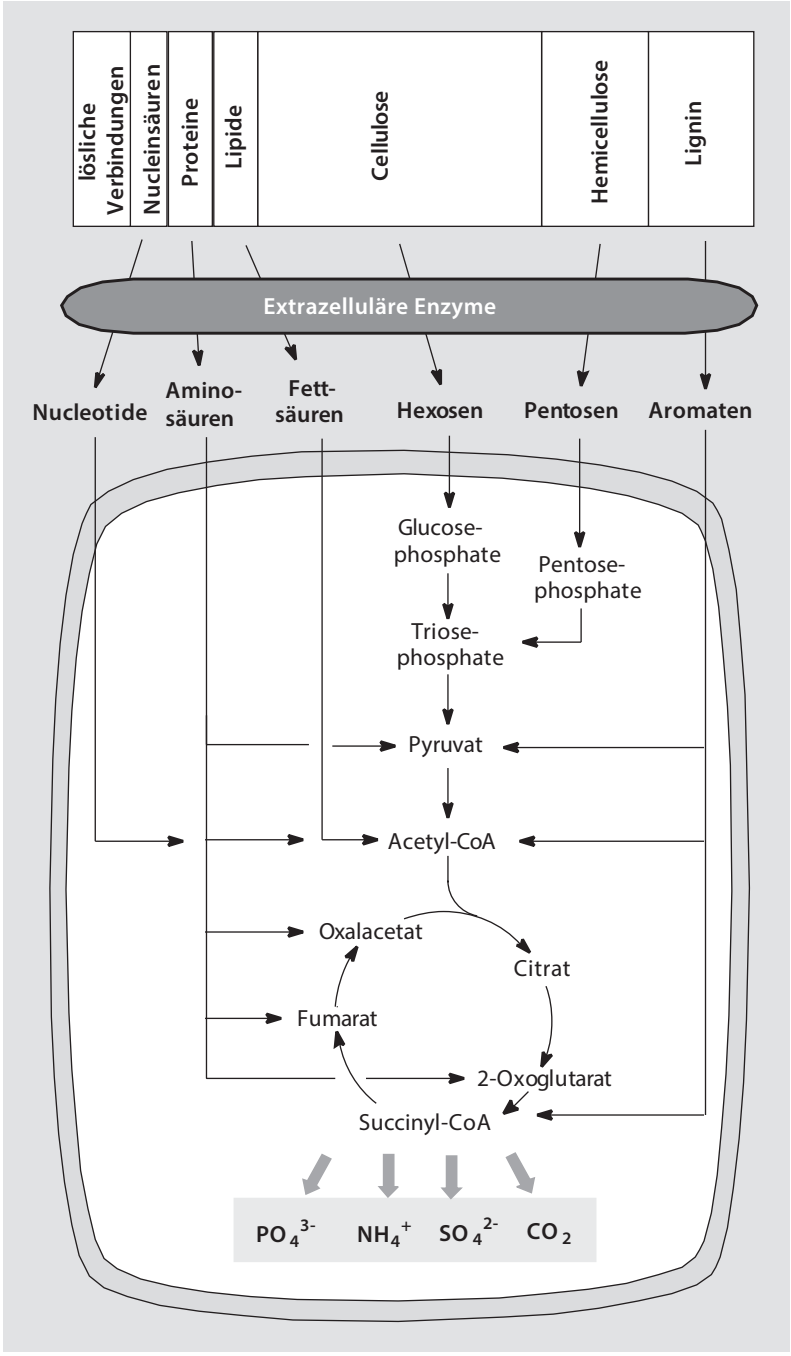


Abb. 4.9 Abbau pflanzlicher Biomasse zu Mineralstoffen

Das bei der Glykolyse gebildete ATP ist das Ergebnis einer **Substratstufen-Phosphorylierung**. Wie es möglich ist, im Verlauf von chemischen Umwandlungen Energie in Form von ATP zu konservieren wurde in ▶ Kap. 3 besprochen. Um die Reaktionen innerhalb der Glykolyse zu verstehen, ist es sinnvoll, sie in zwei große Abschnitte zu unterteilen (◘ Abb. 4.10).

Im **Abschnitt I,** der **Aktivierung,** wird zunächst einmal biochemische Energie eingesetzt, also ATP verbraucht, und es findet noch keine Oxidation statt (◘ Abb. 4.10). Glucose wird mit ATP phosphoryliert und so Glucose-6-phosphat gebildet, das in eine isomere Form, Fructose-6-phosphat, umgewandelt wird. Eine zweite Phosphorylierung führt zur Bildung von Fructose-1,6-bisphosphat, einem Hauptzwischenprodukt der Glykolyse, das durch zwei einander abstoßende, negativ geladene Phosphatgruppen charakterisiert ist. Eine Aldolase katalysiert die Spaltung von Fructose-1,6-bisphosphat in zwei C_3-Moleküle: Dihydroxyacetonphosphat und sein Isomer Glycerinaldehyd-3-phosphat. Da beide ineinander umgewandelt werden können und nur letzteres in der Glykolyse weiter umgesetzt wird, kann man zwei Moleküle Glyerinaldehyd-3-phosphat als Ergebnis des Abschnittes I der Glykolyse betrachten.

Gruppentranslokation

In Eubakterien werden Glucose, Fructose, Mannose und andere Kohlenhydrate durch das Phosphoenolpyruvat-abhängige Phosphotransferasesystem (PTS) in die Zellen aufgenommen.
An der Gruppentranslokation, einer chemischen Modifizierung während des Transportes, ist eine Kaskade von Proteinkinasen beteiligt (◘ Abb. 4.11).
Die Phosphatgruppe wird von PEP nicht direkt übertragen, sondern es findet ein sequentieller Phosphattransfer statt. Dabei werden die Proteine des Phosphotransferasesystems in einer Kaskade abwechselnd phosphoryliert und dephosphoryliert, bevor die Phosphatgruppe das Enzym IIc erreicht. Das Enzym IIc ist ein integrales Membranprotein, welches den Kanal bildet und die Phosphorylierung des Zuckers katalysiert.
Die Enzyme II sind für jeden Zucker spezifisch, während die cytoplasmatischen Enzyme Enzym I (E_I) und Histidinprotein (HPr) am Transport aller Zucker beteiligt sind, die durch das PTS in die Zelle gelangen.
Die Gruppentranslokation bereitet also die Glucose für den Eintritt in den zentralen Metabolismus vor.

Im **Abschnitt II** der Glykolyse erfolgt eine **Oxidationsreaktion** und damit einhergehend die **Energiegewinnung durch Substratstufen-Phosphorylierung.** Die Oxidationsreaktion erfolgt während der Umwandlung von Glycerinaldehyd-3-phosphat zu 1,3-Bisphosphoglycerat. Glycerinaldehyd-3-phosphat wird unter Bildung von NADH von der Stufe des Aldehyds zur Stufe der Säure oxidiert, wobei anorganisches Phosphat in das Molekül aufgenommen wird und 1,3-Bisphosphoglycerat entsteht. Aufgrund der **gemischten Säureanhydrid-Bindung** ist dieses Intermediat so energiereich, dass die Phosphatgruppe im nächsten Schritt auf ADP unter Bildung von ATP übertragen werden kann. Durch Isomerisierung des gebildeten 3-Phosphoglycerats zu 2-Phosphoglycerat und Abspaltung von Wasser entsteht Phosphoenolpyruvat (Phosphorsäureester der Enol-Form des

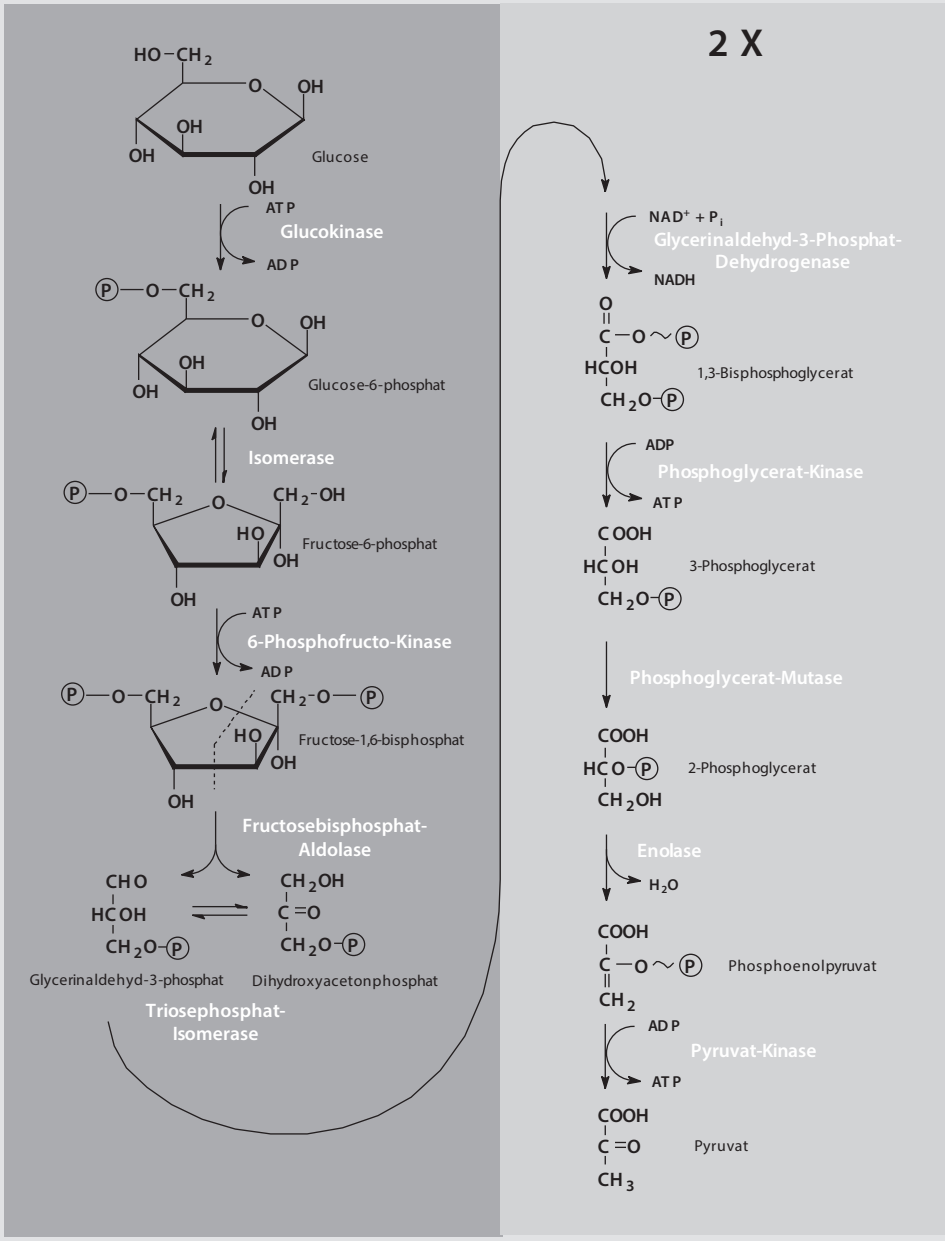


Abb. 4.10 Glykolyse

Pyruvats). Da Phosphoenolpyruvat eine energiereiche Bindung (Phosphorsäureester) zum Phosphat enthält, kann auch dieser Phosphatrest auf ADP unter Bildung von ATP und Pyruvat übertragen werden.

Da, wie oben erwähnt, aus Glucose zwei Moleküle Glycerinaldehyd-3-phosphat entstehen, läuft die Reaktionskette vom Glycerinaldehyd-3-phosphat bis zum Pyruvat im Hinblick auf die Bilanz zweimal ab. In dieser Reaktionskette wird an zwei Stellen ATP synthetisiert, bei der Reaktion von 1,3-Bisphosphoglycerat zu 3-Phosphoglycerat und bei der Reaktion von Phosphoenolpyruvat zu Pyruvat. Insgesamt werden in der Glykolyse pro Molekül Glucose also vier ATP-Moleküle gewonnen und zwei verbraucht. Somit gewinnt der Organismus pro Glucosemolekül insgesamt zwei Moleküle ATP.

4.4.1.2 Oxidative Pyruvat-Decarboxylierung und Tricarbonsäure-Zyklus

Das durch die Glykolyse gebildete Pyruvat kann in verschiedenen Organismen je nach physiologischem Zustand sehr unterschiedlichen Reaktionen zugeführt werden. Im Hinblick auf die Energiegewinnung aerober Organismen ist die wichtigste Reaktion des Pyruvats die oxidative Decarboxylierung durch den Pyruvat-Dehydrogenase-Komplex. Hierbei wird der entstehende Acetylrest auf eine Thiolgruppe des Coenzyms A (abgekürzt HSCoA) übertragen:

$$C_3H_4O_3 + HSCoA + NAD^+ \rightarrow CH_3\text{-}COSCoA + CO_2 + NADH$$

An dem Pyruvat-Dehydrogenase-Komplex sind mehrere Enzyme und Coenzyme beteiligt. Im Ergebnis wird ein Molekül CO_2 pro Molekül Pyruvat gebildet, ein Reduktionsäquivalent wird in Form von NADH für die Atmungskette bereitgestellt und der verbleibende C_2-Körper ist durch eine Thioesterbindung aktiviert, sodass er in den Tricarbonsäure-Zyklus eingeschleust oder auch anderweitig in der Zelle verwendet werden kann.

Das durch den Pyruvat-Dehydrogenase Komplex gebildete Acetyl-CoA wird anschließend in einem zyklischen Stoffwechselweg, dem **Tricarbonsäure-Zyklus** (auch **Citrat-Zyklus**), vollständig zu CO_2 oxidiert (◘ Abb. 4.12). Auch die hierbei anfallenden Reduktionsäquivalente werden auf Elektronenzwischenträger, zum größeren Teil auf NAD^+und zum kleineren Teil auf FAD, übertragen, wobei die jeweiligen reduzierten Formen (NADH und $FADH_2$) entstehen.

Der Tricarbonsäure-Zyklus wird eingeleitet durch die Anlagerung des Acetylrestes (C_2-Körper) von Acetyl-CoA an den C_4-Körper Oxalacetat, wobei der C_6-Körper Citrat entsteht. Nach Isomerisierung des Citrats zu Isocitrat liefert eine Oxidation eine β-Ketosäure , die decarboxyliert und den C_5-Körper 2-Oxoglutarat bildet. Auch dieses wird oxidativ decarboxyliert, und zwar in einer der oxidativen Pyruvat-Decarboxylierung analogen Reaktion, in der neben CO_2 Succinyl-CoA entsteht. Dieses hat (wie auch Acetyl-CoA) eine energiereiche Thioesterbindung, die in diesem Fall zur Gewinnung von ATP oder GTP über Substratstufen-Phosphorylierung genutzt wird. Im weiteren Verlauf des Tricarbonsäure-Zyklus wird der entstandene, noch relativ reduzierte C_4-Körper Succinat über Fumarat und Malat wieder zu Oxalacetat oxidiert. Zu beachten ist, dass aufgrund des Reduktionspotenzial des Fumarat/Succinat-Paares die Elektronen von Succinat nicht auf NAD^+, sondern direkt auf ein FAD, welches ein positiveres Reduktionspotenzial hat, übertragen werden können. Wenn man vereinfachend annimmt, dass die Substratstufen-Phosphorylierung des Tricarbonsäure-Zyklus ATP liefert, lässt sich die Bilanz des Tricarbonsäure-Zyklus durch folgende Reaktionsgleichung zusammenfassen:

$$CH_3\text{-}COSCoA + 3\ NAD^+ + FAD + ADP + P_i + 2\ H_2O \rightarrow 2\ CO_2 + HSCoA + 3\ NADH + FADH_2 + ATP$$

Glykolyse, oxidative Pyruvat-Decarboxylierung und Tricarbonsäure-Zyklus sind nicht nur für den hier dargestellten aeroben Kohlenhydratstoffwechsel von Bedeutung. Vielmehr münden Abbauwege vieler Naturstoffe wie zum Beispiel Proteine, Fette oder Aromaten in diese Wege ein. Gleichzeitig sind die Metabolite der hier betrachteten Stoffwechselwege Ausgangspunkte für vielerlei Reaktionen zur Synthese mikrobieller Biomasse.

4.4.1.3 Bilanz der aeroben Atmung und Energiespeicherung

Fasst man die Bilanzgleichungen für die Teilschritte des Glucoseabbaus zusammen und berücksichtigt dabei, dass die oxidative Pyruvat-Decarboxylierung und der Tricarbonsäure-Zyklus pro Glucosemolekül zweimal ablaufen müssen, so ergibt sich folgende Reaktionsgleichung:

$$C_6H_{12}O_6 + 10\ NAD^+ + 2\ FAD + 4\ ADP + 4\ P_i + 2\ H_2O \rightarrow 6\ CO_2 + 10\ NADH + 2\ FADH_2 + 4\ ATP$$

Warum sind Cyanobakterien strikt autotroph?

Laut einer akzeptierten Hypothese sind Cyanobakterien strikt autotroph, weil sie keinen vollständigen Citrat-Zyklus haben. Ihnen fehlt das Enzym 2-Oxoglutarat-Dehydrogenase. Deshalb glaubte man bisher, dass die komplette Oxidation des Speicherstoffes Glykogen zu Kohlenstoffdioxid bei Cyanobakterien nicht möglich ist.

Als oxygene Phototrophe nutzen die Cyanobakterien mit Hilfe von zwei Photosystemen die Lichtenergie für die ATP-Synthese und die NADPH-Bildung. Zusätzliche Elektronen- oder Energiequellen sind nicht notwendig. CO_2 ist die Kohlenstoffquelle. Nur begrenzt können organische Verbindungen oxidiert und assimiliert werden. So wird Glykogen während der Nacht oxidiert.

Heute ist nachgewiesen, dass die meisten Cyanobakterien doch einen geschlossenen aber modifizierten Citrat-Zyklus besitzen: Durch 2-Oxoglutarat-Decarboxylase und Succinatsemialdehyd-Dehydrogenase wird die Umsetzung von 2-Oxoglutarat zu Succinat katalysiert. Mutanten, die diese Enzyme nicht besitzen, sind in ihrem Wachstum unter strikt phototrophen Bedingungen, für das kein vollständiger Citrat-Zyklus notwendig ist, sowohl bei Dauerlicht als auch im Licht-Dunkel-Zyklus deutlich langsamer als Wildtyp-Zellen. Es bleibt also die Frage: Wozu brauchen Cyanobakterien den Zyklus im Licht?

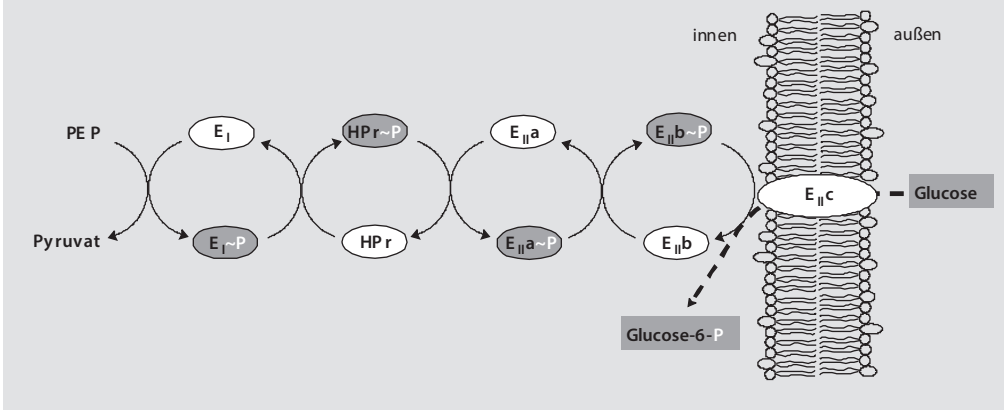


Abb. 4.11 Transport von Glucose durch das Phosphoenolpyruvat: Glucose Phosphotransferasesystem (PTS). HPr = Histidinprotein, PEP = Phosphoenolpyruvat

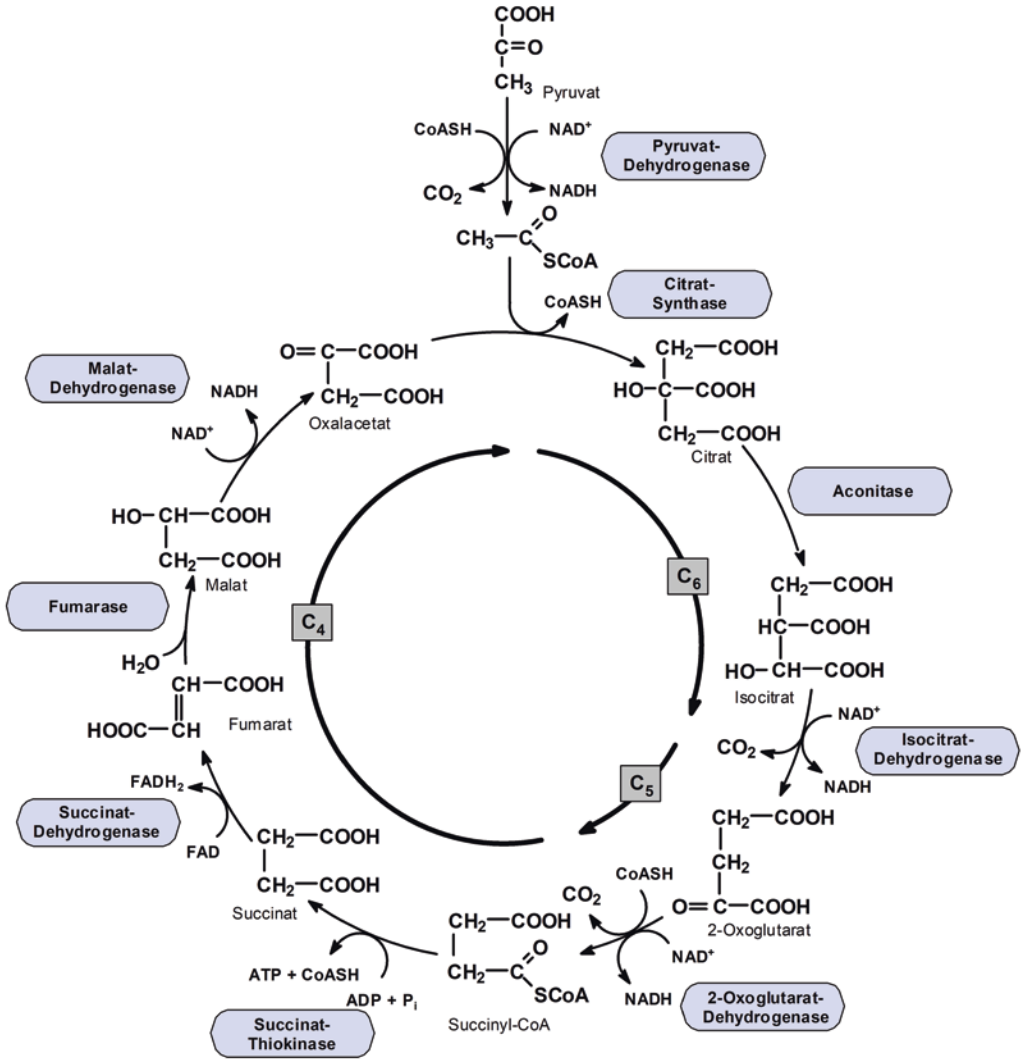


Abb. 4.12 Tricarbonsäure-Zyklus (auch Citrat-Zyklus)

Glucose wurde also vollständig zu CO_2 oxidiert und die Reduktionsäquivalente wurden auf Wasserstoffzwischenträger übertragen. Gleichzeitig wurden 4 Moleküle ATP durch Substratstufen-Phosphorylierung gewonnen (davon je 2 in der Glykolyse und im Tricarbonsäure-Zyklus).

Berücksichtigt man die ATP-Ausbeute aus der Atmungskette, dann kommen aus der Oxidation des NADH unter aeroben Bedinungen bis zu 30 ATP hinzu (aerob bis zu 3 ATP pro NADH) und die Oxidation von 2 reduzierten Chinon-Molekülen steuert bis zu 4 ATP bei (bis zu 2 ATP pro reduziertem Chinon). In der Summe kann der aerobe Abbau

eines Moleküls Glucose bis zu 38 Moleküle ATP liefern.

4.4.1.4 Anaerober Abbau von Kohlenhydraten

Wieviel ATP kann ein Mikroorganismus bei Verwertung von Glucose bilden, dem die Atmungskette fehlt oder dem der Elektronenendakzeptor Sauerstoff oder ein anderer nicht zur Verfügung steht? Gärer produzieren 2–3 ATPs pro mol Glucose, wenn die Glykolyse genutzt wird. Dies ist ungefähr die maximale Menge an ATP, die durch Gärung gebildet wird; viele andere Substrate liefern weniger Energie. Die potenziell bei einer bestimmten Gärung freigesetzte Energie kann aus der ausgeglichenen Reaktion und aus den freien Energiewerten berechnet werden: Zum Beispiel liefert die Gärung von Glucose zu Ethanol und CO_2 theoretisch −235 kJ/mol, genug, um ungefähr 7 ATPs (−31,8 kJ/mol ATP), zu produzieren. Es werden jedoch nur 2 ATPs tatsächlich produziert. Dies macht klar, dass ein Mikroorganismus mit einer bedeutend geringeren als hundertprozentiger Effizienz arbeitet und dass ein Teil der Energie als Wärme verloren geht.

- **Oxidations-Reduktions-Gleichgewicht/ Bildung von Gärungsprodukten**

Warum produziert ein Gärer ein Produkt wie Ethanol? Im oxidativen Teil der Glykolyse werden während der Bildung von zwei Molekülen 1,3-Bisphosphoglycerat zwei NAD^+ zu NADH reduziert. Eine Zelle enthält jedoch nur eine geringe Menge NAD^+. Würde all dies zu NADH umgewandelt, würde die Oxidation von Glucose zum Erliegen kommen. Die Oxidation von Glycerinaldehyd-3-phosphat kann nur fortgesetzt werden, wenn NAD^+ vorhanden ist, um Elektronen zu akzeptieren. Bei der Gärung wird durch die Oxidation von NADH zu NAD^+ die Blockierung vermieden, indem Pyruvat zu einer Vielzahl von **Gärungsprodukten** reduziert wird. Im Fall von Hefe wird Pyruvat unter Freisetzung von CO_2 zu Ethanol reduziert. In Milchsäurebakterien wird Pyruvat in Lactat umgewandelt. Andere Möglichkeiten der Pyruvatreduktion in gärenden Prokaryoten sind bekannt, das Ergebnis ist aber letztlich immer dasselbe: **NADH muss in die oxidierte Form NAD^+ überführt werden, damit die energieliefernden Reaktionen des Glucoseabbaus weiter ablaufen können.** NADH diffundiert von der Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase zur Lactat-Dehydrogenase, das Pyruvat wird zu Lactat reduziert, um nach der Umwandlung zu NAD^+ wegzudiffundieren, sodass der Kreislauf von vorne beginnen kann.

In jedem energieliefernden Prozess muss eine Oxidation durch eine Reduktion ausgeglichen werden, und für jedes entfernte Elektron muss es einen Elektronenakzeptor geben. In diesem Fall wird die **Reduktion** von NAD^+ in einem enzymatischen Schritt der Glykolyse durch seine **Oxidation** in einem anderen Schritt ausgeglichen. Die Endprodukte müssen sich auch in einem Oxidations-Reduktions-Gleichgewicht mit dem Ausgangssubstrat Glucose befinden. Daher befinden sich die hier erläuterten Endprodukte, Ethanol und CO_2 beziehungsweise Lactat und Protonen, im Gleichgewicht mit dem Ausgangsmolekül Glucose bezüglich Ladung und Atomsummen.

Bei jeder Gärungsreaktion muss ein **Gleichgewicht zwischen Oxidation und Reduktion** bestehen. Die Gesamtzahl der Elektronen der Produkte auf der rechten Seite der Gleichung muss der Elektronenanzahl in den Substraten auf der linken Seite der Gleichung entsprechen.

Bei einigen Gärungsreaktionen wird das Elektronengleichgewicht durch die Produktion von molekularem Wasserstoff, H_2, aufrechterhalten. Bei der H_2-Produktion dienen aus Wasser stammende Protonen (H^+) als Elektronenakzeptoren. Die Produktion von H_2 ist im Allgemeinen mit dem Vorhandensein eines Eisenschwefelproteins, Ferredoxin ein sehr elektronegativer Elektronenüberträger, im Organismus verbunden. Die Übertragung von Elektronen von Ferredoxin auf H^+ wird durch die

Hydrogenase katalysiert. Die Energetik der Wasserstoffproduktion ist eher ungünstig, weshalb die meisten gärenden Mikroorganismen nur eine relativ geringe Menge Wasserstoff neben anderen Gärungsprodukten herstellen. Die Wasserstoffproduktion dient deshalb hauptsächlich dazu, das Redoxgleichgewicht aufrechtzuerhalten. Wird zum Beispiel die Wasserstoffproduktion verhindert, so wird das Gleichgewicht der Oxidationsreduktion der anderen Gärungsprodukte zu reduzierteren Produkten hin verschoben. Deshalb produzieren viele gärende Mikroorganismen, die H_2 herstellen, sowohl Ethanol als auch Acetat. Da Ethanol reduzierter ist als Acetat, wird seine Bildung begünstigt, wenn die Wasserstoffproduktion inhibiert wird. Die Produktion von Acetat oder bestimmter anderer Fettsäuren ist energetisch von Vorteil, weil sie dem Mikroorganismus ermöglicht, ATP durch Substratstufen-Phosphorylierung herzustellen. Das wichtigste Zwischenprodukt bei der Acetatbildung ist Acetyl-CoA als energiereiches Intermediat. Acetyl-CoA kann zu Acetylphosphat umgewandelt und die energiereiche Phosphatgruppe des Acetylphosphats anschließend durch Acetat-Kinase auf ADP übertragen werden und so ATP erzeugen (◘ Abb. 4.13).

4.4.2 Abbau von Proteinen

Wie andere hochmolekulare Substanzen werden auch Proteine zunächst außerhalb der Zelle durch Exoenzyme in permeable Bruchstücke zerlegt. Proteolytische Enzyme (Exo- und Endoproteinasen: am Ende beziehungsweise innerhalb einer Proteinkette) hydrolysieren Peptidbindungen im Protein. Die aus Polypeptiden und Oligopeptiden bestehenden Spaltstücke werden von der Zelle aufgenommen und durch Peptidasen bis zu den Aminosäuren abgebaut. Diese werden von der Zelle entweder direkt zur Proteinsynthese verwendet oder desaminiert, d. h. NH_4^+ wird freigesetzt und die desaminierte Verbindung in den Intermediärstoffwechsel eingeschleust. Am Proteinabbau ist eine Vielzahl von Pilzen und Bakterien beteiligt.

Ammoniakbildung begleitet den Proteinabbau im Boden, die Ammonifikation.

Ein weiterer Abbauschritt ist die Decarboxylierung, die zu biogenen Aminen führt. Die primären Amine treten bei der normalen Darmfäulnis und anderen anaeroben Zersetzungsprozessen proteinhaltiger Stoffe auf.

Die oxidative Desaminierung ist der am weitesten verbreitete Typ des Aminosäureabbaus. Glutamat wird durch Glutamat-Dehydrogenase zu 2-Oxoglutarat, dem Intermediat des Citrat-Zyklus, oxidativ desaminiert und so dem Intermediärstoffwechsel zugeführt.

Die proteolytischen Clostridien hydrolysieren Proteine und vergären Aminosäuren. Einige Aminosäuren werden jedoch für sich alleine nicht umgesetzt. Stickland fand jedoch heraus, dass ein Gemisch von zum Beispiel Alanin und Glycin von *Clostridium sporogenes* rasch vergoren wird, während die einzelnen Aminosäuren nicht umgesetzt wurden. Es zeigte sich, dass Alanin bei der Gärung als H-Donor fungierte, während Glycin die Rolle des H-Akzeptors erfüllte. Die Energie wird in diesem komplexen Prozess durch eine gekoppelte Oxidations-Reduktions-Reaktion gewonnen. Als H-Donoren können Alanin, Leucin, Isoleucin, Valin, Serin, Methionin fungieren, während als H-Akzeptoren Glycin, Prolin, Arginin, Tryptophan dienen können. Die Donor-Aminosäure wird zu einer Ketosäure desaminiert, die dann durch oxidative Decarboxylierung zur Fettsäure oxidiert wird. ◘ Abb. 4.14 zeigt die sogenannte Stickland-Gärung am Beispiel von Alanin und Glycin.

4.4.3 Abbau von Fetten

Lipide kommen in der Natur überaus häufig vor. Sie sind als Triacylglyceride Speicherstoffe fettreicher Samen und Früchte aber

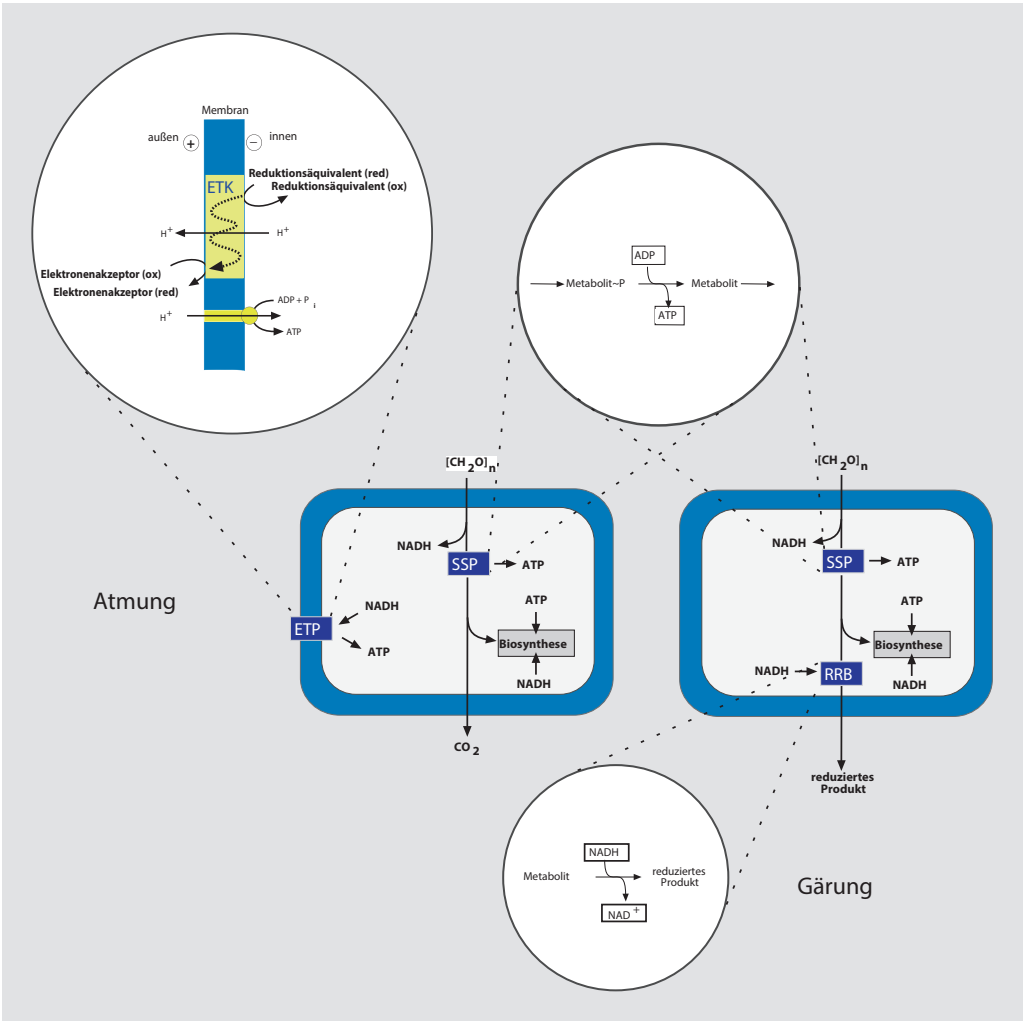


Abb. 4.13 Gegenüberstellung von Atmung und Gärung. ETK: Elektronentransportkette; SSP: Substratstufenphosphorylierung; ETP: Elektronentransportphosphorylierung; RRB: Reduktionsäquivalent-Regenerationsbox

auch von Mikroorganismen. Die Cytoplasmamembranen aller Zellen enthalten Phospholipide. Beide Substanzen sind biologisch abbaubar und sind, da energiereich, ausgezeichnete Substrate für den mikrobiellen Energiestoffwechsel.

Fette sind Ester aus Glycerin und Fettsäuren. **Lipasen**, extrazelluläre Enzyme, sind für die Hydrolyse der Esterbindung verantwortlich. Lipasen sind sehr unspezifisch und greifen Fette an, die Fettsäuren mit unterschiedlicher Kettenlänge enthalten.

Phospholipide werden von spezifischen **Phospholipasen** hydrolysiert, die unterschiedliche Esterbindung spalten. Phospholipasen A_1 und A_2 spalten Fettsäureester und ähneln somit den Lipasen. Phospholipasen C und D spalten Phosphatesterbindungen und sind daher ganz andere Typen von Enzymen.

Lipaseaktivität führt also zur Freisetzung von Fettsäuren und Glycerin, Substanzen, die sowohl anaerob als auch aerob von verschiedenen chemoorganotrophen Mikro-

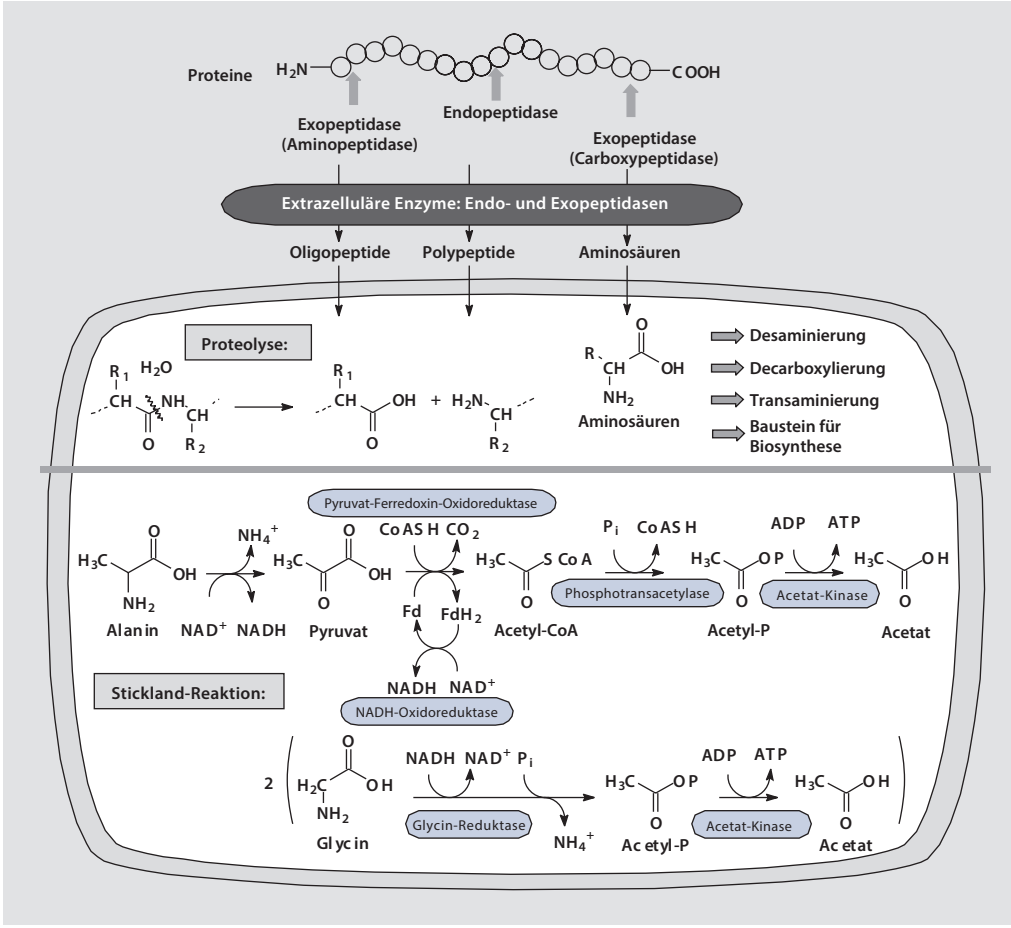


Abb. 4.14 Proteinabbau außerhalb und innerhalb der Zelle. oben: außerhalb der Zelle; mitte: Proteolyse und Bildung von Aminosäuren sowie die Folgereaktionen; unten: Stickland-Reaktion

organismen angegriffen werden können. Der Abbau der Fettsäuren durch β-Oxidation wird im ▶ Kap. 5 unter Alkanabbau besprochen (Abb. 4.15).

4.4.4 Abbau von pflanzlichen Substanzen/Lignin und anderen Naturstoffen/ Humusentstehung

Die pflanzliche Trockensubstanz besteht zu etwa 80 % aus **Lignocellulose**. In den pflanzlichen Zellwänden sind die **Cellulosemikrofibrillen** in eine amorphe Matrix von **Hemicellulosen** und **Lignin** eingebettet (Abb. 4.16). Die drei Polymere sind durch Wasserstoffbrückenbindungen und kovalent miteinander verbunden. Ihre Anteile sind je nach Pflanzenart und Alter verschieden. Im Durchschnitt besteht Lignocellulose aus 45 % Cellulose, 30 % Hemicellulosen und 25 % Lignin. Gräser und Stroh sind reicher an Cellulose und Hemicellulosen als Holz. Die chemischen Grundstrukturen sind in Abb. 4.16 dargestellt.

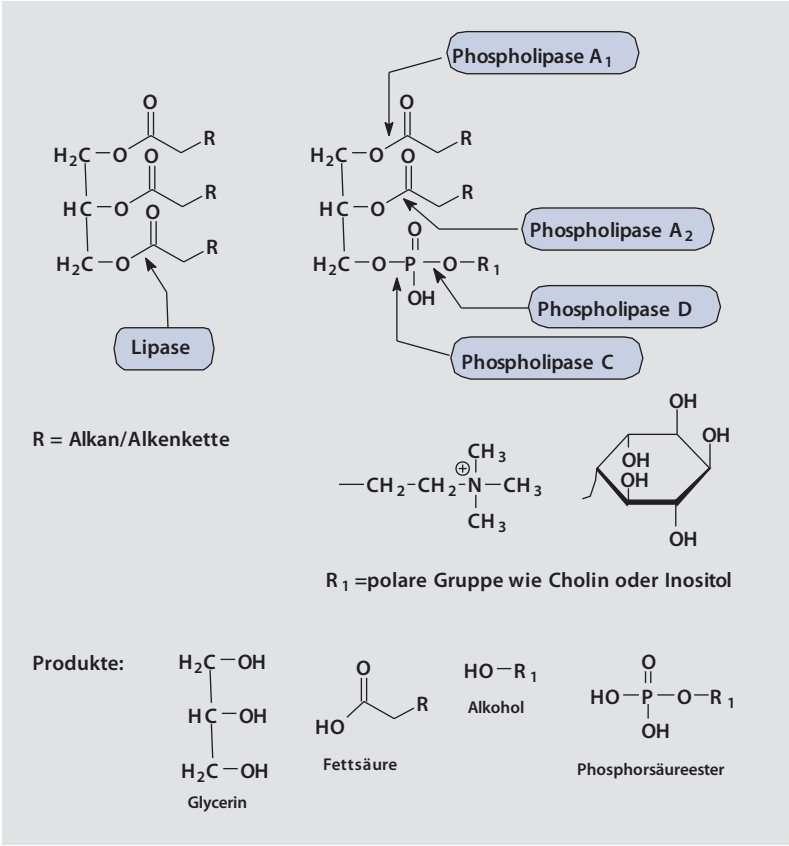


Abb. 4.15 Angriffsorte von Lipase und verschiedenen Phospholipasen an Lipiden und Phospholipiden

4.4.4.1 Abbau von Stärke

Stärke ist der Hauptspeicherstoff der Pflanzen. Das Polysaccharid ist aus *D*-Glucoseeinheiten aufgebaut, die über α-1,4-glykosidische Bindungen miteinander verknüpft sind. Hierdurch ergibt sich ein helikaler Aufbau (siehe Abb. 4.17). Neben Amylose (bis zu 6000 Glucosebausteine), dem linearen Polysaccharid, welches je nach Pflanze bis zu 35 % der Stärke ausmacht, ist Amylopektin (Molekulargewicht $10^7 - 2 \times 10^8$ Dalton) als 1,6-verzweigtes Polymer Bestandteil der Stärke. Die Verzweigung wird an etwa jeder 25. Glucose angetroffen.

Mikrobielle Stärkeabbauer sind in der Natur weit verbreitet. Unter den aeroben Bakterien besitzen viele *Bacillus*- und *Streptomyces*-Arten eine hohe Amylaseaktivität, unter den Anaerobiern Clostridien. *Aspergillus niger* und *A. oryzae* sind bekannte pilzliche Amylasebildner.

Am Abbau von Stärke zu Glucose können allein vier unterschiedliche Gruppen von hydrolytischen Enzymen beteiligt sein (Abb. 4.17): 1) α-Amylasen spalten die α-1,4-glykosidische Bindung der Stärke im Inneren des Stärkemoleküls und führen so zu einer Zerlegung der Stärke in kleinere Einheiten. 2) β-Amylasen hydrolysieren die α-1,4-glykosidische Bindung von den nichtreduzierenden Enden her unter Bildung von Maltose. 3) Pullulanasen spalten die α-1,6-glykosidischen Bindungen. 4) Glucoamylasen spalten von den nicht-reduzierenden Enden des Stärkemoleküls direkt Glucose ab. Die

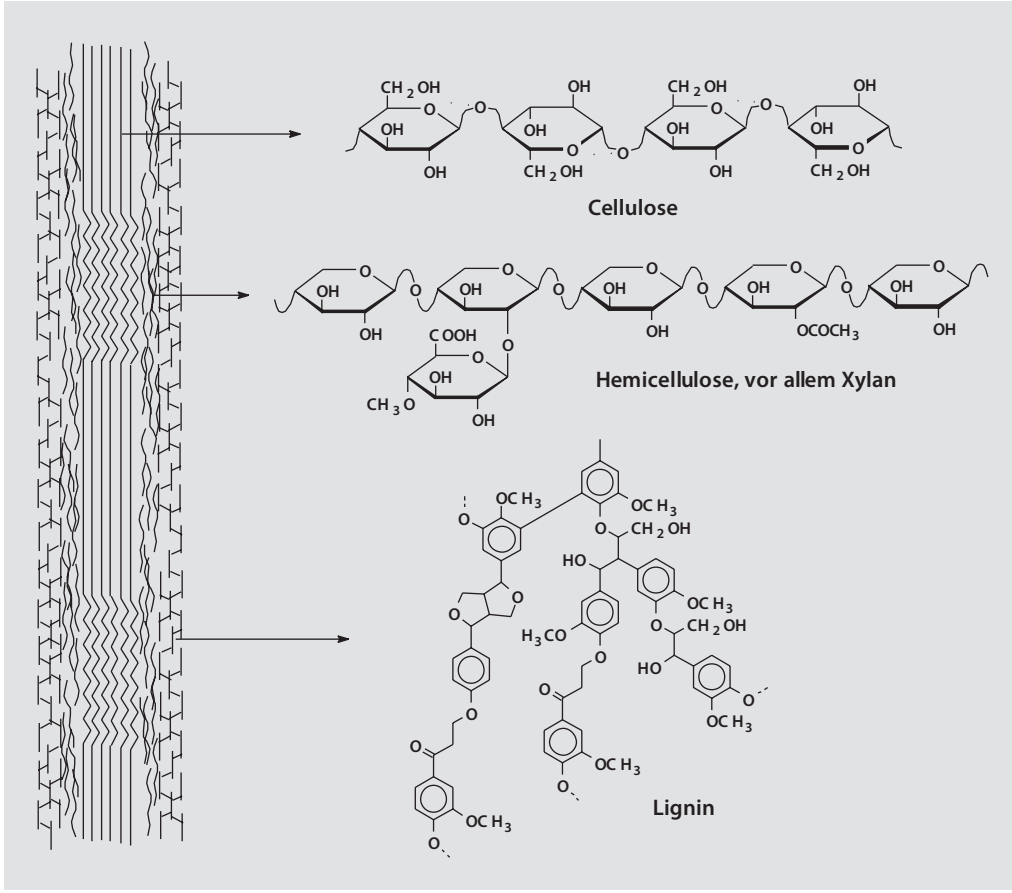


Abb. 4.16 Hauptkomponenten der pflanzlichen Zellwand. Die Anordnung der Komponenten ist schematisch dargestellt

durch die β-Amylase gebildete Maltose wird durch Maltase in Glucose gespalten.

4.4.4.2 Abbau von Cellulose

Cellulose ist ein lineares Polymer aus Tausenden (bis 14.000) von Glucosebausteinen, die durch β-1,4-glykosidische Bindungen verknüpft sind. 60–70 Celluloseketten sind durch Wasserstoffbrücken zu Elementarfibrillen verknüpft. Diese setzten sich zusammen zu Mikrofibrillen, die ihrerseits zu Bündel vereinigt sind. Hoch geordnete kristalline Bereiche wechseln sich mit weniger geordneten amorphen Regionen ab. Der komplexe Aufbau ist in Abb. 4.18 gezeigt.

Pilze und Bakterien bauen Cellulose ab. Wenn die Cellulose stärker lignifiziert ist, können nur Pilze den Komplex angreifen. Aerobe Bakterien, die Cellulose abbauen, sind zum Beispiel *Cellulomonas-*, *Cytophaga-* und *Streptomyces*-Arten. Wichtige Vertreter unter den Anaerobiern sind *Bacteroides-*, *Clostridium-* und *Ruminococcus*-Arten. Unter den Pilzen ist die Fähigkeit bei drei ökologischen Gruppen vorhanden, den Schimmelpilzen des Bodens (zum Beispiel *Aspergillus* und *Trichoderma*), einigen phytopathogenen Pilzen *(Fusarium, Rhizoctonia)* und den holzzerstörenden Basidiomyceten und Ascomyceten. Unter den holzabbauenden Pilzen sind es wie-

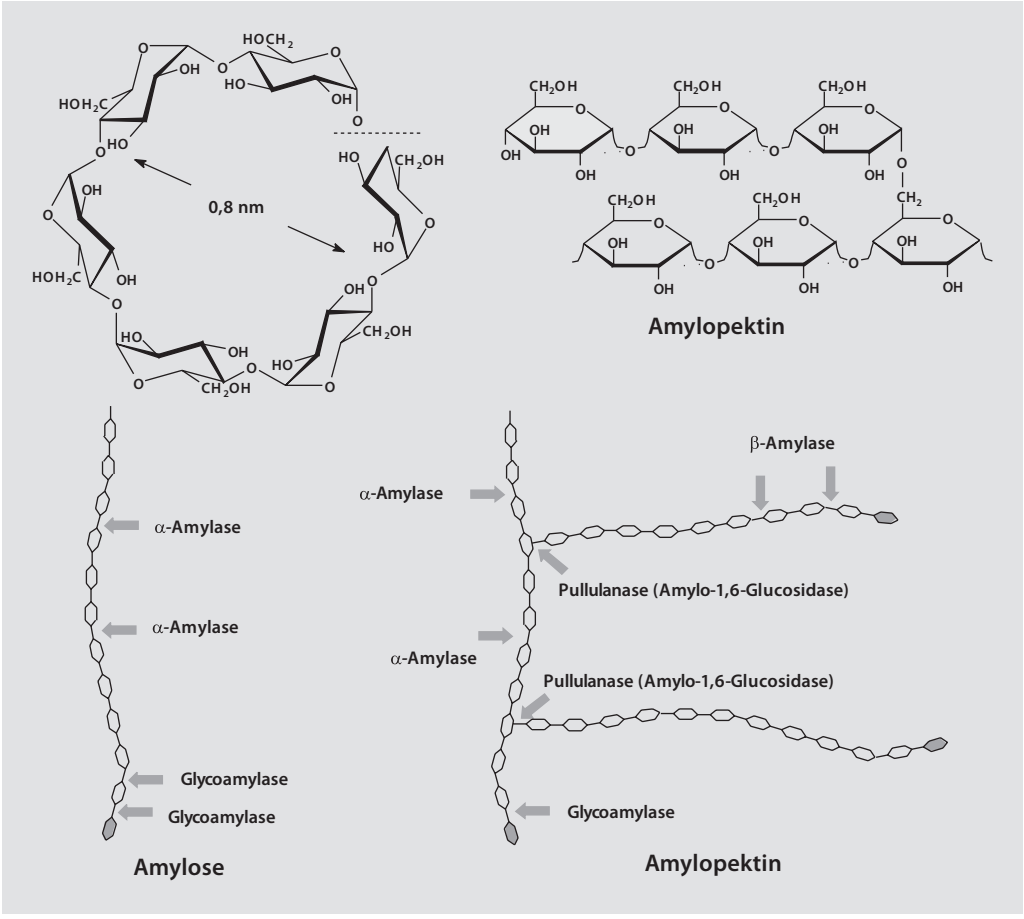


Abb. 4.17 Stärke. **a** Struktur in der Sesselform als Helix gezeigt, **b** Aufbau von Amylopektin in der Haworth-Projektion dargestellt, **c** Abbau mit Angriffsorten der verschiedenen hydrolytischen Enzyme. Nicht-reduzierende Enden sind markiert

derum vor allem die Braunfäuleerreger, die bevorzugt die Cellulose angreifen, das Ligningerüst bleibt als braun gefärbte Substanz zurück. Vertreter der **Braunfäulepilze** sind der Hausschwamm *Serpula lacrymans* und der Birkenporling *Piptocarpus betulinus.* Auch Weißfäulepilze bauen neben Lignin Cellulose ab. Als einzige Kohlenstoffquelle kann Cellulose, aber nicht Lignin genutzt werden.

Makromoleküle wie Cellulose können nicht von Mikroorganismen aufgenommen werden. Der Abbau von Cellulose wird dadurch erschwert, dass die langgestreckten Cellulosemoleküle untereinander durch ein Vielzahl von Wasserstoffbrücken verbunden sind. Hierdurch entstehen mikrokristalline Bereiche mit einer sehr engen Aneinanderlagerung der Cellulosemoleküle. Dies erschwert den Zugang der Mikroorganismen und auch der Exoenzyme zu den zu hydrolysierenden Bindungen. Deshalb wird Cellulose vorzugsweise in amorphen Bereichen angegriffen. Der Abbau erfolgt durch extrazelluläre Enzyme, die ausgeschieden werden. Häufig sind sie an der Zelloberfläche lokalisiert, und zwischen den Organismen und den Cellulosefasern besteht ein enger Kontakt.

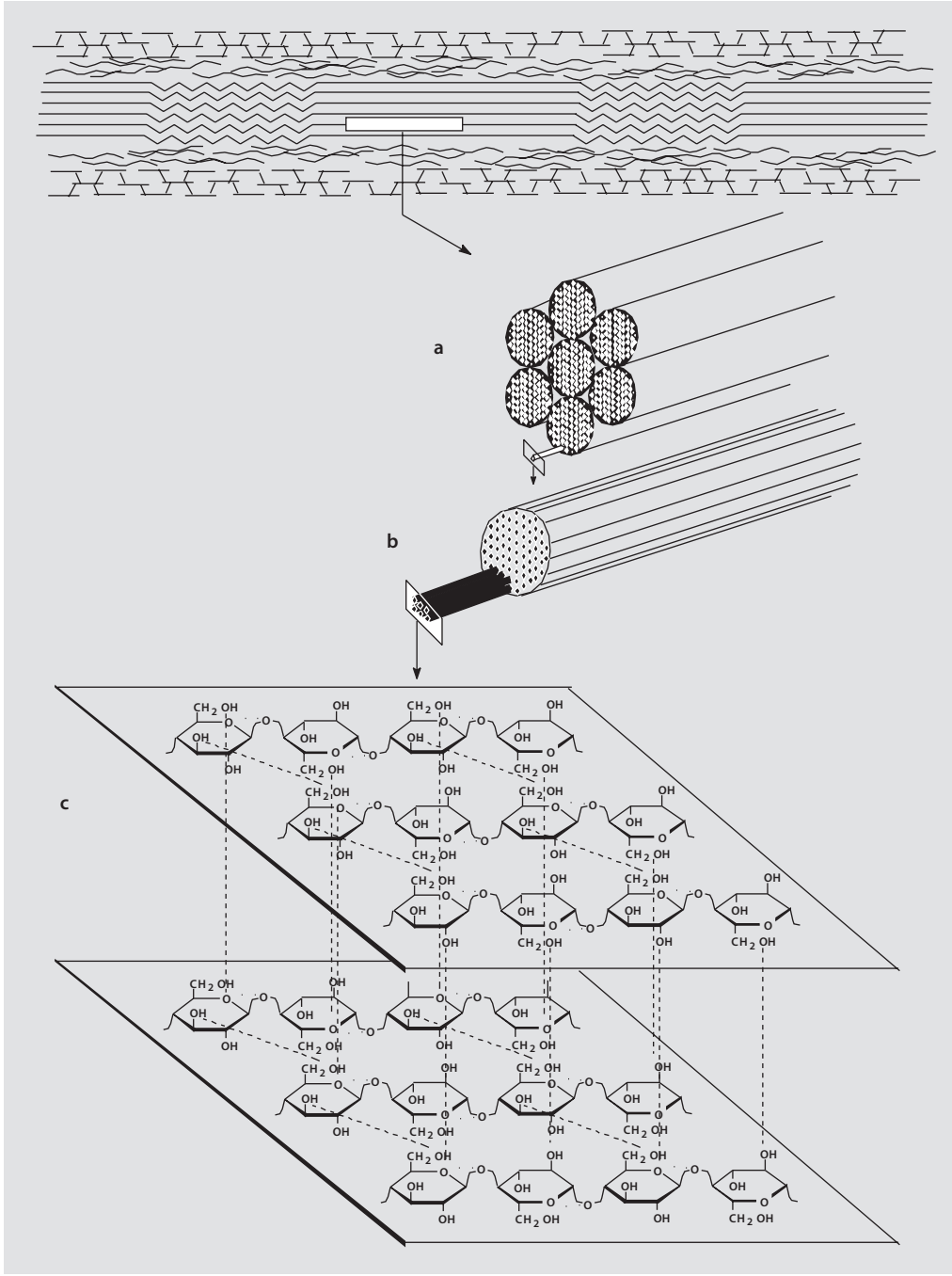


Abb. 4.18 Komplexer Aufbau der Cellulose. **a** Bündel aus mehreren Mikrofibrillen, die im Anschnitt den Aufbau aus Elementarfibrillen erkennen lassen. **b** Aufbau einer Elementarfibrille, in der die Cellulosemoleküle parallel angeordnet sind. Sechs Celluloseketten sind im Anschnitt herausgezogen. **c** Kristalline Anordnung von sechs Celluloseketten in der Elementarfribrille. Einige Wasserstoffbrücken zwischen den Celluloseketten sind gestrichelt dargestellt

Im Hinblick auf die Enzymatik gibt es wiederum eine Analogie zur Stärke. Auch hier gibt es Hydrolasen, sogenannte Endocellulasen, die die β-1,4-glykosidischen Bindung der Cellulose eher im Inneren des Moleküls schneiden, wobei verkürzte Celluloseketten entstehen. Andere Enzyme, sogenannte Exocellulasen, spalten an den entstandenen freien, nicht-reduzierenden Enden.

Es findet eine schrittweise Depolymerisierung der Cellulose statt: Pilze wie *Trichoderma viride* beginnen den Abbau im Makromolekül an den amorphen Bereichen durch eine Endocellulase. Die dabei entstehenden freien Enden werden durch eine Exocellulase zu Di- und Oligosacchariden zerlegt, die schließlich durch eine β-Glucosidase zu Glucose hydrolysiert werden. Einige Bakterien greifen bevorzugt die kristallinen Cellulosebereiche an. Bei dem anaeroben Bakterium *Clostridium thermocellum,* das im Pansen lebt, liegen die Enzyme an der Zelloberfläche als Multienzymkomplex vor, dem Cellulosom. Es besteht aus 14–18 Polypeptiden, zu denen neben Glucanasen auch Xylanasen gehören. Glucose wie auch Xylose gehen in den Intermediärstoffwechsel ein (◘ Abb. 4.7). Die extrazellulären Enzyme führen zu Abbauprodukten, die auch von Mikroorganismen genutzt werden, die diese Enzyme nicht besitzen (◘ Abb. 4.19).

4.4.4.3 Abbau von Xylan (Hemicellulose)

Hemicellulose ist ein Sammelbegriff für eine heterogene Gruppe von Matrix-Polysacchariden, welche die Cellulose-Mikrofibrillen umgeben und durch Wasserstoffbrücken zu einem Netzwerk verknüpfen. Hemicellulosen sind die alkalilöslichen Polysaccharide der Zellwand außer Cellulose und Pectin. Charakteristische Zuckerbausteine sind Pentosen (*D*-Xylose, *L*-Arabinose), die durch Acetylierungen modifiziert sind (◘ Abb. 4.20). Sie sind durch β-1,4-glycosidische Bindungen zu Einheiten aus etwa 30–500 Pentosebausteinen verbunden. Die vor allem aus Pentosen aufgebauten Xylane sind die verbreitetsten Hemicellulosen, Laubhölzer bestehen zu 20–25 %, Nadelhölzer zu 7–12 % aus Xylanen. Xylane enthalten in Seitenketten weitere Zucker, Arabinose, Galactose, Glucose und Glucuronsäuren (zum Beispiel Arabinoglucuronoxylan).

Die Fähigkeit zum Xylanabbau ist verbreiteter als die zum Celluloseabbau. Zu den xylanolytischen Mikroorganismen gehören neben vielen celluloseabbauenden Arten die anaeroben Bakterien *Thermoanaerobacter thermohydrosulfuricum, Thermoanaerobacterium thermosaccharolyticum, Thermobacteroides-* und *Thermoanaerobium*-Arten, die Xylan zu Ethanol, Acetat und Lactat vergären. Hefen wie *Candida shehatae, Cryptococcus albidus* und *Pichia stipitis* sowie Myzelpilze wie *Fusarium oxysporium, Monilia* und *Neurospora crassa* bauen Xylan zu Xylose ab und verwerten Pentosen.

Das extrazelluläre Xylanasesystem besteht aus mehreren Enzymen, die das Polysaccharid in Xylobiose hydrolysieren und Acetat abspalten. Xylobiose wird nach Aufnahme in die Zelle über *D*-Xylose und *D*-Xylulose im Pentosephosphat-Weg abgebaut.

4.4.4.4 Abbau von Pectin

Pectine sind Polygalacturonide, die aus α-1,4-glycosidisch verknüpften *D*-Galacturonsäuren aufgebaut sind. Einige Carboxylgruppen sind mit Methanol verestert. Pectine sind die Bausteine der Mittellamelle pflanzlicher Gewebe. Viele Bodenbakterien bauen Pectin unter aeroben und anaeroben Bedingungen ab. *Erwinia carotovora* , *Paenibacillus macerans* und *P. polymyxa* gehören zu den aeroben, Clostridien zu den anaeroben Pectinabbauern.

Der Abbau der Polygalacturonide zu Galacturonsäure ist in ◘ Abb. 4.21 gezeigt. Die Depolymerisation erfolgt durch Pectinasen und die nachfolgende Hydrolyse zur Galacturonsäure durch Oligogalacturonidasen. Methanol wird durch Pectinmethylesterase abgespalten. Pectine sind die Quelle dieser C_1-Verbindung in der Natur.

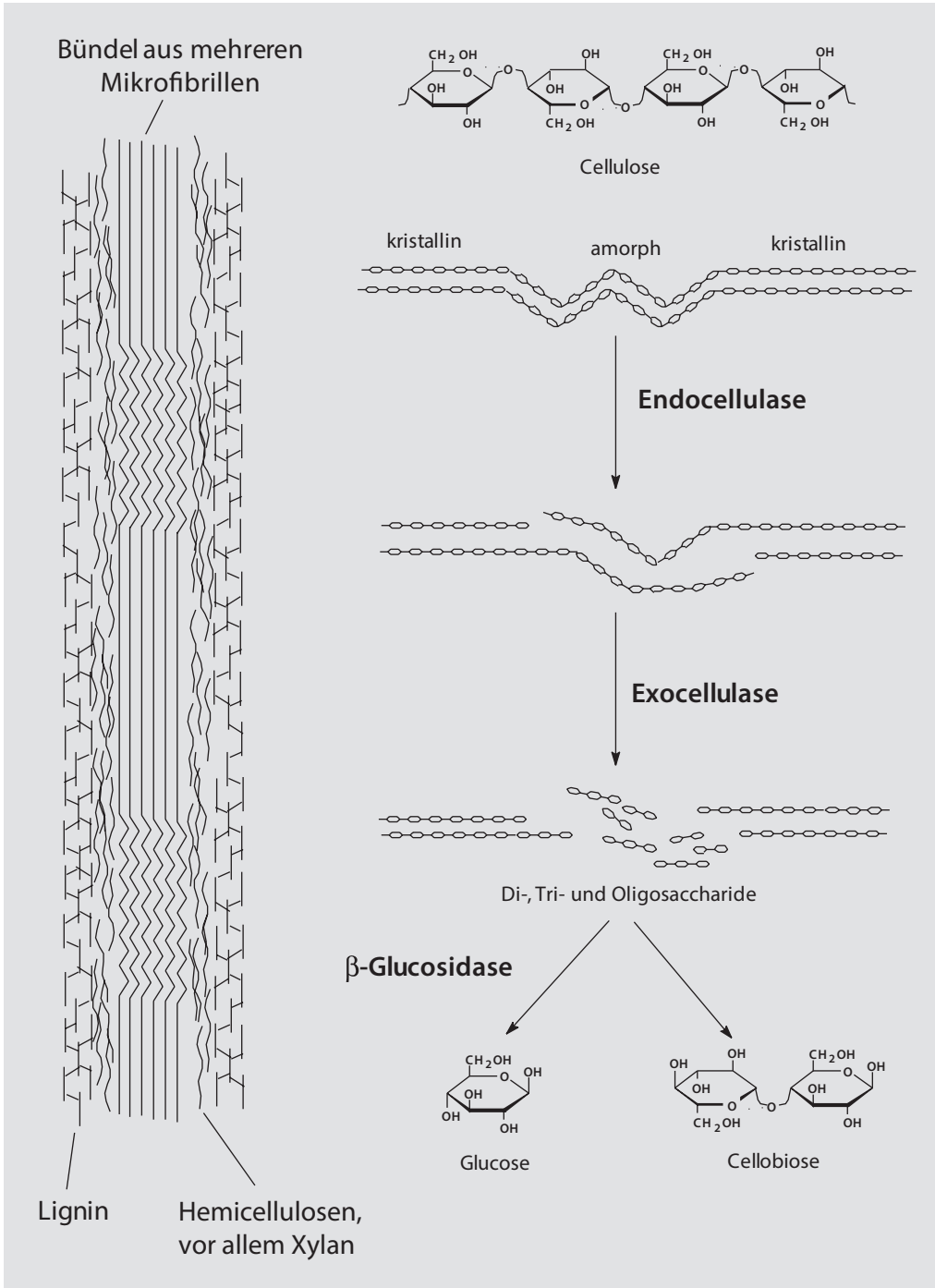


Abb. 4.19 Mikrobieller Celluloseabbau. Die Depolymerisation des Makromoleküls erfolgt schrittweise durch drei extrazelluläre Enzyme zu Glucose

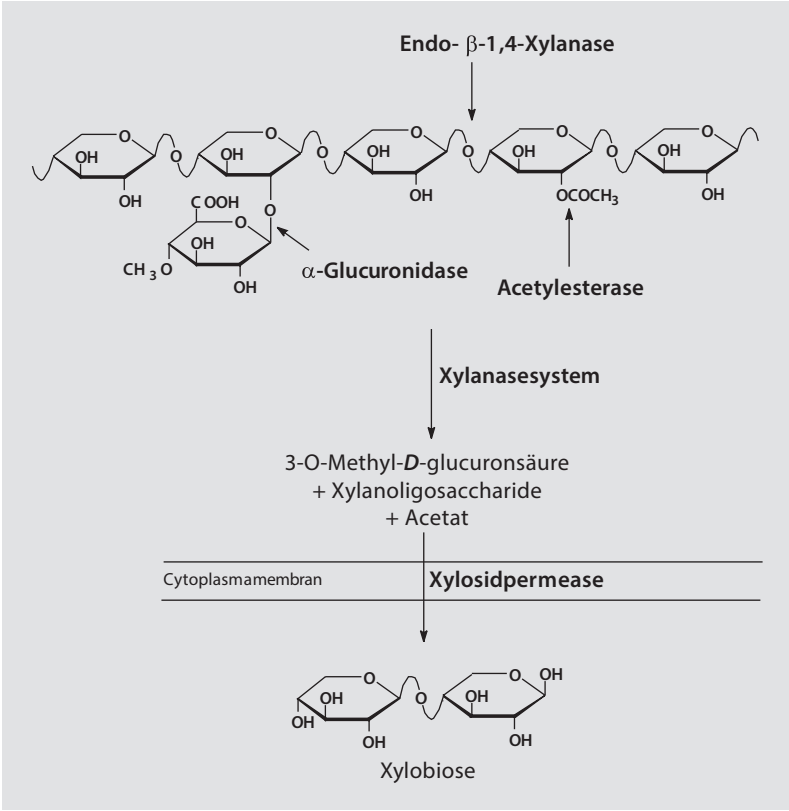


Abb. 4.20 Mikrobieller Xylanabbau

4.4.4.5 Abbau von Lignin

Lignin ist nicht nur Bestandteil des Holzes, sondern auch der Zellwände fast aller Landpflanzen. Es inkrustiert in den Zellwänden die Cellulose- und Hemicellulosestrukturen. Dadurch kommt die hohe Stabilität und Elastizität der Pflanzen zustande. Außerdem ist es die Struktur, die die Pflanzen vor dem schnellen mikrobiellen Angriff schützt, da es schwer abbaubar ist. Lignin ist ein dreidimensionales heterogenes Polymer, das aus **Phenylpropanbausteinen** aufgebaut ist, welche in vielfältiger Weise durch Ether- und C–C-Bindungen miteinander vernetzt sind (Abb. 4.16). Diese Bindungen und die irreguläre Anordnung bedingen die schwere Abbaubarkeit.

Lignin wird vor allem durch **Weißfäulepilze** abgebaut, die zurückbleibende Cellulose bewirkt das helle Aussehen des befallenen Holzes. Gut untersuchte Weißfäulepilze sind neben *Phanerochaete chrysosporium* der Schmetterlingsporling *Trametes versicolor* , der Kammpilz *Phlebia radiata* und der Austernseitling *Pleurotus ostreatus* . Aber auch Streuabbauer wie die Träuschlinge (zum Beispiel *Stropharia rugosa-annulata*) besitzen Enzyme zum Ligninabbau. Beim Holzabbau spielen drei Enzyme eine wesentliche Rolle, die **Lignin-Peroxidase**, die **Mangan-abhängige-Peroxidase** und die **Laccase**. Bei einigen Pilzen wurden die genannten Enzyme mit mehreren Isoenzymen nachgewiesen, bei anderen nur eine der Peroxidasen. Sehr verbreitet sind die Laccasen, unspezifisch wirkende Polyphenoloxidasen. Das Zusammenwirken von Peroxidasen und Laccasen ist unzureichend geklärt.

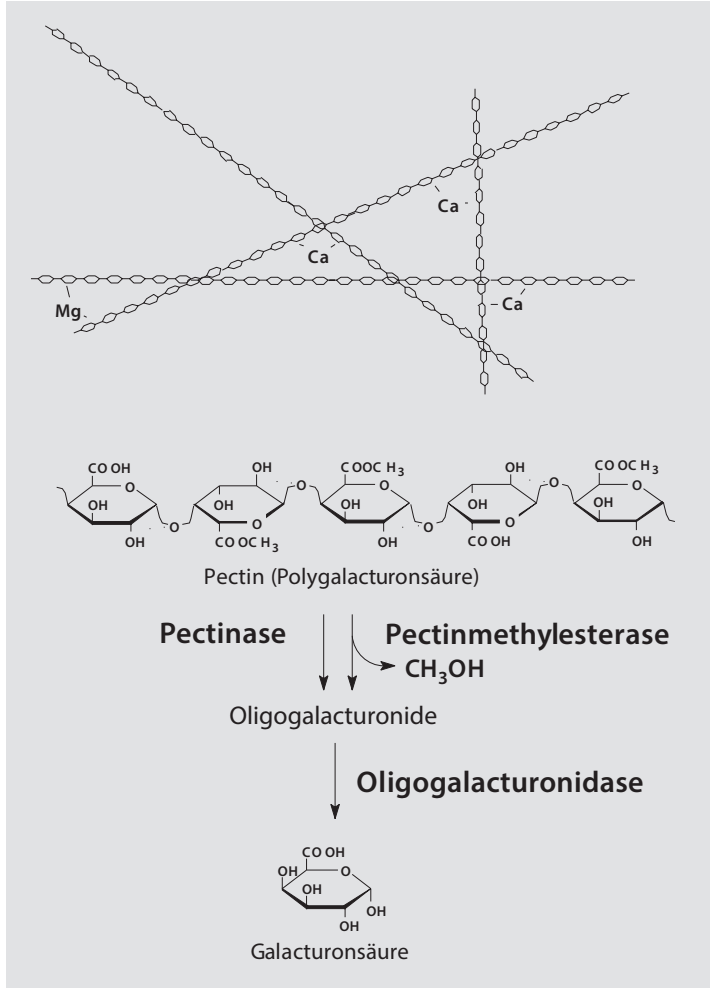


Abb. 4.21 Mikrobieller Pectinabbau

Die Pilze können Lignin nicht als einzige Kohlenstoff- und Energiequelle nutzen, sondern brauchen ein Wachstumssubstrat, in der Regel die Cellulose. Sie beseitigen die Ligninkrustierung und gelangen so an die Polysaccharide als Substrat. Der Vorgang wird treffend „enzymatische Verbrennung" genannt. In welchem Umfang Abbauprodukte assimiliert werden, ist unklar. Wahrscheinlich führt der Abbau zur Freisetzung von Stickstoffquellen, die im Holz ein das Wachstum limitierendes Substrat sind.

Das für die Peroxidasereaktionen notwendige H_2O_2 wird von verschiedenen Enzymsystemen geliefert. Neben der in Abb. 4.22 genannten Glyoxal-Oxidase können auch Glucose-Oxidase als H_2O_2-Donoren fungieren.

Lignin-Peroxidasen, deren Wirkungsmechanismus in Abb. 4.22 dargestellt ist, sind extrazelluläre Enzyme mit einem pH-Optimum im sauren Bereich. Sie sind potente Oxidationsmittel und entziehen jeweils ein Elektron, wobei ein Kation-Radikal entsteht. Um als starkes Oxidationsmittel wirken zu können, wird der

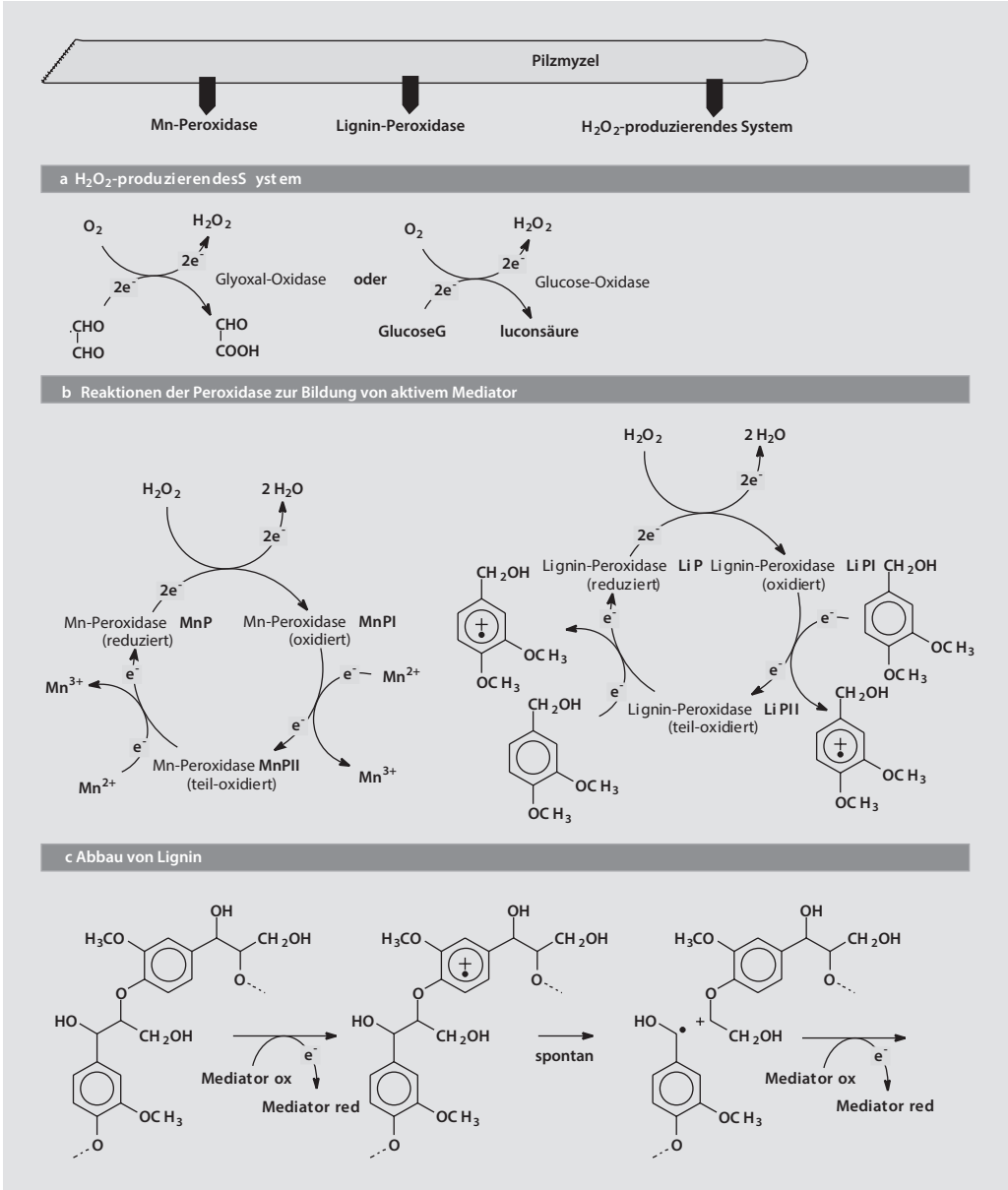


Abb. 4.22 Ligninabbau durch das Peroxidasesystem. *Oberer Teil:* H_2O_2-erzeugendes System. *Mittlerer Teil:* Bildung eines Kation-Radikals des Mediators oder Mn^{3+}-Bildung durch Entzug eines Elektrons. Die Lignin-Peroxidase oxidiert Veratrylalkohol zum Veratrylalkohol-Kationradikal. *Unterer Teil:* Mediatorvermittelter Abbau von nativem Lignin

prosthetischen Gruppe des Protoporphyrinsystems der Lignin-Peroxidase durch das H_2O_2 zunächst zwei Elektronen entzogen. Der Kreis schließt sich, indem in Verbindung mit dem Wertigkeitswechsel des Eisens durch zweimaligen Entzug eines Elektrons

aus Donormolekülen des Lignins oder anderer Substrate wieder aufgefüllt wird.

Beim Abbau des Lignins ist ein Mediatorsystem notwendig, da das große Lignin-peroxidase-Molekül nicht direkt mit dem Ligninnetzwerk in Kontakt treten kann. Die Peroxidase oxidiert **Mediatoren** wie Veratrylalkohol zum Veratrylalkohol-Kation-Radikal, das mit dem Lignin reagiert. Veratrylalkohol ist ein Sekundärmetabolit der Pilze, der aber auch beim Ligninabbau anfällt. Welche weiteren Mediatormoleküle in der Natur eine Rolle spielen, ist unzureichend untersucht. Die Einschaltung von Mediatoren erklärt die scheinbare Unspezifität der Lignin-Peroxidase, ihr eigentliches Substrat ist H_2O_2, die Art der Substrate, denen Elektronen entzogen werden, ist unspezifisch.

Die **Mangan-Peroxidase** (Mn-II-Peroxidase) ist ebenfalls ein Hämoprotein, ihre Aktivität ist von H_2O_2 und Mangan abhängig. Der Wirkungsmechanismus ist ähnlich wie der der Lignin-Peroxidase. Beim Wertigkeitswechsel des Eisens im Protoporphyrin fungiert zweiwertiges Mangan als zu oxidierendes Agens. Das entstandene dreiwertige Mangan bildet mit organischen Säuren wie Malonat oder Oxalat Chelatkomplexe, die in das Ligningerüst diffundieren und phenolischen Strukturen Elektronen entziehen. In diesem Falle wirken also die Mangankomplexe als Mediatoren des Elektronentransfers. Durch die Mangan-Peroxidase werden vor allem phenolische Strukturen angegriffen, während die Lignin-Peroxidase auch die nicht phenolischen methoxylierten aromatischen Strukturen oxidiert. Die Mn-Peroxidase ist bei Pilzen sehr verbreitet und vermag auch eine Vielzahl von Xenobiotika zu oxidieren.

Die folgenden Reaktionen laufen im Lignin ab: Bei dem Entzug eines Elektrons aus den aromatischen Kernen des Lignins entstehen instabile Radikale. Diese führen zur Spaltung der Arylseitenketten zwischen den α-β-Atomen, aber auch zur Spaltung der Etherbrücken und des aromatischen Ringes sowie zur Hydroxylierung.

4.4.4.6 Humifizierung

Für den Vorgang der **Humifizierung** ist ein fortgeschrittener mikrobieller Abbau der pflanzlichen Substanzen erforderlich, damit reaktionsfähige Abbauprodukte wie Monosaccharide aus Kohlenhydraten, Peptide und Aminosäuren aus Proteinen sowie phenolische Stoffe aus Zellwandbestandteilen vorliegen. In einem solchen Stoffgemisch erfolgt dann eine Polymerisation der Monosaccharide, zyklischen Aminosäuren und Phenole zu hochpolymeren Huminstoffen als Mischpolymerisate. Das Prinzip der bis heute noch weitgehend unbekannten Huminstoffbildung beruht auf der Verknüpfung bereits in Pflanzen vorhandener zyklischer Grundsubstanzen wie Lignine, Farb- und Gerbstoffe oder der durch Zyklisierung linearer Spaltprodukte entstandenen Ringverbindungen.

Es lassen sich verschiedene Abschnitte der Biogenese unterscheiden (◘ Abb. 4.23): In der metabolischen Phase erfolgt ein partieller mikrobieller Abbau hoch- und höhermolekularer Substanzen. Hier entsteht das humifizierbare Material. Es beginnt mit den aromatischen Naturstoffen aus Pflanzen eine einleitende Phase der Humifizierung. Unter Bildung von Radikalen setzt die Genese der Huminsäurevorstufen ein. Eine Aufnahme von nicht-aromatischen Ausgangsstoffen ist in der Konformationsphase festzustellen. Die nicht-aromatischen Ausgangsstoffe stammen aus Kohlenhydraten, Fetten und Proteinen.

Die Phase der Bildung eines Huminstoffsystems lässt sich bisher nur anhand von Modellreaktionen beschreiben: Zu diesen Modell-Huminstoffsynthesen gehören die Autoxidation verschiedener Phenole zu Radikalen und deren Reaktionen sowie die aus der Lebensmittelchemie bekannte **Maillard-Reaktion**. Am Beispiel des Hydrochinons

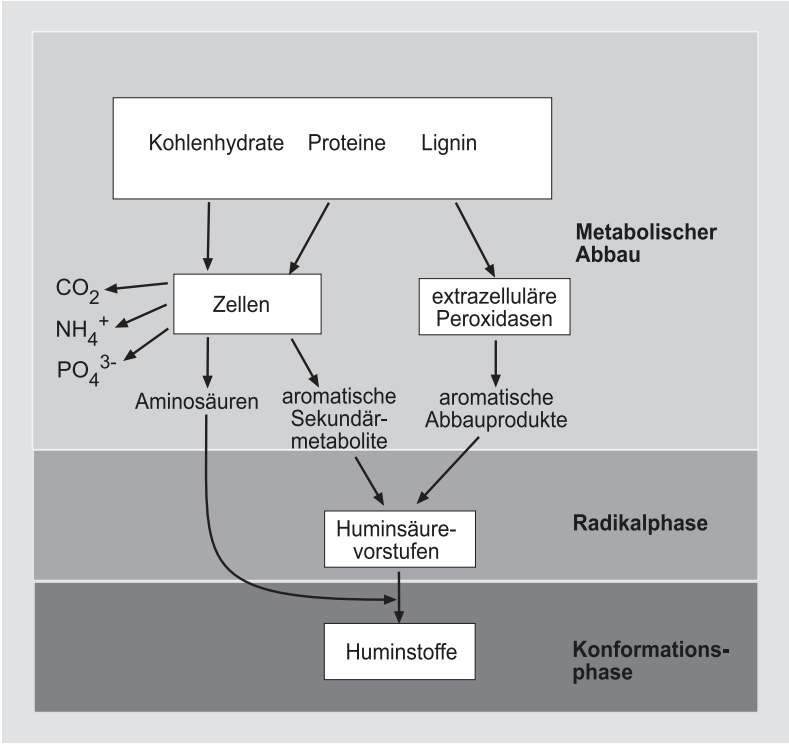


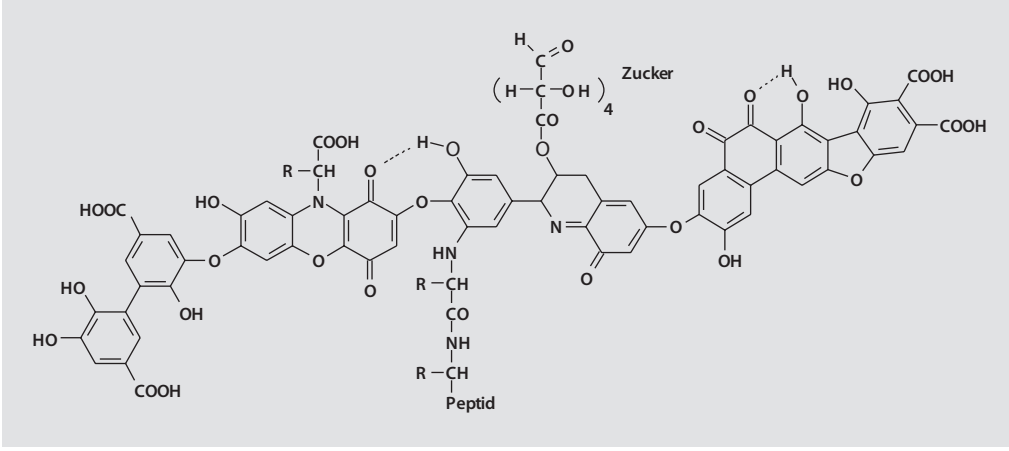
Abb. 4.23 Abschnitte der Huminstoffsynthese

konnte gezeigt werden, dass dieses Phenol in alkalischer Lösung in Gegenwart von Sauerstoff eine Autoxidation erfährt, die zur Bildung intensiv braungefärbter, uneinheitlicher Produkte mit huminstoffähnlichen Eigenschaften führt. Auch die Bräunungsreaktion, als Maillard-Reaktion bezeichnet, die bei der Umsetzung reduzierender Zucker mit Aminosäuren zu beobachten ist, ergibt huminstoffähnliche Produkte. In der ersten Bildungsphase des Huminstoffsystems werden außerdem auch zahlreiche stabile Komplexe der Huminstoffe (beziehungsweise von Huminstoffvorstufen) mit Nichthuminstoffen wie den Phenolen, Kohlenhydraten und Aminosäuren, aber auch mit polycyclischen Kohlenwasserstoffen, Steroiden und Proteinen festgestellt. Eine begriffliche Abgrenzung der Huminstoffe von den Nichthuminstoffen ist wie folgt möglich: Zu den Nichthuminstoffen gehören alle Stoffe aus abgestorbenen Pflanzen oder Tieren, die im Stadium des biologischen und abiologischen Abbaus und auch der Transformation auftreten. Zu den Huminstoffen werden diejenigen Produkte gerechnet, die als Umwandlungs- und Aufbauprodukte abiologisch synthetisiert worden sind.

Die Huminstoffsynthese ist geprägt von einer unübersehbaren Vielfalt an Reaktionspartnern und keiner Dominanz irgendeines Reaktionsmechanismus. Aufgrund dieser Tatsache lassen sich für Huminstoffe keine definierte Strukturformel und auch kein einheitliches Bauprinzip angeben. Dennoch wird immer wieder versucht, eine Struktur für Huminstoffe darzustellen. Die Elementaranalyse von Huminstoffen ergibt C, O, H

und N mit durchschnittlich 54/33/4,5/2,7 % als Hauptelemente, wobei Stickstoff nicht als obligates Element für Huminstoffe gilt. Die wichtigsten funktionellen Gruppen von Huminstoffen sind Carboxy-, Carbonyl-, Amino-, Imino-, Methoxy- und Hydroxylgruppen. Daneben enthalten Huminstoffe aber auch größere hydrophobe (Innen-) Bereiche. Die relativen Molekülmassen von Huminstoffen schwanken zwischen 1000 und in Extremfällen 500.000 g/mol. Vereinfacht sind es hochmolekulare Hydroxy- und Polyhydroxycarbonsäuren, die über verschiedene kovalente Bindungen (zum Beispiel C-C-, Sauerstoff- oder C-N-Bindungen) miteinander verknüpft oder durch Wasserstoffbrückenbindungen, Charge-Transfer-Beziehungen oder VAN-DER-WAALS-Kräfte verbunden sein können. In der hypothetischen Struktur sind aromatische Kerne, Carboxy- und Hydroxylgruppen sowie Peptid- und Kohlenhydratseitenketten berücksichtigt. Aufgrund des ständig erfolgenden Auf-, Um- und Abbaus in abiologischen und auch biologischen Prozessen kann auch eine hypothetische Struktur nur einem vorübergehendem Zustand nahekommen. Die wichtigsten Bauelemente der Huminstoffe sind im hypothetischen Huminsäuremolekül dargestellt (◘ Abb. 4.24).

Huminstoffe weisen stets einen sauren Charakter auf. Das unterschiedliche Lösungsverhalten einzelner Huminstofffraktionen führt zur Einteilung in die drei Gruppen der Fulvosäuren, Huminsäuren und Humine. Die Unterschiede in der Löslichkeit sind korreliert mit unterschiedlichen chemischen Eigenschaften der Huminsäuren und Fulvosäuren. So besitzen die gelb bis rotbraunen Fulvosäuren eine hohe Acidität, während die braun bis schwarzen Huminsäuren nur mittelstark sauer sind. Die schwarzen Humine, die in Bezug auf die Bodeneigenschaften nur eine untergeordnete Rolle spielen, sind schwach sauer. Die Fulvosäuren besitzen im Gegensatz zu den Huminsäuren außerdem viele



◘ **Abb. 4.24** Hypothetisches Huminsäuremolekül. Entscheidend für die Reaktionsfähigkeit sind die randständigen funktionellen Hydroxyl- und Carboxylgruppen

Carbonylgruppen. Auf der anderen Seite verfügen die Huminsäuren über einen höheren aromatischen Anteil.

Die Humifizierung ist wichtig für die Fruchtbarkeit des Bodens, die Bildung von Kompost (► Abschn. 17.2) sowie die Festlegung von Schadstoffen wie TNT und PAK (► Abschn. 6.3).

4.5 Methankreislauf/ methanogene Nahrungskette/ Methanotrophie

4.5.1 Methanbildung

Methan ist von mikrobieller oder thermogener Herkunft und ist der am meisten vorkommende und chemisch stabilste Kohlenwasserstoff. Die mikrobielle Herkunft wird normalerweise anhand des niedrigen $^{13}C/^{12}C$ Verhältnisses und des Fehlens anderer gasförmiger Kohlenwasserstoffe (Ethan, Propan, Butan) deutlich. Thermogenes Methan (wie andere thermogene Kohlenwasserstoffe) entsteht entweder durch chemische Transformationen (Catagenese, Metagenese) von vergrabenem organischen Kohlenstoff oder durch Reaktion von Wasser, Eisen(II)-enthaltenden Gestein und CO_2 bei mehreren hundert Grad Celsius. Große Lager an Methanhydraten – eisähnliche Mischkristalle der Zusammensetzung $(CH_4)_9 \bullet (H_2O)_{46}$ oder $(CH_4)_{24} \bullet (H_2O)_{136}$, aus Methan verdichtet in einer Hydratstruktur, die Dissoziation von 1 m^3 Methanhydrat führt zu 0,8 m^3 Wasser und etwa 170 m^3 Methangas – mit einer Masse, die die konventionellen, fossilen Brennstofflager um den Faktor zwei übersteigen, sind in den tiefen, sulfatfreien Zonen der Meeressedimente vergraben.

Die Methanbildung ist für die Umweltmikrobiologie unter verschiedenen Aspekten von besonderer Bedeutung. Methan, das zu etwa 15 % zum Treibhauseffekt beiträgt, stammt zum überwiegenden Teil aus mikrobiellen Prozessen. Zweitens ist Methan die Hauptkomponente des Biogases als Energiequelle aus Abfällen (Klärschlamm) und regenerierbaren Rohstoffen (siehe ► Kap. 14).

Das in die Atmosphäre entweichende Methan (Größenordnung von $535 \bullet 10^6$ t/Jahr) stammt zu einem Großteil aus biogenen Prozessen. Die Hauptquelle sind die im Pansen der Wiederkäuer ablaufenden Prozesse ($85 \bullet 10^6$ t), der Reisanbau auf zeitweilig überfluteten Feldern ($60 \bullet 10^6$ t) sowie Sümpfe, Seen und Moore ($115 \bullet 10^6$ t). Die anthropogen bedingte Zunahme an Methan geht auf die in den letzten Jahrzehnten ver-

Huminstoffe als Elektronenakzeptoren

Huminstoffe sind normalerweise gegenüber dem mikrobiellen Stoffwechsel resistent. Obwohl sich ein genaues $E^{0'}$ für natürliche Huminstoffe nicht messen lässt, da sie undefinierte komplexe Mischungen sind, besitzen modellhafte niedermolekulare Huminverbindungen wie Fulvinsäure ein $E^{0'}$ von etwa +500 mV, was anzeigt, dass Huminstoffe im Allgemeinen gute Elektronenakzeptoren sein sollten. Tatsächlich hat man nachgewiesen, dass Huminstoffe als Elektronenakzeptoren für die anaerobe Oxidation organischer Verbindungen und von H_2 verwendet werden, dabei Energie liefern und das Wachstum unterstützen. Das Bakterium *Geobacter metallireducens* zum Beispiel wächst anaerob mit Acetat oder H_2 als Elektronendonor und Huminen als Elektronenakzeptoren.

Die Verwendung von **Huminen als Elektronenakzeptoren** weist auf eine bisher nicht vermutete geochemische Rolle dieser Substanzen hin. Dies ist von besonderer Bedeutung, da bekannt ist, dass reduzierte Humine chemisch mit Metallen wie Fe^{3+} und verschiedenen organischen Verbindungen reagieren können und diese Substanzen dabei für den Transport durch wassergetränkte Böden oder in das Grundwasser mobilisieren.

doppelte Rinderhaltung und den erweiterten Reisanbau zurück.

Die Methanbildung erfolgt in einer Nahrungskette, an der **Gärer** und zwei weitere Gruppen von Mikroorganismen beteiligt sind, die **Acetogenen** und die **Methanogenen**.

Die Methanogenese wird von einer Gruppe von Archaea durchgeführt, den **Methanogenen,** die streng anaerob sind. Die meisten Methanogene verwenden **CO_2 als terminalen Elektronenakzeptor bei der anaeroben Atmung (Carbonatatmung)** und reduzieren es mit H_2 zu Methan. Nur wenige andere Substrate, darunter hauptsächlich Acetat, können von Methanogenen direkt in Methan umgewandelt werden. Für die Umwandlung der meisten anderen organischen Verbindungen zu CH_4 müssen Methanogene daher mit Partnerorganismen zusammengehen, die sie mit den von ihnen geforderten Substraten versorgen. Dies ist die Aufgabe der **Syntrophen**, die eine große Bedeutung für den gesamten anoxischen Kohlenstoffkreislauf haben. Substanzen mit großer Molekülmasse, wie Polysaccharide, Proteine und Fette, werden durch die kooperative Interaktion mehrerer physiologischer Prokaryotengruppen zu CH_4 und CO_2 umgewandelt.

Für den Abbau eines typischen Polysaccharids, wie zum Beispiel Cellulose, beginnt der Prozess mit **cellulolytischen Bakterien**, die das hochmolekulare Cellulosemolekül in Cellobiose (Glucose-Glucose) und in freie Glucose spalten. Glucose wird daraufhin von **Primärgärern**, den Acidogenen, in eine Vielzahl von Gärungsprodukten umgewandelt, von denen Acetat, Propionat, Butyrat, Succinat, Alkohole, H_2 und CO_2 die wichtigsten sind. Das gesamte in den primären Gärungsprozessen produzierte H_2 wird sofort von Methanogenen, Homoacetogenen oder sulfatreduzierenden Bakterien verbraucht (in Umgebungen, die ausreichende Mengen an Sulfat enthalten).

Ein niedriger Wasserstoff-Partialdruck ($<10^{-4}$ bar) erlaubt es, dass Elektronen auf dem Redoxpotenzial von NADH (−320 mV) als molekularer Wasserstoff freigesetzt werden und dass das Fermentationsmuster sich zu einer höheren Produktion von Acetat, CO_2 und Wasserstoff im Vergleich zu der Ethanol- oder Butyratbildung ändern kann. Dies ermöglicht die zusätzliche ATP-Synthese durch Substratstufen-Phosphorylierung, gegenübergestellt der Produktion von reduzierten Fermentationsprodukten (Ethanol, Lactat und Butyrat). Auf diese Weise profitieren die Gärer von den wasserstoffoxidierenden Partnern, sie sind aber nicht von dieser Zusammenarbeit abhängig.

Als **sekundäre Gärer** oxidieren die Syntrophen Fettsäuren und produzieren H_2. *Syntrophomonas wolfei* zum Beispiel oxidiert C_4- bis C_8-Fettsäuren und erzeugt dabei Acetat, CO_2 wenn die Fettsäure eine ungerade Anzahl an Kohlenstoffatomen enthielt und H_2. Andere Arten von *Syntrophomonas* verwenden Fettsäuren bis zu C_8, einschließlich einiger ungesättigter Fettsäuren. *Syntrophobacter wolinii* ist auf die Propionatoxidation spezialisiert und erzeugt Acetat, CO_2 und H_2. Diese Reaktionen erlauben aber Wachstum der Syntrophen nur in Cokultur mit einem H_2-verbrauchenden Partner.

In einem ausgeglichenen anoxischen Sediment, in welchem die aktive wasserstoffverbrauchende Population einen niedrigen Wasserstoff-Partialdruck einhält, geht der Fluss von Kohlenstoff und Elektronen fast ausschließlich durch die „äußeren" Wege des Schemas (◘ Abb. 4.25) Deshalb spielen die reduzierten Fermentationsprodukte eine untergeordnete Rolle. Trotz alledem werden die „zentralen" Wege niemals auf Null heruntergehen, weil langkettige und verzweigtkettige Fettsäuren und andere Produkte immer bei der Gärung von Lipiden und Aminosäuren auftreten. Die reduzierten Intermediate der zentralen Wege werden wichtiger, wenn der Wasserstoffvorrat aus irgendwelchen Gründen ansteigt, wie zum Beispiel bei erhöhter Zufuhr von vergärbaren Substraten oder Hemmung der hydrogenotrophen Methanogene aufgrund des Abfalls des pH-Wertes (<6,0) oder der Gegenwart von toxischen Substanzen. Unter solchen

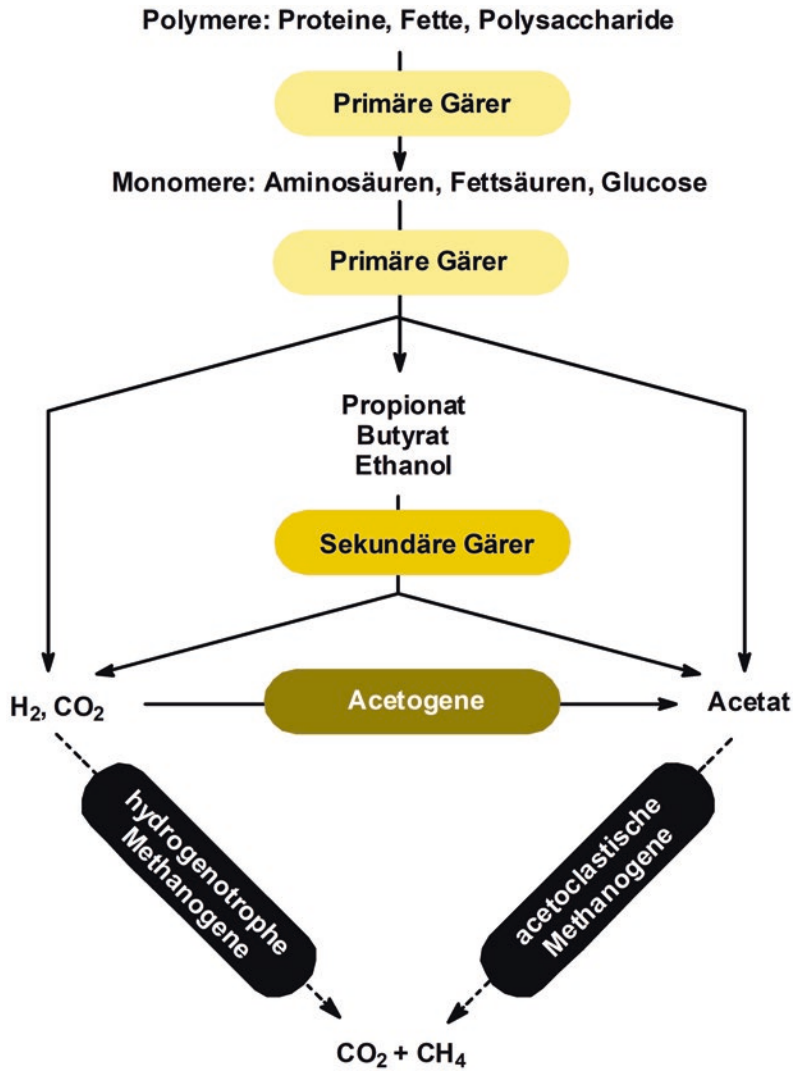


Abb. 4.25 Stoffffluss beim methanogenen Abbau von komplexem organischem Material. Die Gruppen der Prokaryoten sind: 1) Primäre Gärer, 2) wasserstoffoxidierende Methanogene, 3) acetatspaltende Methanogene, 4) Sekundäre Gärer (Syntrophe) und 5) homoacetogene Bakterien

Bedingungen steigt die Menge an Fettsäuren an und kann sogar den pH weiter absinken lassen.

Acetat, das in der methanogenen Nahrungskette ein wesentliches Zwischenprodukt ist, stammt von den primären und sekundären Gärungen, aber auch der Acetogenese. Acetogene Bakterien leben strikt anaerob und bilden eine taxonomisch sehr heterogene Gruppe im Gram-positiven Phylum zum Beispiel mit folgenden Genera: *Acetobacterium, Butyrobacterium, Clostridium* und *Eubacterium.*

Die Funktion der **homoacetogene Bakterien** im Gesamtprozess ist insgesamt weniger gut verstanden. Sie verbinden den Vorrat der C_1-Verbindungen und Wasserstoff mit dem des Acetats. Acetogene synthetisieren Acetat nach der Gesamtreaktion

$$2\,CO_2 + 4\,H_2 \rightarrow CH_3COOH + 2\,H_2O$$
$$\Delta G^{0'} = -95\,kJ/mol\ Acetat$$

Die metabolische Vielseitigkeit der Acetogenen zeigt sich in ihrer Fähigkeit, auch Zucker zu fermentieren.

In gewissen Habitaten, zum Beispiel bei niedrigem pH oder bei niedriger Temperatur, können sie erfolgreich mit den hydrogenotrophen Methanogenen konkurrieren und deren Funktion zu einem gewissen Anteil übernehmen.

Die Bildung des Acetats ist in ◘ Abb. 4.26 im Detail gezeigt. Die Bildung der Methylgruppe aus CO_2 erfordert drei Zwei-Elektronen-Reduktionen, wobei Formiat und Formaldehyd als Intermediate gesehen werden. Aufgrund der hohen Reaktivität ist Formaldehyd toxisch und wird deshalb normalerweise in der Zelle als N^5,N^{10}-Methylentetrahydrofolat gehandhabt. Fünf Enzyme sind für die Umwandlung von CO_2 zum N^5-Methylentetrahydrofolat notwendig. Die weitere Umsetzung erfolgt durch die äußerst sauerstoffempfindliche Acetyl-CoA-Synthase, einem komplexen Enzym mit den folgenden Einzelfunktionen: 1) einer cobalaminabhängigen Methyltransferase (Methylform von Vitamin B12), welche die Methylgruppe vom Tetrahydrofolat übernimmt, 2) eine Nickel- und [4Fe-4S]-enthaltende CO-Dehydrogenase, welche CO durch Reduktion von CO_2 bereitstellt, und 3) eine Nickel- und [4Fe-4S]-enthaltende Carbonylase. Die Energie des gebildeten Acetyl-CoA kann dann in Form von ATP gespeichert werden, es entsteht Acetat.

Unter Standardbedingungen wird bei der Bildung von Acetat aus CO_2 und H_2 genügend Energie bereitgestellt, um 1 mol ATP/mol Acetat zu erzeugen. In der Umwelt sind die Acetogenen jedoch mit einer sehr viel niedrigeren H_2-Konzentration konfrontiert. Da 4 mol H_2 für 1 mol Acetat notwendig sind, fällt die Änderung der Gibbsschen Energie dramatisch mit sinkender H_2-Konzentration:

$$\Delta G' = \Delta G^{0'} + RT \ln [Acetat]/[CO_2]^2\,[H_2]^4$$

Somit ergeben sich unter diesen Bedingungen ($[H_2] = 100$ Pa (äquivalent zu 1 mM), $[CO_2] = 10^5$ Pa (äquivalent zu 1 M) und [Acetat] = 1 M) nur

$$\Delta G' = -95 + RT \ln 10^{-12}\,kJ/mol$$
$$= -27\,kJ/mol\ Acetat.$$

Diese Energieausbeute reicht jedoch nicht aus, um 1 mol ATP/mol Acetat zu erzeugen, für welches mindestens −70 kJ notwendig sind. Diese Betrachtung macht deutlich, dass Substratstufen-Phosphorylierung unmöglich ist. Zudem wird das ATP, welches sich aus dem Acetyl-CoA herstellen lässt, schon bei der Aktivierung des Formiats verbraucht. Infolgedessen ist mit CO_2 als Substrat die Elektronentransport-Phosphorylierung (das heißt anaerobe Atmung) der einzige Weg der Energiespeicherung. So findet man bei *Clostridium thermoaceticum* auch Cytochrom b und es wurde H^+ als Ion für die Elektronentransport-Phosphorylierung nachgewiesen. Na^+ ist das entsprechende Ion in *Acetobacterium woodii,* in welchem eine Na^+-abhängige ATP-Synthase entdeckt wurde.

Methanogene, die Endglieder der methanogenen Nahrungskette, bilden unter strikt anoxischen Bedingungen CH_4 durch Spaltung von Acetat und durch Reduktion von C_1-Verbindungen. Die C_1-reduzierenden Methanogenen produzieren Methan hauptsächlich aus CO_2/H_2, aber auch aus CO, Formiat, Methanol, Methylaminen und Methylsulfiden.

Methanogene sind nur innerhalb der *Euryarchaeota* gefunden worden. Vertreter der Methanogenen sind durch das Präfix „Methano-" gekennzeichnet: zum Beispiel *Methanobacterium, Methanococcus, Methanomicrobium, Methanospirillum* und *Methanothermus.*

Die Methanogenen sind eine der Gruppen der *Archaea,* die in der Evolution eine eigenständige Entwicklung genommen haben und sich im Aufbau der Zellwand und Zellmembran sowie wichtigen Coenzymen grundlegend von den Eubakterien unterscheiden.

Die methanbildenden Reaktionen kann man in folgende Gruppen einteilen, 1) Reduk-

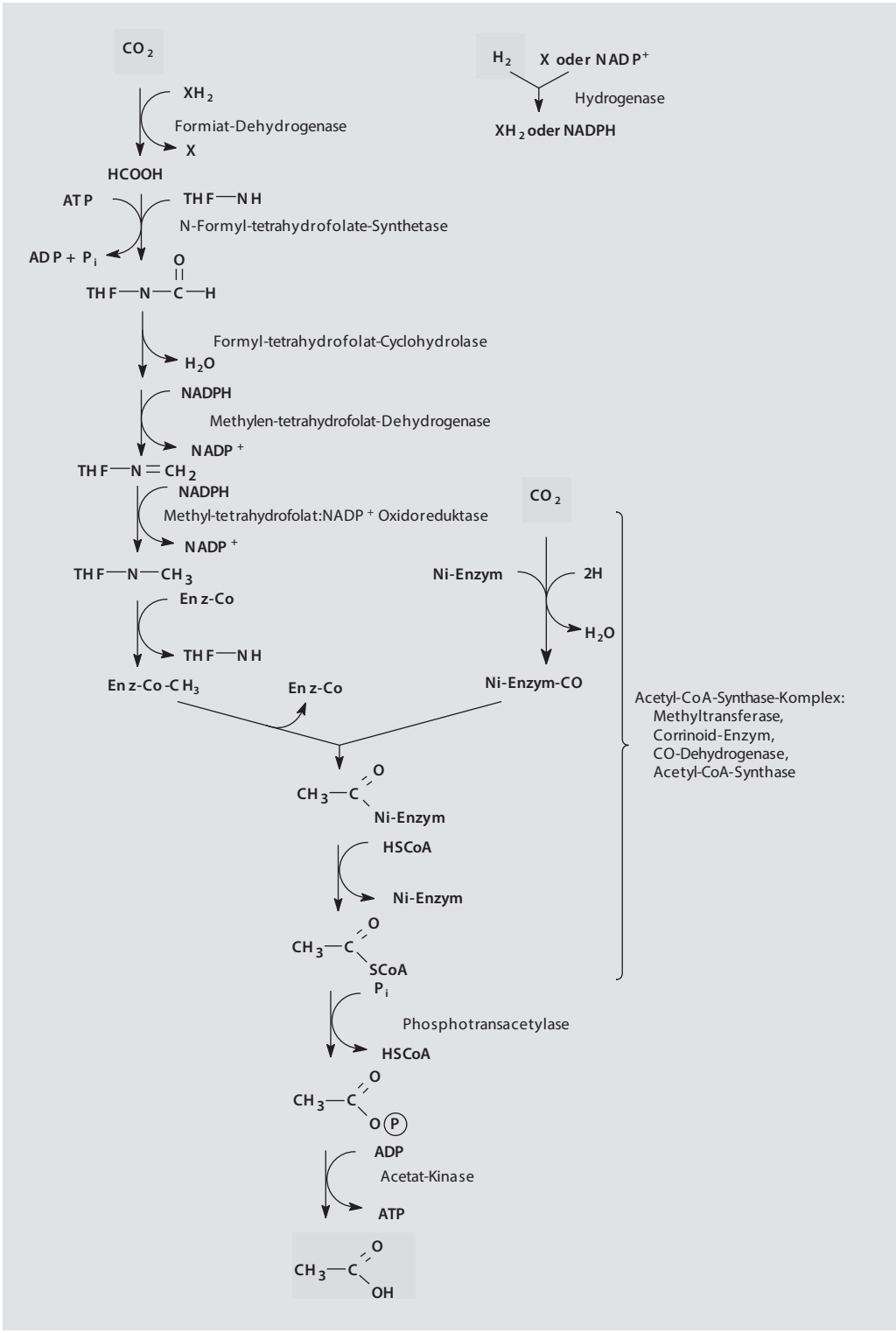


Abb. 4.26 Acetatbildung durch Acetogene

tionen von C_1-Verbindungen mit molekularem Wasserstoff als Elektronendonor, ausgeführt durch die **hydrogenotrophen Methanogenen**, und 2) die scheinbare Decarboxylierung von Acetat, welche in Wirklichkeit eine Disproportionierung ist und durch die **acetoclastischen Methanogenen** durchgeführt wird.

Reduktion von C_1-Verbindungen:

$$CO_2 + 4\,H_2 \rightarrow CH_4 + 2\,H_2O$$
$$\Delta G^{0'} = -131\,\text{kJ/mol}\ CH_4$$

Disproportionierung von Acetat:

$$CH_3COOH \rightarrow CH_4 + CO_2$$
$$\Delta G^{0'} = -36\,\text{kJ/mol}\ CH_4$$

Der Weg der Reduktion von CO_2 zum Methan mit molekularem Wasserstoff wurde in allen Einzelheiten aufgeklärt. Coenzyme, die einzigartig für Archaea sind, fungieren in ihm: Methanofuran, Tetrahydromethanopterin, Coenzym F_{420}, Coenzym M, Coenzym B, 5-Hydroxybenzimidazolylhydroxycobamid und Coenzym F_{430}.

Nur Tetrahydromethanopterin (H_4MPT), Coenzym F_{420} und 5-Hydroxybenzimidazolylhydroxycobamid ähneln Coenzymen der Bakterien und Eukaryota. Tetrahydromethanopterin ist verwandt mit Tetrahydrofolat (H_4F) und hat die gleiche Aufgabe in methanogenen Archaea wie Tetrahydrofolat in den Bakterien und den Eukaryota. Es trägt C_1-Verbindungen (von Formyl- zu Methylresten) und schützt den Organismus vor dem freien, reaktiven Formaldehyd.

Coenzym F_{420} hat vergleichbare Eigenschaften wie NAD^+. Das Redoxpotenzial von Coenzym F_{420} (oxidiert/reduziert) ist jedoch 40 mV negativer als das vom NAD^+/NADH-Paar (−320 mV).

5-Hydroxybenzimidazolylhydroxycobamid ist dem Hydroxycobalamin (Hydroxyform von Vitamin B_{12}) sehr ähnlich, welches in den acetogenen Bakterien vorkommt.

Die Reduktion von CO_2 (Oxidationsgrad +4) zu CH_4 (−4) erfolgt in mehreren Stufen (siehe ◘ Abb. 4.27). Das C-Atom bleibt dabei kovalent an spezielle Einkohlenstoffüberträger gebunden. Zuerst wird CO_2 zur an methanofurangebundenen Formylstufe (+2) reduziert. Die Energiequelle für die CO_2-Aktivierung ist bisher nicht bekannt. Die Formylgruppe wird dann auf Tetrahydromethanopterin (H_4-MPT) übertragen. Der Entzug von Wasser liefert die Methenylgruppe, die zur Methylenstufe reduziert wird (0). Das Coenzym-F_{420} liefert Elektronen von der Hydrogenase. Durch eine weitere Reduktion mit Coenzym-F_{420} entsteht Methyl-H_4MPT (−2), von dem aus die Methylgruppe auf Coenzym M übertragen wird. Das entstandene Methyl-CoM wird dann zu Methan reduziert, dabei dient das Nickel-Porphyrinoid-Coenzym F_{430} als Cofaktor. Das eigentliche Reduktionsmittel ist Coenzym B, das dabei oxidiert wird und mit Coenzym M ein Heterodisulfid bildet. CoM und CoB werden anschließend durch Reduktion des Disulfides mittels der Disulfid-Reduktase zurückgebildet. Die Elektronen stammen vom H_2.

Die Energie wird bei der Methanbildung durch chemiosmotische Kopplung gespeichert. Die Methyl-CoM-Reduktase (MCR) ist mit einer membranständigen H^+-Pumpe gekoppelt, die einen elektrochemischen Potenzialgradienten ausbildet. Ferner sind Na^+-elektrochemische Potenziale an der Energiespeicherung beteiligt. Eine Substratstufen-Phosphorylierung findet in den Methanogenen nicht statt.

Die Bildung von elektrochemischen Ionengradienten ermöglicht es den Organismen ihre Energieausbeuten an variierende Substratkonzentrationen in der Natur anzupassen. Während die Standardbedingungen (10^5 Pa H_2; $\Delta G^{0'} = -131$ kJ/mol CH_4) die Bildung von mehr als 1 mol ATP/mol CH_4 erlauben, liegen in den meisten methanogenen Habitaten die H_2-Konzentrationen im Bereich von 1–10 Pa: Dies bedeutet, dass nur $\Delta G'$-Werte von −22 bis −45 kJ/mol resultieren. Die große Abhängigkeit von den H_2-Konzentrationen rührt von dem Verbrauch von 4 mol H_2/mol CH_4 her.

Die überwiegende Menge des Methans wird in der Natur aus Acetat gebildet. Es wird von den **acetoclastischen Methanogenen** zu Methan umgewandelt. Einzig die beiden

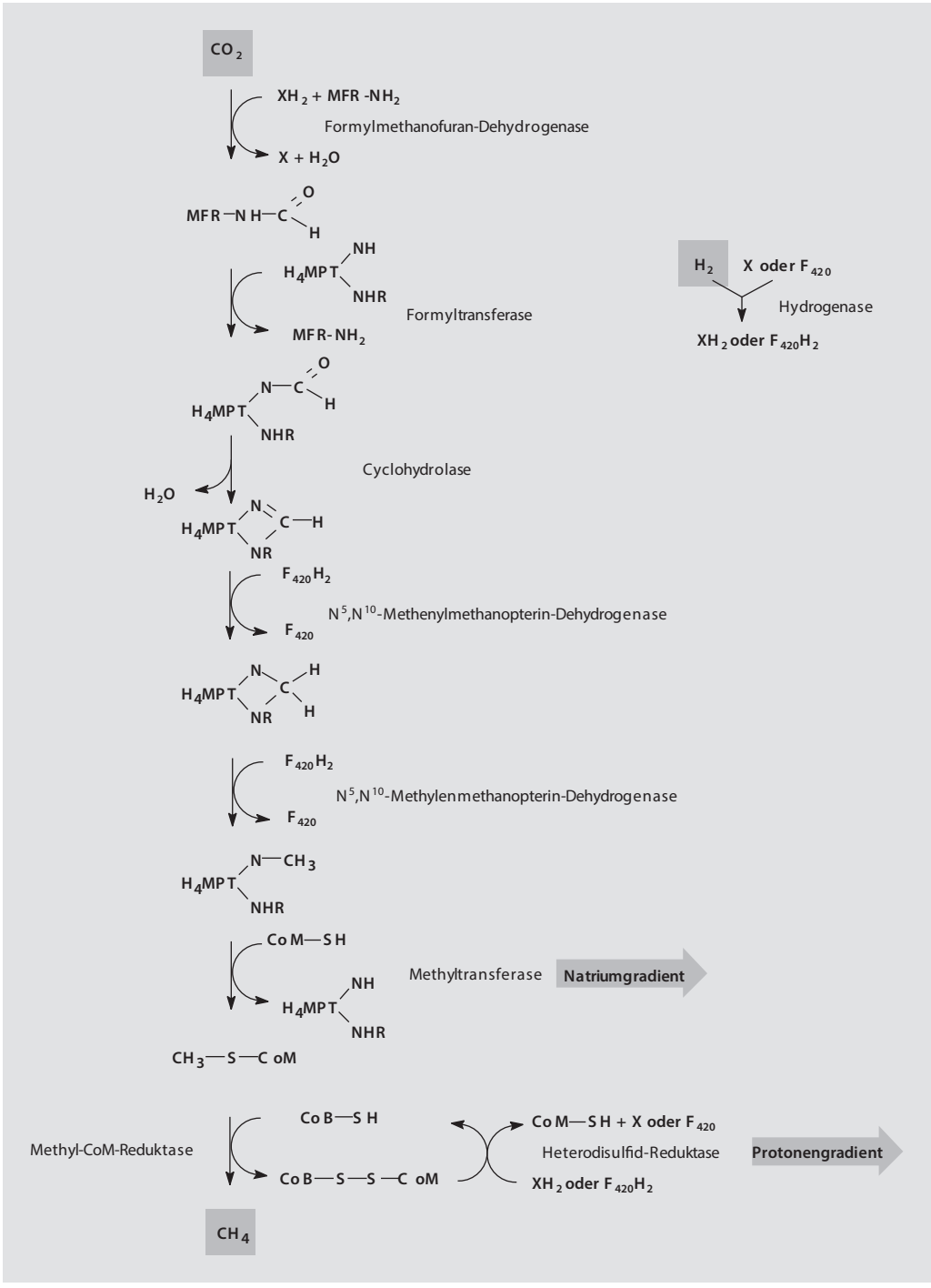


Abb. 4.27 Sequenz der Methanbildung durch hydrogenotrophe Methanogene. (X = unbekannt)

Gattungen *Methanosarcina* und *Methanotrix* zeichnen sich durch die Nutzung von Acetat aus. Insgesamt ist die Disproportionierung von Acetat zu CO_2 und Methan ein interner Redoxprozess. Einleitend wird Acetat zu Acetyl-CoA aktiviert und zwar durch eine gemeinsame Aktivität von Acetat-Kinase und Phosphotransacetylase oder es wird direkt durch eine Acetyl-CoA-Synthetase aktiviert.

$$\text{Acetat} + \text{ATP} + \text{CoASH} \rightarrow \text{Acetyl-CoA} + \text{AMP} + \text{PP}_i$$

Acetyl-CoA wird zu Methyl-H_4MPT und CO decarbonyliert, welches zu CO_2 oxidiert wird. Die gebildeten Reduktionsäquivalente werden für die Erzeugung des Methans im nachfolgenden Weg verwendet. Die CO-Dehydrogenase (oder Acetyl-CoA-Synthase), welche die Decarbonylierung von Acetyl-CoA zum Methyl-H_4MPT, CoASH, und CO sowie die anschließende Oxidation von CO durchführt, ist ein Nickel-Cobalt-Eisen-Enzym ähnlich der Acetyl-CoA-Synthase der acetogenen Bakterien. Der weitere Weg entspricht dem für die hydrogenotrophen Methanogenen gezeigten mit Methyltransferase, Methyl-CoM-Reduktase sowie Heterodisulfid-Reduktase (◘ Abb. 4.28).

Die Menge an Energie, die durch die Disproportionierung von Acetat konserviert wird, ist nicht sehr hoch, da der Großteil des durch die H^+-Translocating ATP-Synthase gebildeten ATP für die Aktivierung des Acetats verbraucht wird. Der Natriumionengradient, der während des Transfers des Methylrestes gebildet wird, leistet einen Beitrag zur ATP-Synthese durch einen Na^+/H^+-Antiporter. Ingesamt können ungefähr 1/3 mol ATP pro mol gebildetes CH_4 konserviert werden. Dies stimmt gut mit dem berechneten Wert der Änderung der Gibbsschen Energie ($\Delta G^{0'} = -30$ kJ/mol) überein.

Die Methanogenese ist der Hauptweg des anaeroben Abbaus von Biomasse in Süßwassersedimenten und Sümpfen. In anaeroben marinen Biotopen, die reich an Sulfat sind, konkurrieren die sulfatreduzierenden Bakterien erfolgreich um die Substrate H_2 und Acetat der Methanogenen.

4.5.2 Methanabbau

Vor allem aus Gewässern und Reisfeldern wird ein beträchtlicher Teil des gebildeten Methans in die Atmosphäre abgegeben. Bei Reispflanzen erfolgt der Transport durch die Gefäße und das Gewebe der Pflanzen. Das in anaeroben Habitaten gebildete Methan steigt gasförmig an die Oberfläche und entweicht entweder in die Atmosphäre oder wird an den aeroben oberen Schichten von Böden und Gewässern durch die methanotrophen Bakterien teilweise verwertet.

Auch aus dem Verdauungstrakt der Wiederkäuer und anderer Tiere (zum Beispiel Termiten) entweicht Methan in die Atmosphäre (◘ Abb. 4.29).

Große Reservoirs von Methanhydraten liegen in tiefen, sulfatfreien Zonen der Meeressedimente begraben. Trotz der permanenten Aufwärtsbewegung und der neuen thermogenen oder mikrobiellen Produktion entweichen nur geringe Mengen des Methans (ungefähr 2 % des globalen Methanhaushalts) aus den marinen Gashydraten und Quellen an den Kontinentalrändern der Ozeane in die Hydrosphäre. Sind für die starke Minimierung der freigesetzten Methanmengen auch mikrobielle Mechanismen verantwortlich, obwohl die Habitate anoxisch sind?

4.5.2.1 Aerober Abbau (Methylotrophie)

Methanotrophe Bakterien stellen eine Gruppe aerober Mikroorganismen dar, die sich auf die Nutzung von C_1-Verbindungen spezialisiert hat. Neben der kleinen, in Böden und Gewässern vertretenen Gruppe der methannutzenden Arten gibt es eine große Gruppe, die oxidierte C_1-Verbindungen wie Methanol, Methylamine, Formiat und Formamid nutzen kann. Sie werden als methylotrophe Arten

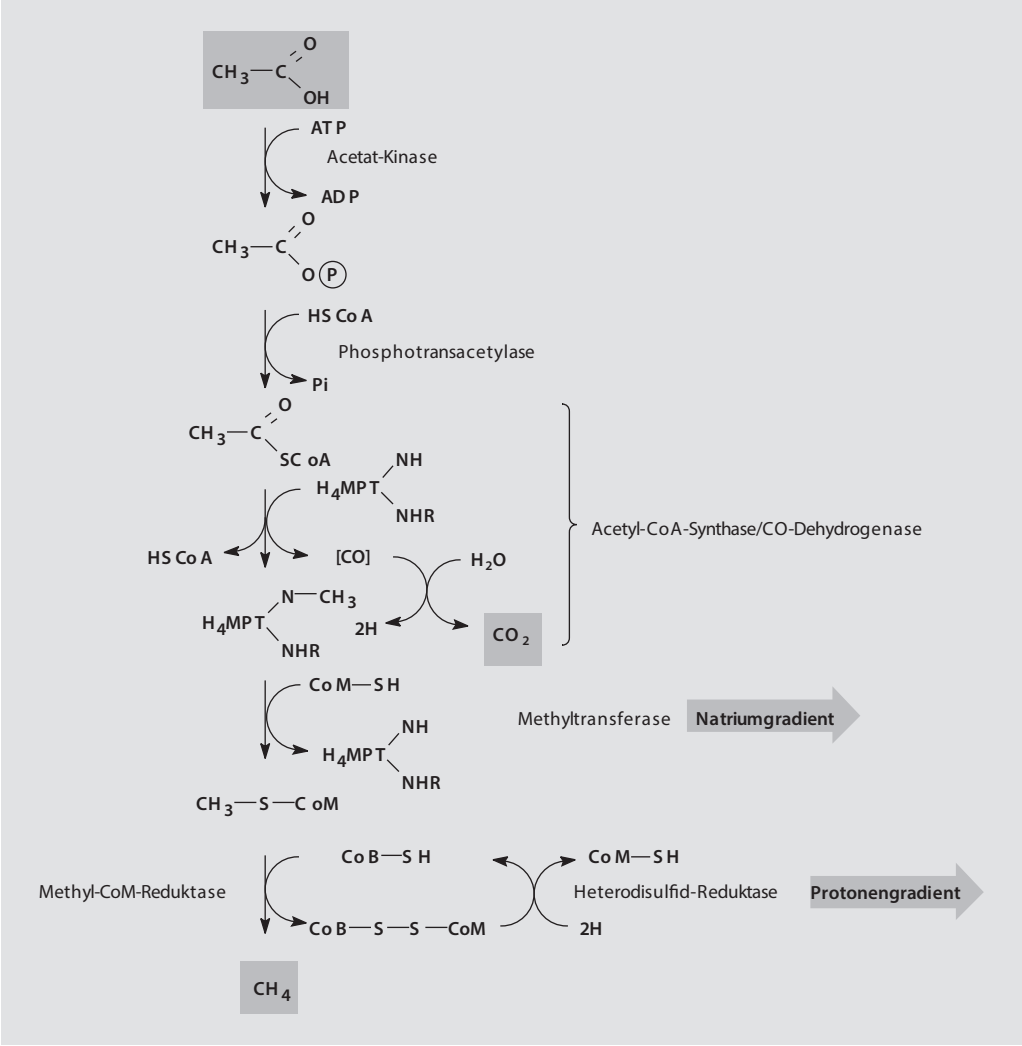


Abb. 4.28 Sequenz der Methanbildung durch acetoclastische Methanogene

bezeichnet, viele Vertreter tragen das Präfix „Methylo-". Methylotroph sind auch einige Hefen wie *Candida boidinii* und *Hansenula polymorpha*. Das erweiterte Substratspektrum ergibt sich aus dem in Abb. 4.30 dargestellten Weg der Energiegewinnung, bei denen einige der genannten Substrate als Zwischenprodukte auftreten. Die methanotrophen sind gegenüber den methylotrophen Arten durch den Besitz einer Methan-Monooxygenase ausgezeichnet. Die Oxidation von Methan zu Methanol erfolgt durch den Einbau eines Atoms des O_2, das zweite wird zu Wasser reduziert.

Die methanotrophen und methylotrophen Mikroorganismen nutzen C_1-Verbindungen als einzige C-Quelle. Die Assimilation erfolgt auf zwei verschiedenen Wegen, dem Serin-Weg und dem Ribulosemonophosphat-Weg. Der in Abb. 4.31 vereinfacht dargestellte Serin-Weg zeigt die Grundreaktionen der Formaldehyd- und CO_2-Assimilation und wird von *Methylocystis* und *Methylosinus* benutzt.

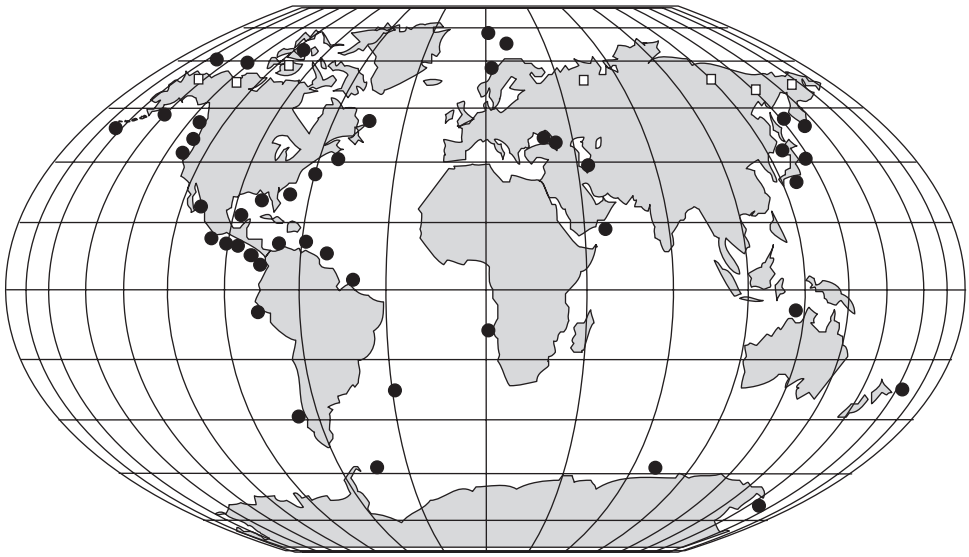


Abb. 4.29 Weltweite Standorte, an denen Proben von Gashydrat entnommen worden sind beziehungsweise ein Zusammentreffen mit seismischen Berichten gegeben ist. Die Bereiche umfassen sowohl das Auftreten an Kontinentalrändern wie auch Permafrostregionen.

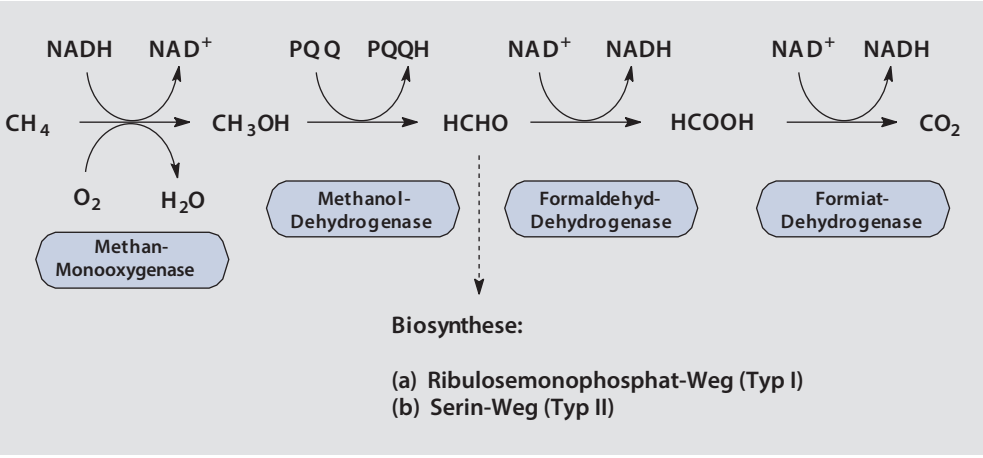


Abb. 4.30 Methan als Kohlenstoff- und Energiequelle, PQQ, Methoxatin (2,7,9-Tricarboxy-1H-pyrrolo(2,3-f-) chinolin-4,5- dion)

Beim Ribulosemonophosphat-Weg wird ähnlich wie beim Calvin-Zyklus eine C_1-Verbindung an eine C_5-Verbindung angelagert. Die C_1-Verbindung ist Formaldehyd, als C_5-Verbindung fungiert Ribulose-5-phosphat, es entsteht Fructose-6-phosphat. Die Summengleichung lautet (Abb. 4.32):

$$3\ \text{Formaldehyd} + \text{ATP} \rightarrow \text{Glycerinaldehyd-3-phosphat} + \text{ADP}$$

Vertreter, die C_1-Verbindungen über diesen Weg assimilieren, sind *Methylobacter, Methylococcus* und *Methylomonas.* Die oben genannten methanolverwertenden Hefen besitzen einen

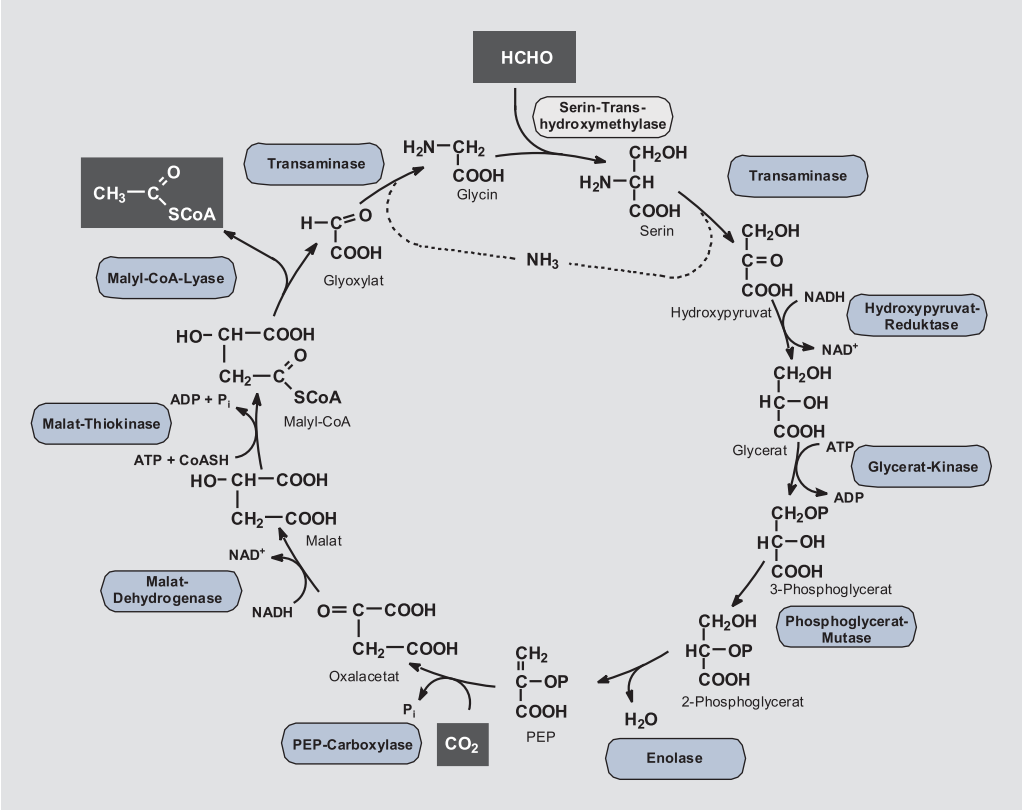


Abb. 4.31 Serin-Weg der Assimilation von Formaldehyd

dem Ribulosemonophosphat-Weg sehr ähnlichen Xylosemonophosphat-Weg.

4.5.2.2 Anaerober Abbau von Methan

Bis vor kurzem glaubte man, dass nur aerobe Bakterien, die Sauerstoff als Elektronenakzeptor sowie als Substrat für die Monooxygenase benutzen, erhebliche Biomasse aus Methan in natürlichen Habitaten bilden können. Eine wachsende Anzahl an Arbeiten macht aber nun deutlich, dass anaerobe Oxidation von Methan (AOM) in methanreichen Sedimenten stattfindet, besonders in Verbindung mit Methanhydratgebieten und Methanquellen wie auch in euxinischen Wassersäulen.

Euxinisches Milieu im Schwarzen Meer

Bei einer schlechten Durchmischung und eingeschränktem Austausch des Bodenwassers, wie es bei weitgehend isolierten Sedimentbecken vorkommen kann, entsteht ein euxinisches, also sauerstofffreies beziehungsweise reduzierendes Milieu. Auch hier bildet sich Faulschlamm, der nach erfolgter Diagenese als Schwarzschiefer bezeichnet wird. Solche Bedingungen existieren heute am Boden des Schwarzen Meeres. Für die dunkle Färbung sorgen fein verteilter Kohlenstoff und Eisensulfidverbindungen, vor allem Pyrit.

Die Nettofreisetzung von Methan in die Atmosphäre ist etwa 500 Tg pro Jahr und wird jährlich etwa 1 % ansteigen (Reeburgh, 2007; Cicerone und Oremland, 1988; Simpson et al., 2002).

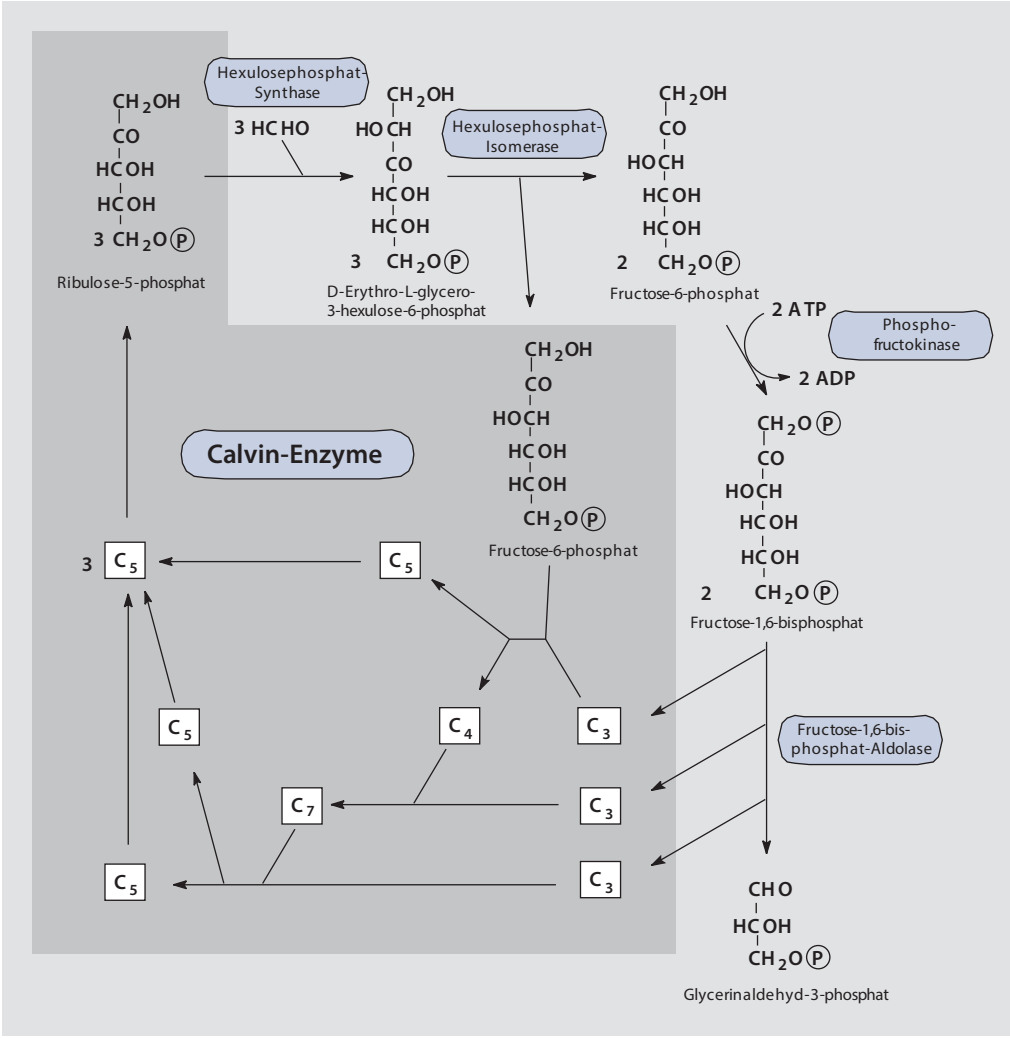


Abb. 4.32 Ribulosemonophosphat-Weg der Assimilation von Formaldehyd

Es wurde eine Nettorate der AOM in marinen Sedimenten von 70 bis 300 Tg von CH_4 pro Jahr abgeschätzt, dies entspricht einem durchschnittlichen Verbrauch von 2 nM pro Tag. Mehr als 99 % des dort vorhandenen CH_4 werden durch AOM verbraucht (Reeburgh, 1996, 2007; Cicerone und Oremland, 1998; Simpson et al., 2002).

Die Hauptnische für anaerobe Methanotrophe auf der Erde ist die sogenannte „Sulfat-Methan-Transitionzone“ (SMTZ) (Reeburgh, 2007). SMTZs findet man an allen anoxischen aquatischen Systemen, wo der Transport von Methan von unten und der von Sulfat von oben eine Nische bildet, die eine minimale Ausbeute an Energie für anaerobe Methanotrophe erlaubt. Methan wird komplett in der SMTZ verbraucht, welche in einer Dicke von Dezimetern bis zu Dutzenden von Metern unterhalb des Meeresbodens gefunden wird, abhängig von der Ablagerungsrate von reaktivem organischen Material, der Tiefe der Methanproduktions-

zone und der Transportgeschwindigkeit von Methan und Sulfat und den Verbrauchsraten. Das heißt AOM findet an der Basis der sulfatreduzierenden Zone statt.

Der Einfluss der Methankonzentration auf den Prozess einer AOM wird bei der Betrachtung der Gibbsschen freien Energie deutlich (siehe ◘ Tab. 4.4).

$$CH_4 + SO_4^{2-}(10\,mM) \rightarrow HCO_3^-(20\,mM) + HS^-(2\,mM) + H_2O\ (Temp.\,4\,°C,\ pH\,7{,}2)$$

Daraus folgt, dass in anoxischen Gewässern AOM im Vergleich zu dem in typischen Sedimenten sowie Unterseequellen und Ausbruchkanälen von Vulkanen schwach abläuft. Erhöhte Konzentrationen von CH_4 in euxinischen Sedimentbecken verglichen mit oxidiertem Seewasser (12 μM im Schwarzen Meer gegenüber nM des normalen Seewassers) erlauben hingegen die höheren Raten der AOM.

Einträge von CH_4 aus Sedimenten, eingeschlossenen Methanquellen am Kontinentalrand und methanreiche Schlammvulkane auf der Tiefseeebene machen das Schwarze Meer zu dem größten Oberflächenwasserreservoir der Welt mit gelöstem Methan und bewirken dort hohe Raten an AOM in den anoxischen Zonen.

AOM wird durch ein Konsortium von methanoxidierenden Archaea (ANME) und sulfatreduzierenden Bakterien (SRB) durchgeführt. Es gibt jedoch auch Hinweise darauf, dass einige Archaea CH_4 ohne feste Kopplung an syntrophe Partner oxidieren.

In solchen Konsortien findet man den Archaea-Stamm ANME-1, der entfernt verwandt mit *Methanomicrobiales* und *Methanosarcinales* ist.

Weitere Archaea der Gruppe ANME-2 sind nahe verwandt mit den *Methanosarcinales,* einer Gruppe von größtenteils methylotrophen Methanogenen, einschließlich aller bekannten acetoclastischen Methanogenen. Die *Methanosarcinales* haben die weiteste Substratbreite unter den bekannten Ordnungen der Methanogenen und einige Spezies führen einen oxidativen Metabolism (von Methyl zu CO_2) durch Dismutation von methylierten Verbindungen durch. ANME-3 ist nahe verwandt mit *Methanococcoides.*

Bisher gehören alle bekannten ANME-verwandten Stämme zu den methanogenen *Euryarchaeota* (Knittel et al., 2005). Noch ist kein Einzelmitglied dieser Gruppen als Reinkultur isoliert worden.

Es ist wahrscheinlich, dass die Organismen viele oxidative Schritte verwenden, die auch bei der methylotrophen Methanogenese benutzt werden. Es wird angenommen, dass sie reduzierte Intermediate wie H_2, Acetat oder andere methylierte Verbindungen produzieren.

Die sulfatreduzierenden Bakterien in dem CH_4-oxidierenden Konsortium gehören zu den *Desulfosarcina/Desulfococcus* einem Zweig der *Deltaproteobacteria.* Diese Gruppen von sulfatreduzierenden Bakterien sind üblicherweise vollständige Oxidierer von organischen Säuren und oft auch am Abbau von Kohlenwasserstoffen beteiligt. Obwohl bisher nur wenig über diese Bakterien und die Archaea bekannt ist, scheint die Annahme erlaubt, dass die Bakterien direkt Sulfat reduzieren und von den *Archaea* irgendwelche reduzierten Inter-

◘ **Tab. 4.4** Der Einfluss von Methanpartialdrücken in den verschiedenen Milieus auf die freie Enthalpie (Valentine, 2002)

Habitate	CH_4 Partialdruck (atm)	ΔG′ (kJ/mol)
Gewässer	0,007	−15
Typisches Sediment	0,35	−25
Unterseequellen und Ausbruchkanäle von Vulkanen	20	−35

mediate bekommen. H_2, Acetat oder Methanol sind jedoch keine frei transferierbaren Intermediate in der Syntrophie der AOM.

Der biochemische Weg der anaeroben Oxidation von Methan durch das Konsortium der *Archaea* und SRB bleibt fürs erste spekulativ. Während der AOM wird Methan mit äquimolaren Mengen von Sulfat oxidiert, und es ergeben sich entsprechend Carbonate und Sulfide. Die Erzeugung des basischen pH-Wertes begünstigt die Ausfällung der im Meerwasser reichlich vorhandenen Calciumionen (10 mM) als Calciumcarbonat entsprechend der folgenden Nettoreaktion:

$$CH_4 + SO_4^{2-} + Ca^{2+} \rightarrow CaCO_3 + H_2S + H_2O$$

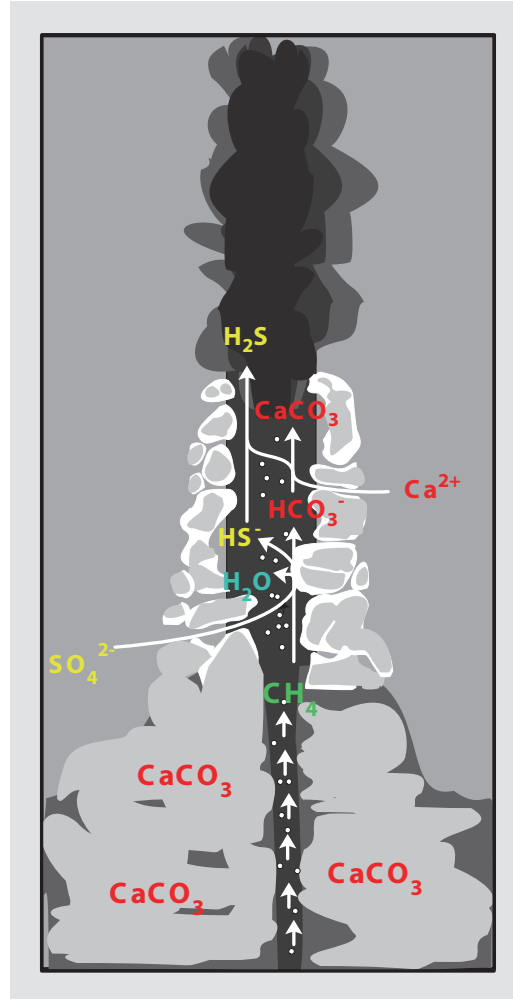
Dies erklärt die Bildung der Röhren der Black Smoker als eine häufige, geologisch wichtige Folgereaktion der anaeroben Oxidation von Methan bei hohen Raten.

Die Stöchiometrie von AOM zeigt, dass nahezu alles Methan für die Sulfatreduktion und nur wenig für die Assimilation von Kohlenstoff in die Zelle gebraucht wird. Dies steht im Gegensatz zu den aeroben Methanotrophen, welche bis zu 60 % des Methankohlenstoffs in die Biosynthese schleusen (Leak und Dalton, 1986).

Das Wachstum der AOM-Konsortien ist langsam, mit Generationszeiten von Monaten bis Jahren, geschuldet der niedrigen Energieausbeute der Reaktion und der Tatsache, dass nur 1 % des gesamten verbrauchten Methans direkt in die Biosynthese geleitet wird.

Trotz der restriktiven thermodynamischen Grenzen reduziert der mikrobiell vermittelte AOM die Freisetzung von Methan aus der marinen Umwelt (◘ Abb. 4.33).

Eine anaerobe Oxidation von Methan ist auch an die Denitrifikation von Nitrat gekoppelt möglich (Raghoebarsing et al., 2006). Kürzlich machten Ettwig et al. (2010) anhand von Metagenomanalysen und biochemischen Assays von Kulturen deutlich, in denen *Candidatus* Methylomirabilis oxyfera hoch angereichert war, dass der Metabolismus in der Grauzone zwischen aerober und anaerober Methanoxidation liegt (► Box Gegenüberstellung d).



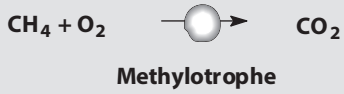
◘ **Abb. 4.33** Schornstein eines Black Smokers. Die Bakterienmatte, bestehend aus Methanoxidierern und Sulfatreduzierern – verantwortlich für AOM –, ist als weiße Schicht auf dem präzipitierten Calciumcarbonat (grau) gezeigt

Es gibt einige Hinweise darauf, dass die anaerobe Oxidation von Methan auch an die Reduktion von Mangan (Birnessit $(Na_{0,3}Ca_{0,1}K_{0,1})(Mn^{4+},Mn^{3+})_2O_4 \cdot 1{,}5\ H_2O$) und Eisen (Ferrihydrit, $(Fe^{3+})_2O_3 \cdot 0{,}5H_2O$) gekoppelt erfolgt.

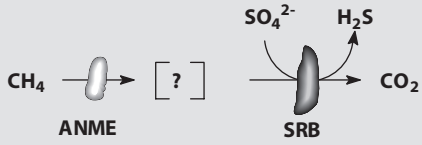
Gegenüberstellung der vier Arten des Methanmetabolismus durch Mikroorganismen

a) **Methanogenese durch anaeroben Verdau von organischem Material** zu Fermentationsprodukten und anschließend H_2 und CO_2 oder Acetat, welche als Substrate für die Verwertung der methanogenen *Archaea* dienen.

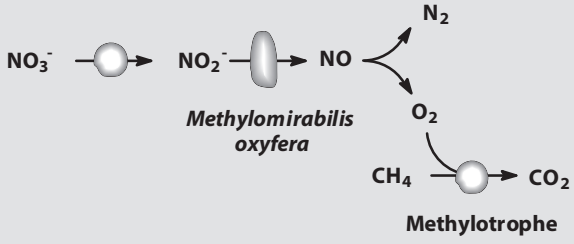
b) **Aerobe Oxidation von Methan,** wie sie durch Bakterien wie *Methylococcus capsulatus* durchgeführt wird. Sie siedeln sich an dem Übergang zwischen den methanreichen anoxischen und sauerstoffreichen aeroben Phasen an, wo beide Gase zusammentreffen.



c) Umgekehrte Methanogenese: die **anaerobe Oxidation von Methan** (AOM) beinhaltet ein Archaeon (bezeichnet ANME, Anaerobe Methanotrophe *Archaea*) verwandt mit Methanogenen. Der ANME-Organismus oxidiert Methan in einer Sequenz, die umgekehrt zu der Methanbildung in (**a)** verläuft. Ein unbekanntes Intermediat [?] wird zwischen dem ANME und sulfatreduzierenden Bakterien (SRB) ausgetauscht. Die Verknüpfung erlaubt den Sulfatreduzierern schließlich die Oxidation des Kohlenstoffs des Methans zu CO_2. Die durch die Reaktion erzeugten Elektronen reduzieren dabei Sulfat (SO_4^{2-}) zu Schwefelwasserstoff (H_2S).



d) **Nitrit-gekoppelte Methanoxidation** durch ‚*Candidatus* Methylomirabilis oxyfera' **als Frischwasser Methansenke.** Nitrat (NO_3^-) wird durch andere Mikroorganismen zu Nitrit (NO_2^-) reduziert. M. oxyfera reduziert das Nitrit zu Stickstoffmonoxid (NO), welches dann in einer dismutativen Reaktion zu N_2 and O_2 umgewandelt wird. Der intrazellulare Sauerstoff ist dann das Oxidans für den normalen ‚aeroben' Reaktionsweg der Methanoxidation (**b),** der von einer Methan-Monooxygenase eingeleitet wird.



Wechselwirkung zwischen den biogeochemischen Zyklen von Eisen und Methan

Kohlenstoff- und Stickstoffzyklen wurden durch menschliche Aktivitäten dramatisch verändert. Methanproduzierende (methanogene) und methanverbrauchende (methanotrophe) Mikroorganismen kontrollieren die Emission von Methan, einem der stärksten Treibhausgase, in die Atmosphäre. Methanotrophe Mikroorganismen, die Methan als Elektronendonor und Sauerstoff als Elektronenakzeptoren verwenden, sind lange bekannt. Die anaerobe Oxidation von Methan (AOM) mit Nitrat und Sulfat ist ebenfalls gut dokumentiert. Nitritabhängige Methanoxidation wurde kürzlich berichtet. Hingegen wurde AOM gekoppelt an die Reduktion von oxidierten Metallen bisher nur in Umweltproben gezeigt. Archaea der Ordnung *Methanosarcinales* verwandt mit „*Candidatus* Methanoperedens nitroreducens" wurden jetzt beschrieben, die die Reduktion von umweltrelevanten partikulären Formen von Eisen (Fe^{3+}) und Mangan (Mn^{4+}) zur Methanoxidation koppeln. Eine Anreicherungskultur dieser Archaea aus dem Twentekanaal in den Niederlanden wurde unter anaeroben, nitratreduzierenden Bedingungen mit einer kontinuierlichen Zufuhr von Methan erhalten. Durch Batch-Inkubationen mit [^{13}C] Methan wurde gezeigt, dass lösliches Eisen (Fe^{3+} als Fe-Citrat) und nanopartikuläre Formen von Fe^{3+} und Mn^{4+} methanoxidierende Aktivität unterstützt. CO_2 und Eisen (Fe^{2+}) wurden in stöchiometrischen Mengen hergestellt. So wurde der Zusammenhang zwischen den bisherigen Befunden von eisenabhängigen AOM und Mikroorganismen hergestellt, die in zahlreichen Lebensräumen weltweit nachgewiesen werden. Eine entscheidende Lücke im Verständnis um die anaerobe Methanoxidation wurde geschlossen.
Brunner et al. 2013; Deutzmann et al. 2014; Egger et al. 2015; Ettwig et al. 2016; Holler et al. 2011; Hu et al. 2014; Riedinger et al. 2014; Shen et al. 2016; Shen et al. 2014; Sivan et al. 2014; Wankel et al. 2012; Welte et al. 2016.

Testen Sie Ihr Wissen

Welches sind energiereiche Metabolite in der Glykolyse und im TCC? Welche Typen von chemischer Bindung liegen vor?
Warum produzieren Organismen beim Fehlen von externen Elektronenakzeptoren Gärprodukte?
Was ist ein Gärungsgleichgewicht?
Welche Gärprodukte kennen Sie?
Welche Schritte leiten den Abbau von Polymeren ein?
Welche Funktion hat der TCC, welche die Atmungskette?
Was ist Substratstufen-Phosphorylierung?
Wozu wird die ATP-Synthase gebraucht? Was braucht sie zum Betrieb?
Wodurch unterscheiden sich Stärke und Cellulose?
Welche Organismen werden gebraucht, um aus Cellulose Methan zu produzieren?
Was heißt Syntrophie?
Nennen Sie Substrate der Methanogenen.
Was sind hydrogenotrophe, was sind acetoclastische Methanogene?
Acidogene und acetogene Bakterien lassen sich anhand der Benennung leicht verwechseln: Welchen Stoffwechsel betreiben die beiden Gruppen?
Warum tritt nur wenig Methan an den Kontinentalrändern der Ozeane in die Atmosphäre aus?
Vergleichen Sie den Methanabbau im oxischen und anoxischen Milieu.
Nennen Sie CO_2- Fixierungsmechanismen.
In welche Phasen lässt sich der Calvin-Zyklus unterteilen?

Aus welchem pflanzlichen Polymer wird Methanol beim Abbau freigesetzt? Welches sind zentrale Metabolite im Stoffwechsel?

Literatur

Brunner, B., Contreras, S., Lehmann, M. F., Matantseva, O., Rollog, M., Kalvelage, T., Klockgether, G., Lavik, G., Jetten, M. S., Kartal, B., Kuypers, M. M. 2013. Nitrogen isotope effects induced by anammox bacteria. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 110:18994–18999. ► https://doi.org/10.1073/pnas.1310488110.

Cicerone, R. J., Oremland, R. S. 1988. Biogeochemical aspects of atmospheric methane. Glob. Biogeochem. Cycle 2:299–327.

Deutzmann, J. S., Stief, P., Brandes, J., Schink, B. 2014. Anaerobic methane oxidation coupled to denitrification is the dominant methane sink in a deep lake. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 111:18273–18278. ► https://doi.org/10.1073/pnas.1411617111.

Egger, M., Rasigraf, O., Sapart, C. J., Jilbert, T., Jetten, M. S., Röckmann, T., van der Veen, C., Banda, N., Kartal, B., Ettwig, K. F., Slomp, C. S. 2015. Iron-mediated anaerobic oxidation of methane in brackish coastal sediments. Environ. Sci. Technol. 49:277–283. ► https://doi.org/10.1021/es503663z.

Ettwig, K. F., Butler, M. K., Le Paslier, D., Pelletier, E., Mangenot, S., Kuypers, M. M., Schreiber, F., Dutilh, B. E., Zedelius, J., de Beer, D., Gloerich, J., Wessels, H. J., van Alen, T., Luesken, F., Wu, M. L., van de Pas-Schoonen, K. T., Op den Camp, H. J., Janssen-Megens, E. M., Francoijs, K. J., Stunnenberg, H., Weissenbach, J., Jetten, M. S., Strous, M. 2010. Nitrite-driven anaerobic methane oxidation by oxygenic bacteria. Nature 464:543–548.

Ettwig, K. F., Zhu, B., Speth, D., Keltjens, J. T., Jetten, M. S. M., Kartal, B. 2016. Archaea catalyze iron-dependent anaerobic oxidation of methane. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 113:12792–12796. ► https://doi.org/10.1073/pnas.1609534113.

Holler, T., Wegener, G., Niemann, H., Deusner, C., Ferdelman, T. G., Boetius, A., Brunner, B., Widdel, F. 2011. Carbon and sulfur back flux during anaerobic microbial oxidation of methane and coupled sulfate reduction. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 108:E1484–1490. ► https://doi.org/10.1073/pnas.1106032108. Erratum in Proc. Natl. Acad. Sci. USA 109:21170.

Hu, B. L., Shen, L. D., Lian, X., Zhu, Q., Liu, S., Huang, Q., He, Z. F., Geng, S., Cheng, D. Q., Lou, L. P., Xu, X. Y., Zheng, P., He, Y. F. 2014. Evidence for nitrite-dependent anaerobic methane oxidation as a previously overlooked microbial methane sink in wetlands. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 111:4495–4500. ► https://doi.org/10.1073/pnas.1318393111.

Knittel, K., Lösekann, T., Boetius, A., Kort, R., Amann, R. 2005. Diversity and distribution of methanotrophic archaea at cold seeps. Appl. Environ. Microbiol. 71:467–479.

Leak, D. J, Dalton, H. 1986. Growth yields of methanotrophs. Appl. Microbiol. Biotechnol. 23:470–476.

Raghoebarsing, A. A., Pol, A., van de Pas-Schoonen, K. T., Smolders, A. J., Ettwig, K. F., Rijpstra, W. I., Schouten, S., Damste, J. S., Op den Camp, H. J., Jetten, M. S., Strous, M. 2006. A microbial consortium couples anaerobic methane oxidation to denitrification. Nature 440:918–921.

Reeburgh, W. S. 1996. "Soft spots" in the global methane budget. *In*: Microbial Growth on C-1 Compounds; Lidstrom, M. E., Tabita, F. R. (eds), Kluwer Academic Publishers: Dordrecht, pp. 335–342.

Reeburgh, W. S. 2007. Oceanic methane biogeochemistry. Chem. Rev. 107:486–513.

Riedinger, N., Formolo, M.J., Lyons, T.W., Henkel, S., Beck, A., Kasten, S. 2014. An inorganic geochemical argument for coupled anaerobic oxidation of methane and iron reduction in marine sediments. Geobiology 12:172–181. ► https://doi.org/10.1111/gbi.12077.

Shen, L. D., Hu, B. L., Liu, S., Chai, X. P., He, Z. F., Ren, H. X., Liu, Y., Geng, S., Wang, W., Tang, J. L., Wang, Y. M., Lou, L. P., Xu, X. Y., Zheng, P. 2016. Anaerobic methane oxidation coupled to nitrite reduction can be a potential methane sink in coastal environments. Appl. Microbiol. Biotechnol. 100:7171–7180. ► https://doi.org/10.1007/s00253-016-7627-0.

Shen, L. D., Liu, S., Huang, Q., Lian, X., He, Z. F., Geng, S., Jin, R. C., He, Y. F., Lou, L. P., Xu, X. Y., Zheng, P., Hu, B. L. 2014. Evidence for the cooccurrence of nitrite-dependent anaerobic ammonium and methane oxidation processes in a flooded paddy field. Appl. Environ. Microbiol. 80:7611–7619. ► https://doi.org/10.1128/aem.02379-14.

Simpson, I. J., Blake, D. R., Rowland, F. S., Chen, T.-Y. 2002. Implications of the recent fluctuations in the growth rate of tropospheric methane. Geophys. Res. Lett. 29:117-1–117-4.

Sivan, O., Antler, G., Turchyn, A. V., Marlow, J. J., Orphan, V. J. 2014. Iron oxides stimulate sulfate-driven anaerobic methane oxidation in seeps. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 111:E4139–4147. ► https://doi.org/10.1073/pnas.1412269111.

Valentine, D. L. 2002. Biogeochemistry and microbial ecology of methane oxidation in anoxic environments: a review. Ant. van Leeuwenhoek 81:271–282.

Wankel, S. D., Adams, M. M., Johnston, D. T., Hansel, C. M., Joye, S. B., Girguis, P. R. 2012. Anaerobic methane oxidation in metalliferous hydrothermal

sediments: influence on carbon flux and decoupling from sulfate reduction. Environ. Microbiol. 14:2726–2740. ► https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2012.02825.x.

Welte, C. U., Rasigraf, O., Vaksmaa, A., Versantvoort, W., Arshad, A., Op den Camp, H. J., Jetten, M. S., Lüke, C., Reimann, J. 2016. Nitrate- and nitrite-dependent anaerobic oxidation of methane. Environ. Microbiol. Rep. 2016 Oct 18. ► https://doi.org/10.1111/1758-2229.12487.

4

Weiterführende Literatur

Amos, R. T., Bekins, B. A., Cozzarelli, I. M., Voytek, M. A., Kirshtein, J. D., Jones, E. J., Blowes, D. W. 2012. Evidence for iron-mediated anaerobic methane oxidation in a crude oil-contaminated aquifer. Geobiology 10:506–517.

Bayer, E. A., Shoham, Y., Lamed, R. 2001. Cellulose-decomposing bacteria and their enzyme systems. *In:* Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.-H., Stackebrandt, E. (eds) The Prokaryotes, electronic edition, release November 2001. Springer, New York.

Beal, E. J., House, C. H., Orphan, V. J. 2009. Manganese- and iron-dependent marine methane oxidation. Science 325:184–187.

Berg, I. A., Kockelkorn, D., Ramos-Vera, W., H. Say, R. F., Zarzycki, J., Hügler, M., Alber, B. E., Fuchs, G. 2010. Autotrophic carbon fixation in archaea. Nature Rev. Microbiol. 8:447–460.

Berg, I. A. 2011. Ecological aspects of the distribution of different autotrophic CO_2 fixation pathways. Appl. Environ. Microbiol. 77:1925–1936.

Berg, I. A. 2012. Citratzyklus in Cyanobakterien: geschlossen, aber noch nicht verstanden. BIO-Spektrum 18:179.

Berg, J. M., Tymoczko, J. L., Stryer, L. 2007. Biochemie. 6. Auflage. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg.

Boetius, A., Ravenschlag, K., Schubert, C. J., Rickert, D., Widdel, F., Gieseke, A., Amann, R., Jörgensen, B. B., Witte, U., Pfannkuche, O. 2000. A marine microbial consortium apparently mediating anaerobic oxidation of methane. Nature 407:623–626.

Boyle, N. R., Morgan, J. A. 2011. Computation of metabolic fluxes and efficiencies for biological carbon dioxide fixation. Metab. Eng. 13:150–158.

Callaghan, A. V. 2013. Enzymes involved in the anaerobic oxidation of *n*-alkanes: from methane to long-chain paraffins. Frontiers in Microbiol. 14 May 2013| ► https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00089.

Crowe, S. A., Katsev, S., Leslie, K., Sturm, A., Magen, C., Nomosatryo, S., Pack, M. A., Kessler, J. D., Reeburgh, W. S., Roberts, J. A., González, L., Douglas Haffner, G., Mucci, A., Sundby, B., Fowle, D. A. 2011. The methane cycle in ferruginous Lake Matano. Geobiology 9:61–78.

Drake, H. L., Küsel, K., Matthies, C. 2004. Acetogenic Prokaryotes. *In:* Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.-H., Stackebrandt, E. (eds) The Prokaryotes, electronic edition, release 2004. Springer, New York.

Fritsche, W. 2002. Mikrobiologie. 3. Aufl., Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg.

Fuchs, G. (Hrsg.) 2006. Allgemeine Mikrobiologie. 8. Auflage. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.

Fuchs, G. 2011. Alternative pathways of carbon dioxide fixation: Insights into the early evolution of life? Annu. Rev. Microbiol. 65:631–658.

Gottschalk, G. 1988. Bacterial metabolism. 2.ed., Springer, New York.

Haroon, M. F., Hu, S., Shi, Y., Imelfort, M., Keller, J., Hugenholtz, P., Yuan, Z., Tyson, G. W. 2013. Anaerobic oxidation of methane coupled to nitrate reduction in a novel archaeal lineage. Nature 500:567–570.

Hatakka, A. 2001. Biodegradation of lignin. *In:* Biopolymers. Volume 1: Lignin, humic substances and coal (Hofrichter, M., Steinbüchel, A., eds.) Wiley-VCH, Weinheim. S. 129–180.

Hügler, M., Sievert, S. M. 2011. Beyond the Calvin Cycle: Autotrophic carbon fixation in the ocean. Annu. Rev. Mar. Sci. 3:261–289.

Knittel, K., Boetius, A. 2009. Anaerobic oxidation of methane: Progress with an unknown process. Annu. Rev. Microbiol. 63:311–334.

Lengeler, J. W., Drews, G., Schlegel, H. G. 1999. Biology of the Prokaryotes. Thieme Verlag, Stuttgart.

Lidstrom, M. E. 2001. Aerobic methylotrophic prokaryote. *In:* Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.-H., Stackebrandt, E. (eds) The Prokaryotes, electronic edition, release November 2001. Springer, New York.

Madigan, M. T., Martinko, J. M., Dunlap, P. V., Clark, D. P. 2009. Brock-Biology of Microorganisms. 12th International Edition. Pearson Benjamin Cummings, San Francisco, CA94111.

Michaelis, W., Seifert, R., Nauhaus, K., Treude, T., Thiel, V., Blumenberg, M., Knittel, K., Gieseke, A., Peterknecht, K., Pape, T., Boetius, A., Amann, R., Jørgensen, B. B., Widdel, F., Peckmann, J., Pimenov, N. V. Gulin, M. B. 2002. Microbial reefs in the Black Sea fueled by anaerobic oxidation of methane. Science 297:1013–1015.

Nauhaus, K., Boetius, A., Krüger, M., Widdel, F. 2002. In vitro demonstration of anaerobic oxidation of methane coupled to sulfate reduction in sediment from a marine gas hydrate area. Environ. Microbiol. 4:296–305.

Oremland, R. S. 2010. Biogeochemistry: NO connection with methane. Nature 464:500–501.

Reineke, W. 2001. Aerobic and anaerobic biodegradation potentials of microorganisms. *In:* The Handbook of Environmental Chemistry (O. Hutzinger, ed.) Vol. 2K The Natural Environment and Biogeochemical Cycles (Volume editor: B. Beek), Springer Verlag, Berlin, pp. 1–161.

Report of the Methane Hydrate Advisory Committee. 2002. Methane Hydrate Issues and Opportunities. ► http://www.netl.doe.gov/technologies/oil-gas/publications/Hydrates/pdf/CongressReport.pdf.

Schmitz, R. A., Daniel, R., Deppenmeier, U. Gottschalk, G. 2001. The Anaerobic Way of Life. *In:* Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.-H., Stackebrandt, E. (eds) The Prokaryotes, electronic edition, release Spring 2001. Springer, New York.

Sivan, O., Adler, M., Pearson, A., Gelman, F., Bar-Or, I., John, S.G., Eckert, W. 2011. Geochemical evidence for iron-mediated anaerobic oxidation of methane. Limnol. Oceanogr. 56:1536–1544.

Thauer, R. K., Shima, S. 2008. Methane as fuel for anaerobic microorganisms. Ann. NY Acad. Sci. 1125:158–170.

Valentine, D. L., Reeburgh, W. S. 2000. New perspectives on anaerobic methane oxidation. Environ. Microbiol. 2:477–484.

Wakeham, S. G., Hopmans, E. C., Schouten, S., Sinninghe Damsté, J. S. 2004. Archaeal lipids and anaerobic oxidation of methane in euxinic water columns. A comparative study of the Black Sea and Cariaco Basin. Chem. Geology 205:427–442.

Widdel, F. 2002. Mikroorganismen des Meeres – Katalysatoren globaler Stoffkreisläufe. *In:* Bedeutung der Mikroorganismen für die Umwelt: Rundgespräch der Kommission für Ökologie, Bayerische Akademie der Wissenschaften. Verlag Dr. Friedrich Pfeil. Band 23, S. 67–82.

Widdel, F., Boetius, A., Rabus, R. 2004. Anaerobic biodegradation of hydrocarbons including methane. *In:* Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.-H., Stackebrandt, E. (eds) The Prokaryotes, electronic edition, release Spring 2004. Springer, New York.

Zehnder, A. J. B. 1988. Biology of anaerobic microorganisms. John Wiley & Sons., New York.

Zhang, S., Bryant, D. A. 2011. The tricarboxylic acid cycle in cyanobacteria. Science 334:1551–1553.

Zhu, B., Van Dijk, G., Fritz, C., Smolders, A. J., Pol, A., Jetten, M. S., Ettwig, K. F. 2012. Anaerobic oxidization of methane in a minerotrophic peatland: enrichment of nitrite-dependent methane-oxidizing bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 78:8657–8665.

Umweltchemikalien

5.1 Chemikalien in der Umwelt: Ausbreitung und Konzentration – 138
5.1.1 Transportprozesse – 140
5.1.2 Transferprozesse zwischen Umweltmedien oder Kompartimenten – 141
5.1.3 Transformationsprozesse – 144

5.2 Beurteilung von Chemikalien: Allgemeine Prinzipien und Konzepte – 148
5.2.1 Abbaubarkeitstests – 153
5.2.2 Toxizitäts- und Mutagenitätsprüfungen mit mikrobiellen Systemen – 163

Literatur – 171

© Springer-Verlag GmbH Deutschland, ein Teil von Springer Nature 2020
W. Reineke und M. Schlömann, *Umweltmikrobiologie,* https://doi.org/10.1007/978-3-662-59655-5_5

„Umweltchemikalien sind Stoffe, die durch menschliches Zutun in die Umwelt gebracht werden und **in Mengen oder Konzentrationen auftreten** können, die geeignet sind, den **Menschen und seine belebte Umwelt** (Tiere, Pflanzen und auch Mikroorganismen) **zu gefährden.** Hierzu gehören chemische Elemente oder Verbindungen organischer oder anorganischer Natur, synthetischen oder natürlichen Ursprungs. Das menschliche Zutun kann unmittelbar oder mittelbar erfolgen, es kann beabsichtigt oder unbeabsichtigt sein" (UBA 1980).

Erst durch Unfälle oder Umweltschäden sind schädliche Auswirkungen von Chemikalien entdeckt und sichtbar geworden. ◘ Tab. 5.1 fasst die Chronologie chemikalienbedingter Umweltschäden zusammen.

5.1 Chemikalien in der Umwelt: Ausbreitung und Konzentration

Die Ausbreitung aller in die Umwelt gelangender Stoffe vollzieht sich durch natürliche **Transportprozesse** (Luft- und Wasserströmungen) innerhalb der „mobilen" Umweltmedien, sowie durch **Transferprozesse** zwischen den Umweltmedien oder Kompartimenten. Ferner sind chemische und biologische **Transformationsprozesse** von Bedeutung. Bei Transport- und Transferprozessen bleibt die Substanz unverändert, während bei chemischen und biologischen Transformationsprozessen die Struktur der Substanz verändert wird. Bei der Einschätzung des Schicksals einer Substanz müssen diese Prozesse in Kombination betrachtet werden.

◘ **Tab. 5.1** Umweltchemikalien und Umweltschädigung im öffentlichen Bewusstsein. (Verändert und ergänzt nach Fent, 2003)

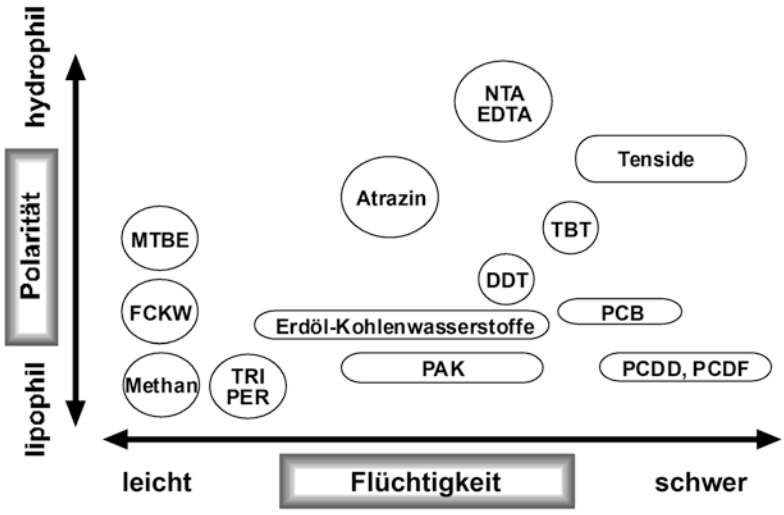
Zeitraum	Umweltchemikalien und Umweltschädigung im öffentlichen Bewusstsein
1950–1960	*DDT:* Schädigung der Fortpflanzung bei Raubvögeln
	Organochlor-Pestizide: Bioakkumulation in Nahrungsketten
	Methylquecksilber: Vergiftung von Menschen in Minamata (Japan)
1960–1970	*Abwasser, Detergenzien, Schwermetalle:* Verschmutzung von Gewässern
1970–1980	*Polychlorbiphenyle:* Bioakkumulation und Reproduktionsschäden (Meeressäuger)
	Polychlordibenzo-p-dioxine: Seveso-Katastrophe mit Belastung von Mensch und Umwelt
	Saurer Regen: Versauerung von Gewässern und Böden
	Waschmittelinhaltsstoffe: Belastung von Gewässern
	Deponie mit toxischen Abfällen der chemischen Industrie: Love Canal, Niagara Falls (USA)
1980–1990	*Luftschadstoffe:* Neuartige Waldschäden (Waldsterben)
	Organozinn-Verbindungen: Schädigung von Wasserorganismen
	FCKW: Ozonloch
	Chemikalienfreisetzung: Tod tausender Einwohner in Bhopal (Indien)
	Chemiebrand in Basel: Vergiftung des Rheins
Seit 1970	*Tankerunfälle:* Schädigung von Meeresküsten
	Chlorierte Lösungsmittel: Trinkwasserverunreinigung
Seit 1990	*Endokrin wirkende Umweltchemikalien:* Negative Wirkungen auf Reptilien, Fische, marine Schnecken

Substanzen breiten sich in der Umwelt aus, wenn sie bei der Produktion, bei Gebrauch oder Entsorgung oder durch unbeabsichtigte Bildung beziehungsweise Freisetzung sich der Kontrolle durch den Menschen entziehen. Im Extremfall hoher Mobilität kann es zur **ubiquitären,** weltweiten Verteilung kommen, das heißt die Stoffe treten auch in Gebieten auf, die von den Emissionsgebieten sehr weit entfernt sind.

Die Konzentration und Verbreitung von Stoffen in der Umwelt steht im Zusammenhang mit folgenden Größen:

1. Quellen, Eintragsmenge und -charakteristik
2. Physiko-chemische Stoffeigenschaften [molekulare Struktur, spezifische Dichte, Dampfdruck, Wasser- und Fettlöslichkeit, Verteilungskoeffizienten (Octanol/Wasser, Luft/Wasser, Sediment/Wasser), Adsorptionsfähigkeit]
3. Physiko-chemische und biologische Eigenschaften des Ökosystems (Temperatur, pH, Salinität, Schwebstoffgehalt, Sedimentationsrate, Nährstoffkreisläufe, Redoxverhältnisse)
4. Transformationsprozesse (Photolyse, Hydrolyse, Redoxreaktionen und biotischer Abbau)

Ordnet man Umweltchemikalien nach Flüchtigkeit und Polarität (◘ Abb. 5.1), so lässt sich aus der Position im resultierenden Diagramm grob das Verhalten eines Stoffes in der Umwelt abschätzen. Lipophile und schwerflüchtige Chemikalien sind Problemstoffe in Lebewesen und Sedimenten, leichtflüchtige wie Methan, FCKW, Trichlor- und Tetrachlorethen solche in der Luft. Trichlor- und Tetrachlorethen sind aber auch Stoffe, die aufgrund ihrer im Vergleich zum Wasser höheren spezifischen Dichte als Grundwasserkontaminanten bekannt sind. Sie können als „Non-Aqueous Phase Liquids (NAPLs)" als Blase auf dem Grund eines Sees liegen.



◘ **Abb. 5.1** Einordnung von Umweltchemikalien nach Flüchtigkeit und Polarität. (Verändert nach Giger, 1995). DDT, Dichlordiphenyltrichlorethan; EDTA, Ethylendiamintetraacetat; FCKW, Fluorchlorkohlenwasserstoffe; PAK, polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe; PCB, polychlorierte Biphenyle; PCDD, polychlorierte Dibenzo-1,4-dioxine; PCDF, polychlorierte Dibenzofurane; MTBE, Methyl-tert.Butylether; NTA, Nitrilotriacetat; TBT, Tributylzinn; TRI, Trichlorethen; PER, Tetrachlorethen

5.1.1 Transportprozesse

5.1.1.1 Transport im Gewässer

In Gewässern verbreiten sich Chemikalien in der Regel mehr oder weniger stark durch Lösung, Adsorption an Partikel und Aufnahme in Organismen. Je nach Wasserlöslichkeit, hydrologischen Gegebenheiten und Charakteristik des Umweltsystems werden sie verschieden verteilt. Die Verbindungen verteilen sich auch in verschiedenen Kompartimenten: Sie können vom Gewässer in die Atmosphäre abgegeben werden und von dort durch Deposition wiederum auf den Boden gelangen. Chemikalien gelangen zum Beispiel von Feldern über Abschwemmung in Gewässer, durch Verwehung oder Verdunsten in die Atmosphäre und mit den Niederschlägen wieder auf Boden und Gewässer. Bei großer Mobilität erreichen sie durch Versickerung das Grundwasser und gelangen durch oberflächliche Abschwemmungen in Oberflächengewässer. Die Restkonzentrationen aus Kläranlagen sowie Deponiesickerwässer stellen neben Oberflächenabschwemmungen aus der Landwirtschaft und atmosphärischen Depositionen bedeutende Quellen der Chemikalienbelastungen von Gewässern dar.

Im See unterliegen Chemikalien verschiedenen Transportprozessen. Mit den Zuflüssen gelangen sie in die obere Wasserschicht des Sees (siehe ◘ Abb. 10.18, ► Kap. 10, für die Schichtung). Dort unterliegen sie den verschiedenen Wassermischungsprozessen. Im temperaturmäßig geschichteten See (etwa April bis November) werden sie innerhalb weniger Tage in der Oberschicht verteilt. Mit dem Wasserabfluss aus dem See werden die Chemikalien kontinuierlich entfernt. Die wesentlich langsamere vertikale Wasservermischung transportiert einen kleinen Teil in tiefere Wasserschichten. Mit der Winterzirkulation (etwa Dezember bis März) wird die verbliebene Chemikalienmenge schließlich im ganzen See verteilt. Zusätzlich zu diesen Transportprozessen sind Gasaustausch mit der Atmosphäre, Sorption an Partikel, Sedimentation in tiefere Wasserschichten und ins Sediment sowie **Transformationsprozesse** (chemischer und biologischer Abbau) zu erwarten. Die Eliminationsprozesse lassen sich aus physiko-chemischen Eigenschaften (Henry-Konstante, Sorptionskoeffizient, Reaktionskonstanten) und Systemgrößen (pH des Seewassers, Partikelkonzentration, Windgeschwindigkeit) abschätzen.

5.1.1.2 Atmosphärischer Transport

Der atmosphärische Transport ist ein bedeutender Weg für die Verteilung von Chemikalien in der Umwelt. Mischungs- und Transportvorgänge in der Troposphäre (siehe ◘ Abb. 1.2) verlaufen schnell, der Austausch zwischen Tropo- und Stratosphäre dauert jedoch mehrere Jahre, da nur Diffusion stattfindet. So dauerte es Jahre, bis die für die Zerstörung der Ozonschicht verantwortlichen Fluorchlorkohlenwasserstoffe die Stratosphäre erreicht hatten. Die Verunreinigung der Atmosphäre hat globale Dimensionen angenommen. So sind **Umweltchemikalien in Polargebieten** nachweisbar, die von der menschlichen Zivilisation völlig unberührt sind. In der Luft, in Schnee und Eis der Arktis und Antarktis finden sich Spuren von organischen Umweltchemikalien, die vor allem aus Nordamerika und Europa als Gase und Aerosole dorthin gelangen und infolge der kalten Temperaturen auskondensieren. Hochflüchtige Chemikalien bleiben in der Gasphase und sind sehr mobil. Mäßig flüchtige Stoffe kondensieren aus und verteilen sich in Wasser, Schnee, Eis und Boden von Polargebieten. Die Kombination von atmosphärischem Transport, Kondensation und Deposition sowie Wiederverflüchtigung aus dem Meer kann den Transport organischer Verbindungen in die Polarregionen erklären. Die Atmosphäre dient dabei als Transport- und das Meer als Lagermedium. Persistente Chemikalien verteilen sich von den Tropen bis in die Polarregionen. Der Temperaturgradient entlang der Transportroute in die Polarregionen verursacht eine Anreicherung

von mäßig flüchtigen Verbindungen in der Arktis und Antarktis. Deutlich finden wir diesen Gradienten im Pazifik: im Meerwasser steigt die Konzentration von flüchtigen Stoffen vom Äquator bis auf 80° nördliche Breite. Atmosphärische Transportvorgänge spielen auch eine große Rolle bei der **Versauerung** von Seen in Nordamerika und Skandinavien.

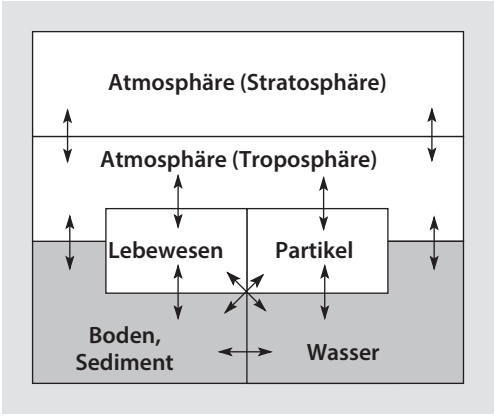
5.1.2 Transferprozesse zwischen Umweltmedien oder Kompartimenten

Der Austausch von Chemikalien zwischen den einzelnen Umweltkompartimenten wird durch die Tendenz der Chemikalien gesteuert, **Phasentransferprozesse** einzugehen (◘ Abb. 5.2). Die Transfergeschwindigkeit hängt dabei von den Substanzeigenschaften und den Umweltbedingungen ab. Die Neigung der Chemikalien zu Transferprozessen kann mit **Gleichgewichtskonstanten** beschrieben werden (◘ Abb. 5.3), auch wenn sich unter realen Umweltbedingungen häufig kein Gleichgewicht einstellen wird (dynamische, nicht geschlossene Systeme wie Fließgewässer).

5.1.2.1 Verflüchtigung: Transport aus Wasser und Boden in die Luft

Der Austausch zwischen Gewässer oder Boden und der Atmosphäre ist der wichtigste Transportweg für Chemikalien mit niedriger Wasserlöslichkeit und geringer Polarität. Chemikalien mit hohem Dampfdruck und geringer Wasserlöslichkeit werden schnell in die Atmosphäre abgegeben. Der Übertritt eines Stoffes durch Diffusion aus dem Wasser in die Luft wird als **Verflüchtigung (Volatilisation),** der umgekehrte Vorgang als (trockene oder nasse) **Deposition** bezeichnet.

Die Verteilung zwischen Luft und Wasser im Gleichgewichtszustand wird durch den Henry-Koeffizienten oder die **Henry-Konstante** beschrieben. Sie spielt für die Flüchtigkeit von Chemikalien aus wässriger Lösung eine



◘ **Abb. 5.2** Mögliche Phasentransferprozesse von Chemikalien (grau-markierte Kompartimente sind für Mikroorganismen von Relevanz)

ausschlaggebende Rolle. Die dimensionslose Konstante K'_H stellt das Konzentrationsverhältnis zwischen der Gasphase (c_g) und der Lösung (c_w) dar. Häufig wird die Konstante K_H angegeben, die annäherungsweise aus dem Verhältnis zwischen Sättigungsdampfdruck und maximaler Wasserlöslichkeit abgeschätzt wird.

$$K'_H = \frac{c_g}{c_w} \qquad K_H = \frac{p_i}{c_w}[\text{atm} \cdot \text{L/mol}]$$

P_i - Partialdruck der Verbindung in der Gasphase (Luft) [atm]

c_g - Konzentration der Verbindung in Luft [mol/L]

c_w - Konzentration der gelösten Verbindung im Wasser [mol/L]

Daten werden häufig auch in $\text{Pa} \cdot \text{m}^3/\text{mol}$ angegeben, dann gilt:

$$1\ \text{atm} \cdot \text{L/mol} = 101.326\ \text{Pa} \cdot \text{m}^3/\text{mol}$$

Eine Umrechnung beider Konstanten gelingt einfach unter Nutzung des idealen Gasgesetzes und der resultierenden Beziehung

$$K'_H = \frac{K_H}{\text{RT}}$$

Je größer der Henry-Koeffizient, desto schneller gelangt die Substanz in die Atmosphäre. Aber auch persistente Stoffe mit relativ

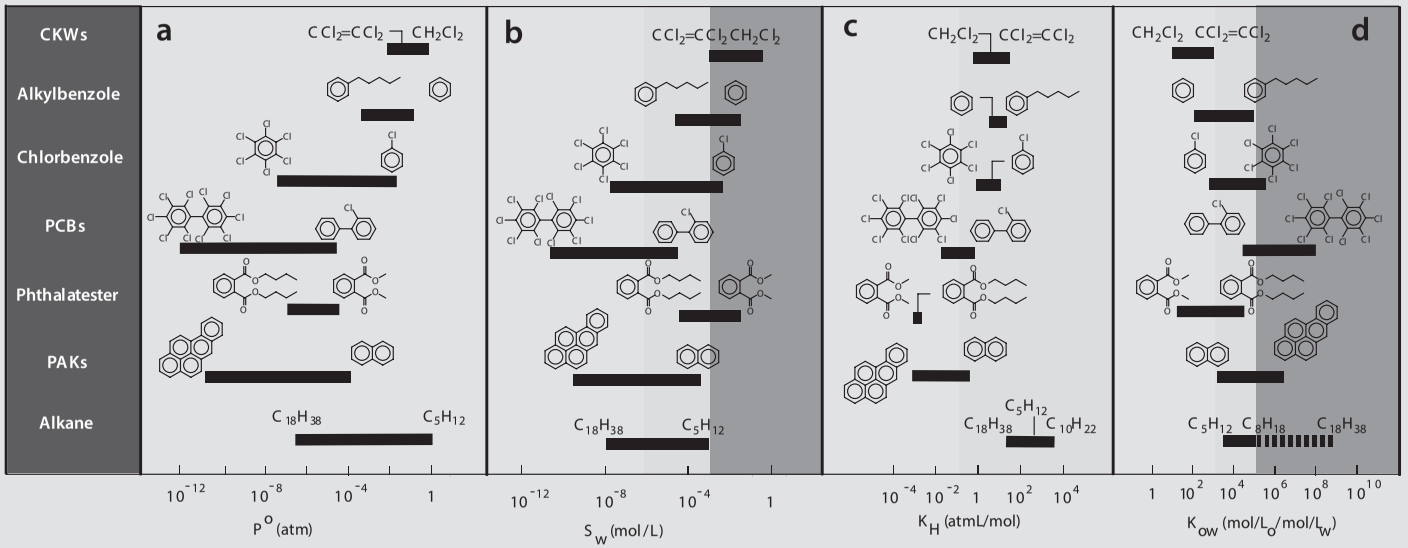


Abb. 5.3 Physiko-chemische Eigenschaften von ausgewählten Umweltchemikalien geordnet nach Stoffklassen. (Aus Schwarzenbach et al. 2003, sowie Ballschmitter, 1992). **a** Dampfdruck (P^o), **b** Wasserlöslichkeit (S_W) [die eingezeichneten Grautöne markieren hohe (dunkelgrau), mittelgute (hellgrau), schlechte Löslichkeit (weiß)], **c** Henry-Konstante (K_H) [Bevorzugung des Aufenthalts der Chemikalie in Luft (grau), in Wasser (weiß)], **d** *n*-Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizient (K_{ow}) [hohe (dunkelgrau), mittlere (hellgrau) und niedrige Akkumulationstendenz der Chemikalie (weiß)]. Daten lassen sich mit dem Programm „EPI Suite" (siehe ► Kap. 18) ermitteln

kleinen K_H werden aufgrund großer Aufenthaltszeiten in Gewässer und Boden allmählich in die Atmosphäre abgegeben (zum Beispiel DDT, PCB, PCDD, PCDF).

5.1.2.2 Adsorption an Feststoffe: Verteilung zwischen Wasser und Partikeln

In Gewässern spielen Partikel eine wichtige Rolle als Adsorbenzien. Der Transfer einer Verbindung aus der wässrigen Phase an oder in eine feste Phase (Partikel oder Sediment in See oder Fluss, Bodenmaterial, Grundwasserleitermaterial, Belebtschlamm in einer Kläranlage) wird **Sorption** bezeichnet, der umgekehrte Vorgang **Desorption.** Durch Sorption an Partikel und deren Sedimentation können Umweltchemikalien aus der Wassersäule von Gewässern entfernt werden. Auch im Boden ist die Verteilung zwischen Wasser und Bodenpartikel für den Transport von Umweltchemikalien wichtig. Die Verteilung bestimmt, wie stark eine Verbindung oberflächlich abgeschwemmt wird oder ins Grundwasser gelangt.

Die Mobilisierung und Wanderung von Chemikalien im und aus dem Boden oder Sediment hängen wesentlich von den Adsorptionseigenschaften der Chemikalien an Boden oder Sediment ab. Viele Umweltchemikalien sind zu einem guten Teil an die partikulären Anteile im Gewässer gebunden. Beispiele sind vor allem hydrophobe Verbindungen wie polychlorierte Kohlenwasserstoffe, aber auch polare Stoffe und Schwermetalle. Je nach Struktur der Umweltchemikalie und der Art und Menge der festen Phasen können unterschiedliche Sorptionsmechanismen wichtig sein. Einerseits kann es zu einer hydrophoben Verteilung zwischen der wässrigen Phase und organischem Material, andererseits zu verschiedenen spezifischen Wechselwirkungen an Oxid- und Tonmineraloberflächen kommen.

Generell sorbieren Stoffe mit geringer Wasserlöslichkeit und niedrigem Dampfdruck bevorzugt an Partikel, Sediment und Bodenbestandteile.

Die Verteilung zwischen fester Phase und Lösung wird im Gleichgewicht durch die **Festkörper-Wasser-Verteilungskonstante** K_p beschrieben.

$$K_P = \frac{c_s}{c_w}$$

c_s - Konzentration des sorbierten Stoffes
c_w - Konzentration des gelösten Stoffes

Die Sorption hydrophober Verbindungen an Partikel, Sediment und Boden kann in Beziehung zur Lipidlöslichkeit (welche umgekehrt proportional zur Wasserlöslichkeit der Substanzen ist) und zum Gehalt an organischem Kohlenstoff der sorbierenden Feststoffe gesetzt werden: Je größer der Gehalt an organischem Kohlenstoff, desto höher ist die Adsorption. Für die Adsorption im Boden und Sediment wird deshalb der Adsorptionskoeffizient häufig auf den Anteil an organischem Kohlenstoff bezogen. Für alle Übergänge von Chemikalien zwischen Boden und Sediment und der wässrigen Phase spielt die Adsorption eine ausschlaggebende Rolle. Je stärker eine Substanz an die Boden- oder Sedimentpartikel gebunden ist, desto weniger wird sie mobilisiert. Viele lipophile Substanzen (wie polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe) sind aufgrund der festen Bindung kaum bioverfügbar. Daraus resultierend sind sie schlecht abbaubar und es kommt zu einer sehr langen Aufenthaltszeit im Boden und Sediment.

5.1.2.3 Verteilung zwischen Wasser und Biota: *n*-Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizient

Die Adsorption hydrophober Chemikalien an Partikeln kann häufig in Beziehung zur Fettlöslichkeit (Lipophilie) gesetzt werden, vor allem die Verteilung in die Organismen. Als Maß für die Lipophilie wird heute meist der Verteilungskoeffizient K_{ow} einer Substanz in einem Gemisch von *n*-Octanol und Wasser verwendet.

$$K_{ow} = \frac{c_o}{c_w}$$

c_o - Konzentration in der *n*-Octanol-Phase

c_w - Konzentration in der Wasser-Phase

Der Verteilungskoeffizient K_{ow} wird häufig als Logarithmus angegeben. *n*-Octanol wird als Referenz verwendet, da es ähnliche Eigenschaften aufweist wie typische, in der Natur vorkommende, organische Stoffe (zum Beispiel Huminstoffe) und wie die Organismen selbst, allen voran die Zellmembranen. Der K_{ow} ist von großer Bedeutung, da er über die Bioakkumulationstendenz von Substanzen Auskunft gibt. Die Lipophilie ist umgekehrt proportional zur Wasserlöslichkeit einer Substanz.

5.1.3 Transformationsprozesse

Strukturelle Veränderungen von Chemikalien (**Umwandlungs-** oder **Transformationsprozesse**) in der Umwelt sind von großer Bedeutung. Häufig wird der Begriff „Senke" für diesen Mechanismus der Reduzierung der Konzentration einer Umweltchemikalie verwendet (◘ Tab. 5.2).

5.1.3.1 Abiotische Transformationen

Photolyse. Photolytische Prozesse sind vor allem in der Atmosphäre wichtig, jedoch auch an der Oberfläche von Gewässern und Boden relevant. Durch Absorption von Energie werden gewisse Chemikalien in einen elektronisch angeregten Zustand überführt. Sie weisen damit eine höhere Reaktivität auf, und gehen als Folge Transformationen ein. Von **direkter Photolyse** sprechen wir, wenn die Substanz selbst Licht absorbiert und danach umgewandelt wird. Die **indirekte Photolyse** umfasst hingegen Reaktionen von Verbindungen mit reaktiven Spezies (hauptsächlich Photooxidanzien wie Hydroxyradikale (OH•), Peroxyradikale (R–O–O•), Singulettsauerstoff $^1O_2$), die zuvor durch Einwirkung von Licht gebildet wurden. Photolytische Reaktionen sind von der Energie des Sonnenlichtes, vom Absorptionsspektrum des Moleküls und von Substanzen in der Umwelt abhängig, die diese Reaktionen begünstigen.

◘ **Tab. 5.2** Liste der wichtigsten Senken für Chemikalien

A	**Vorwiegend in der Atmosphäre:**
1	Indirekter photochemisch-oxidativer Abbau in der Gasphase, vorwiegend durch OH-Radikale, Ozon und Stickstoffdioxid
2	Direkte photochemische Transformation in der Atmosphäre (auch „Photolyse" genannt)
B	**Vorwiegend im Wasser:**
3	Biologischer – überwiegend mikrobieller – oxidativer Abbau in Oberflächengewässern
4	Chemische Hydrolyse
5	Photochemischer Abbau in wässriger Lösung (direkt und indirekt)
6	Biologischer Abbau/Modifikation durch Wasserpflanzen (zum Beispiel Algen)
C	**Vorwiegend im Boden/Sediment:**
7	Biologischer – überwiegend mikrobieller – oxidativer Abbau im Boden
8	Photochemisch-oxidativer Abbau an der Oberfläche
9	Abbau/Modifikation durch grüne Landpflanzen
10	Anaerob-biologischer und reduktiv-abiotischer Abbau (zum Beispiel in anoxischen Sedimenten)

Viele Chemikalien werden durch photolytische Prozesse an der Oberfläche von Pflanzen oder Boden sowie an der Oberfläche von Gewässern abgebaut.

Bei der **chemischen Hydrolyse** (Reaktionen von Chemikalien mit Wasser beziehungsweise Hydroxylionen) können zum Beispiel aus C–Cl- beziehungsweise C–C-Einfachbindungen C–OH-Bindungen entstehen. Hydrolysen sind insbesondere in Gewässern von Bedeutung, da sie die Aufenthaltszeit vieler Chemikalien stark bestimmen. Hydrolysereaktionen von organischen Verbindungen führen im Allgemeinen zu weniger toxischen Produkten. Die Hydrolyse ist stark temperatur- und – je nach Substanz – pH-abhängig.

Oxidative Prozesse können durch Reaktionen mit molekularem Sauerstoff oder mit reaktiven Sauerstoffspezies ablaufen, die meist durch photochemische Prozesse entstehen. In der Troposphäre sind vor allem Hydroxyradikale und Ozon für die Umwandlung von Chemikalien von Bedeutung. In Gewässern finden vor allem Reaktionen mit Peroxyradikalen und Singulettsauerstoff statt.

Reduktive Prozesse laufen besonders im anaeroben Milieu von Sedimenten und Boden ab. Eisen-Redoxsysteme oder an Proteine gebundene Porphyrine, die durch den Zerfall biologischen Materials frei geworden sind, übertragen Elektronen vom reduzierten organischen Substrat auf die Umweltchemikalien.

5.1.3.2 Biotische Transformationen

Biotische mikrobielle Umwandlungsprozesse in Gewässern, Sedimenten und Boden erfolgen mit Hilfe von **Enzymen.** Dabei werden in der Regel weniger giftige Metabolite gebildet, oft gefolgt von einer vollständigen **Mineralisierung** zu Kohlendioxid und Wasser. Substanzen, die durch biotische Prozesse schwer oder nicht abgebaut werden können, sind in der Regel persistent, da biotische Prozesse in Wasser, Sediment und Boden insgesamt vermutlich eine wesentlich größere Rolle spielen als abiotische.

Unter **Persistenz** verstehen wir die Langlebigkeit einer chemischen Verbindung in der Umwelt. Anhaltspunkte für die Persistenz können sich aus der Molekülstruktur und den physiko-chemischen Eigenschaften ergeben (siehe ▶ Abschn. 18.2).

Der Unterschied zwischen abbaubaren und persistenten Verbindungen ergibt sich durch die Kinetik der wichtigsten biotischen und abiotischen Abbau- beziehungsweise Transformationsprozesse (Bioabbau in Wasser, Boden und Sediment, direkter und indirekter photochemischer Abbau in der Atmosphäre und Hydrolyse). Daneben spielt auch die Kinetik der Transferprozesse eine wichtige Rolle. Eine Substanz ist dann persistent, wenn entweder alle genannten Abbauprozesse sehr langsam oder überhaupt nicht ablaufen, oder wenn ein Kompartiment, das eine effektive Senke enthält, von der Substanz in der Regel nicht erreicht oder die Substanz durch Transfer rasch aus ihm entfernt wird. So erklärt sich die große Stabilität vieler Stoffe in den meist anaeroben Sedimenten, obwohl in der Luft oder auch im aeroben Wasserkörper effektive Senken vorhanden sind.

Nach physiologischen Gesichtspunkten kann der mikrobielle Abbau von Umweltchemikalien wie folgt unterschieden werden (siehe ◘ Abb. 5.4):

Der Typ der **vollständigen Metabolisierung** beinhaltet den weitgehendsten Abbau und ist für viele Stoffgruppen nur bei Bakterien beschrieben worden. Dabei wird in der Regel die betreffende Substanz von den Mikroorganismen als Kohlenstoff- und Energiequelle genutzt, das heißt es entsteht Biomasse und CO_2 und H_2O aus der Substanz. Bei der vollständigen Metabolisierung kann es vorübergehend zur Akkumulation geringer Mengen von Metaboliten kommen. Diese Metabolite werden unter bestimmten Bedingungen auch außerhalb der Zellen gefunden.

Ein anderer produktiver Abbau verbunden mit der Bildung von Biomasse ist die Nutzung

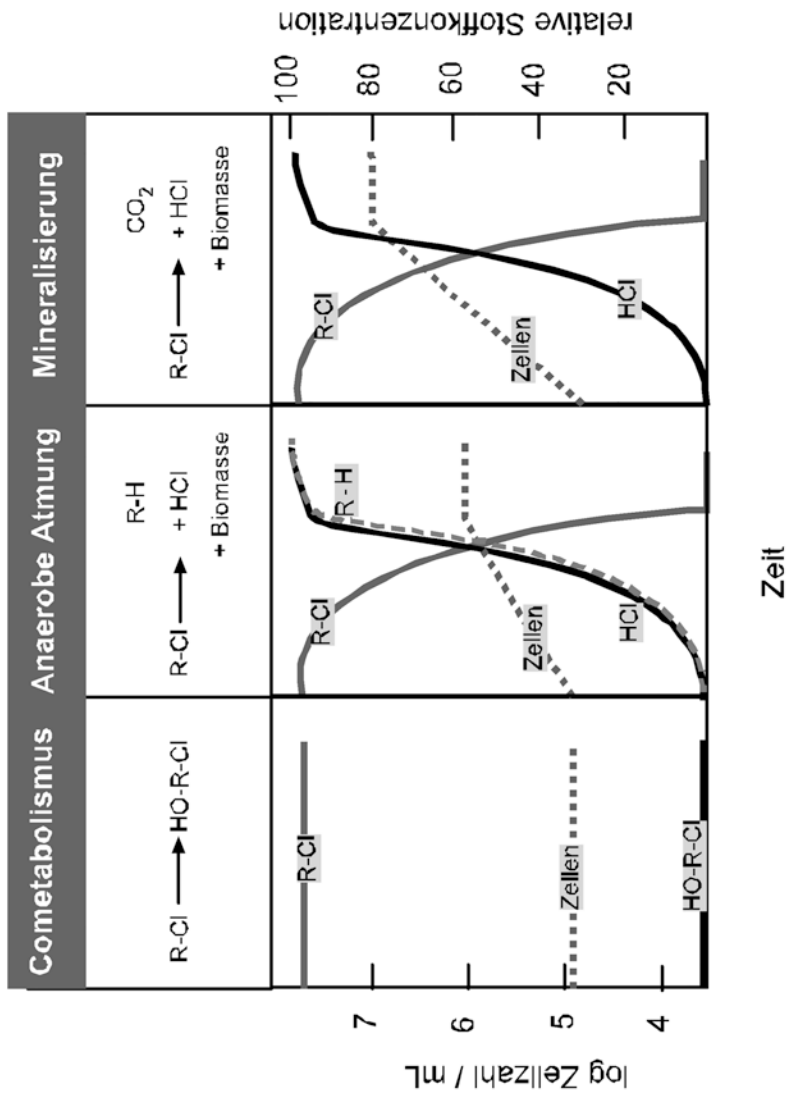


Abb. 5.4 Vergleich des Abbaus durch Cometabolismus, Verwendung als Elektronenakzeptor mit Dehalogenierung sowie als Kohlenstoff- und Energiequelle am Beispiel einer Modellverbindung (R = Benzoat: 3-Chlorbenzoat)

einiger Umweltchemikalien als **Elektronenakzeptor.** Dieser Metabolismus wurde für chlorierte Chemikalien gezeigt, wobei Dechlorierung und in der Regel Akkumulation eines dechlorierten Produktes erfolgt.

Die **cometabolische Transformation** wurde für eine ganze Reihe von Umweltchemikalien beschrieben. Das wesentliche Kriterium für diesen Typ des Abbaus ist, dass die entsprechenden Mikroorganismen die Verbindungen nicht als alleinige Kohlenstoff- und Energiequelle nutzen beziehungsweise damit wachsen können. Dieser Typ des Abbaus ist, abgesehen von einer möglichen Entgiftungsfunktion, für die Organismen ohne erkennbaren Wachstumsvorteil.

Die Organismen sind daher auf zusätzliche Substrate angewiesen, um ihren Stoffwechsel aufrecht zu erhalten und zu wachsen. Für diesen Typ des „Abbaus" kommen praktisch alle bekannten Abbauwege in Betracht, die nicht zum Wachstum der Organismen führen (unproduktiver Abbau). Es entstehen zum Teil primäre Oxidationsprodukte, welche möglicherweise von anderen Organismen weiter metabolisiert werden können.

Eine weitere Möglichkeit der Metabolisierung von Umweltchemikalien besteht

REACH, die neue EU-Chemikalienverordnung

Das bis 2007 genutzte System für allgemeine Industriechemikalien unterscheidet zwischen den „chemischen Altstoffen", das heißt allen chemischen Stoffen, die im September 1981 erklärtermaßen bereits auf dem Markt waren, und „neuen Stoffen", das heißt den nach diesem Datum in Verkehr gebrachten Stoffen.
Es gibt ungefähr 2700 neue Stoffe. Diese müssen gemäß der Richtlinie 67/548 der EU geprüft und hinsichtlich ihrer Gefährlichkeit für die menschliche Gesundheit und die Umwelt bewertet werden, bevor sie in Mengen über 10 kg in Verkehr gebracht werden. Für größere Mengen ist eine gründlichere Prüfung gefordert, die sich speziell auf langfristige und chronische Auswirkungen konzentriert.
Im Gegensatz dazu unterlagen die chemischen Altstoffe, die mehr als 99 % der Gesamtmenge sämtlicher auf dem Markt befindlichen Stoffe darstellten, nicht den gleichen Prüfvorschriften. Im Jahr 1981 waren insgesamt 100.106 Stoffe gemeldet, und es wird geschätzt, dass noch 30.000 dieser Stoffe in Mengen von mehr als einer Tonne in Verkehr gebracht werden. Etwa 140 dieser Stoffe sind als prioritäre Stoffe eingestuft und unterliegen umfangreichen Risikobeurteilungen durch die Behörden der Mitgliedsstaaten.

Die **Verordnung (EG) Nr.** 1907/2006 **des Europäischen Parlaments und des Rates vom 18. Dezember 2006 besagt,** dass die Altstoffe und die neuen Stoffe dem gleichen Verfahren im Rahmen eines **einheitlichen Systems** unterliegen sollen. Gemäß der 2007 in Kraft getretenen EU-Chemikalienverordnung REACH (ein Akronym für **R**egistration *(Registrierung)*, **E**valuation *(Bewertung)* und **A**uthorisation *(Zulassung)* von **Ch**emicals *(Chemikalien)*) müssen die Hersteller und Importeure von Chemikalien für ihre Stoffe Dossiers erstellen, um den sicheren Einsatz zu belegen. Behörde ist die Europäische Chemikalienagentur (ECHA) in Helsinki.
Die Anforderungen, einschließlich der Prüfanforderungen, des REACH-Systems hängen von den nachgewiesenen oder vermuteten schädlichen Eigenschaften, den Verwendungszwecken, der Exposition und den Mengen der hergestellten beziehungsweise importierten Chemikalien ab. Alle Chemikalien, die in Mengen über einer Tonne in Verkehr gebracht werden, sollen in einer zentralen Datenbank registriert werden. Bei größeren Mengen sind die langfristigen und chronischen Auswirkungen besonders zu beachten.
Durch REACH wird das bisherige Chemikalienrecht grundlegend harmonisiert und vereinfacht. REACH setzt auf die Eigenverantwortung der Industrie. Die ECHA schaut die Dossiers auf Plausibilität durch. Nationale Behörden aller EU-Staaten sollen die Dossiers dieser Stoffe detailliert prüfen. In Deutschland sind es die Bundesanstalt für Arbeitsschutz und Arbeitsmedizin (BAuA), das Bundesinstitut für Risikobewertung (BfR) und Umweltbundesamt (UBA).
Die **Dossierbewertung:** Die EU-Chemikalienagentur ECHA prüft bei jedem 20. Registrierungsdossier, ob die eingereichten Unterlagen vollständig und die von Herstellern vorgeschlagenen Tierversuche angemessen und notwendig sind. Sind Dossiers unvollständig oder fehlerhaft, müssen Chemikalienhersteller und -importeure nachbessern. ECHA kann die Firmen aber nicht unter Druck setzen – etwa durch die Drohung, die Registrierung und damit die Vermarktungsmöglichkeit zu entziehen.
Die **Stoffbewertung:** Die nationalen Behörden prüfen Dossiers einzelner Stoffe. Sie entscheiden, ob der Einsatz dieser Stoffe reguliert werden soll oder ob weitere Informationen einzufordern sind, um sie bewerten zu können. Die Stoffbewertung spielt auch eine Rolle beim Aufdecken und bei der Verbesserung mangelhafter Dossier.

Besonders besorgniserregende Stoffe (Substances of Very High Concern, SVHCs)

sind chemische Verbindungen (oder Teil einer Gruppe von chemischen Verbindungen), welche nach der **REACH-Verordnung** mit besonders gefährlichen Eigenschaften identifiziert worden sind. In die **Kandidatenliste** sind oder werden Stoffe aufgenommen, bei denen das Zulassungsverfahren das langfristige Ziel hat, sie schrittweise durch ungefährlichere Stoffe oder Technologien zu ersetzen, sofern technisch oder wirtschaftlich tragfähige Alternativen vorhanden sind (◘ Tab. 5.3).

Artikel 57 der REACH-Verordnung
Folgende Stoffe können nach dem Verfahren des Artikels 58 in Anhang XIV aufgenommen werden:

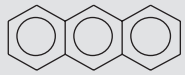
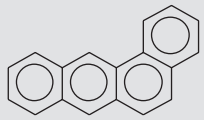
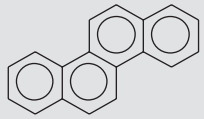
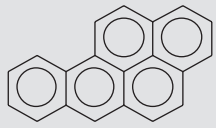
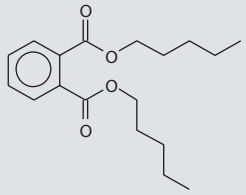
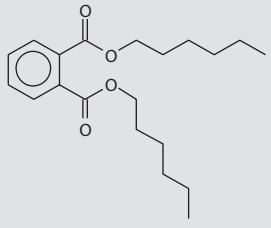
a) Stoffe, die die Kriterien für die Einstufung als **krebserzeugend** der Kategorie 1A oder 1B gemäß Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 erfüllen;
b) Stoffe, die die Kriterien für die Einstufung als **erbgutverändernd** der Kategorie 1A oder 1B gemäß Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 erfüllen;
c) Stoffe, die die Kriterien für die Einstufung als **fortpflanzungsgefährdend** der Kategorie 1A oder 1B gemäß Verordnung (EG) Nr. 1272/2008 erfüllen
d) Stoffe, die nach den Kriterien des Anhangs XIII der vorliegenden Verordnung **persistent, bioakkumulierbar** und **toxisch** sind **(PBT-Stoffe);**
e) Stoffe, die nach den Kriterien des Anhangs XIII der vorliegenden Verordnung **sehr persistent** und **sehr bioakkumulierbar** sind **(vPvB-Stoffe);**
f) Stoffe, – wie etwa solche mit endokrinen Eigenschaften oder solche mit persistenten, bioakkumulierbaren und toxischen Eigenschaften oder sehr persistenten und sehr bioakkumulierbaren Eigenschaften, die die Kriterien der Buchstaben d oder e nicht erfüllen –, die nach wissenschaftlichen Erkenntnissen wahrscheinlich schwerwiegende Wirkungen auf die menschliche Gesundheit oder auf die Umwelt haben, die ebenso besorgniserregend sind wie diejenigen anderer in den Buchstaben a bis e aufgeführter Stoffe, und die im Einzelfall gemäß dem Verfahren des Artikels 59 ermittelt werden.

in der **unspezifischen, radikalischen Oxidation.** Dieser Typ wird durch die Eigenschaften der ligninolytischen Enzymsysteme von Weißfäulepilzen ermöglicht (siehe ► Abschn. 4.4.4.5). Beim Abbau des in der Natur relativ persistenten Holzes sind diese Organismen auf den Abbau von Lignin spezialisiert. Aufgrund der makromolekularen Struktur und der fehlenden Wasserlöslichkeit des Lignins kann der Abbau nur über extrazelluläre Enzyme erfolgen. Mit diesen Enzymsystemen (Lignin-, Mangan-Peroxidasen und Laccasen) sind die Pilze fähig, durch radikalkatalysierte Spaltungsreaktionen Lignin zu depolymerisieren. Diese unspezifischen Oxidationsreaktionen prädestinieren diese Gruppe von Pilzen für den biologischen Abbau besonders persistenter Umweltschadstoffe.

5.2 Beurteilung von Chemikalien: Allgemeine Prinzipien und Konzepte

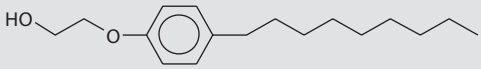
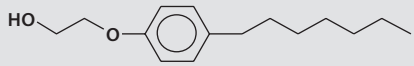
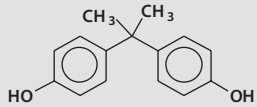
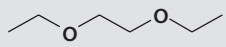
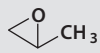
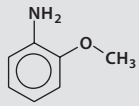
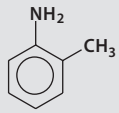
Die Abschätzung des Umweltrisikos von Chemikalien und deren Bewertung gewinnt zunehmend Bedeutung im praktischen Umweltschutz und in der Umwelthaftung, insbesondere seit Inkraftsetzung des Umwelthaftungsgesetzes von 1991. Nach dem Chemikaliengesetz (ChemG) besteht für **Substanzen und Erzeugnisse, die neu auf den Markt kommen** sollen, eine **Prüfpflicht,** die erlauben soll, das toxikologische Wirkprofil einer Substanz und ihre mögliche Gefährlichkeit für die Umwelt vor der Vermarktung abzuschätzen. Es wird damit zwischen neu auf den Markt gebrachten und bisherigen alten Stoffen unterschieden: Die Anmeldepflicht betrifft nur **neue**

Tab. 5.3 Ausgewählte Substanzen der Kandidatenliste mit besonders gefährlichen Eigenschaften, die in diesem Buch unter verschiedenen Gesichtspunkten angesprochen werden

Substanz	Eigenschaft(en), auf die in Artikel 57 Bezug genommen wird
Anthracen 	PBT (Artikel 57d)
Anthracen oil	Krebserzeugend (Artikel 57a) PBT (Artikel 57d) vPvB (Artikel 57e)
Benzo[a]anthracen 	Krebserzeugend (Artikel 57a) PBT (Artikel 57d) vPvB (Artikel 57e)
Chrysen 	Krebserzeugend (Artikel 57a) PBT (Artikel 57d) vPvB (Artikel 57e)
Benzo[a]pyren 	Krebserzeugend (Artikel 57a) Erbgutverändernd (Artikel 57b) Giftig für die Fortpflanzung (Artikel 57c) PBT (Artikel 57d) vPvB (Artikel 57e)
Furan	Krebserzeugend (Artikel 57a)
Dipentyl phthalat (DPP) 	Giftig für die Fortpflanzung (Artikel 57c)
Dihexyl phthalat 	Giftig für die Fortpflanzung (Artikel 57c)

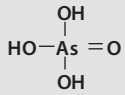
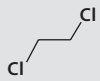
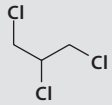
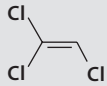
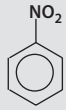
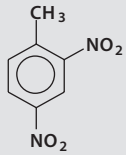
(Fortsetzung)

Tab. 5.3 (Fortsetzung)

Substanz	Eigenschaft(en), auf die in Artikel 57 Bezug genommen wird
4-Nonylphenol  Substanzen mit einer linearen und/oder verzweigten Alkylkette mit einer Kohlenstoffzahl von 9 kovalent in 4-Stellung an Phenol gebunden, ethoxylierte UVCB[a] und wohldefinierte Substanzen, Polymere und Homologe, die jedes der einzelnen Isomere und/oder Kombinationen davon einschließen	Endokrin wirksame Eigenschaften (Artikel 57(f) – Umwelt)
4-Heptylphenol  Substanzen mit einer linearen und/oder verzweigten Alkylkette mit einer Kohlenstoffzahl von 7 kovalent in 4-Stellung an Phenol gebunden, ethoxylierte UVCB und wohldefinierte Substanzen, Polymere und Homologe, die jedes der einzelnen Isomere und/oder Kombinationen davon einschließen	Endokrin wirksame Eigenschaften (Artikel 57(f) – Umwelt)
4,4′-Isopropylidendiphenol, Bisphenol A; BPA 	Giftig für die Fortpflanzung (Artikel 57c) Endokrin wirksame Eigenschaften (Artikel 57(f) – Umwelt) Endokrin wirksame Eigenschaften (Artikel 57(f) – menschliche Gesundheit)
1,2-Diethoxyethan 	Giftig für die Fortpflanzung (Artikel 57c)
Methyloxiran (Propylenoxid) 	Krebserzeugend (Artikel 57a) Erbgutverändernd (Artikel 57b)
2-Methoxyanilin, o-Anisidin 	Krebserzeugend (Artikel 57a)
o-Toluidin 	Krebserzeugend (Artikel 57a)

(Fortsetzung)

Tab. 5.3 (Fortsetzung)

Substanz	Eigenschaft(en), auf die in Artikel 57 Bezug genommen wird
Arsenic acid 	Krebserzeugend (Artikel 57a)
1,2-Dichlorethan 	Krebserzeugend (Artikel 57a)
1,2,3-Trichlorpropan 	Krebserzeugend (Artikel 57a) Giftig für die Fortpflanzung (Artikel 57c)
Trichlorethylen 	Krebserzeugend (Artikel 57a)
Nitrobenzol 	Giftig für die Fortpflanzung (Artikel 57c)
2,4-Dinitrotoluol 	Krebserzeugend (Artikel 57a)

[a]**UVBC:** Ein UVCB-Stoff ist im Chemikalienrecht ein chemischer Stoff mit unbekannter oder variabler Zusammensetzung bzw. ein komplexes Reaktionsprodukt oder ein biologisches Material. Dabei steht UVCB für englisch Unknown or Variable composition, Complex reaction products or Biological materials
► https://echa.europa.eu/de/substances-of-very-high-concern-identification-explained

Stoffe, sie kann aber auf besonders gefährliche alte Stoffe erweitert werden. Arznei- und Pflanzenschutzmittel unterlagen schon früher entsprechenden Zulassungsverfahren. Neue Stoffe sind alle Stoffe, die seit dem 18.09.1981 auf den Markt gebracht wurden; ca. 100.000 Altstoffe waren bereits vor diesem Datum im Gebrauch (aufgelistet im European Inventory of Existing Commercial Chemicals, EINECS).

Die **gesetzlichen Regelungen** dienen dazu, Menschen, Tiere und Pflanzen, ihre Lebensgemeinschaften und Lebensräume (Wasser, Boden, Luft) vor schädlichen Einwirkungen durch den Umgang mit umweltgefährdenden Stoffen zu schützen.

Neben dem Abbau-, Ausbreitungs- und Akkumulationsverhalten sind die Auswirkungen auf ausgewählte Organismen zu prüfen. Im

Tab. 5.4 Wassergefährdungsklassen und Wassergefährdungszahl mit Zuordnung verschiedener Erdölfraktionen sowie allgemein bekannte Umweltchemikalien

Wassergefährdungsklassen (WGK)	Wassergefährdungszahl (WGZ)	Beispiele von Chemikalien
0: im Allgemeinen nicht wassergefährdend	0–1,9	
1: schwach wassergefährdend	2–3,9	Rohöle (zähflüssige und feste), Heizöl (schwer)
2: wassergefährdend	4–5,9	Ottokraftstoffe, Dieselkraftstoff, Heizöl (leicht), Rohöle (leichtflüssige) Phenol, Toluol, Anilin
3: stark wassergefährdend	≥6	Altöle Benzol, 1,2,4-Trichlorbenzol, Benzo[a]pyren, Tetrachlorethen, Trichlorethen

Rahmen der OECD (Organization for Economic Co-operation and Development, das heißt eine internationale Organisation von industrialisierten Ländern) und von entsprechenden Umweltschutzbehörden (USEPA, Environmental Protection Agency der USA; UBA, Umweltbundesamt Berlin; MITI, Ministry of International Trade and Industry, Japan) sind Testverfahren zugelassen. Standardisierte Toxizitätstests kommen auch zur Klassifizierung und Einstufung von Chemikalien in Wassergefährdungsklassen zum Einsatz.

Die OECD hat seit 1981 Richtlinien zum Test von Chemikalien (Chemical Testing Programme, 1979/1980, Premarket Testing System: Guidelines for Testing of Chemicals) ausgearbeitet, die laufend ergänzt werden. Diese **Normen,** welche die Organismen, sowie die Durchführung, Bedingungen und Auswertung der Tests beschreiben, haben wesentlich zur Entstehung und Harmonisierung der Anmeldeverfahren von neuen Stoffen beigetragen. Sie gliedern sich in die vier Teilbereiche:

1. Physiko-chemische Eigenschaften
2. Abbau und Akkumulation
3. Effekte auf biologische Systeme
4. Effekte auf die menschliche Gesundheit (wird hier nicht behandelt)

Die die Umweltmikrobiologie betreffenden Punkte 2 sowie Teile von 3 werden hier besprochen.

Mit standardisierten Testmethoden werden Daten zur Toxizität und Ökotoxizität erhoben. Das Prinzip des **Deutschen Chemikaliengesetzes** (ChemG) beruht auf einer stufenweisen Erhöhung der Testerfordernisse mit der Produktionsmenge (Grundstufe, Stufe I und Stufe II). Der Untersuchungsaufwand steigt also mit der produzierten Menge eines Stoffes und der zu erwartenden Gefährlichkeit an (Box Stufenkonzept). REACH ist ähnlich strukturiert.

Das Deutsche **Wasserhaushaltsgesetz** (WHG) stellt neben dem ChemG umfangreiche Anforderungen an Daten zur Ökotoxikologie. Im WHG wird zur Regelung von Emissionen organischer Stoffe, welche im Abwasser überwiegend in einer Mischung vorliegen, meist mit Summenparametern (AOX, BSB, DOC und andere) gearbeitet, während sich das ChemG auf Einzelstoffe bezieht.

Für die Praxis spielt die Klassifikation von Chemikalien nach ihrer Gefährlichkeit eine wichtige Rolle. Ein Maß für die Bewertung des toxischen Potenzials einer Verbindung ist die in Deutschland eingeführte **Wassergefährdungsklasse (WGK),** ermittelt aus der akuten Toxizität (Ratten-, Bakterien- und Fischtoxizität), der biologischen Abbaubarkeit und dem Verteilungsverhalten (als *n*-Octanol/Wasser-Verteilungskoeffizient K_{ow}). Die Wirkung bei Wasserorganismen wird als Wassergefährdungszahl WGZ (negativer

Logarithmus der Toxizitätsschwelle) ausgedrückt. Es werden vier Wassergefährdungsklassen unterschieden (◘ Tab. 5.4).

Viele der im Wasser nachzuweisenden Schadstoffe besitzen ein ökotoxisches Potenzial in Konzentrationen deutlich <1 mg/L, welches nicht durch eine spezielle WGK erfasst wird.

5.2.1 Abbaubarkeitstests

Die Kenntnis der biologischen Abbaubarkeit ist ein zentrales Kriterium für die Bewertung der Umweltrelevanz von Substanzen und Stoffgemischen. Mit Abbautests kann festgestellt werden, ob damit zu rechnen ist, dass Substanzen in der Umwelt persistieren und damit auch langfristig ein Risikopotenzial darstellen.

Aufgrund der großen Anzahl an Chemikalien, die in der Gesellschaft benutzt werden, ist ein kostengünstiger Ansatz notwendig, der adäquates Wissen für die Entscheidungsfindung bezüglich Schutzes der Umwelt bereitstellt. Idealerweise wird ein System einfacher Tests für „vollständige Mineralisation" (*engl.* „ultimate biodegradability", Abbau einer Substanz bis zum CO_2) genutzt, um durch eine

Stufenkonzept des Deutschen Chemikaliengesetzes

Produktions- und Vermarktungsmengen bestimmen, welche Tests nach dem Chemikaliengesetz durchzuführen sind. Wird weniger als 1 Tonne im Jahr in den Verkehr gebracht, muss die Chemikalie nicht angemeldet werden. Bei höheren Mengen gilt ein Dreistufensystem:
Grundstufe: ab 1 t/Jahr oder insgesamt 50 t
Stufe I: ab 100 t/Jahr oder insgesamt 500 t
Stufe II: ab 1000 t/Jahr oder insgesamt 5000 t.
Die folgende Daten werden benötigt, wobei auf der nächst höheren Stufe zusätzliche zu erbringen sind:

Grundstufe
1. Physiko-chemische Eigenschaften
2. Akute Säuger-Toxizität (Ratte), LD_{50}-Wert
3. Subakute Toxizität
4. Haut- und Augenreizung und Sensibilisierung (Überempfindlichkeitsreaktion) bei Säugern
5. Mutagenität
6. Abiotische und biotische Abbaubarkeit
7. Akute Toxizität (LC_{50}) für *Daphnia magna* (24–48 h)
8. Akute Toxizität (LC_{50}) für Fische (48–96 h)

Stufe I
1. Subchronische Säugertoxizität
2. Einfluss auf die Fruchtbarkeit von Säugern (Tests über 1–2 Generationen)
3. Cancerogenität und Teratogenität (Säuger)
4. Langfristige biotische Abbaubarkeit (bei schlecht abbaubaren Stoffen der Grundstufe)
5. Wachstumstest (72 h) für einzellige Grünalgen *(Scenedesmus subspicatus)*
6. Chronische Toxizität (21 Tage) für *Daphnia magna* (Mortalität, Reproduktion), NOEL
7. Chronische Toxizität (14–21 Tage) für Fische (Brachydanio rerio) (letale und subletale Wirkung)
8. Pflanzentoxizität: Wachstumshemmung von Saatgut während 14 Tagen (Hafer, Rübe)
9. Regenwurmtoxizität *(Eisenja foetida):* Letale Wirkung während 14 Tagen

Stufe II
1. Toxikokinetik und Biotransformation (Säuger)
2. Chronische Toxizität (Säuger)
3. Cancerogenität (Langzeitstudie) (Säuger)
4. Verhaltenstoxizität (Säuger)
5. Fruchtbarkeitsveränderung und Fruchtschädigung (3 Generationen-Test) (Säuger)
6. Umweltverhalten: Mobilität und zusätzliche Abbaubarkeitsprüfung
7. Bioakkumulation (Fisch)
8. Langfristige Toxizität für Fische (Zebrabärbling, *Brachydanio rerio*) einschließlich Wirkung auf Fortpflanzung
9. Bei Biokonzentrationsfaktor >100, akute und subakute Toxizität für Vögel
10. Zusätzliche Toxizitätsprüfung an anderen Organismen (Krallenfrosch, Springschwänze)

vorläufige Ausleseprüfung solche Chemikalien zu identifizieren, für die weitere Daten und damit kostspieligere Tests notwendig sind. Die Abbaubarkeit wird zurzeit noch überwiegend in Gegenwart von Sauerstoff ermittelt, während anaerobe Tests noch entwickelt werden.

Es wird zwischen Testmethoden zur Bestimmung der **Endabbaubarkeit** (Mineralisierung unter Sauerstoffverbrauch zu CO_2) und der **Eliminierbarkeit** (Abnahme von Summenparametern wie CSB oder DOC) unterschieden. Mit substanzspezifischer Analytik wird hingegen der **Primärabbau** erfasst.

5.2.1.1 Methoden zur Verfolgung des Stoffumsatzes

Prinzipiell spielt sich beim aeroben Abbau einer Substanz folgender Vorgang ab:

Substrat + Sauerstoff → Biomasse
+ Abbauprodukte (CO_2, Chlorid und andere)

Hieraus ergeben sich folgende Möglichkeiten zur Verfolgung des Abbaus einer Chemikalie, die je nach Versuchsanordnung getrennt oder in Kombination angewandt werden:

- Messung der Konzentration der Testsubstanz.
- Messung des Sauerstoffverbrauches.
- Messung der Kohlendioxidentwicklung.
- Messung von anderen Abbauprodukten (Zwischenprodukten) (zum Beispiel Chlorid bei CKW).

Für die **Verfolgung der Konzentrationsabnahme einer Testsubstanz** sind alle spezifischen Verfahren der Chemie (HPLC, HPLC-MS, GC, GC-MS und andere) zu nennen. Die ermittelte Abnahme einer Substanz sagt jedoch nur etwas über den **Primärabbau** und nichts über den Endabbau (vollständige Metabolisierung) aus. Heute wird jedoch im Allgemeinen verlangt, dass ein vollständiger Abbau erfolgt, da auch nach dem Primärabbau noch schwer abbaubare oder umweltproblematische Zwischenprodukte entstehen können.

Eine Vielzahl von Methoden steht zur **Verfolgung der Konzentrationsabnahme mittels Summenparameter** zur Verfügung. Die **Bestimmung des chemischen Sauerstoffbedarfs** (CSB, engl. *Chemical Oxygen Demand,* COD) ist eine häufig eingesetzte Methode. Hierbei wird der Verbrauch im Allgemeinen an Kaliumdichromat in heißer schwefelsaurer Lösung oder einem anderen starken Oxidationsmittel wie Kaliumpermanganat als Maß für den oxidierbaren Kohlenstoff verwendet. Probleme hierbei sind, dass andere oxidierbare Stoffe (wie NH_4^+) falsche Werte geben. Außerdem werden je nach Oxidationsgrad der Verbindung verschiedene Werte erhalten. Die Oxidation ist bei einigen Stoffen nicht vollständig (zum Beispiel Glycerin, Pyridin, Nicotinsäure). Ansonsten ist die Bestimmung des CSB (angegeben in g Sauerstoff pro g Substanz) eine Methode, um den Mineralisierungsgrad anhand der Konzentration organischer Stoffe zu bestimmen.

Weiterhin wird der theoretische Sauerstoffbedarf (**ThSB;** engl. *Theoretical oxygen demand,* ThOD) bestimmt. Er ist die Gesamtmenge an Sauerstoff, die zur vollständigen Oxidation einer Substanz erforderlich ist. Er wird aus der Summenformel berechnet und als g Sauerstoffbedarf pro g Prüfsubstanz angegeben.

Weitere Bestimmungsmethoden analysieren den vorhandenen Kohlenstoff. Der **Gesamte organische Kohlenstoff** (engl. *Total Organic Carbon,* TOC) ist die Summe des organischen Kohlenstoffs in Lösung und in Suspension einer Probe. Hierbei wird der Kohlenstoff in der Probe vollständig in CO_2 oder CH_4 überführt. Diese werden dann bestimmt (Messbereich bis ca. 1 mg/L). Beim TOC werden wie beim CSB die Konzentration bzw. der Abbaugrad bestimmt, da Metabolite mit der Ausgangsverbindung identische Werte ergeben, sofern kein Kohlenstoff abgespalten wurde. Im Gegensatz zum CSB ist der Oxidationsgrad der Verbindung ohne Einfluss auf den TOC.

Bei der Bestimmung des **Gelösten organischen Kohlenstoffes** (engl. *Dissolved Organic Carbon,* **DOC**) wird die Probe vorher filtriert (Membranfilter 0,45 µm Poren) beziehungsweise 15 min zentrifugiert, es wird demnach nur die Eliminierung der Substanz aus der

wässrigen Phase ermittelt. Die Substanz kann hier also auch adsorbiert, ausgefällt oder in Biomasse eingebaut worden sein. Erfahrungen mit dem OECD-Screening Test zeigen jedoch, dass Adsorption oder Flockung nur eine untergeordnete Bedeutung haben und in der Regel eine DOC-Abnahme von löslichen Verbindungen auf Umwandlung in CO_2 und Biomasse zurückzuführen ist.

Der biologische Sauerstoffbedarf (**BSB,** engl. *Biological Oxygen Demand,* BOD) kann als Maß für den oxidativen Abbau einer Substanz verwendet werden. Der Verbrauch an Sauerstoff wird gemessen. Der Abbaugrad berechnet sich dann aus BSB/CSB oder BSB/ThSB. Störend sind Nitrifikationsprozesse, die ebenfalls Sauerstoff verbrauchen.

Der biologische Sauerstoffbedarf bei aerobem Abbau während fünf Tagen bei 20 °C ohne Lichteinwirkung wird als BSB_5 bezeichnet. Der **BSB** wird im Allgemeinen in g Sauerstoff pro g Substanz angegeben. Bei biologisch gut abbaubaren Substanzen ist er annähernd so groß wie der CSB, bei biologisch schlecht abbaubaren Substanzen deutlich niedriger.

Zur Sauerstoffmessung gibt es mehrere Verfahren:

1. Anfang-Ende Messung in vollständig gefülltem, geschlossenem Gefäß mittels Titration.
2. Nutzung einer Sauerstoffelektrode in geschlossenem Gefäß.
3. Nutzung eines Sapromat, der anhand des zu regenerierenden Sauerstoffs auf den Verbrauch schließen lässt.

Eine weitere Bestimmung mittels Summenparameter beinhaltet die Entwicklung von CO_2. Sie ist ein Maß für die Mineralisierung einer Substanz und eignet sich daher sehr gut als Maß für die Endabbaubarkeit in Die-away Tests, bei denen die Testsubstanz die einzige Kohlenstoffquelle darstellt. CO_2 kann zum Beispiel durch KOH oder NaOH-Lösung absorbiert werden. Durch Rücktitration nach Ende des Versuches kann verbleibende Lauge und damit entstandenes CO_2 bestimmt werden. Alternativ kann ausgefälltes $BaCO_3$ bestimmt werden. Die Messung der CO_2-Bildung ist nicht geeignet für Tests mit komplexen Substraten.

Theoretisches Kohlendioxid (**$ThCO_2$**, engl. *Theoretical carbon dioxide*) ist die Kohlendioxidmenge, die sich rechnerisch aus dem bekannten oder gemessenen Kohlenstoffgehalt der Prüfsubstanz bei vollständiger Mineralisation ergibt. Sie wird auch als g Kohlendioxid pro g Prüfsubstanz angegeben.

Bei einigen Verbindungen kann der Abbau durch das Verfolgen **spezifischer anorganischer Ionen** bestimmt werden, zum Beispiel Chlorid aus CKWs, Nitrat aus Nitroverbindungen, Sulfit aus Sulfonaten oder Phosphat aus manchen Herbiziden. Dieses Verfahren sagt jedoch nur etwas über die Entfernung der jeweiligen spezifischen Gruppe aus, aber nichts über den vollständigen Abbau.

Der Einsatz **radioaktiv markierter Verbindungen** ist oft die einzige Möglichkeit, den Verbleib einer Verbindung in komplexen Systemen vollständig zu bilanzieren. Dabei wird die Radioaktivität in den verschiedenen Kompartimenten (CO_2, Biomasse und andere) verfolgt.

5.2.1.2 OECD-Teststrategie

In der Bewertung von Stoffen nach Chemikaliengesetz und Pflanzenschutzgesetz sowie in der Einstufung von Chemikalien in das „Gefahrenmerkmal umweltgefährlich" oder in Wassergefährdungsklassen (WGK) wird die OECD-Teststrategie angewendet. Die Untersuchungen auf Abbaubarkeit von Chemikalien sind so organisiert, dass die dreistufige Strategie der Tests unterschiedliche Komplexität, Realität der Umwelt und auch Kosten beinhaltet:

- Die aerobe Abbaubarkeit wird zuerst mittels Screeningtests für **„leichte Abbaubarkeit (ready biodegradability)"** untersucht.
- Im Falle eines negativen Ergebnisses im Test auf „leichte Abbaubarkeit" wird die Abbaubarkeit einer Chemikalie in einem **Simulationstest** geprüft, um Daten zu bekommen, welche Abbauraten in der Umwelt beschreiben. Alternativ oder als Ergänzung werden Screeningtest für **„mögliche Abbaubarkeit (inherent**

Begriffe bei der Beurteilungen von Chemikalien bezüglich mikrobieller Abbaubarkeit

„Primary biodegradability“ (oder „partial biodegradability“) ist die Änderung der Struktur einer Chemikalie durch Mikroorganimen verbunden mit ihrem Verschwinden.
„Ultimate biodegradability“ (oder „total biodegradability“) bedeutet vollständige Mineralisation und Assimilation. Die Chemikalie wird vollständig durch die Mikroorganismen abgebaut und es entstehen CO_2 (unter aeroben Bedingungen) oder Methane (unter anaeroben Bedingungen), sowie Mineralsalze und Biomasse. Das heißt es gibt keine Rückstände des Abbaus oder Anhäufung von Transformationsprodukten.
„Ready biodegradable“ wird in enggefassten Tests ermittelt, welche nur eine begrenzte Möglichkeit für Biodegradation und Anpassung bieten. „Ready biodegradability“ ist leichte Abbaubarkeit unter aeroben Bedingungen, wobei festgelegt ist, dass die Testsubstanz praktisch in 28 Tagen vollständig abgebaut sein muss.
„Inherent biodegradable“ wird in solchen mikrobiellen Tests ermittelt, die eine Testverbindung über einen längeren Zeitraum den Mikroorganismen aussetzen oder andere günstige Bedingungen für Abbau bieten.
Die **„potenzielle Abbaubarkeit“** wird unter optimalen aeroben Bedingungen, ohne Zeitlimit ermittelt. Der Abbau, der unter den optimierten Bedingungen gezeigt wird, muss nicht notwendigerweise unter normalen Testbedingungen auftreten.

5

biodegradability)“ durchgeführt, um so Ergebnisse zu bekommen, die eine „mögliche Abbaubarkeit“ unter optimalen aeroben Bedingungen anzeigen, wie zum Beispiel in einer biologischen Kläranlage (biological **s**ewage **t**reatment **p**lants, STP).
- Schließlich wird die „mögliche Abbaubarkeit unter anaeroben Bedingungen“ mittels Screeningtests für anaerobe Abbaubarkeit untersucht.

Tests auf „leichte Abbaubarkeit“

Diese Tests werden unter aeroben Bedingungen durchgeführt und sind sehr streng. In ihnen werden **hohe Konzentrationen der Testsubstanz** (im Bereich von 2 bis 100 mg/L) eingesetzt. Die Abbaubarkeitsrate wird mittels unspezifischer Parameter wie Dissolved Organic Carbon (DOC), Biochemical Oxygen Demand (BOD) und CO_2 bestimmt.

Tests auf „leichte Abbaubarkeit“ müssen so gestaltet sein, dass ein positives Ergebnis eindeutig ist. Wenn ein positives Ergebnis in einem Test „leichte Abbaubarkeit“ vorliegt, so kann man annehmen, dass eine Chemikalie einer schnellen und „vollständigen Mineralisation“ in der Natur unterliegt. In einem solchen Fall sind normalerweise keine weiteren Untersuchungen zur Abbaubarkeit einer Chemikalie oder zu möglichen Umweltproblemen durch entstehende Transformationsprodukte notwendig. Die Tatsache, dass eine Chemikalie sich als „leicht abbaubar“ herausgestellt hat, lässt jedoch nicht ausschließen, dass Bedenken bezüglich der Abbauraten und der Transformationsprodukte im Falle eines hohen Einstromes in ein Ökosystem bestehen.

Ein negatives Ergebnis in einem Test auf „leichte Abbaubarkeit“ besagt nicht notwendigerweise, dass die Chemikalie unter relevanten Umweltbedingungen nicht abgebaut wird, sondern es bedeutet, dass sie in die nächste Teststufe übernommen werden sollte, entweder einen Simulationstest oder einen Test auf „mögliche Abbaubarkeit“.

Sechs Tests, welche für die Bestimmung der „leichten Abbaubarkeit“ von organischen Chemikalien benutzt werden können, sind in den OECD Test Guidelines beschrieben: DOC Die-Away Test, CO_2 Evolution Test, Modified MITI Test (I), Closed Bottle Test, Modified OECD Screening Test und Manometric Respirometry Test (◘ Tab. 5.5).

Ein typischer Ansatz mit den notwendigen parallelen Gefäßen ist in ◘ Abb. 5.5

Tab. 5.5 Übersicht über Abbaumethoden für die Substanzprüfung (es sind die Bezeichnungen der OECD wie auch die in der EU üblichen aufgeführt)

Bezeichnung des Tests	Guidelines		Modell für	Konzentration Testsubstanz (TS) (mg pro L Test)	Grenzwert für Bewertung der Abbaubarkeit bzw. Messparameter	Zellen pro L; Test Inokulum	Testdauer (in Tagen)	Anwendbarkeit für	
	OECD	EU						Schlecht flüchtige Substanz	Lösliche
Test auf leichte biologische Abbaubarkeit (ready biodegradability)									
DOC DIE-AWAY Test	301 A	C.4-A		10–40 DOC	70 % DOC	10^4–10^5, Klärschlamm, Kläranlagenauslauf, Oberflächenwasser, Boden oder Gemisch	28	–	–
CO_2 Evolution Test (Modifizierter Sturm-Test)	301 B	C.4-C	Oberflächenwasser	10–20 DOC oder TOC	60 % $ThCO_2$	10^4–10^5, Klärschlamm, Kläranlagenauslauf, Oberflächenwasser, Boden oder Gemisch	28	+	–
M.I.T.I. Test (I) (Icon)	301 C	C.4-F		100 TS	60 % ThOD	10^4–10^5, Gemisch von 10 verschiedenen Stellen, inkl. Industriellem Kläranlagenauslauf, Anpassung im Labor 1–3 Monate	28	–	±
Geschlossener Flaschentest (Closed Bottle Test) (Icon)	301 D	C.4-E	Oberflächenwasser	2–10 TS = 5–10 ThOD	60 % ThOD	10–10^3, sekundärer Kläranlagenauslauf (kommunal) und/oder Oberflächenwasser	28	±	+
Modifizierter OECD-Screening-Test	301 E	C.4-B	Oberflächenwasser	5–40 DOC	70 % DOC	10^2, sekundärer Kläranlagenauslauf (kommunal)	28	–	–
Manometrischer Respirationstest	301 F	C.4-D		100 TS = 50–100 ThOD	60 % ThOD	10^4–10^5, Klärschlamm, Kläranlagenauslauf, Oberflächenwasser, Boden oder Gemisch	28	+	±

(Fortsetzung)

Tab. 5.5 (Fortsetzung)

Bezeichnung des Tests	Guidelines		Modell für	Konzentration Testsubstanz (TS) (mg pro L Test)	Grenzwert für Bewertung der Abbaubarkeit bzw. Messparameter	Zellen pro L; Test Inokulum	Testdauer (in Tagen)	Anwendbarkeit für	
	OECD	EU						Schlecht flüchtige Substanz	Lösliche
Test auf potenzielle vollständige Abbaubarkeit (inherent biodegradability)									
Semi Continuous Activated Sludge Test (SCAS)	302 A	C.12		20 TS	DOC	$>10^5$, Klärschlamm von einer geeigneten Anlage, Anpassung nicht erlaubt	ca. 180	–	–
Mod. Standversuch nach Zahn-Wellens/EMPA	302 B	C.9	Industrieklär-anlage	50–400 DOC = 10–100 TS	DOC	Klärschlamm, Anpassung nicht erlaubt	28	–	–
Mod. M.I.T.I. Test (II)	302 C			30 TS	BOD	10^4–10^5, Gemisch von 10 verschiedenen Stellen, inkl. Industriellem Kläranlagenauslauf, Anpassung im Labor 1–3 Monate		+	–
Simulationstest									
Coupled Units Test (Waste Water Treatment Simulation Test) OECD Confirmation Test: Activated sludge	303 A	C.10	Kommunale Kläranlage	10–20 DOC	DOC/spezielle Analytik		ca. 180		

(Fortsetzung)

Tab. 5.5 (Fortsetzung)

Bezeichnung des Tests	Guidelines		Modell für	Konzentration Testsubstanz (TS) (mg pro L Test)	Grenzwert für Bewertung der Abbaubarkeit bzw. Messparameter	Zellen pro L; Test Inokulum	Testdauer (in Tagen)	Anwendbarkeit für	
	OECD	EU						Schlecht flüchtige Substanz	Lösliche
Coupled Units Test (Waste Water Treatment Simulation Test) OECD Confirmation Test: Biofilm	303 B								
Aerobic and anaerobic transformation in soil	307			1–100 µg					
Aerobic and anaerobic transformation in aquatic sediment systems	308			1–100 µg					

Funktionskontrolle mit Diethylglykol oder Anilin. Wenn kein Eintrag, dann sind die Tests noch nicht offiziell oder in Probe, oder Angaben nicht notwendig (Icon)werden als the two most stringent tests bezeichnet

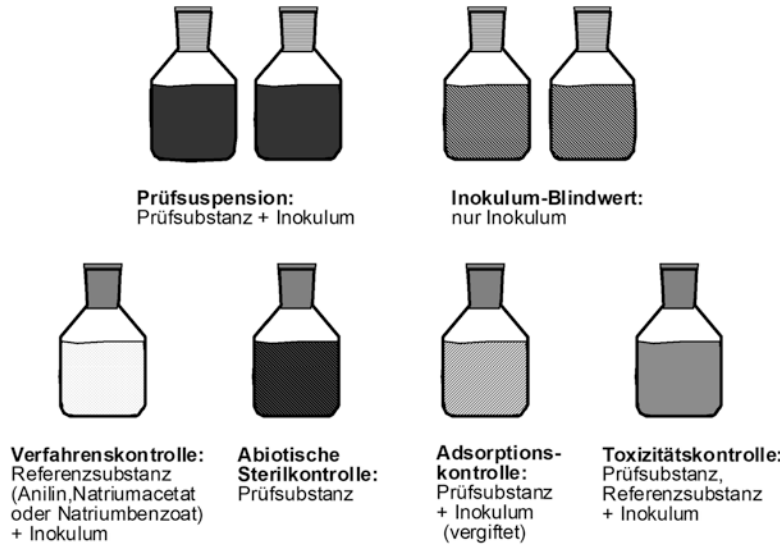


Abb. 5.5 Notwendige Prüfgefäße im modifizierten OECD Screening Test (OECD301E). Auffällig ist die für die Erzielung eines Ergebnisses große Anzahl an verschiedenen Kontrollansätzen

für den modifizierten OECD Screening Test dargestellt.

Eine Chemikalie wird dann als „leicht abbaubar" bewertet, wenn der **willkürlich festgelegte Schwellenwert** für Abbau erreicht wird (siehe Tab. 5.4). Der Schwellenwert muss im 10-Tage-Fenster innerhalb der 28-Tagedauer des Tests erreicht werden. Das 10-Tage-Fenster beginnt, wenn der Abbaugrad 10 % DOC, ThOD oder $ThCO_2$ erreicht hat. Es muss vor dem Ende der 28 Tage des Tests beendet sein. Beispielhaft zeigt Abb. 5.6 eine Abbaukurve mit den relevanten Parametern.

Wenn in einer Toxizitätskontrolle mit Prüf- und Referenzsubstanz innerhalb von 14 Tagen weniger als 35 % Abbau (DOC) beziehungsweise weniger als 25 % (ThOD oder $ThCO_2$) erzielt werden, kann von einer Hemmwirkung der Prüfsubstanz ausgegangen und muss die Versuchsreihe mit geringerer Konzentration der Prüfsubstanz und/oder höherer Konzentration des Inokulums wiederholt werden.

Die standardisierte Testdauer ist 28 Tage, obwohl Tests auch über diese 28 Tage hin verlängert werden können, wenn der Abbau begonnen hat und das Plateau noch nicht erreicht ist. Jedoch sollte nur der Abbaugrad innerhalb der 28 Tage für die Abschätzung der „leichten Abbaubarkeit" verwendet werden.

Die Schwellenwerte von entweder 60 % (ThOD oder $ThCO_2$) oder 70 % DOC bedeuten, dass die Testsubstanz praktisch vollständig abgebaut ist, da die verbleibende Menge der Testsubstanz von 30–40 % in die Biomasse geht.

Die angesprochenen Test-Richtlinien sind in vielfacher Hinsicht ähnlich: In allen Tests wird die Testsubstanz – angeboten als alleinige Kohlenstoff- und Energiequelle (Ausnahme der Kohlenstoff der Biomasse) – so im Medium verdünnt, dass eine **relativ niedrige Konzentration von Biomasse** entsteht. In allen Tests wird eine **unspezifische Analysemethode** für den Verlauf des Abbaus benutzt. Dies hat den Vorteil, dass die Methoden für eine große Anzahl verschiedenster organischer Verbindungen verwendet werden kann und keine spezifischen Analysemethoden entwickelt werden müssen. Da diese Methoden auch auf Rückstände des Abbaus oder

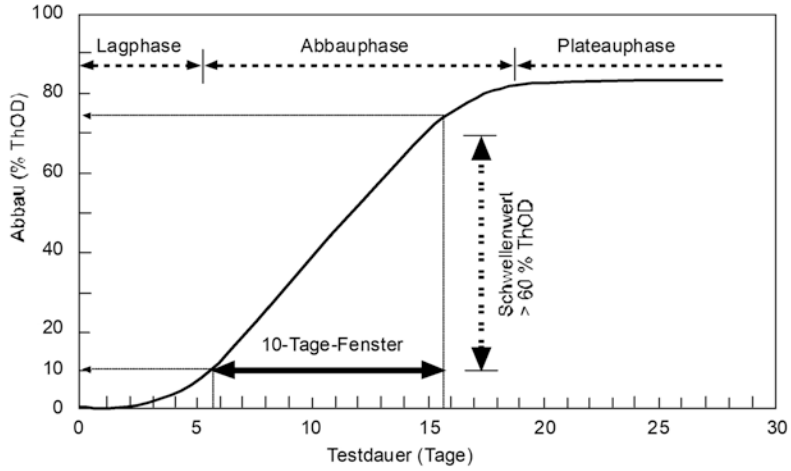


Abb. 5.6 Abbaukurve und Parameter für „leichte Abbaubarkeit"

Transformationsprodukte ansprechen, ist ein Hinweis auf den Umfang der „vollständigen Mineralisation" gegeben.

Es hat sich herausgestellt, dass eine Standardisierung des Inokulums die Vergleichbarkeit der Methoden erhöht. Jedoch wurde festgehalten, dass dies nicht möglich ist, ohne die Anzahl der Spezies im Testsystem deutlich zu reduzieren. Ein gemischtes Inokulum wird deshalb vorgeschlagen, um eine Varianz von Abbauorganismen im Test zu haben. Um stringente Bedingungen in den Tests zu gewährleisten, wurde beschlossen, eine Präadaptation des Inokulums an die Testsubstanz **nicht** zu erlauben.

Alle oben angesprochenen Methoden stellen Frischwasser-Tests dar. Für marine Umwelt wird deshalb der OECD-Test TG 306 „Biodegradability in Seawater" vorgeschlagen, der die Seewasservariante des Closed Bottle Test (TG 301 D) und des Modified OECD Screening Test (TG 301 E) beinhaltet. Man hat herausgefunden, dass Abbau von organischen Chemikalien im Seewasser langsamer abläuft als der in Frischwasser, Klärschlamm sowie Kläranlagenablauf. Ein positives Ergebnis in 28 Tagen in einem „Biodegradability in Seawater test" (>60 % ThOD; >70 % DOC) ist deshalb als ganz deutlicher Hinweis auf „leichte Abbaubarkeit" zu werten.

Simulationstests

Simulationstests zielen allgemein darauf ab, die Prüfung der Abbaurate und des Ausmaßes des Abbaus in Laborsystemen so zu gestalten, dass sie entweder Kläranlagen oder spezifische Umweltbereiche wie Boden, aquatische Sedimente und Oberflächenwasser simulieren. Es werden deshalb die jeweils vorkommende Biomasse, relevante Feststoffe (Boden, Sediment oder andere Oberflächen), welche die Sorption der Chemikalie erlauben, und eine typische Temperatur verwendet. Eine niedrige Konzentration der Testsubstanz wird eingesetzt, um die Abbauraten zu bestimmen. Hohe Konzentrationen werden normalerweise benutzt, um die Haupttransformationsprodukte zu identifizieren und zu quantifizieren. Eine niedrige Konzentration in diesen Tests bedeutet eine Konzentration (weniger als 1 bis 100 µg/L), die so niedrig ist, dass die in den Tests resultierende Abbaukinetik der in der Umwelt zu erwartenden annähernd entspricht. Die Abbauraten werden entweder mittels ^{14}C-Markierungsmethode oder durch spezifische chemische Analysen ermittelt. Wenn man auf Totalabbau prüft, sollte sich bei der Verwendung von ^{14}C-markierten Chemikalien die ^{14}C-Markierung in dem am schlechtesten abbaubaren Teil

des Moleküls befinden. Falls der stabilste Teil nicht die funktionellen und umweltrelevanten Teile des Moleküls beinhaltet, so kann man eine Chemikalie mit verschiedener ^{14}C-Markierung in Betracht ziehen.

- **Kläranlagensimulation**

Das Schicksal einer Chemikalie in Kläranlagen kann im Labor mit den Simulationstests Aerobic „Sewage Treatment: Activated Sludge Units (TG 303 A)“ und „Biofilms (TG 303 B)“ untersucht werden. Der Abbau der Testsubstanz wird mittels DOC und/oder COD verfolgt. Im Basis-Testverfahren (TG 303 A und TG 303 B) wird ein Zusatz der Testsubstanz in einer Konzentration zwischen 10 und 20 mg/L DOC vorgeschlagen. Jedoch sind viele Chemikalien auch im Abwasser in viel geringerer Konzentration vorhanden, sodass im Anhang zu TG 303 eine sinnvolle, niedrige Konzentration von (<100 µg/L) aufgeführt ist.

Schwellenwerte für die Eliminierung von Chemikalien in den **Kläranlagensimulationen** sind nicht definiert. Es wird angemerkt, dass solche Werte nur in Bezug auf die spezifischen Betriebsbedingungen und den Aufbau der Anlage sinnvoll sind. Die Testergebnisse sind jedoch nützlich, um eine Eliminierung in einer Kläranlage abzuschätzen und so bei einer vorhandenen Einlaufkonzentration die resultierende Konzentration im Ablauf in den Vorfluter vorhersagen zu können.

Simulation des Abbaus im Boden, im Sediment oder im Oberflächenwasser Die folgenden Tests können für die Nachbildung des Abbaus von organischen Chemikalien unter realistischen Umweltbedingungen im Boden, im Sediment oder im Oberflächenwasser genutzt werden: Aerobic and Anaerobic Transformation in Soil (TG 307); Aerobic and Anaerobic Transformation in Aquatic Sediment Systems (TG 308); and Aerobic Mineralisation in Surface Water – Simulation Biodegradation Test (TG 309).

Generell werden niedrige Konzentrationen der Substanzen für die Bestimmung der Abbaubarkeit eingesetzt. Eine niedrige Konzentration (nicht mehr als 1 bis 100 µg/L) erlaubt eine Abbaukinetik, die der in der Umwelt zuerwartenden entspricht. Die Tests sollten bei einer Temperatur durchgeführt werden, die charakteristisch für die jeweilig zu simulierende Umwelt ist.

Tests auf „mögliche Abbaubarkeit“

Die Tests auf „mögliche Abbaubarkeit“ sind so gestaltet, dass sie aufgrund der Nutzung von günstigen aeroben Bedingungen die Möglichkeit bieten, dass Abbau stattfinden und damit eine „mögliche Abbaubarkeit“ abgeschätzt werden kann. Die leistungsfähigen Verfahren erlauben eine dauerhafte Exposition der Testsubstanz gegenüber den Mikroorganismen und ein niedriges Verhältnis zwischen Testsubstanz und Biomasse. Einige der Test können mit Mikroorganismen durchgeführt werden, die vorher der Substanz ausgesetzt waren. Dies führt häufig zu einer Adaptation und damit zu signifikant höherem Abbau der Substanz.

Die folgenden vier in den OECD Test Guidelines aufgeführten Methoden erlauben die Messung der „mögliche Abbaubarkeit“ von organischen Chemikalien (siehe ◘ Tab. 5.4): Modified SCAS Test (TG 302 A), Zahn-Wellens/EMPA Test (TG 302 B) und Modified MITI Test (II) (TG 302 C).

Da die **„mögliche Abbaubarkeit“ als spezifische Eigenschaft einer Chemikalie** angesehen wird, ist es nicht notwendig, Grenzen bezüglich Testdauer oder Abbauraten zu definieren. Abbauraten über 20 % (gemessen als BOD, DOC oder COD) können als Hinweis auf „möglichen, Primärabbau“ gewertet werden, während Raten über 70 % als Beleg für „mögliche, vollständige Mineralisation“ gelten.

Eine Substanz, die bei einem solchen Test zu einem positiven Ergebnis führt, wird als „möglich abbaubar“ klassifiziert, welches wünschenswerterweise mit dem Zusatz „mit Präadaptation“ oder „ohne Präadaptation“ bezeichnet werden sollte. Da diese Tests sehr günstige Bedingungen bereitstellen, kann von

„inherently biodegradable" Chemikalien ein schneller Abbau in der Umwelt nicht generell erwartet werden. Es bedeutet also nicht, dass Persistenz in der Umwelt nicht vorliegen kann.

Wenn die Ergebnisse anzeigen, dass „mögliche, vollständige Mineralisation" nicht vorhanden ist, so kann es zur vorläufigen Bewertung auf **Persistenz in der Umwelt** und dem Urteil möglicher ungünstiger Effekte durch die Transformationsprodukte führen.

Screening Tests auf anaerobe Abbaubarkeit

Eine mögliche anaerobe Abbaubarkeit einer organischen Chemikalie kann mit dem folgenden Test ermittelt werden: „Anaerobic Biodegradability of Organic Compounds in Digested Sludge/Method by Measurement of Gas Production (TG 311)". Die Testsubstanz, die als einzige organische Substanz im Testansatz zugesetzt ist, wird in relativ niedriger Konzentration einem verdünnten anaeroben Klärschlamm ausgesetzt. Die Abbauraten werden im geschlossenen Gefäß mit unspezifischen Parametern wie Bildung von Gesamt anorganischer Kohlenstoff, CO_2 und CH_4 bestimmt.

Eine Testdauer von 60 Tagen wird vorgeschlagen, doch kann der Test auch über diesen Zeitraum hinaus fortgesetzt oder auch schon früher beendet werden, falls der Abbau ein Plateau erreicht hat, welches einen genügenden Abbaugrad von (>60 %) anzeigt.

Keine formalen Entscheidungskriterien für „anaerobe Abbaubarkeit" sind bisher gemacht worden, doch wird vorläufig der geringste Wert für „ready anaerobic biodegradability" mit 60 % ThOD oder $ThCO_2$ angegeben.

Der Test (TG 311) ist für die Abschätzung „ultimate anaerobic biodegradability of organic chemicals in heated digesters for anaerobic sludge treatment" in einem bestimmten Konzentrationsbereich entwickelt worden. Er ist deshalb nicht für anoxische Umweltkompartimente wie anoxische Sedimente und Böden verwendbar.

5.2.2 Toxizitäts- und Mutagenitätsprüfungen mit mikrobiellen Systemen

Zur raschen Erkennung von toxischen Umweltchemikalien in Wasser, Boden und Luft hat der Einsatz von Mikroorganismen in Toxizitätstests eine breite Anwendung gefunden. Mikrobielle Verfahren sind wegen ihrer Schnelligkeit, Wirtschaftlichkeit, Einfachheit in der Handhabung und wegen ihrer Empfindlichkeit wichtige Screening-Verfahren. So werden neu synthetisierte Verbindungen routinemäßig vor allem in der chemischen und pharmazeutischen Industrie auf ihre Mutagenität (erbgutschädigende Wirkung) mittels Kurzzeitmutagenitätstests untersucht.

5.2.2.1 Toxizitätstests für aquatische Ökosysteme

Als **Parameter** wird in akuten Toxizitätstests die Überlebensrate oder Mortalität bestimmt, chronische Wirkungen werden mit empfindlicheren und vielseitigeren Parametern gemessen. **Ziel** und **Nutzen** von Toxizitätstests sind die Erfassung, Charakterisierung und Bewertung der Ökotoxizität von einzelnen Chemikalien, Chemikaliengemischen und Umweltproben und daraus resultierend eine Definition von Gefährdungsklassen für die Umwelt.

Grundsätzlich ist es nur mit **mehreren Toxizitätstests und Organismen verschiedener trophischer Stufen** möglich, Wirkungen von Chemikalien auf Ökosysteme abzuschätzen. Details der einzelnen Toxizitätstests sind in entsprechenden OECD-Richtlinien, DIN-Normen und „EU Testing Methods" festgehalten. Empfohlene Standardtests sind Bakterien-, Algen-, Daphnien- und Fischtoxizität. Im Rahmen des Buches muss eine Beschränkung auf die Vorstellung von mikrobiellen Tests erfolgen.

Algentest

Der Algentoxizitäts-Test hat das Ziel, **chronische toxische Effekte** von Prüfsubstanzen oder Umweltproben auf das Wachstum von planktonischen Süßwasseralgen zu bestimmen. Hierzu werden die Algen (*Selenastrum carpricornutum* beziehungsweise *Scenedesmus subspicatus*) mit der Prüfsubstanz in einem definierten Medium über mehrere Generationen kultiviert.

Nach 24, 48 und 72 h Inkubation unter bestimmten Licht- und Temperaturverhältnissen wird die Zellzahl als Maß für die Biomasse mikroskopisch bestimmt. Aus der Dosis-Wirkungsbeziehung wird die 50 %ige Effektkonzentration auf das Wachstum (EbC_{50}), bezogen auf die Biomasse bestimmt. Zusätzlich wird die Hemmung der Wachstumsrate (ErC_{50}), bezogen auf Zellzahl zu Beginn und am Ende des Tests sowie die höchste Konzentration, bei der keine Wachstumshemmung im Vergleich zum Kontrollansatz beobachtet wurde (No Effect Concentration, NOEC), angegeben.

Pseudomonas putida Wachstumshemmtest

Der Pseudomonas-Zellvermehrungs-Hemmtest ist ein Test zur **Bestimmung der chronischen Toxizität** von wasserlöslichen Stoffen auf Bakterien. Verwendet wird *Pseudomonas putida* als Stellvertreter für heterotrophe Mikroorganismen im Süßwasser. Die Testbakterien werden in einer definierten Nährlösung mit einer Konzentrationsreihe der Prüfsubstanz über mehrere Generationen kultiviert. Nach 16 h wird die Zellkonzentration mittels Trübungsmessung ermittelt. Die 10 und 50 %ige Effektkonzentration auf das Wachstum (EC_{50}) wird als Resultat angegeben. Als Referenzsubstanz dient 3,5-Dichlorphenol (EC_{50} 10–30 mg/L).

Leuchtbakterientest

Der Leuchtbakterientest **(Microtox-Test)** ist ein **statischer Kurzzeittest** zur Untersuchung von Abwasser und wässrigen Lösungen von Prüfsubstanzen. Er gehört heute zu den gebräuchlichsten Toxizitätstests überhaupt und wurde in gesetzliche Verordnungen einiger Länder (zum Beispiel Deutschland) aufgenommen.

Verwendet werden marine Bakterien der Gattungen *Vibrio fischeri* (auch *Photobacterium phosphoreum*). Sie senden als Produkt ihres Stoffwechsels ein kaltes Leuchten **(Bioluminiszenz)** aus (siehe ◘ Abb. 11.7). Eine gleichmäßige Luminiszenz deutet auf einen ungestörten Stoffwechsel hin, bei einer Störung (zum Beispiel durch die Einwirkung von Chemikalien) ist hingegen die bakterielle Leuchtintensität vermindert. Es wird nach einer Kontaktzeit von 30 min die Leuchtintensitätsabnahme gegenüber Kontrollansätzen ohne Chemikalie bestimmt. Der dabei erhaltene EC_{50}-Wert ist diejenige Konzentration, bei der die Lichtemission um 50 % gesenkt wird.

Neben Chemikalien werden auch **Umweltproben** (Abwasser, Sickerwasser, Sedimentporenwasser, Sedimentextrakte) geprüft. Der Test wird auch zur Beurteilung der **Bioverfügbarkeit** von Schadstoffen in Böden und der Erfolgskontrolle bei Boden- und Altlastensanierungen verwendet.

Der Microtox-Test ist gut reproduzierbar und es existiert eine breite Datenbasis mit einigen hundert Chemikalien. Der Microtox-Test zeigt bei löslichen organischen Chemikalien teilweise deutliche Korrelationen mit akuten Daphnien- oder Fischtests. Bei schlecht wasserlöslichen, lipophilen organischen Chemikalien und bei Stoffen, die schlecht die Zellwand durchdringen, scheint der Test eine geringere Empfindlichkeit zu zeigen.

Nitrifikationshemmtest

Der Nitrifikationshemmtest mit Belebtschlamm untersucht die potentielle Auswirkung von Prüfsubstanzen oder Abwasserproben auf die Bakteriengruppe der Nitrifikanten, die Ammonium zu Nitrat oxidieren. Diese sind aufgrund ihrer verhältnismäßig langen Generationszeit besonders anfällig, was zu Störungen in

nitrifizierenden Abwasserreinigungsanlagen führen kann.

Im Test wird eine Verdünnungsreihe im relevanten Bereich einschließlich der Kontrolle ohne Prüfsubstanz untersucht. Parallel hierzu wird die Referenzsubstanz Allylthioharnstoff als Nitrifikationshemmer (hemmt Ammoniak-Monooxygenase) mitgetestet. Nach 4 h erfolgt die Konzentrationsbestimmung an Ammonium, Nitrit und Nitrat in der filtrierten Probe. Aus dem Vergleich der oxidierten Stickstoffverbindungen in den Testansätzen mit denen des Blindwertansatzes errechnet sich für jede Testkonzentration die prozentuale Hemmung. Als Ergebnis wird die 50 %ige Effektkonzentration auf die Nitrifikation (EC_{50}) ermittelt.

5.2.2.2 Mutagenitätsprüfung mit bakteriellen Systemen

Ames-Test (OECD 471, DIN 38415-4)

Der von Ames und Mitarbeitern in den 70er Jahren entwickelte Kurzzeitmutagenitätstest wird routinemäßig vor allem in der chemischen und pharmazeutischen Industrie durchgeführt, um neu synthetisierte Verbindungen auf ihre Mutagenität (erbgutschädigende Wirkung) zu untersuchen.

Die im Ames-Test verwendeten Stämme von *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium können aufgrund von Mutationen nicht mehr ohne die Aminosäure Histidin auf Agarplatten wachsen (*his*$^-$). Es werden die Mutanten TA100 (Basensubstitution) sowie TA98 (Rasterschub) eingesetzt. Unter dem Einfluss einer mutagenen Substanz kann die jeweilige Mutation teilweise rückgängig gemacht werden (Rückmutationen zum *his*$^+$ Genotyp), sodass eine entsprechende Zahl von Kolonien auf dem Nährmedium heranwächst und ausgezählt werden kann (Bei Revertanten wird also eine verlorengegangene Genaktivität wieder hergestellt).

Eine Erhöhung der Revertantenzahlen gegenüber den stammspezifischen Spontanraten (Kontrollen) ist ein direktes Maß für die mutagene Wirkung der Testsubstanz, das heißt die festgestellte Reversionsrate muss oberhalb der ebenfalls ermittelten Spontanmutationsrate liegen.

Um den Säugetierstoffwechsel zu simulieren, wird ein Organextrakt (sogenannte S9-Fraktion) aus Rattenleber zugegeben. Dieser Extrakt enthält einen großen Teil der für die Verarbeitung von Fremdstoffen verantwortlichen Enzyme Cytochrom P-450 eines Säugers. Diese sind unter Umständen in der Lage, mutagene Substanzen in nichtmutagene Verbindungen umzuwandeln, sie können aber auch eine nicht-mutagene Substanz so umbauen, dass aus einem „Prämutagen“ ein „Mutagen“ wird.

Tab. 5.6 zeigt die Substanzen, die als positive Kontrollen eingesetzt werden.

Ein positiver Ames-Test wird als Hinweis auf die Kanzerogenität (krebserregende Wirkung) einer Substanz gewertet, da die meisten mutagenen Stoffe beim Säuger ebenfalls karzinogen wirken. Der Test weist eine im Allgemeinen gute Aussagekraft auf, wenngleich insbesondere beim Fehlen einer erhöhten Rückmutation durch die Chemikalie oder seiner Aktivierungsprodukte in anderen Tests weiter untersucht werden muss (Abb. 5.7).

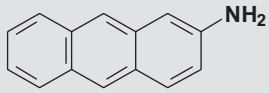
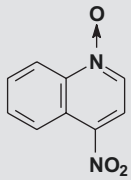
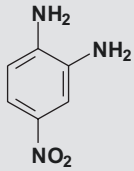
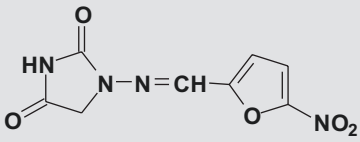
Umu-Test (DIN 38415-3)

Mit dem *umu*-Test werden durch Gentoxine verursachte Schäden an der DNA über den Nachweis der Induktion zelleigener DNA-Reparaturmechanismen angezeigt. Der Testorganismus *S. enterica* Serovar Typhimurium TA1535/pSK1002 reagiert auf Schädigung seines genetischen Materials mit der Induktion des SOS-Reparatursystems (siehe Box SOS-Reparatur).

Die Bakterien werden mit verschiedenen Konzentrationen der Testsubstanz exponiert. Hierbei induzieren Gentoxine das sogenannte *umuC*-Gen, das zum SOS-Reparatursystem der Zelle gehört, welches einer Schädigung der bakteriellen Erbsubstanz entgegenwirkt.

Da das *umuC*-Gen im verwendeten Stamm direkt vor das *lacZ*-Gen auf dem

Tab. 5.6 Kontrollsubstanzen in Mutagenitätstests

Substanz		Mutagene Wirkung	Testorganismen
	2AA, 2-Aminoanthracen	Mit S9-Mix	TA98, TA100, TA1535/pSK1002
	NQO, 4-Nitrochinolin-N-oxid	Ohne S9-Mix	TA1535/pSK1002
	4-NPDA, 4-Nitro-1,2-phenylendiamin	Ohne S9-Mix	TA98
	NF, Nitrofurantoin	Ohne S9-Mix	TA100

Plasmid pSK1002 kloniert ist, welches für die β-Galactosidase kodiert, kann die Messung der Induktionsrate des umuC-Gens durch die Bestimmung der β-Galactosidase erfolgen. Die Bildung des gelben Farbstoffs *o*-Nitrophenol aus *o*-Nitrophenyl-β-D-galactosid ist also das Signal, welches die gentoxische Wirkung der Testsubstanz anzeigt. Als Maß für die Gentoxizität wird die Induktionsrate gegenüber der Negativkontrolle angegeben. Der Test wird in Mikrotiter-Platten sowohl mit S9-Extrakt zur metabolischen Aktivierung von Gentoxinen (von Promutagen zu Mutagen) als auch ohne durchgeführt.

Die positiven Kontrollsubstanzen sind in ◘ Tab. 5.5 aufgeführt (◘ Abb. 5.8).

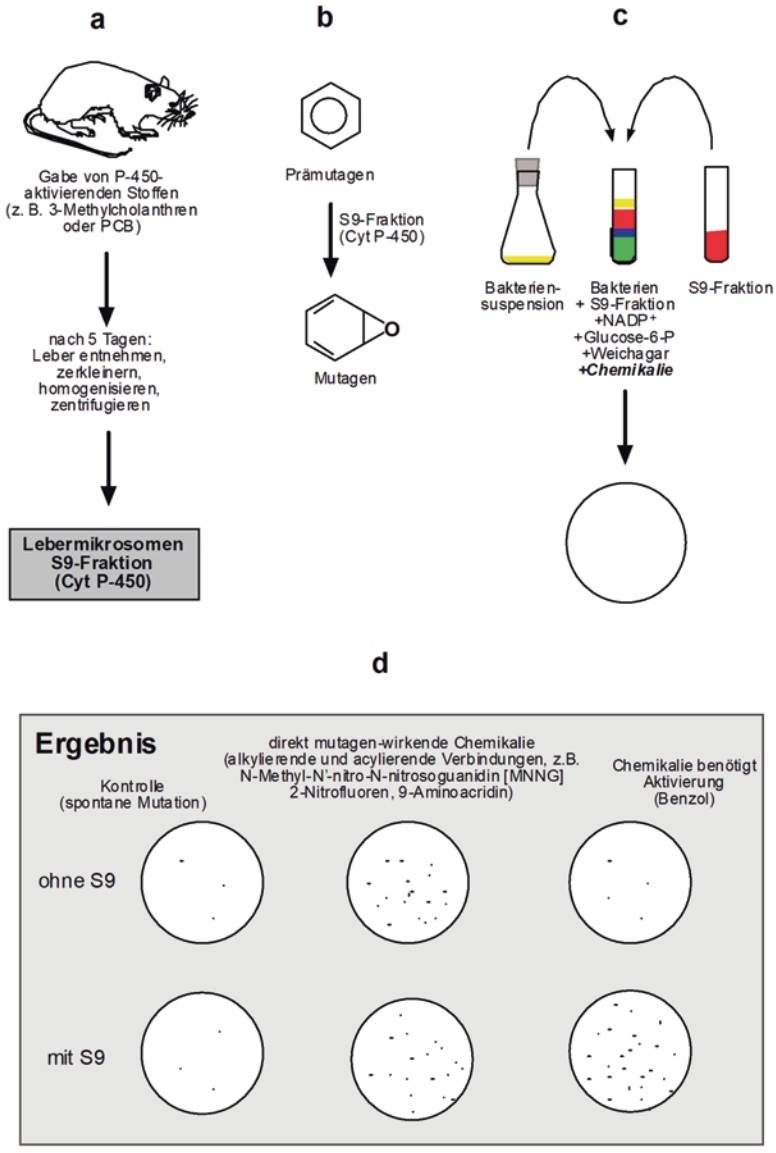


Abb. 5.7 Mutagenitätsprüfung mit dem Ames-Test. **a** Isolierung der S9-Fraktion, **b** Beispiel für die Umwandlung eines Prämutagens in ein Mutagen durch Cytochrom P-450, **c** Versuchsablauf, **d** Ergebnis mit verschiedenen Chemikalien

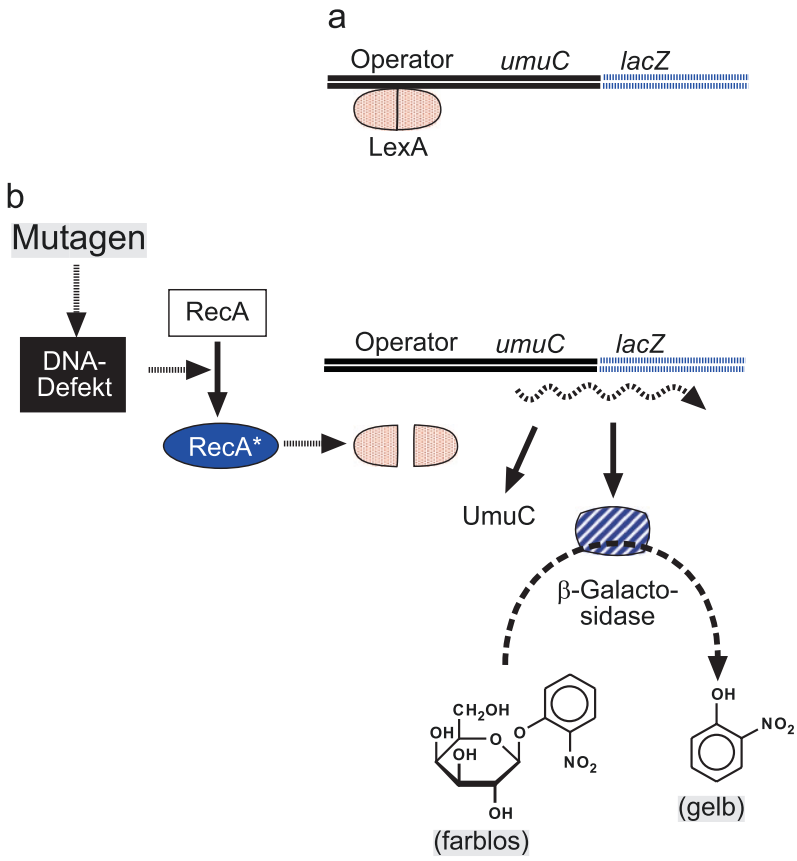


Abb. 5.8 Mutagenitätsprüfung mit dem Umu-Test. **a** LexA blockierte β-Galactosidase-Synthese, **b** Reaktionskaskade der Mutagen bewirkten Synthese der β-Galactosidase

SOS-Reparatur

Die SOS-Funktionen sind komplexe biochemische Prozesse, die der Schädigung der bakteriellen Erbsubstanz entgegenwirken. Zu diesen Funktionen gehören z. B. ein fehleranfälliges DNA-Reparatursystem *(error-prone-repair)*, die Synthese eines Exzisionsreparaturkomplexes *(uvrABC)*, eines Inhibitors der Zellteilung *(sfiA)* und der Genprodukte RecBCD, die zur Ausführung der homologen Rekombination notwendig sind, dem einzigen völlig fehlerfrei arbeitenden Reparatursystem.

Die SOS-Funktionen werden von den Genen *recA* und *lexA* kontrolliert. Die SOS-Antwort der Zelle auf eine DNA-Schädigung wird durch Wechselwirkung des RecA-Proteins mit dem LexA-Repressorprotein aktiviert, das in der ungeschädigten Zelle viele Operons verschließt. Die Wechselwirkung mit dem aktivierten RecA löst die proteolytische Spaltung des Repressors aus. Dies führt zur koordinierten Induktion aller Operons, an die LexA gebunden war, und damit zur Aktivierung der SOS-Funktionen. Als auslösendes Signal für die Aktivierung des RecA-Proteins werden Einzelstrangbereiche in der DNA vermutet.

Zu den Zielgenen der LexA-Repression gehört das *umuC*-Gen, welches an der mutagenen DNA-Reparatur beteiligt ist (umu, **U**V **mu**tagenesis) (Abb. 5.9).

UmuC ist eine UmuD'-, RecA*- und SSB-aktivierte DNA-Polymerase, welche auf die Überbrückung eines DNA-Schadens spezialisiert ist (SSB, **s**ingle **s**trand **b**indung protein) (Abb. 5.10).

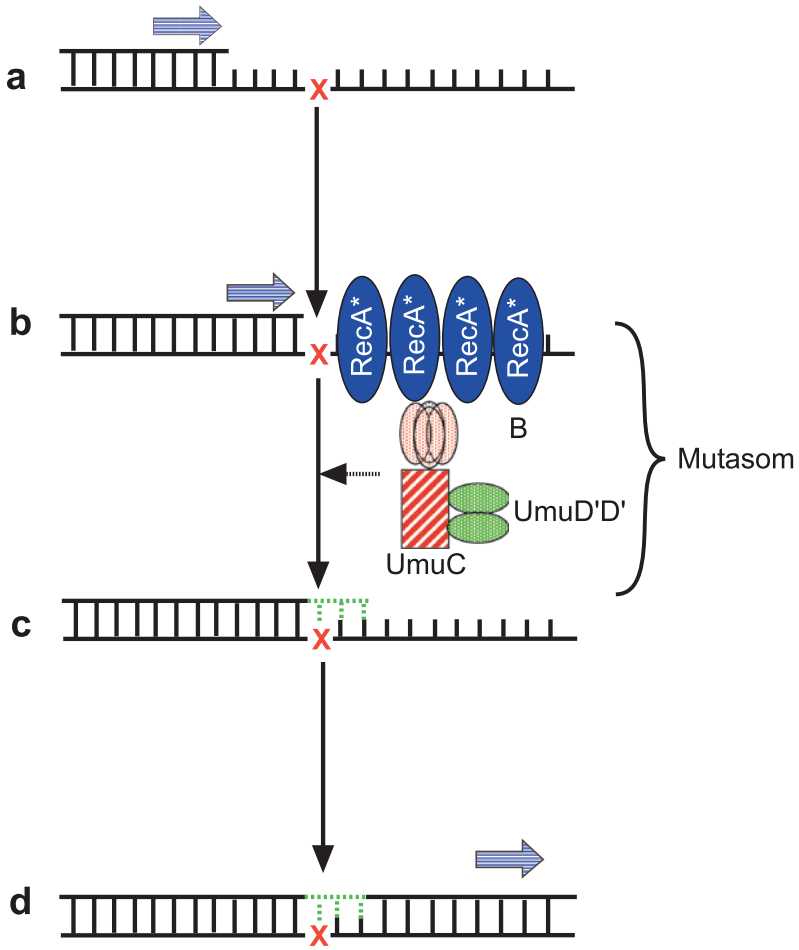


Abb. 5.9 Das Modell der SOS-Mutagenese durch „translesion" Synthese, ein wichtiger zellulärer Mechanismus, der die Blockade der Replikation aufgrund von DNA-Schädigung, wenn auch häufig fehlerhaft, überwindet. **a** Die DNA-Polymerase repliziert die DNA-Matrize normal (aktive Replikation wird durch den Pfeil angezeigt). **b** Die Polymerase stößt auf ein geschädigtes Nucleotid (X). Sie kann nicht über diese „Läsion" (Wunde) replizieren. **c** RecA*, UmuD'D', UmuC und SSB sind notwendig, um die Replikation über den Schaden durchzuführen (translesion synthesis). **d** Falls das gegenüber der Läsion eingebaute Nucleotid falsch ist, wird durch die „translesion" Synthese eine Mutation im Genom des Organismus fixiert

Testen Sie Ihr Wissen

Was verbinden Sie mit den Namen „Seveso" und „Love Canal"?

Wodurch wurden Bewohner in Minamata vergiftet? Welchen Einfluss auf die Bildung des Giftes haben Mikroorganismen (siehe auch ► Kap. 9)?

Welche drei Prozesse sind für die Ausbreitung von Chemikalien in der Umwelt verantwortlich?

Welche physiko-chemische Konstante beschreibt die Verteilung einer Chemikalie zwischen Luft und Wasser?

Worüber gibt der Octanol/Wasserkoeffizient einer Chemikalie Auskunft?

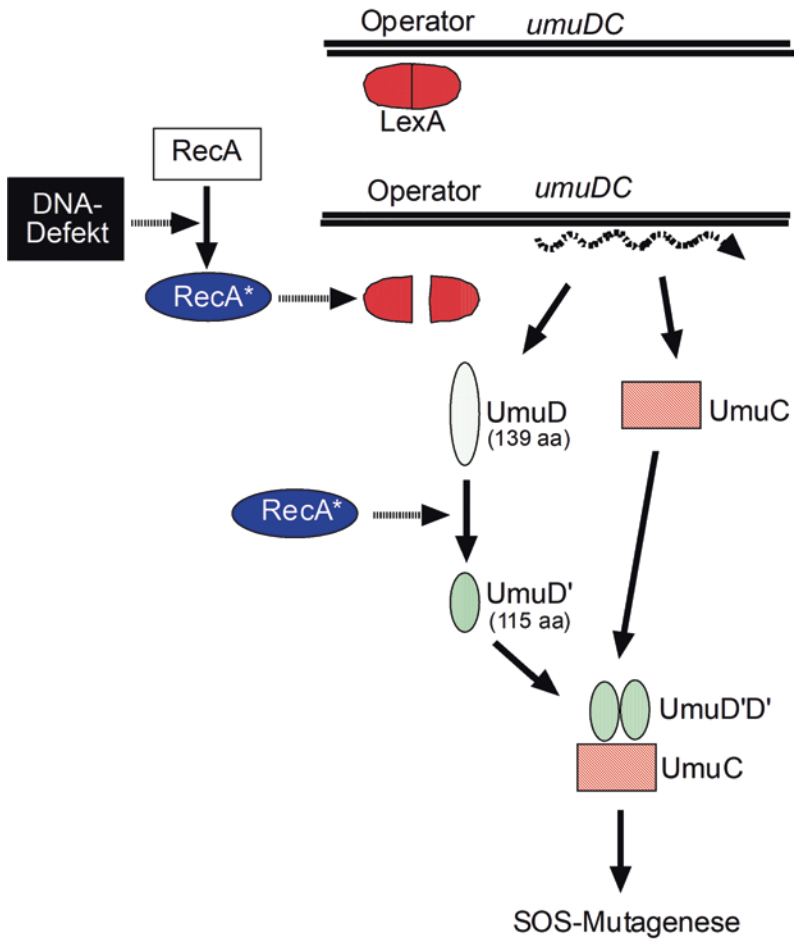


Abb. 5.10 Regulation des *umuDC* Operon durch RecA und LexA. DNA-Schädigung erzeugt ein Signal, welches RecA in RecA* umwandelt. RecA* vermittelt die Spaltung des LexA-Repressors, welches zur Induktion des *umuDC* Operon wie auch des Restes der SOS-Antwort-Gene führt. RecA* kann auch die Bearbeitung von UmuD zum kürzeren UmuD' Molekül vermitteln. UmuD und UmuD' können mit UmuC in verschiedenen Kombinationen zusammenspielen. Der UmuD'D'C-Komplex ist bei der SOS Mutagenese (translesion synthesis) aktiv

Was versteht der Umweltchemiker unter einer Senke?

Skizzieren Sie am Beispiel einer chlororganischen Verbindung: Cometabolismus, Dehalorespiration und Nutzung als Kohlenstoff- und Energiequelle.

Chemikalien-Beurteilung durch REACH: Was ist beabsichtigt?

Welche Messparameter sind geeignet für den Nachweis der biologischen Abbaubarkeit einer Chemikalie?

Was versteht man unter „ready", „inherent", „ultimate" und „primary" biodegradability?

Welche Versuchsansätze benötigt man, eine sichere Aussage bezüglich Abbaubarkeit im OECD-Screening-Test zu erzielen? Denken Sie an die Kontrollen! Ist „Abbaubarkeit" eine absolute Größe?

Sagen Sie etwas zu den im Test erzielten Aussagen bezüglich Abbaubarkeit und dem Verhalten einer Chemikalie in der Umwelt.

Was ist das sogenannte „10 Tage Fenster", was der zu erreichende „Schwellenwert" in den Abbaubarkeitstests?

Beschreiben Sie einfache Tests zur Prüfung auf Mutagenität einer Chemikalie.

Literatur

Ballschmiter, K. 1992. Transport und Verbleib organischer Verbindungen im globalen Rahmen. Angew. Chem. 104:501–528.

Fent, K. 2003. Ökotoxikologie. Umweltchemie, Toxikologie, Ökologie. 2. Aufl., Georg Thieme Verlag Stuttgart.

Giger, W. 1995. Spurenstoffe in der Umwelt. EAWAG News 40D:3–7.

Klöpffer, W. 1996. Verhalten und Abbau von Umweltchemikalien. Physikalisch-chemische Grundlagen. Ecomed Verlagsgesellschaft, Landsberg.

Sander, R. 2015. Compilation of Henry's law constants (version 4.0) for water as solvent. Atmos. Chem. Phys. 15, 4399–4981. ► https://doi.org/10.5194/acp-15-4399-2015

Schwarzenbach, R. P., Gschwend, P. M., Imboden, D. M. 2003. Environmental Organic Chemistry, 2. ed., Wiley-Interscience, Hoboken, NJ.

Umweltbundesamt (Hrsg.) 1980. Was Sie schon immer über Umweltchemikalien wissen wollten. Berlin.

Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 18. Dezember 2006 zur Registrierung, Bewertung, Zulassung und Beschränkung chemischer Stoffe (REACH), zur Schaffung einer Europäischen Agentur für chemische Stoffe, zur Änderung der Richtlinie 1999/45/EG und zur Aufhebung der Verordnung (EWG) Nr. 793/93 des Rates, der Verordnung (EG) Nr. 1488/94 der Kommission, der Richtlinie 76/769/EWG des Rates sowie der Richtlinien 91/155/EWG, 93/67/EWG, 93/105/EG und 2000/21/EG der Kommission. Korrigierte Fassung vom 29.05.2007 Berichtigung der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 18. Dezember 2006.

► http://www.reach-info.de/verordnungstext.htm#1.

► https://echa.europa.eu/de/substances-of-very-high-concern-identification-explained.

Mikrobieller Abbau von Schadstoffen

6.1 Abbau von Kohlenwasserstoffen – 175
6.1.1 Erdöl: Zusammensetzung und Eigenschaften – 175
6.1.2 Der Ablauf einer Verölung im Meer – 177
6.1.3 Abbau von Alkanen, Alkenen und cyclischen Alkanen – 178
6.1.4 Abbau von monoaromatischen Kohlenwasserstoffen – 186
6.1.5 Abbau und Humifizierung von Mehrkern-Kohlenwasserstoffen – 208
6.1.6 Abbau von Heterocyclen – 213
6.1.7 Bildung von Biotensiden/Aufnahme von Mineralöl-Kohlenwasserstoffen – 219

6.2 Abbau chlorierter Schadstoffe – 225
6.2.1 Abbau von Chloraromaten – 225
6.2.2 Abbau von Hexachlorcyclohexan – 242
6.2.3 Abbau von Triazinen – 247
6.2.4 Abbau von Chloraliphatischen Verbindungen – 249
6.2.5 Organohalogene aus der Natur/aus natürlichen Quellen – 263

6.3 Abbau und Humifizierung von Nitroaromaten – 265
6.3.1 Umweltproblem durch Nitroaromaten – 265
6.3.2 Möglichkeit des mikrobiellen Abbaus von Nitroaromaten – 266
6.3.3 Eliminierung von Trinitrotoluol durch Sequestierung an Boden – 270

6.4 Abbau von aromatischen Sulfonsäuren und Azofarbstoffen – 271
6.4.1 Aromatische Sulfonsäuren – 271
6.4.2 Abbau von Azofarbstoffen – 276

© Springer-Verlag GmbH Deutschland, ein Teil von Springer Nature 2020
W. Reineke und M. Schlömann, *Umweltmikrobiologie,* https://doi.org/10.1007/978-3-662-59655-5_6

6.5 Kunststoffe, Biokunststoffe – 277
6.5.1 Abbaubarkeit von Kunststoffen – 279
6.5.2 Biokunststoff – 283
6.5.3 Eine Einschätzung zur ökologischen Bewertung von Kunststoffen und Biokunststoffen – 286

6.6 Komplexbildner: Aminopolycarbonsäuren – 288

6.7 Endokrin wirksame Verbindungen – 290
6.7.1 Tributylzinnverbindungen – 290
6.7.2 Alkylphenole – 291
6.7.3 Bisphenol A – 293

6.8 Methyl-*tert*-butylether – 293

6.9 Glyphosat – 296

Literatur – 298

6.1 Abbau von Kohlenwasserstoffen

Mit der industriellen Entwicklung der vergangenen hundert Jahre sind in zunehmendem Maße Komponenten und Produkte aus Erdöl und Kohle in die Umwelt gelangt. Die Verunreinigungen durch Erdöl erfolgen bei der Förderung, dem Transport, der Verarbeitung zu Treibstoffen und Petrochemikalien und beim unsachgemäßen Einsatz von Treib- und Schmierstoffen.

Während die Öffentlichkeit annimmt, dass Tankerunfälle die wesentliche Quelle für die Verunreinigung des Meeres darstellt, kommt ihnen jedoch im Durchschnitt nur etwa 12 % des Gesamteintrages zu (siehe ◘ Tab. 6.1).

Die Entwicklung der Carbochemie (Kohlechemie) begann mit der Gewinnung von Leuchtgas und Koks in Gaswerken, bei denen Teere als Nebenprodukte anfielen. Teerabfälle, die reich an Phenol und **P**olycyclischen **A**romatischen **K**ohlenwasserstoffen (PAK) sind, wurden vielfach um Gaswerkstandorte abgelagert. Einige Fraktionen wurden als Holzschutzmittel (Kreosot) verwendet, worauf die Belastung von Bahnschwellen mit PAK zurückzuführen ist. Mit der Entwicklung der Kohlehydrierung in den ersten Jahrzehnten des 20. Jahrhunderts setzte die umfassende Gewinnung von Kohlenwasserstoffen als Treibstoffe und Carbochemikalien ein, die in den 60er Jahren durch die Petrochemie weitgehend abgelöst wurde. Mikroorganismen kommen mit Kohlenwasserstoffen des Erdöls auch unter natürlichen Bedingungen in Kontakt, da in einigen Gebieten der Erde, zum Beispiel im Vorderen Orient, Erdöl ohne Fördermaßnahmen an der Oberfläche austritt. Erdöl ist wie auch Kohle biogenen Ursprungs, viele Komponenten sind daher Naturstoffen ähnlich. Trotzdem sind viele Erdöl-Kohlenwasserstoffe schwer abbaubar. Das liegt daran, dass die Bedingungen für die Realisierung der Abbauleistungen vielfach nicht gegeben sind.

Es ist zwischen der potenziellen und aktuellen Abbaubarkeit von Umweltchemikalien zu unterscheiden. In den folgenden Abschnitten wird die **potenzielle Abbaubarkeit** behandelt. Es wird diskutiert, mit welcher Strategie Abbau erfolgt, welche enzymatischen Schritte durchlaufen werden, damit eine Chemikalie abgebaut werden kann, welche Prinzipien erkennbar sind. Informationen werden gegeben, inwiefern Prokaryoten sowie Eukaryoten den Abbau durchführen. Ferner wird auf die Unterschiede beim Abbau in Gegenwart von „Luft" Sauerstoff und beim Fehlen dieses „Co-Substrates" eingegangen. Sauerstoff hat nämlich nicht nur die Funktion als Elektronenendakzeptor bei der Atmung zu fungieren, sondern ist auch unabdingbares Substrat wichtiger Abbauschritte.

◘ **Tab. 6.1** Eintrag an Kohlenwasserstoffen ins Meer (National Research Council, 1985)

Eintragsform	Tonnen pro Jahr
Transport über See	1.070.000
Tankerunfälle	400.000
Unfälle bei der Ölförderung im Meer	50.000
Raffinerien und Industrie an der Küste	300.000
Städtische Entwässerung und Entsorgung	820.000
Eintrag durch Flüsse	40.000
Dumping[a]	20.000
Natürliche Ölquellen und Sedimenterosion	250.000
Regenfälle	300.000
Gesamt	3.250.000

[a]Nach Fent (2003): 20–30 Fälle von illegaler Ölentleerung am Kap der Guten Hoffnung jährlich

6.1.1 Erdöl: Zusammensetzung und Eigenschaften

Erdöl ist die derzeit wichtigste Energie- und Rohstoffquelle. Die **Zusammensetzung** des Erdöls ist je nach Herkunft sehr verschieden.

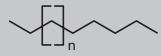
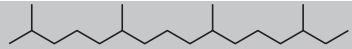
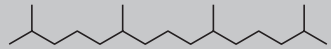
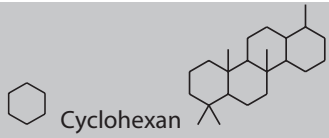
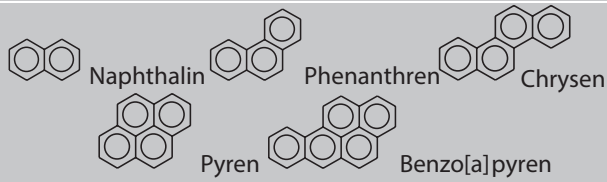
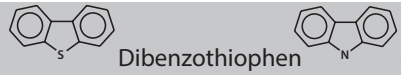
Klasse	Beispiel
Alkane (bis C40) 10 - 70 % Anteil	
Isoalkane, verzweigte, Isoprenoidalkane	 Phytan (2,6,10,14-Tetramethylhexadecan)  Pristan (2,6,10,14-Tetramethylpentadecan)
Cycloalkane 30 - 80 % Anteil	 Cyclohexan Hopan
Aromaten, Einring, BTXE 20 - 30 % Anteil	 Benzol Toluol Xylol Ethylbenzol
Aromaten, Mehrring, PAK	 Naphthalin Phenanthren Chrysen Pyren Benzo[a]pyren
Heterocyclen 2 - 15 % Anteil	 Dibenzothiophen Carbazol
Asphaltene	nicht in Pentan lösliche Fraktion

Abb. 6.1 Klasse der im Rohöl auftretenden Substanzen mit Angabe zu Anteilen

Das ist auf die Art der biogenen Ausgangsverbindungen und der biogeochemischen Bildungsprozesse zurückzuführen. In Abb. 6.1. sind die Hauptkomponenten von Rohöl zusammengefasst. Es wird deutlich, dass es sich um ein recht heterogenes Stoffgemisch handelt.

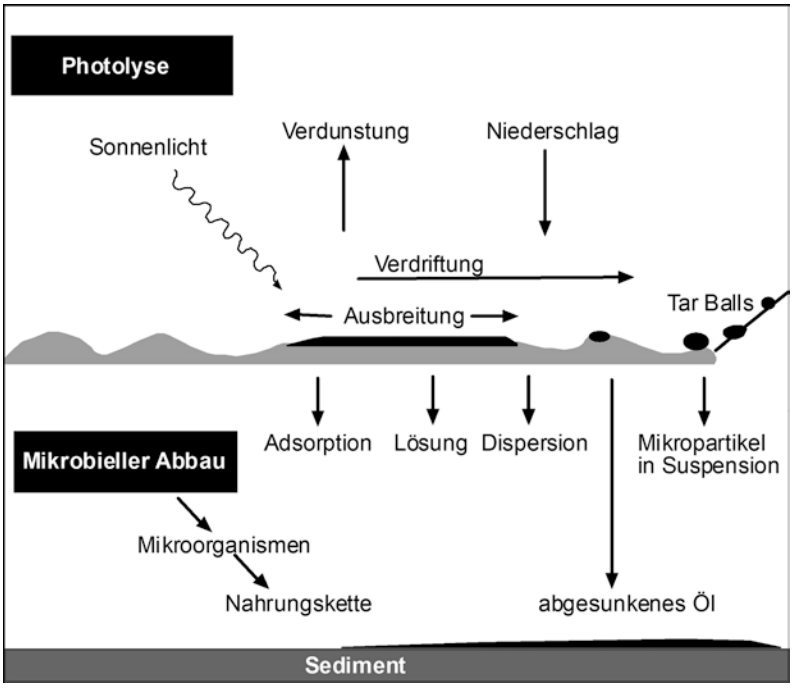
Bei der Verarbeitung treten deutliche Veränderungen der Zusammensetzung ein. So ist eine Abnahme der Cycloalkane und die Zunahme der Aromaten auf katalytische Hydrierungsprozesse zurückzuführen. Für die Abbauproblematik sind die Flüchtigkeit und Löslichkeit der einzelnen Fraktionen bedeutsam. Die niederen Alkane (C_1–C_4) sind gasförmig und wasserlöslich (20–390 mg/L). Mit weiter zunehmender Kettenlänge der Alkane nimmt die Flüchtigkeit und Wasserlöslichkeit stark ab. Pentan hat eine Löslichkeit von etwa 40 mg/L und Hexan von 10 mg/L, dagegen liegt sie bei den Komponenten des Kerosens (C_{10}–C_{17}) um 0,1 µg/L. Die geringe Wasserlöslichkeit führt zu langsamen Stoffübergängen und damit zu geringer Bioverfügbarkeit.

6.1.2 Der Ablauf einer Verölung im Meer

Obwohl jeder Ölunfall im Meer seine Besonderheiten hat, gibt es eine Reihe von Vorgängen, die alle Verölungen gemeinsam haben. Stark vereinfacht ist dies in ◘ Abb. 6.2 dargestellt. Das Öl unterliegt sofort der **Ausbreitung** auf der Wasseroberfläche und wird innerhalb sehr kurzer Zeit dadurch in der Regel nur noch in einer Schichtdicke von weniger als 1 mm vorliegen. Die Geschwindigkeit der Ausbreitung ist von der Art des Öls, der Wassertemperatur sowie Wind und Strömung abhängig. Ebenfalls von Bedeutung ist, ob das Öl in dünnem Rinnsal auf die Wasseroberfläche gelangt oder ob größere Mengen, zum Beispiel durch Zerbrechen eines Tankers, frei werden.

Das ausgetretene Öl unterliegt gleichzeitig mit der Ausbreitung der **Verdriftung.** Wenn die Strömung sowie die Windgeschwindigkeit und Richtung bekannt sind, können ziemlich genaue Angaben über den Driftweg gemacht werden. Vom Moment der Freisetzung des Öls beginnen die niedrigsiedenden Bestandteile zu **verdunsten.** Innerhalb weniger Stunden gehen die meisten der unter 160 °C siedenden Bestandteile in die Atmosphäre. Auch die Verdunstung ist abhängig von der Zusammensetzung des Öls, der Wassertemperatur und der Windgeschwindigkeit. Durch die Verdunstung erhöht sich die Viskosität des Öls. Ein Teil des Öls tritt in den Wasserkörper über. In echte **Lösung** gehen in erster Linie die Aromaten mit niedrigem Siedepunkt. Daneben tritt **Adsorption** an die organischen und anorganischen Partikel des Meerwassers sowie **Dispersion** auf. Diese Vorgänge führen zu einer Entmischung des Öls.

Die Bildung von Wasser-in-Öl Emulsionen betrifft den auf dem Wasser treibenden Teil des Öls. Durch die Wasseraufnahme vergrößert sich das Volumen. Der Wassergehalt dieser Emulsionen kann bis zu 80 % betragen. Begünstigt durch die Wellenbewegung geht



◘ **Abb. 6.2** Schematische Darstellung einer Meeresverölung

gleichzeitig mit der Wasseraufnahme die Wasser-in-Öl Emulsion in eine partikuläre Form über. Die Partikel können, je nach den physikalischen Bedingungen, in verschiedener Größe vorliegen. Sie haben einen Wassergehalt von 50 %, ihre Konsistenz ist relativ fest. Die Eigenschaften zumindest der Oberfläche dieser Partikel sind so verändert, dass sie selbst bei engem Kontakt nicht zu einer Verölung von Vögeln führen.

Auch Rohöl, das kurze Zeit nach dem Austritt auf das Meerwasser an den Strand getrieben wird, hat beträchtliche Wassermengen aufgenommen. Aufgrund seiner Färbung und der Konsistenz wird es als „Chocolate Mousse" bezeichnet.

Die auf dem Wasser treibenden mehr oder weniger großen Ölklümpchen unterliegen einem Alterungsprozess und bilden schließlich die sogenannten **„Tar Balls".** Sie sind dunkel und hart. Sie gehen in der Konsistenz von „teerartig" zu „asphaltartig" über, werden spröde und können anorganische Trübstoffe aufnehmen, wodurch ihr spezifisches Gewicht sich soweit erhöhen kann, dass sie in Form von Mikropartikeln in der Wassersäule verteilt werden beziehungsweise absinken. Zu jeder Zeit kann es zu einer Strandung des Öls kommen. Die Verweilzeit der im Meer treibenden „Tar Balls" kann mehrere Jahre betragen.

Zwei Vorgänge sind für die Entfernung eines Teils des Öls im marinen Milieu verantwortlich, die **Photolyse** und der **biologische Abbau.** Man nimmt an, dass der größte Teil der verdunsteten Kohlenwasserstoffe der Photolyse unterliegt. Bei gestrandetem oder auf dem Meer treibenden Öl spielt jedoch die Photolyse nur eine untergeordnete Rolle.

◘ Abb. 6.3 zeigt schematisch eine Massenbilanzierung einer Verölung im marinen Milieu. Die Zeitachse ist logarithmisch. Es wird angenommen, dass nach 100 Tagen der größte Teil der Umsetzungen stattgefunden hat und dann nur noch relativ geringe Veränderungen stattfinden. Nach 1000 Tagen sind alle in die Atmosphäre gelangten Kohlenwasserstoffe photolytisch abgebaut. Dagegen unterliegt der auf dem Wasser treibende Teil nur in einem sehr geringen Maße der Photolyse. Etwa 45 % des Öls werden biologisch abgebaut, wobei der Abbau zu 44 % in der Wassersäule und nur 1 % im Sediment erfolgt. Je nach der Zusammensetzung des Öls, der Wassertemperatur, des Nährstoffgehaltes und der Küstenentfernung, in der die Verölung stattfindet, werden andere Verteilungen auftreten, jedoch erlaubt diese Zusammenstellung eine Vorstellung von dem Verlauf einer Verölung.

6.1.3 Abbau von Alkanen, Alkenen und cyclischen Alkanen

6.1.3.1 Alkane/Alkene

In **Gegenwart von Sauerstoff** sind **unverzweigte Alkane** bis zu einer Kettenlänge von C_{30} mikrobiell abbaubar. Aufgrund der guten Fettlöslichkeit und damit hohen Affinität zu Zellmembranen sind die kurzkettigen Verbindungen zum Beispiel Hexan in höherer Konzentration toxisch. *n*-Alkane mittlerer Kettenlänge (C_{12}–C_{20}) sind sehr gut abbaubar, mit weiter zunehmender Kettenlänge nimmt die Abbaubarkeit aufgrund der abnehmenden Bioverfügbarkeit ab. Wachse sind relativ persistent, eine Paraffinkerze bleibt so über Jahre im Kompost liegen. Verklumpte und verharzte Schmierölrückstände sind sehr persistent. Natürlich vorkommende Asphalte halten noch heute die Ruinen babylonischer Bauwerke zusammen.

Der Hauptweg des Alkanabbaus ist die **terminale Oxidation** (◘ Abb. 6.4). Eine der endständigen Methylgruppen wird durch eine Alkan-Monooxygenase zum Alkohol oxidiert, Luftsauerstoff ist also essentiell für den Abbau. Der jeweilige Alkohol wird dann durch Dehydrogenasen über den entsprechenden Aldehyd zur Fettsäure oxidiert, die durch die β-Oxidation schrittweise zu C_2-Einheiten abgebaut wird und als Acetyl-CoA in den Intermediärstoffwechsel eingeht (◘ Abb. 6.5).

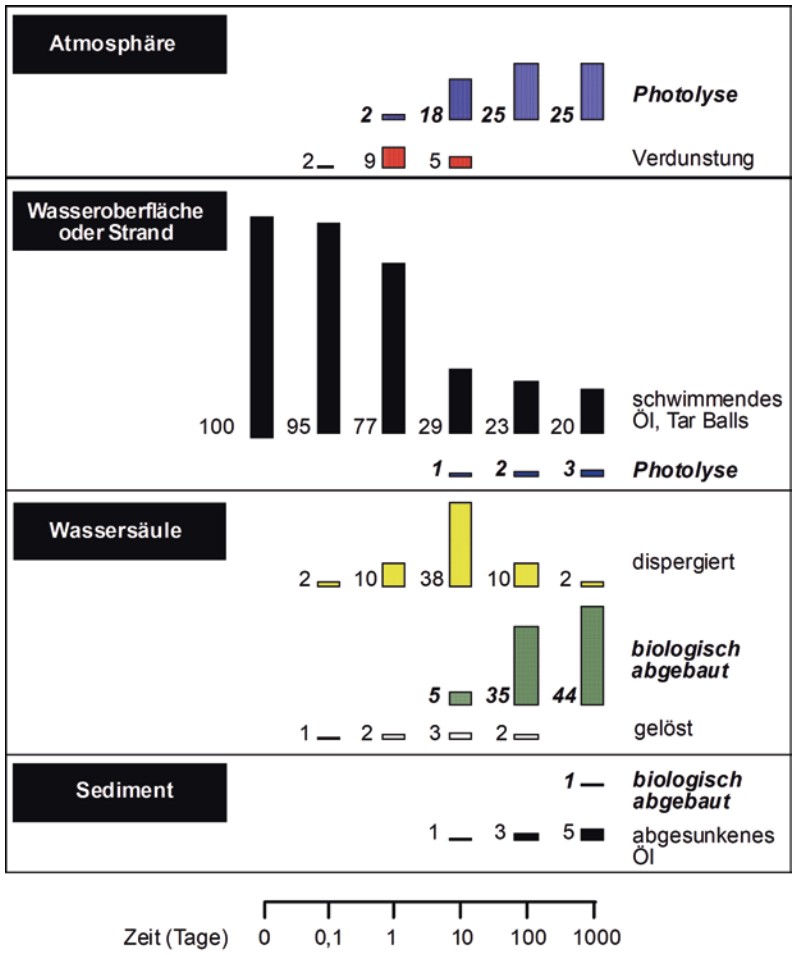


Abb. 6.3 Massenbilanzierung einer Meeresverölung. (Nach Gunkel, 1988; kursive Zahlen betreffen den Anteil des Öls, der entfernt wird, während die Zahlen in Normalschrift nur eine Verteilung andeuten)

Die weitere Verwertung als Kohlenstoff- und Energiequelle ist Abb. 4.12 zu entnehmen. Die Fähigkeit zur terminalen Oxidation ist unter Bakterien und Pilzen weit verbreitet. Besonders aktive Vertreter der Bakterien sind Arten von *Acinetobacter, Bacillus, Mycobacterium, Nocardia, Pseudomonas* und *Rhodococcus.* Unter den Hefen und Schimmelpilzen sind es Vertreter der Gattungen *Candida* und *Rhodotorula,* sowie *Aspergillus, Cladiosporum, Penicillium* und *Trichoderma.*

Einige Arten von *Nocardia* und *Pseudomonas,* aber auch Hefen und Pilze verfügen über weitere Abbauwege, die **subterminale Oxidation** und die **diterminale** oder **ω-Oxidation** (Abb. 6.4).

Mikroorganismen bauen sowohl gerad- also auch ungeradzahlige *n*-Alkane ab. Endprodukte des Abbaus ungeradzahliger Alkane sind Acetyl- und Propionyl-CoA. Die beim Abbau intermediär gebildeten höheren Fettsäuren und Alkohole können zu langkettigen Estern reagieren, wie sie auch in den Wachsen der Pflanzen vorkommen.

Trägt eine Fettsäure eine Doppelbindung, so muss der β-Oxidations-Zyklus leicht modifiziert werden, wie Abb. 6.6 am Beispiel der Ölsäure zeigt.

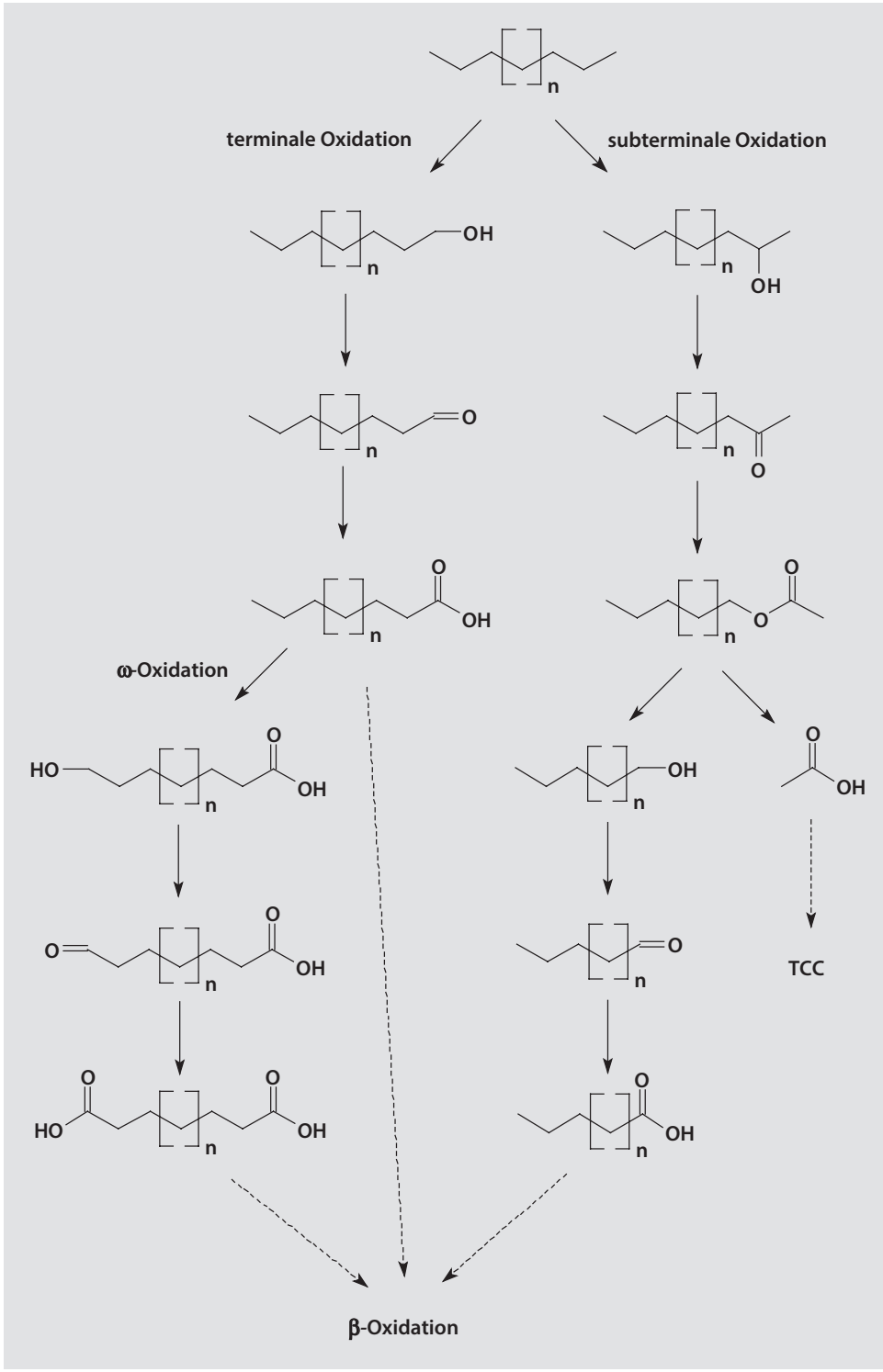


Abb. 6.4 Schritte der Bildung von Fettsäuren aus Alkanen mit drei Typen von Oxidationen

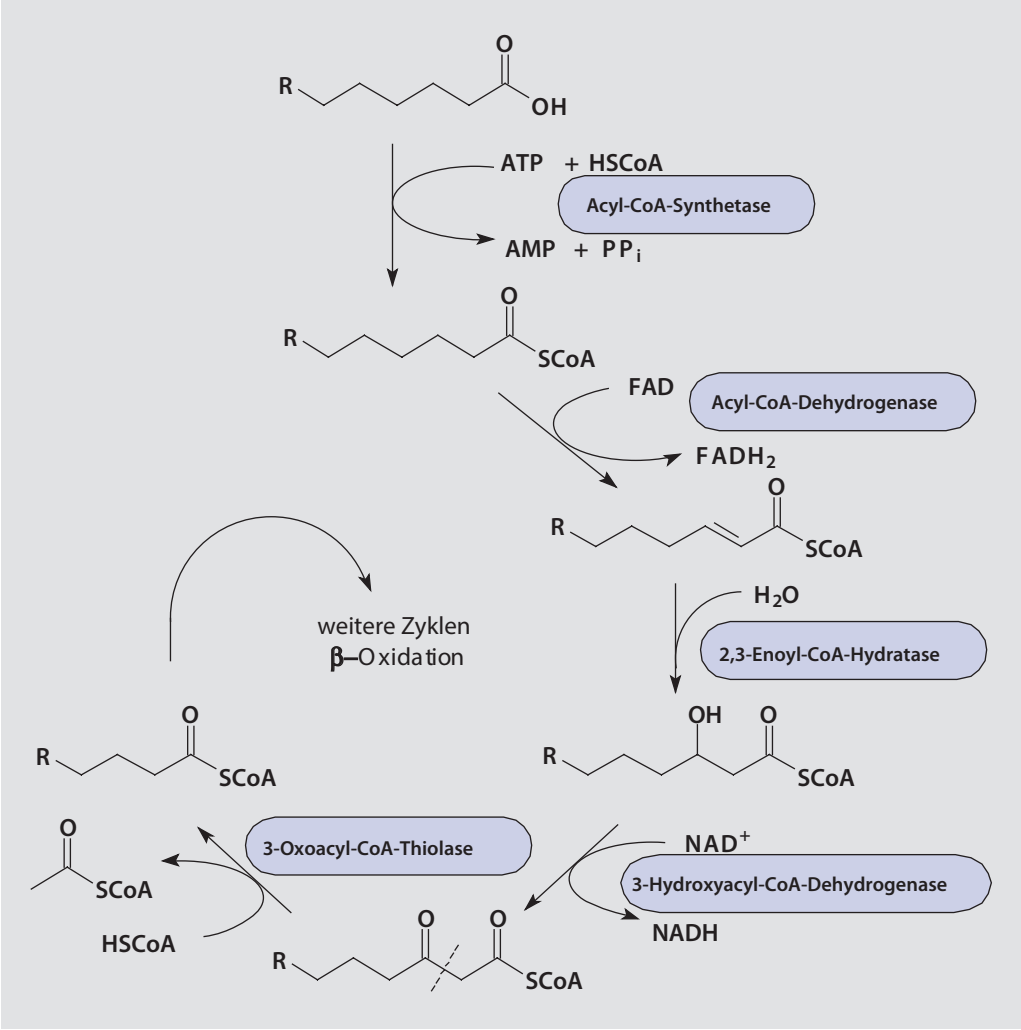


Abb. 6.5 *β*-Oxidation von Fettsäuren

Ein **anaerober *n*-Alkanabbau** (zum Beispiel von Hexan) wurde sowohl durch denitrifizierende Pseudomonaden als auch durch sulfatreduzierende bakterielle Konsortien beschrieben. Die Aufklärung der Mechanismen und die Abschätzung der Verbreitung dieser Prozesse stehen erst am Anfang. Ein erster Vorschlag für die anaerobe Abbausequenz für Hexan wurde mit dem denitrifizierenden Stamm HxN1 vorgestellt (Abb. 6.7). Ähnlich wie bei dem anaeroben Abbau von Toluol (siehe Abb. 6.21) wird im ersten Schritt ein Hydrocarbon-Fumarat-Addukt postuliert, welches nach Aktivierung zum CoA-Ester und Umgruppierung der Kohlenstoffkette der *β*-Oxidation unterliegt.

Anaerober Alkanabbau mit Methanbildung am Meeresgrund

Erdöl und Erdgas treten an sogenannten „Seeps" vielerorts aus dem Meeresboden aus. Dort wandern die Kohlenwasserstoffe aus dem Quellgestein durch Risse und Sedimente Richtung Sedimentoberfläche. In den oberen Sedimentschichten werden viele Kohlenwasserstoffe, vorrangig Alkane, abgebaut und ermöglichen am dunklen Meeresgrund die Entstehung einer Vielzahl dicht besiedelter Lebenräume. Auch tief drinnen im Sediment, wo kein Sauerstoff vorhanden ist, bilden sie eine wichtige Energiequelle für unterirdische Mikroorganismen, darunter einige *Archaea*.

Sedimentproben aus Öl- und Asphaltsickern aus dem Golf von Mexiko wurden durch die Kombination von geochemischen Methoden, Metagenomik und Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung analysiert. Basierend auf der Zusammensetzung des Genoms und den Umweltbeobachtungen wurde ein vorläufiges Modell des Stoffwechsels des Zielorganismus „*Ca* Methanoliparia" entwickelt.

Die phylogenetische Analyse des nachgewiesenen divergente Methyl-Coenzym-Reduktase-Typs (div. MCR) legt nahe, dass Methanoliparia Alkane aktivieren und eine CoM-gebundene Alkyleinheit als primäres Zwischenprodukt bilden kann. Diese CoM-gebundene Alkyleinheit wird weiter zu CO_2 und Methyl-H_4MPT abgebaut, wobei diese Disproportionierung durch einen Acetyl-CoA Decarbonylase/Synthetase Komplex (ACDS) erfolgt (◘ Abb. 6.8). Eine Methyl-Transferase (MTR), die einen Natriumgradienten erzeugt, überträgt die Methylgruppe von H_4MPT auf CoM und bildet Methyl-CoM, das schließlich mit der kanonischen MCR (can. MCR) zu Methan reduziert werden kann. Die während der Spaltung freigesetzten Reduktionsäquivalente werden zur Verringerung der CO_2-Freisetzung verwendet, was also zu zusätzlichem Methan führt.

Auf der Grundlage metagenomischer Daten kann der Bereich der Alkane, die Methanoliparia nutzen kann, nicht definiert werden. Unter Standardbedingungen ist der methanogene Alkanabbau für alle multikohlenstoff Alkane exergonisch und die Energieerträge steigen mit der Alkankettenlänge.

In Methanoliparia können divergierende MCRs die Aktivierung von mittel- oder langkettigen Alkanen an die Methanogenese koppeln. Bemerkenswert ist, dass im öligen Sediment die Alkane mit weniger als 20 Kohlenstoffatomen fast vollständig aufgebraucht sind. Daher kann man davon ausgehen, dass Methanoliparia Alkane zu Methan abbauen kann. Der Prozess lässt sich mit Hexadecan als Beispiel diskutieren, eine der am häufigsten vorkommenden Verbindung im gesättigten Anteil des nicht biologisch abgebauten Asphaltflusses. Ohne die Biosynthese wäre die gesamte katabole Reaktion für vier Hexadecanmoleküle wie folgt:

$$4\,C_{16}H_{34} + 30\,H_2O \rightarrow 49\,CH_4 + 15\,CO_2$$

$$\Delta G^{0'} = -339{,}2\,\text{kJ/mol Alkan}$$

Die Reaktion ist exergonisch unter Standardbedingungen, aber auch unter einer Vielzahl von Umweltbedingungen, einschließlich der in der gesammelten öligen Tiefseeumgebung.

Die Fähigkeit von mikrobiellen Konsortien, Kohlenwasserstoffe methanogen abzubauen, ist lange beschrieben worden, aber bisher wurde angenommen, dass sie sich auf die syntrophe Wechselwirkung von kohlenwasserstoff-abbauenden Bakterien mit methanogenen *Archaea* stützt. Methanoliparia bildet scheinbar keine Assoziationen mit einem bakteriellen Partnerorganismen, er kodiert keinen dissimilatorischen Sulfatreduktionsweg und es fehlen essentielle Gene für Cytochrome, die am direkten Elektronentransfer beteiligt sind. Daher muss die vollständige Reaktion in einer einzigen Zelle erfolgen. In einem ersten Schritt erzeugt die Alkanoxidation Methylgruppen, die in gleicher Menge an H_4MPT und CO_2 gebunden sind, und dabei Elektronen freisetzt. Ein Teil davon wird genutzt für die Reduktion von methyl-H_4MPT zu Methan in einem Energie-konservierenden Schritt durch die Translokation von Natrium-Ionen zur Außenseite der Membran. Die verbleibenden Elektronen benötigen eine Elektronensenke, wie sie die methanogene CO_2 Reduktion darstellt.

Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass „Ca. Methanoliparia" ein wichtiger Akteur beim methanogenen Ölabbau sein kann, ohne dass ein syntrophischer Partner benötigt wird. Dies impliziert eine bisher übersehene Rolle der *Archaea* beim Abbau von Kohlenwasserstoffen (Laso-Pérez et al. 2019; Borrel et al. 2019).

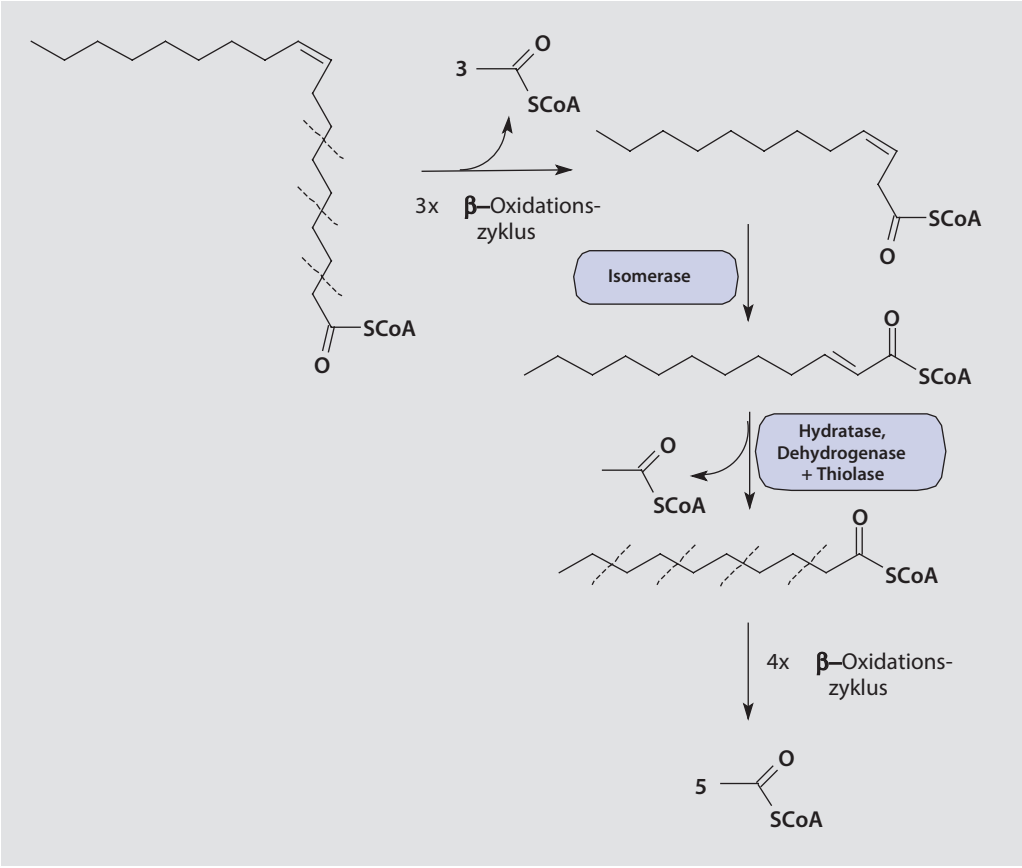


Abb. 6.6 *β*-Oxidation von Fettsäuren mit Doppelbindung: *cis*-Δ3-*trans*-Δ-2-Enoyl-CoA-Isomerase

Verzweigte Alkane werden auch unter aeroben Bedingungen viel langsamer als die unverzweiten *n*-Alkane abgebaut. Verzweigte Alkane mit Isoprenoidstruktur wie Pristan (2,6,10,14-Tetramethylpentadecan) und Phytan (2,6,10,14-Tetramethylhexadecan), die an jedem vierten C-Atom eine Methylgruppe tragen, sind abbaubar. Diese Isoprenoid-Alkane werden mono- oder diterminal oxidiert und alternierend C_2- und C_3-Einheiten abgespalten (Abb. 6.9). Für *Brevibacterium, Corynebacterium-* und *Rhodococcus*-Arten wurde diese Fähigkeit nachgewiesen. Stärker verzweigte Isoalkane mit mehr Methylsubstituenten und längeren Seitenketten sind wesentlich persistenter, da die Verzweigungen sterisch den Angriff der oxidativen Enzyme verhindern.

Wie Abb. 6.10 deutlich macht, kann auch eine Seitengruppe in der „falschen" Position, die die *β*-Oxidation behindert, beseitigt werden. Eine Carboxylierung ist ein wichtiger Schritt, sodass die störende Seitengruppe als Essigsäure abgespalten werden kann.

Alkene oder Olefine, welche nur in geringer Menge im Erdöl vorkommen, können sowohl vom gesättigten Ende her als auch über die intermediäre Epoxidbildung an der Doppelbindung abgebaut werden (Abb. 6.11).

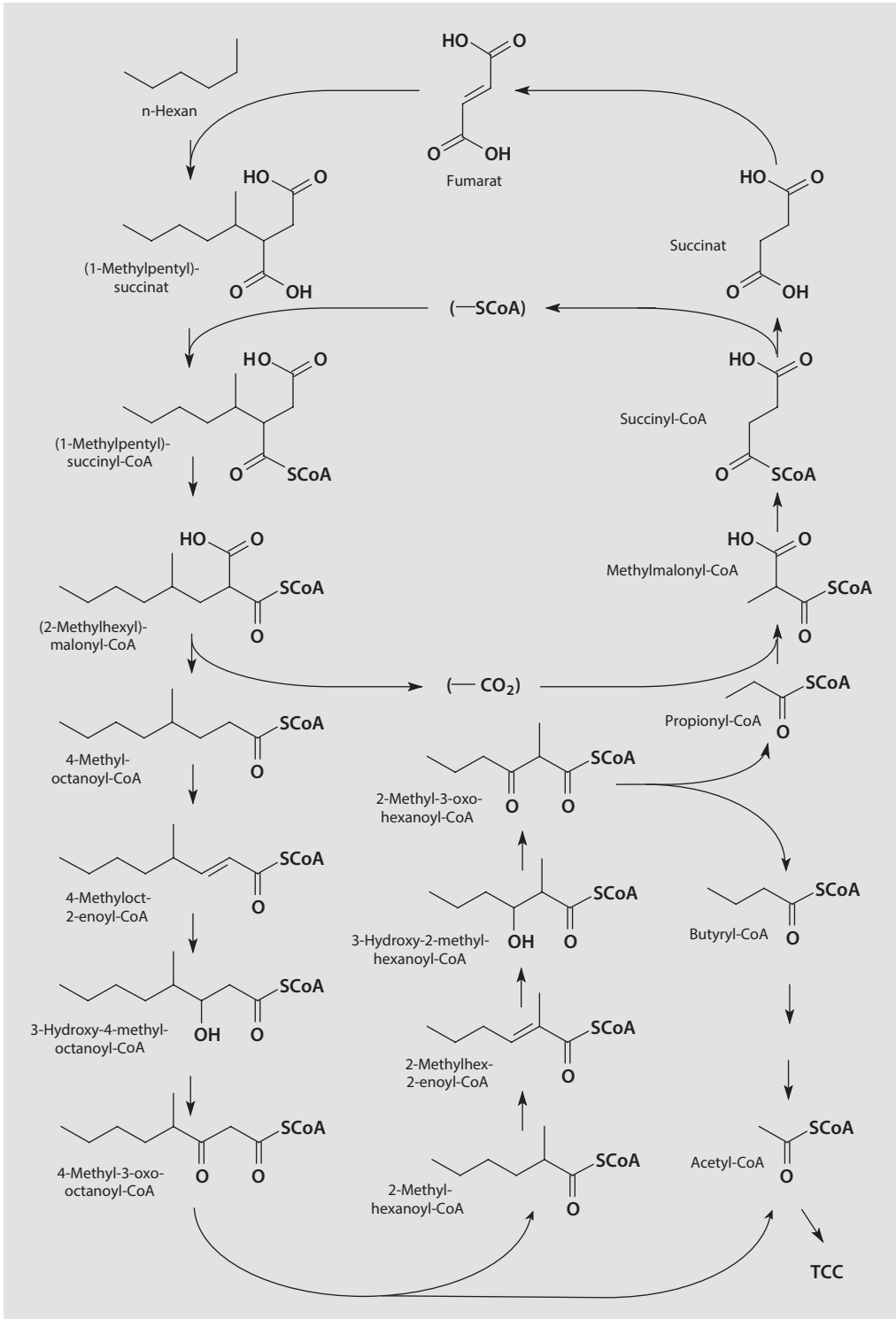


Abb. 6.7 Abbau von Hexan durch einen Denitrifizierer

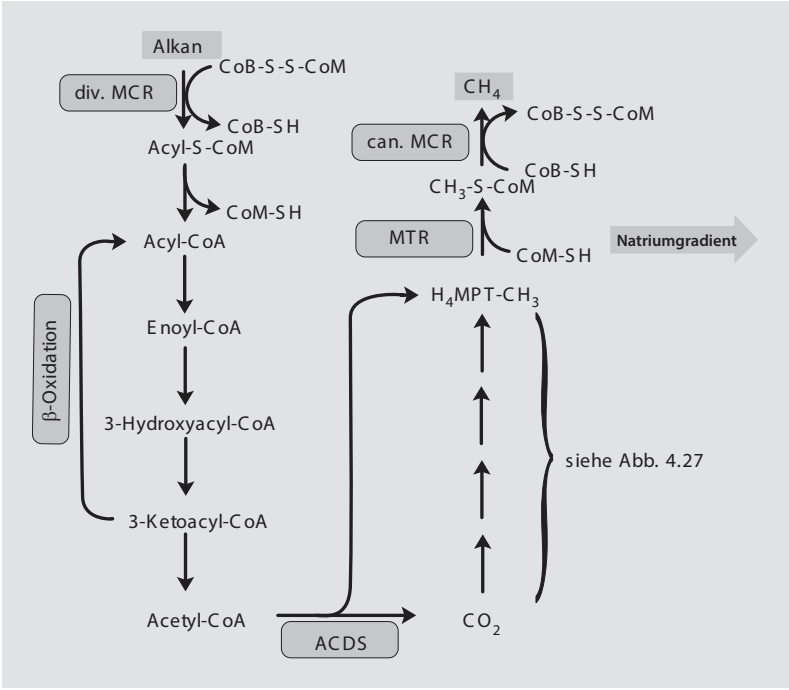


Abb. 6.8 Anaerober Abbau von Alkanen in Sedimentproben aus Öl- und Asphaltsickern durch Methanoliparia. Nachgewiesene Gene möglicher Schlüsselenzyme: Methyl-Transferase *(mtr),* Acetyl-CoA Decarbonylase/Synthetase Komplex *(acds),* divergente Methyl-CoM-Reduktase (div. *mcr*), kanonische Methyl-CoM-Reduktase (can. *mcr*)

Eine weitere Strategie mit dem Ziel der Erzeugung von Acetyl-CoA zeigt Abb. 6.12. So werden die C_3-Verbindungen Propene und Aceton durch Carboxylierung zu geradzahligen Metaboliten umgewandelt, sodass zwei Acetyl-CoA produziert werden.

6.1.3.2 Cycloalkane

Cycloalkane, die auch als Naphthene, Cycloparaffine oder Alicyclen bezeichnet werden, treten im Erdöl vor allem als Cyclohexan, methyl- und ethylsubstituierte Cycloalkane sowie als Cyclopentan und deren substituierte Derivate auf. Da es schwierig ist, auf diesen Substraten Reinkulturen zu erhalten, ist der Metabolismus der Cycloalkane im Gegensatz zum Alkanabbau relativ wenig untersucht.

Aus Untersuchungen mit Mischkulturen von Bakterien der Gattungen *Flavobacterium, Nocardia, Pseudomonas* und *Rhodococcus* wurden die in Abb. 6.13 für Cyclohexan dargestellten Reaktionsschritte abgeleitet. Zwei Oxygenase-Reaktionen nehmen eine Schlüsselposition ein, die Hydroxylierung des Cycloalkans und die Oxidation zu einem Lacton (analog einer Baeyer-Villiger-Oxidation). Das Lacton wird durch Hydrolyse geöffnet und der Metabolit über mehrere Dehydrogenierungsreaktionen so umgewandelt, dass weiterer Abbau über die β-Oxidation zu Acetyl-CoA führen kann.

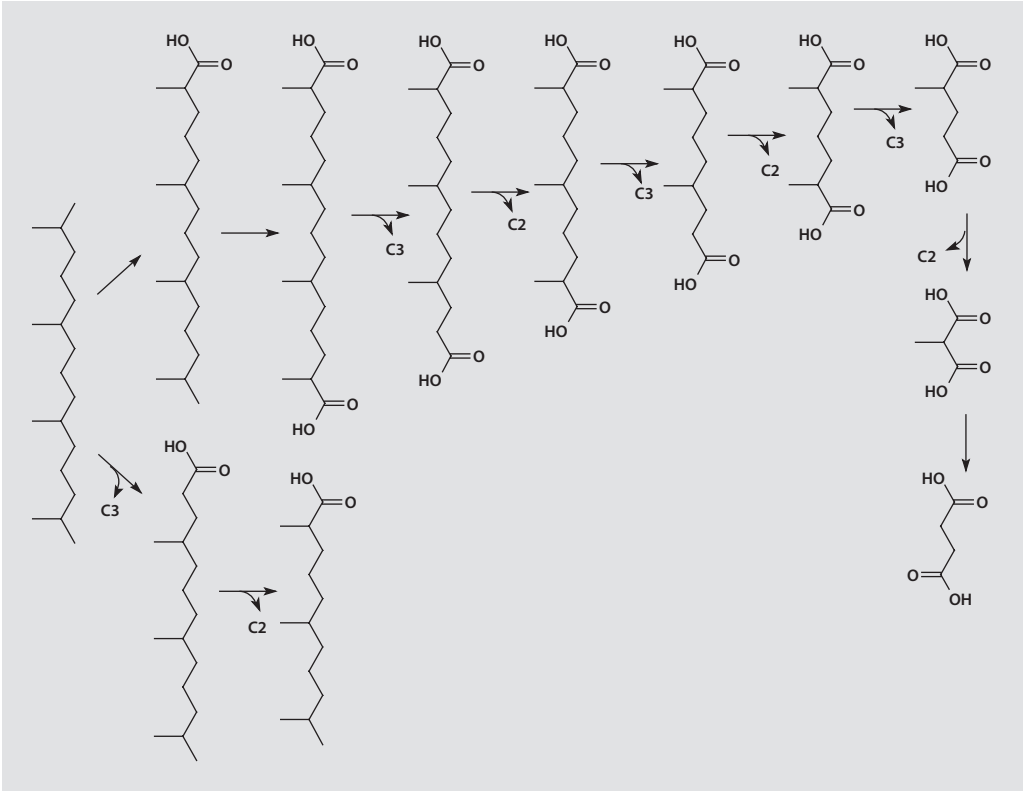


Abb. 6.9 Abbausequenz eines verzweigten Alkanes am Beipiel des Pristans. (Der Abbau wird wahrscheinlich als CoA-Ester ablaufen. Er wird hier nur schematisch wiedergegeben)

6.1.4 Abbau von monoaromatischen Kohlenwasserstoffen

Substituierte aromatische Verbindungen fallen vielfach als Pflanzeninhaltsstoffe an. Zu diesen weit verbreiteten Naturstoffen gehören Phenole, Benzoesäuren, Phenylessigsäure, Phenylpropankörper, Coumarine, Tannine, Flavonoide und die aromatischen Aminosäuren. Monoaromatische Kohlenwasserstoffe, vor allem die BTEX-Verbindungen **B**enzol, **T**oluol, **E**thylbenzol und **X**ylole, treten zudem aufgrund des umfangreichen Einsatzes als Petrochemikalien und als Bestandteile des Benzins als Verunreinigungen in der Umwelt auf. Aus der Carbochemie kommen Phenole als verbreitete Umweltchemikalien dazu.

Die Vielzahl der aromatischen Naturstoffe hat dazu geführt, dass Bakterien mannigfaltige enzymatische Prozesse entwickelt haben, um sie in den Intermediärstoffwechsel einzuschleusen. Aromatische Strukturen sind bedingt durch die Delokalisation der Elektronen im aromatischen Ring generell recht stabil. Ein Kernproblem des Aromatenabbaus ist also die Frage, wie es biochemisch gelingt, trotz dieser Stabilität den Ring zu aktivieren und letztlich zu spalten. Hierzu nutzen aerobe und anaerobe Mikroorganismen sehr unterschiedliche Mechanismen.

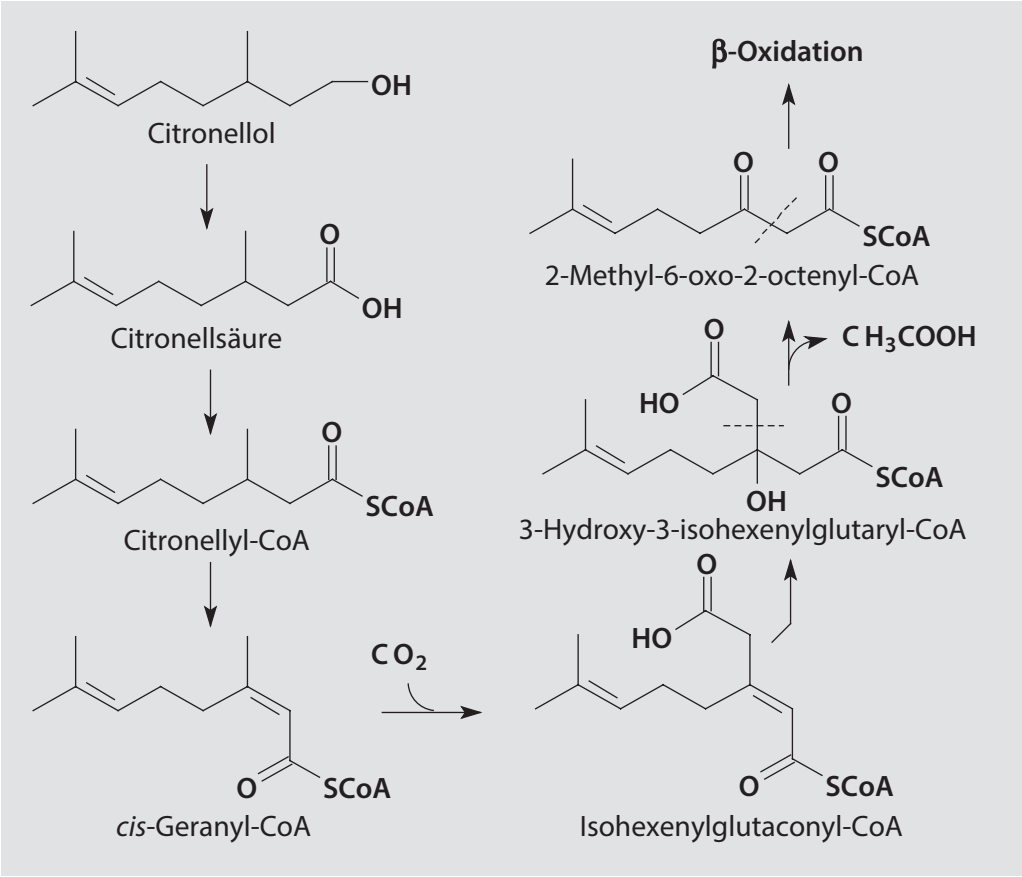


Abb. 6.10 Abbausequenz eines verzweigten Alkanes am Beipiel des Citronellols

6.1.4.1 Aerober Aromatenabbau

Unter aeroben Bedingungen werden aromatische Verbindungen durch Bakterien generell sehr viel schneller abgebaut als unter anaeroben. Dies liegt natürlich daran, dass Sauerstoff der beste **Elektronenakzeptor** ist und besonders wirkungsvolle Energiegewinnung erlaubt. Der schnellere Abbau unter aeroben Bedingungen liegt aber insbesondere daran, dass Sauerstoff **als Reagenz** in den Abbauprozessen verwendet wird: Erstens sind es zum großen Teil sauerstoffeinbauende Enzyme, sogenannte **Oxygenasen, die die verschiedenen aromatischen Verbindungen aktivieren** und dabei zu einer kleinen Zahl von Ringspaltungssubstraten umsetzen. Zweitens sind es **Oxygenasen, die den aromatischen Ring spalten.** Den zu den Intermediärprodukten des Tricarbonsäure-Zyklus führenden Stoffwechsel von Aromaten kann man also in folgende Stufen einteilen:

1. Periphere Abbauwege: Ringaktivierung und Vorbereitung der Ringspaltung durch Überführung des Substrats in ein Derivat mit zwei *ortho*- oder *para*-ständigen Hydroxylgruppen.
2. Oxidative Spaltung des aromatischen Ringes durch Dioxygenasen.
3. Metabolisierung der Ringspaltprodukte in Intermediate des zentralen Stoffwechsels.

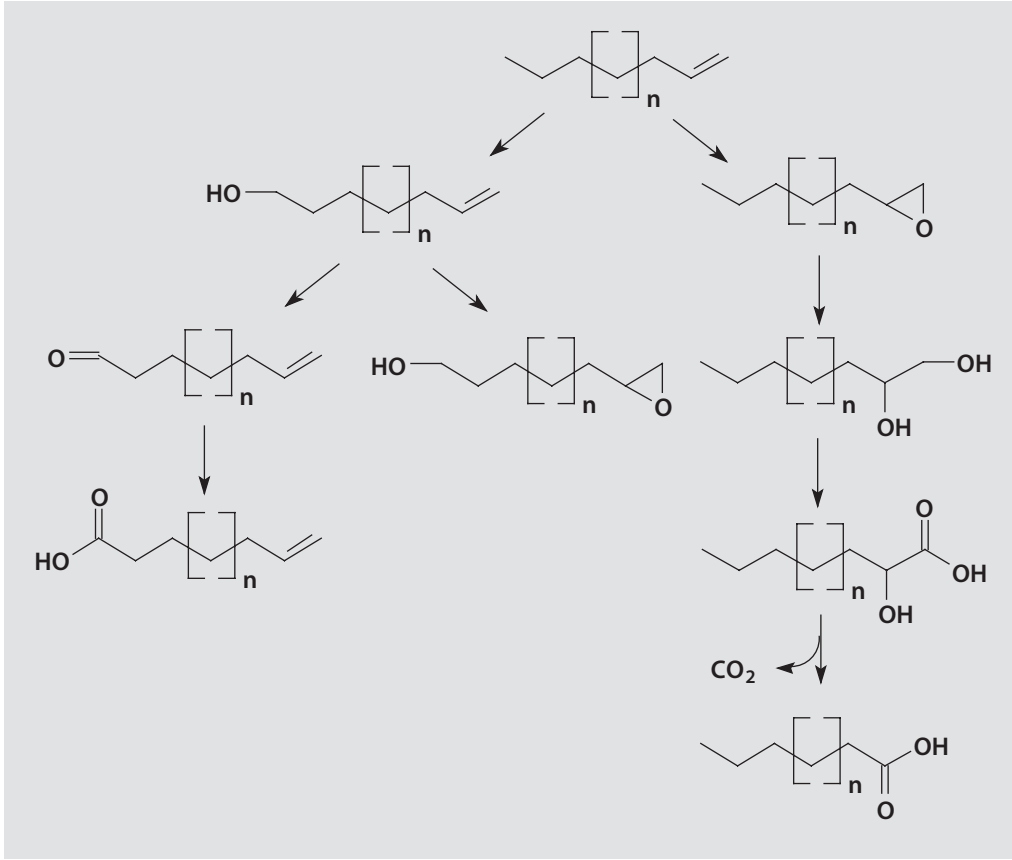


Abb. 6.11 Prinzipien des Abbaus von Alkenen

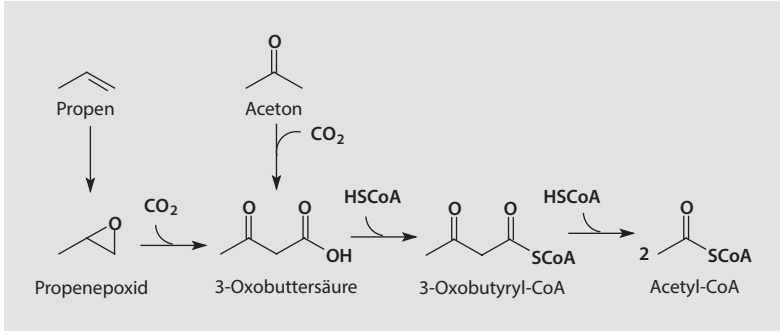


Abb. 6.12 Abbau von Propen und Aceton

Die die **Ringspaltung vorbereitenden Reaktionen** sind meist Oxidationen, die zu drei Schlüsselverbindungen führen, **Brenzcatechin** (Catechol), **Protocatechuat** und **Gentisat.**

Die Aktivierung des aromatischen Ringes erfolgt durch **Dioxygenase-** und **Dehydrogenase-Reaktionen. Dioxygenasen** inkorporieren beide Atome des Luftsauerstoffs

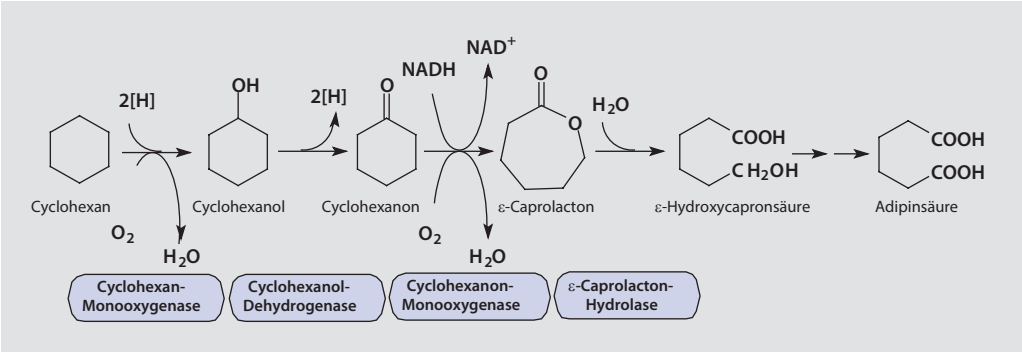


Abb. 6.13 Abbau von Cyclohexan

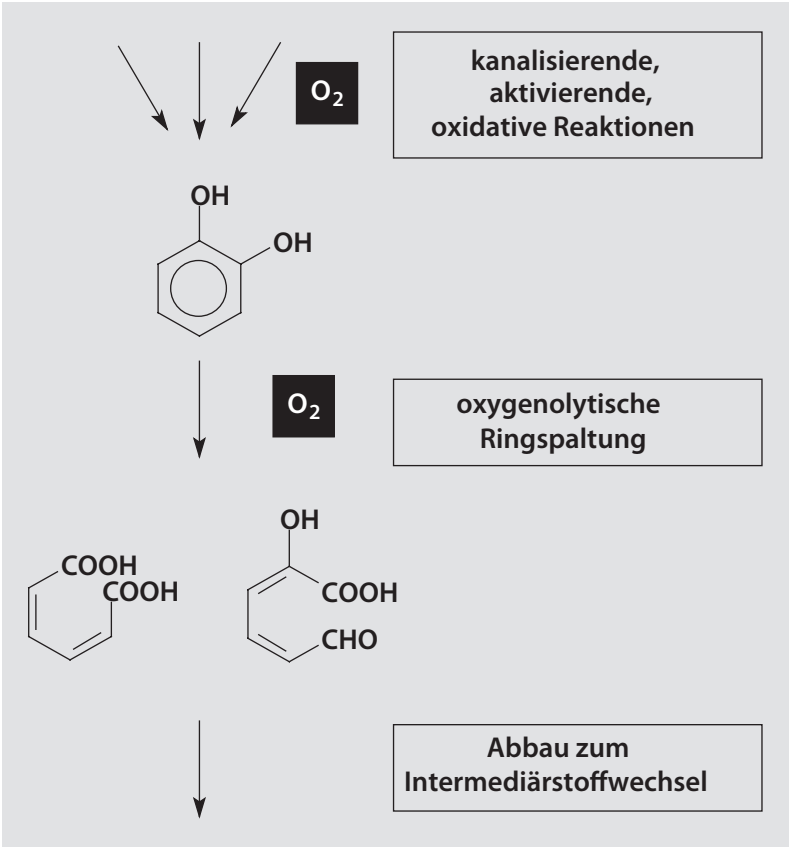


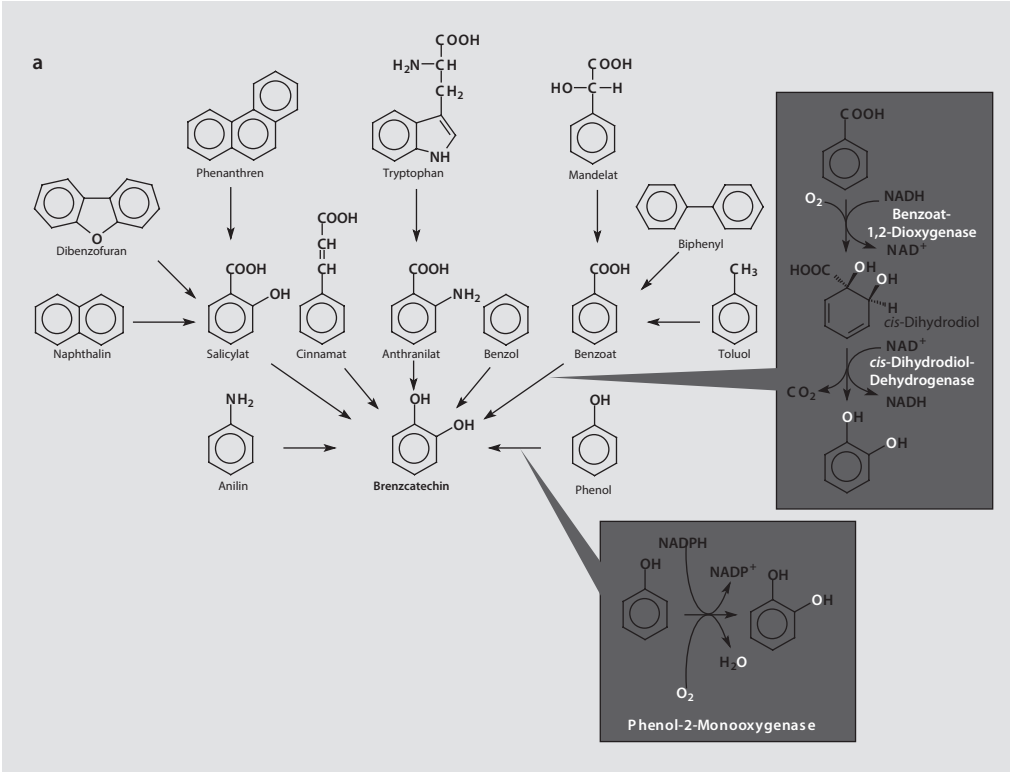
Abb. 6.14 Abbauprinzip für Aromaten: aerob durch Bakterien

in das Substrat und es kommt zur Bildung eines nicht-aromatischen *cis*-Dihydrodiols. Durch anschließende Dehydrogenierung entsteht die Schlüsselverbindung Brenzcatechin (Abb. 6.14). **Phenol,** das schon eine Hydroxylgruppe enthält, wird durch eine Monooxygenase-Reaktion zu Brenzcatechin umgesetzt. **Monooxygenasen** katalysieren

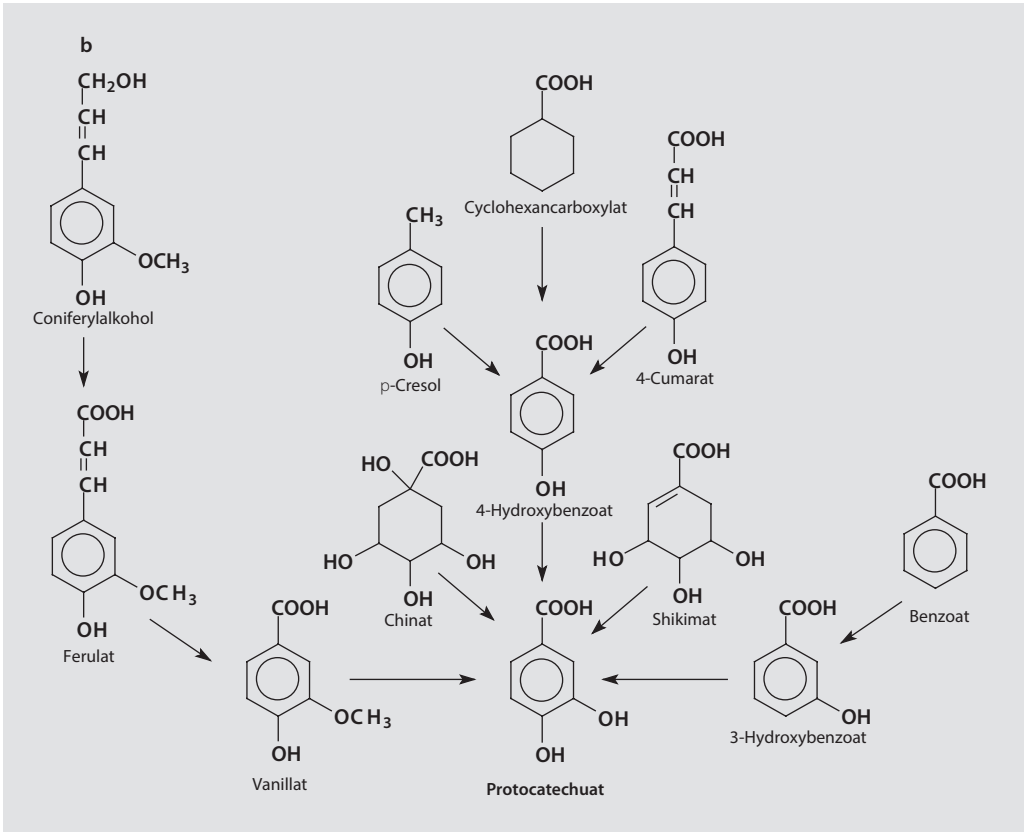
den Einbau eines der Atome des Luftsauerstoffs in das Substrat, das zweite Sauerstoffatom findet sich im Wasser wieder.

Die ◘ Abb. 6.15 zeigt, dass durch periphere Abbauwege unterschiedliche aromatische Verbindungen zu ein und demselben Dihydroxyaromaten umgebaut werden. Dieses als **Konvergenz der Abbauwege** bezeichnete Phänomen ist bei den zu Brenzcatechin und Protocatechuat führenden Reaktionen besonders ausgeprägt. Zu Brenzcatechin und Protocatechuat werden beispielsweise viele der beim Ligninabbau freigesetzten einkernigen Aromaten wie Cinnamat, Coniferylalkohol, Ferulat, Vanillinat und Cumarat umgesetzt (zum enzymatischen Angriff auf Lignin vgl. ► Abschn. 4.4.4.5). Neben den beiden genannten Verbindungen gibt es noch weitere, die als **Substrate der Ringspaltungsenzyme** dienen (zum Beispiel Gentisat, Homogentisat). Praktisch alle diese Verbindungen tragen zwei Hydroxylgruppen in *ortho*- oder *para*-Stellung zueinander. Da gerade bei den Ringspaltungssubstraten viele Abbauwege zusammen laufen, kann man sie als **Knotenpunkte** der Abbauwege („catabolic hubs") bezeichnen. In weniger ausgeprägtem Maße laufen allerdings auch bei anderen Verbindungen Wege zusammen, unter anderem bei Benzoat. Dieses Zusammenlaufen in der Chemie der Abbauwege ist von zentraler Bedeutung für ihre genetische Organisation und Regulation.

Brenzcatechin und das Säurederivat Protocatechuat können durch Oxidation in *ortho*- oder *meta*-Stellung (◘ Abb. 6.16a, b) gespalten werden, daraus resultieren zwei verschiedene Abbauwege.



◘ **Abb. 6.15** Konvergenz peripherer Abbauwege von Aromaten



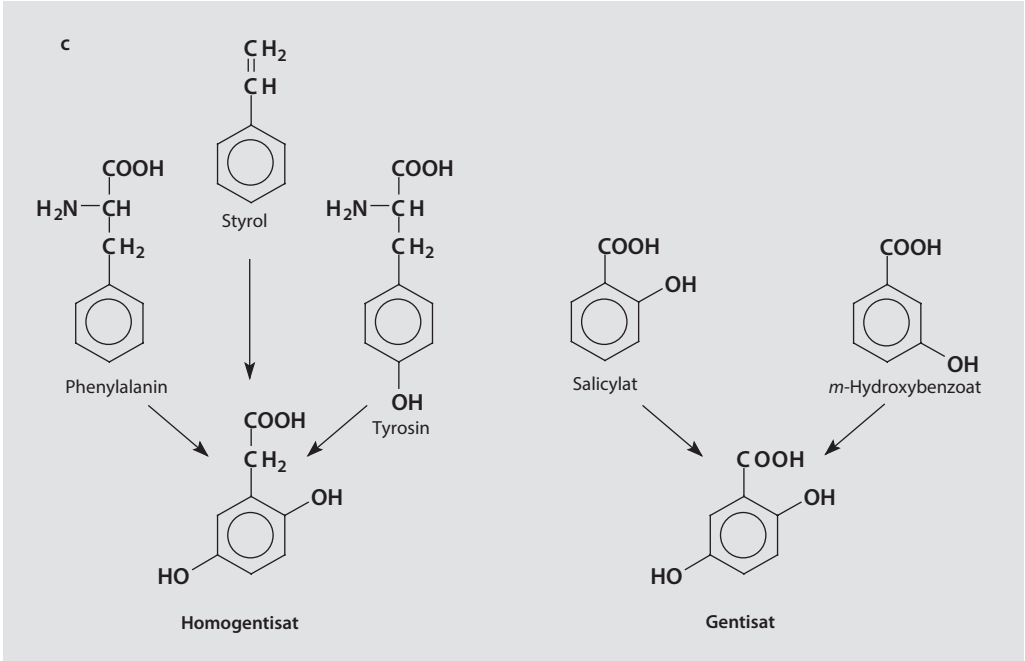


Abb. 6.15 (Fortsetzung)

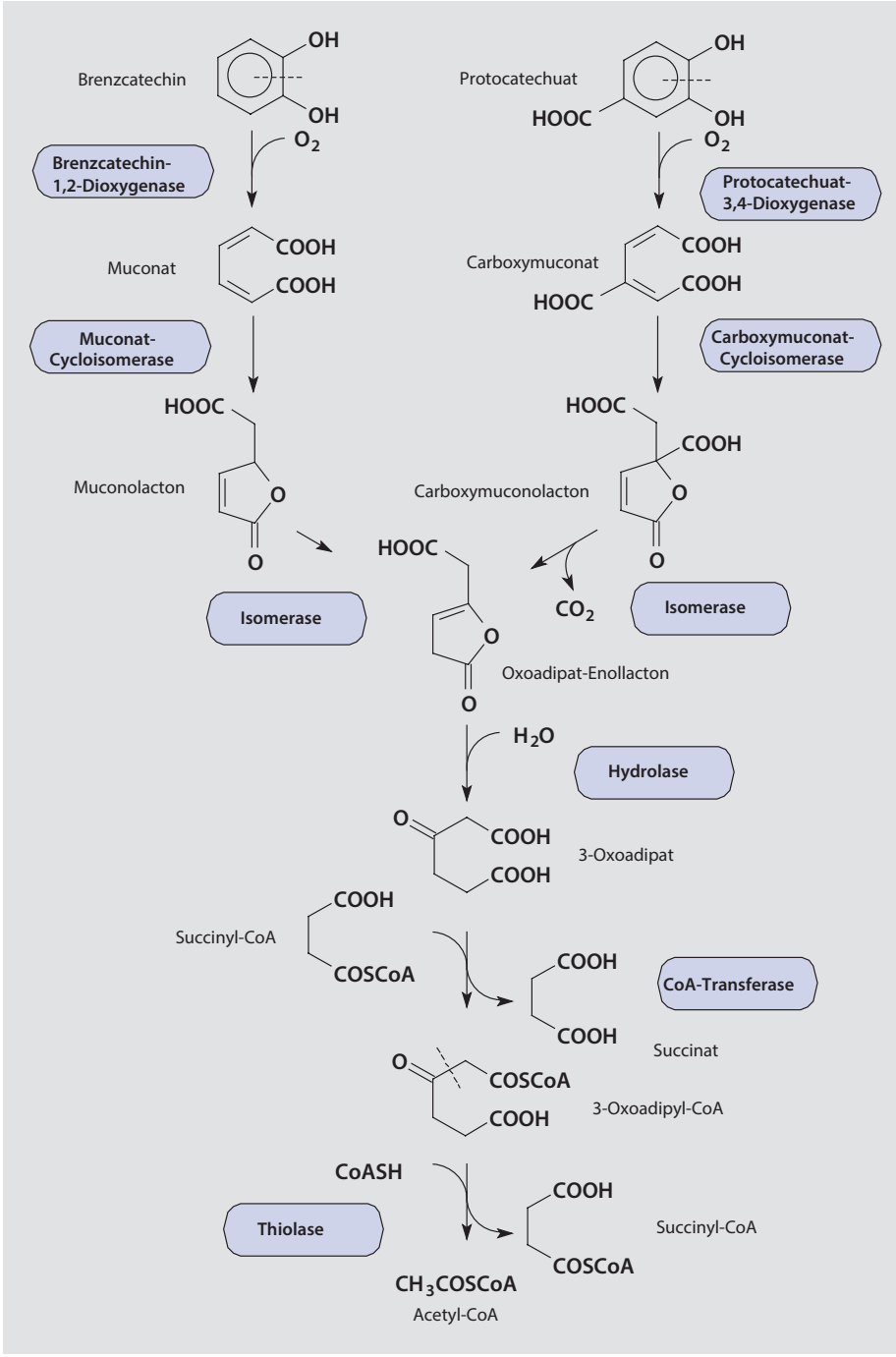


Abb. 6.16a Abbauwege für Brenzcatechin und Protocatechuat: *ortho*-Weg

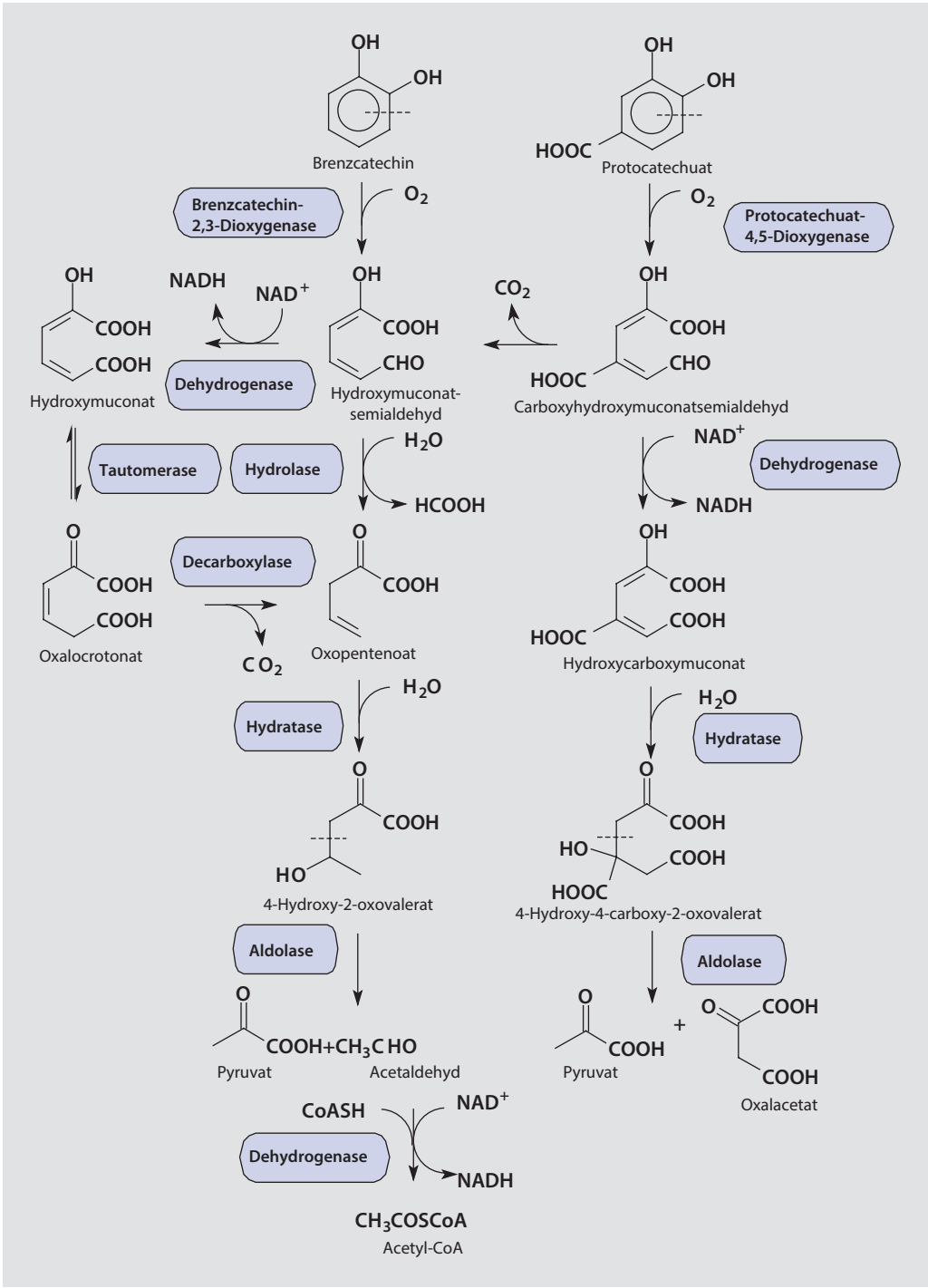


Abb. 6.16b Abbauwege für Brenzcatechin und Protocatechuat: *meta*-Weg

Ein dritter Abbauweg existiert für Gentisat, ein weiterer für die beim Phenylalanin- und Tyrosinabbau anfallende Homogentisat.

Die **Ringspaltung** des 1,2-Diphenols (Brenzcatechin oder Protocatechuat) kann in zwei Positionen erfolgen, zwischen den beiden benachbarten Hydroxylgruppen, in *ortho*-Stellung **(intradiol)** (◘ Abb. 6.16a) oder neben den beiden Hydroxylgruppen, in *meta*-Stellung **(extradiol)** (◘ Abb. 6.16a).

Beide Reaktionen werden durch Dioxygenasen katalysiert. Die Ringspaltungsreaktionen haben zur Namensgebung der Abbauwege geführt, *ortho*- und *meta*-Weg. Der ***ortho*-Weg** wird vielfach auch nach dem charakteristischen Intermediärprodukt **β-Ketoadipat-Weg** (Oxoadipat-Weg) bezeichnet. Die Hauptreaktionen des *ortho*-Weges sind die Lactonisierung der Dicarbonsäure, Isomerisierung des Muconolactons zum β-Ketoadipat-Enollacton und thiolytische Spaltung des Lacton-Öffnungsproduktes β-Ketoadipat zu Succinyl-CoA und Acetyl-CoA (◘ Abb. 6.16a).

Das Ringspaltungsprodukt des ***meta*-Weges** ist 2-Hydroxymuconatsemialdehyd, aus dem hydrolytisch Formiat abgespalten wird und 2-Oxopentenoat entsteht. Alternativ führt eine Reaktionsfolge über 2-Hydroxymuconat und Oxalocrotonat ebenfalls zu der C_5-Verbindung. Diese wird nach Einführung einer Hydroxylgruppe durch Wasseranlagerung für eine Aldolspaltung zugängig, die zu Pyruvat und Acetaldehyd führt. Acetaldehyd wird durch eine CoA-abhängige Dehydrogenase in Acetyl-CoA überführt und geht wie Pyruvat in den Intermediärstoffwechsel ein.

Die Enzyme des *meta*-Weges katalysieren auch den Abbau von **Alkyl-Aromaten.** Beim Xylolabbau wird eine Methylgruppe schrittweise zur Carboxylgruppe oxidiert. Es bildet sich Methylbrenzcatechin nach Dioxygenierung und Dehydrogenierung. Toluol kann durch die Toluol-Dioxygenase sowie die nachfolgende Dehydrogenase zum 3-Methylbrenzcatechin umgewandelt werden. Analoge Reaktionen zu den in ◘ Abb. 6.16a und 6.16b gezeigten werden im Abbau der Methylbrenzcatechine beobachtet (◘ Abb. 6.17). Statt Formiat wird in der Hydrolasereaktion Acetat gebildet und statt Acetaldehyd resultiert Propionaldehyd.

Der Salicylatabbau kann über Brenzcatechin aber auch über Gentisat verlaufen. Der **Gentisat-Weg,** bei dem das Substrat der Ringspaltung, das Gentisat, in *para*-Stellung hydroxyliert ist, erfolgt die Spaltung durch eine Dioxygenase zwischen einem hydroxylierten und einem am Ring substituierten aliphatischen C-Atom. Die Gentisat-1,2-Dioxygenase erzeugt einen 1,3-Dioxometaboliten, der direkt oder nach Isomerisierung einer Hydrolyse unterliegt. Die Hydrolyse liefert Fumarat beziehungsweise Maleat, die beide durch Wasseranlagerung zum Intermediat des Tricarbonsäure-Zyklus, dem Malat, führt.

Beim **Homogentisat-Weg,** bei dem das Substrat der Ringspaltung, das Homogentisat, in *para*-Stellung hydroxyliert ist, erfolgt die Spaltung durch eine Dioxygenase zwischen einem hydroxylierten und einem am Ring substituierten aliphatischen C-Atom. Der Abbau des **Styrols,** des Grundbausteins des Polystyrols, erfolgt auf diesem Weg. Endprodukt dieses Aromatenabbaus sind Fumarat und Acetoacetat.

Die Fähigkeit zum Abbau von Monoaromaten ist unter den Mikroorganismen nicht so verbreitet wie die zum Aliphatenabbau. Es sind jedoch wieder Vertreter der gleichen Gattungen, die sich durch ein hohes Abbaupotenzial auszeichnen: *Acinetobacter, Bacillus, Burkholderia, Corynebacterium, Cupriavidus, Flavobacterium, Pseudomonas, Rhodococcus* und *Sphingomonas.*

6.1.4.2 Anaerober Aromatenabbau

Seit vielen Jahren gab es Hinweise dafür, dass unter anaeroben Bedingungen monoaromatische Naturstoffe abgebaut werden. Benzol ist aufgrund der homogenen Elektronenverteilung im Molekül sehr stabil, sodass ein anaerober Abbau erschwert ist. Auch über den anaeroben Abbau von polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffen liegen wenige positive Befunde vor.

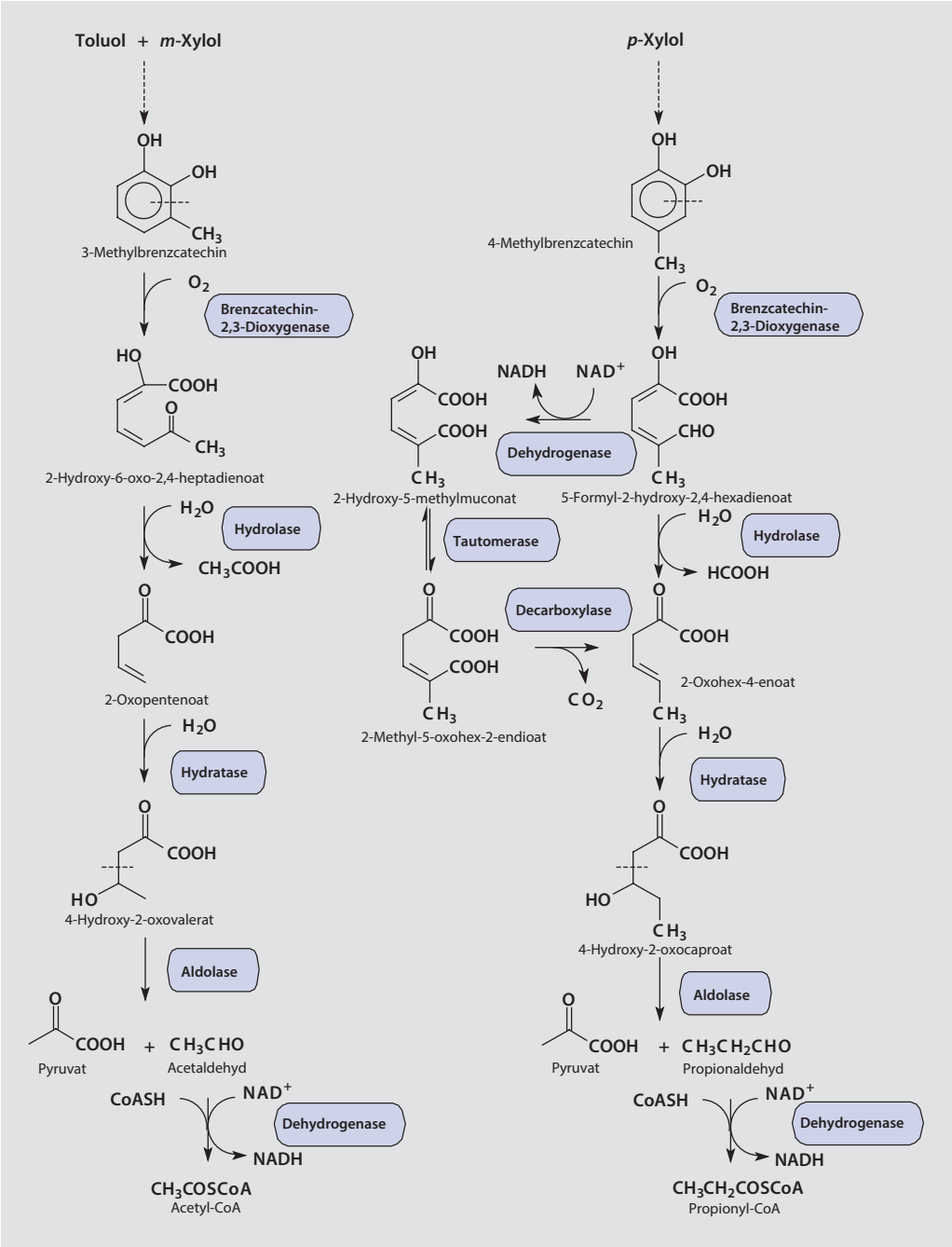


Abb. 6.17 Abbau von Alkylaromaten über den *meta*-Weg

Der Mechanismus des Abbaus wurde erst in den letzten Jahren in Grundzügen aufgeklärt. Da es keinen Sauerstoff gibt, der für die Aktivierung und Spaltung des aromatischen Ringes genutzt werden kann, müssen andere Mechanismen für die Spaltung des

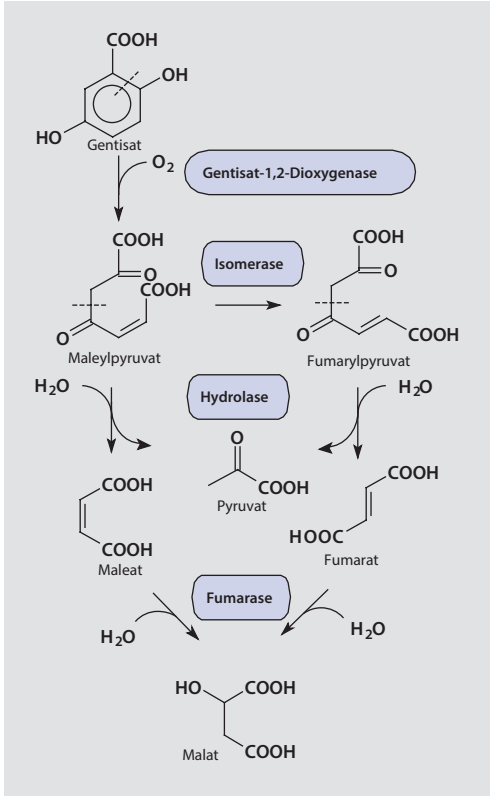


Abb. 6.18 Abbau von Aromaten über den Gentisat-Weg

Aromaten vorhanden sein. Der anaerobe Aromatenabbau lässt sich in vier Phasen untergliedern:

1. Über Modifikationsreaktionen werden die unterschiedlichsten aromatischen Verbindung in nur wenige zentrale Schlüsselintermediate überführt: Benzoyl-CoA, Resorcin, Phloroglucin, Hydroxyhydrochinon. Der aromatische Charakter der jeweiligen Verbindung wird dabei nicht aufgehoben.
2. Diese Aufhebung erfolgt in den Dearomatisierungsreaktionen der Schlüsselintermediate und bereitet die Ringspaltung unter Bildung einer nicht-aromatischen 1,3-Dioxo- beziehungsweise 1,4-Dioxoverbindung vor.
3. Es folgt hydrolytische Ringspaltung.
4. Die Spaltprodukte werden in Intermediate des zentralen Metabolismus umgesetzt. Dieses erfolgt primär über Reaktionen, die ähnlich denen der β-Oxidation der Fettsäuren sind (◘ Abb. 6.19).

6.1.4.2.1 Bildung der zentralen Schlüsselintermediate

Die folgenden Reaktionen sind an der Bildung der Schlüsselintermediate beteiligt:

1. Bildung einer Carbonsäure durch Carboxylierungen oder Oxidation einer Methylgruppe.
2. Decarboxylierungen.
3. Reduktive Eliminierungen.
4. Hydroxylierungen.

Die einzelnen Abbauwege mit zuleitenden Modifikationsreaktionen sind in einer Reihe

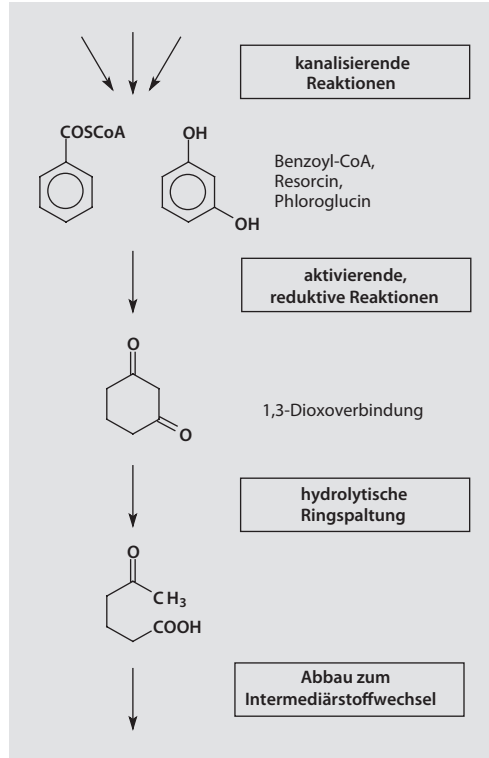


Abb. 6.19 Abbauprinzip für Aromaten unter anaeroben Bedingungen durch Bakterien

von Übersichtsartikeln der Arbeitsgruppen Schink, Fuchs und Harwood ausführlich erläutert.

Bildung von Benzoyl-CoA

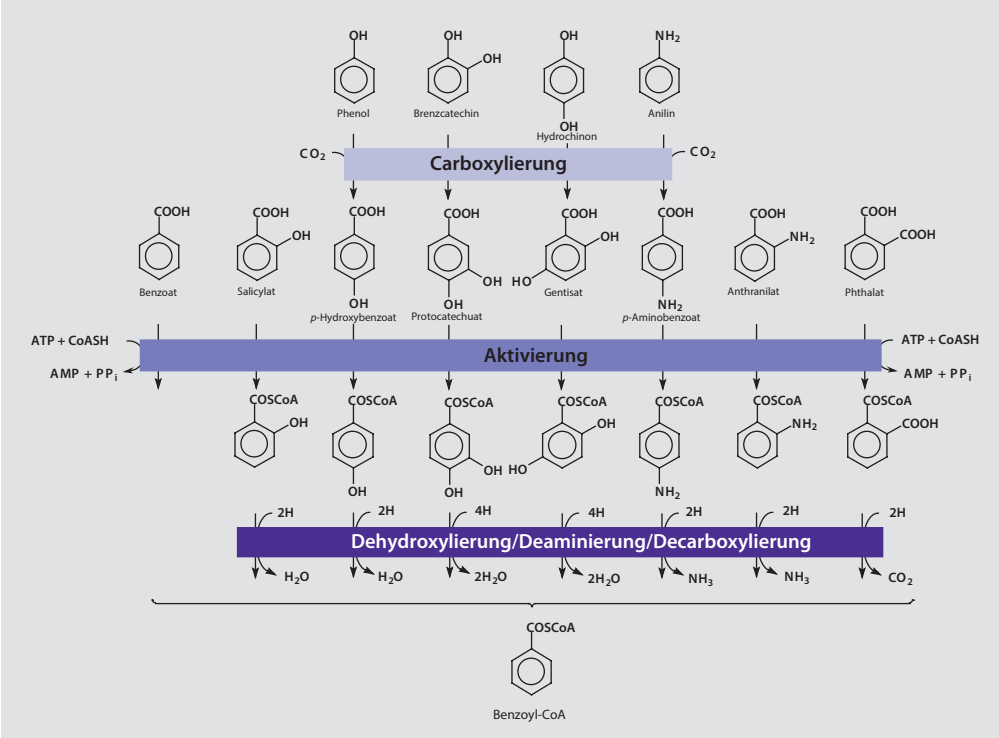
Viele Aromaten werden über Benzoyl-CoA abgebaut (■ Abb. 6.20). Ein wichtiges Charakteristikum für solche Reaktionen des anaeroben Aromatenabbaus ist ein Ablauf auf der Stufe des Coenzym A-Thioesters. Gründe für die Rolle des Coenzyms scheinen in erster Linie im Mechanismus der Folgereaktionen zu liegen.

Bei aromatischen Carbonsäuren ist die notwendige Carboxylgruppe schon vorhanden. Im anderen Fall muss diese Carboxylgruppe eingeführt oder erzeugt werden, das heißt Carboxylierung des Aromaten wie zum Beispiel beim Phenol, Carboxylierung der Alkylseitengruppe beim Ethylbenzol, Kopplung mit Fumarat beim Toluol oder ein anderer Weg der Oxidation einer Methylgruppe wie beim *p*-Cresol findet statt.

Die Reaktionsfolge zur Bildung des Benzoyl-CoAs beinhaltet also die folgenden Schritte:

1. Bildung der aromatischen Carbonsäure durch Carboxylierung.
2. Aktivierung der Carbonsäure zum Coenzym A-Thioester. Die Veresterung des jeweiligen Substrats mit CoASH wird über Ligasen katalysiert, welche dabei ATP zu PP_i und AMP hydrolysieren.
3. Eliminierung von Hydroxyl-, Amino- und Carboxylgruppen (reduktive Dehydroxylierung) zur Bildung von Benzoyl-CoA.

Eine Reihe phenolischer Verbindungen wird zuerst carboxyliert, um eine Veresterung mit Coenzym A zu ermöglichen. Diese Reaktion ist für den anaeroben Abbau von Phenol,



■ **Abb. 6.20** Reaktionsfolgen zur Bildung von Benzoyl-CoA

Hydrochinon, Brenzcatechin und auch Anilin gezeigt worden.

Beim Abbau von Ethylbenzol erfolgt die Carboxylierung der Seitengruppe später (◘ Abb. 6.21). Hier sind zwei Dehydrogenasen der Carboxylase vorgeschaltet. Es folgt Aktivierung zum Coenzym A-Thioester und Abspaltung von Acetyl-CoA zum Benzoyl-CoA.

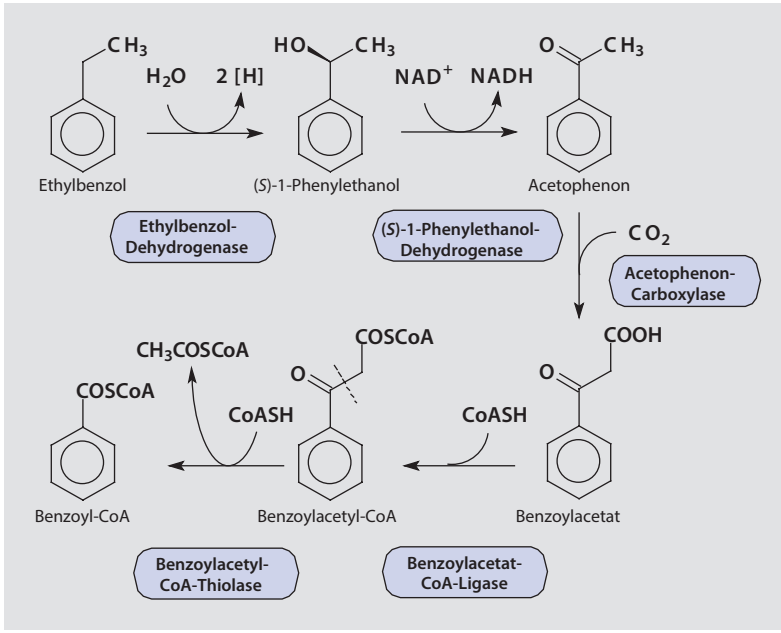
Am Beispiel des Toluols wird deutlich, mit welchen außergewöhnlichen biochemischen Reaktionen die Oxidation einer Methylgruppe durchgeführt wird (◘ Abb. 6.22). Die folgenden Schritte laufen ab:

1. Kopplung des Toluols in einer Radikalreaktion mit Fumarat.
2. Aktivierung der entstandenen Carbonsäure zum Coenzym A-Thioester.
3. Schritte der β-Oxidation und Bildung des β-Oxo Coenzym A-Thioesters.
4. Thiolytische Abspaltung von Succinyl-CoA und Bildung von Benzoyl-CoA.

Es gibt Hinweise darauf, dass eine analoge Reaktion unter Addition von Fumarat auch als einleitender Schritt des Abbaus von *o*-, *m*- und *p*-Xylol sowie *m*- und *p*-Cresol vorliegt.

p-Cresol kann relativ leicht zu einem Chinonmethid oxidiert werden, an das gut Wasser angelagert werden kann. Die weitere Oxidation des Alkohols erfolgt dann mittels Dehydrogenasen zu 4-Hydroxybenzoat (◘ Abb. 6.23).

Reduktive Eliminierungen von Carboxyl-, Hydroxyl- und Aminogruppen spielen bei der Umwandlung einer Reihe von Benzoatderivaten zum Benzoyl-CoA eine Schlüsselrolle. Für Phthalat ist eine Decarboxylierung zu Benzoat beziehungsweise Benzoyl-CoA postuliert worden. Insbesondere phenolische Verbindungen, die nicht über eines der Hydroxybenzole (Resorcin, Phloroglucin, Hydroxyhydrochinon) abgebaut werden, unterliegen den Eliminierungsreaktionen. Alle bisher beschriebenen reduktiven Dehydroxylierungen werden auf der CoA-Esterstufe katalysiert. Die reduktive Dehydroxylierung von 4-Hydroxybenzoyl-CoA in *Rhodopseudomonas palustris* und auch *Thauera aromatica* ist eingehend untersucht worden. Auch Aminosubstituenten können



◘ **Abb. 6.21** Ethylbenzolaktivierung

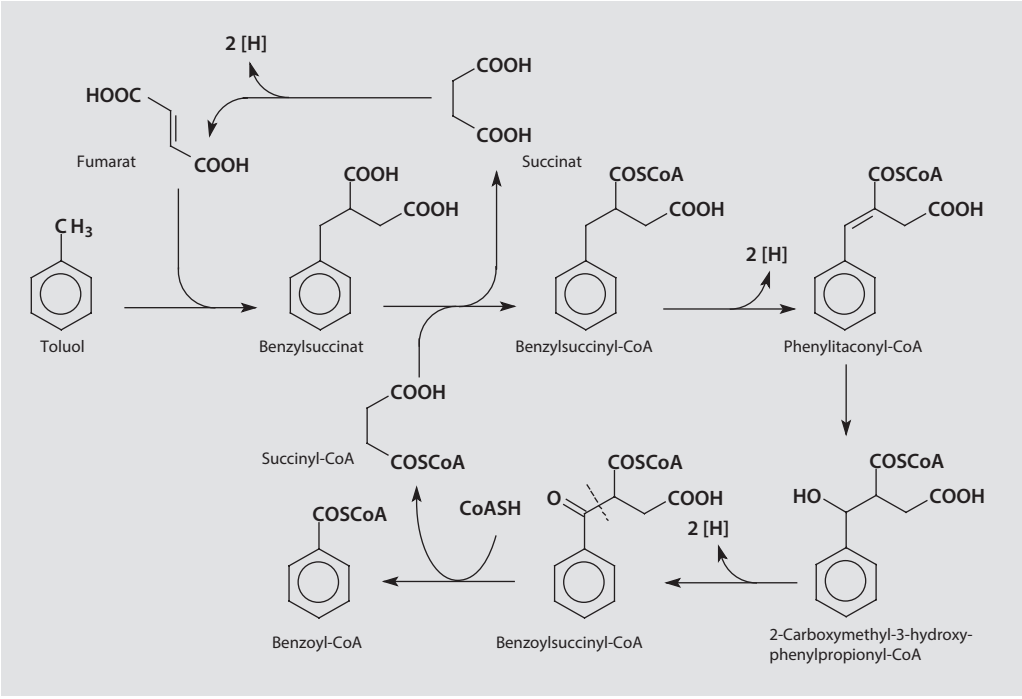


Abb. 6.22 Toluolaktivierung

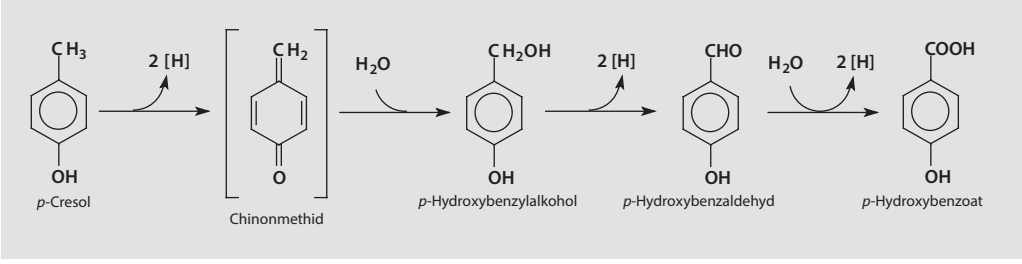


Abb. 6.23 *p*-Cresolaktivierung

reduktiv abgespalten werden. So wird zum Beispiel 4-Aminobenzoyl-CoA, ein Intermediat des Abbaus von Anilin, zu Benzoyl-CoA desaminiert. Für Anthranilat ist ebenfalls eine reduktive Abspaltung der Aminogruppe postuliert worden.

Bildung von 1,3-Diphenolen

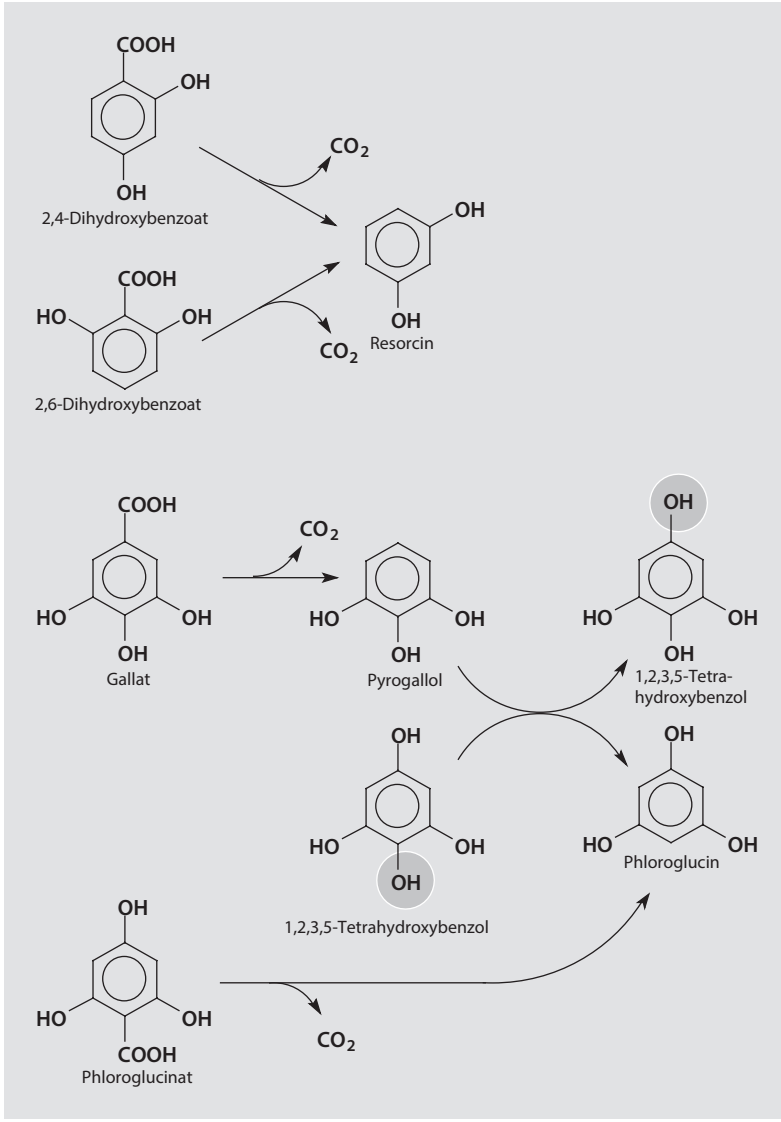
Mehrfach hydroxylierte Benzoatderivate werden über Resorcin, Phloroglucin oder Hydroxyhydrochinon abgebaut.

Decarboxylierung führt zu Produkten mit einem 1,3-Diolsystem wie Resorcin und Pyrogallol aus Di- und Trihydroxybenzoat (beispielsweise 2,4-Dihydroxy- und 2,6-Dihydroxybenzoat oder Gallat).

Beim Pyrogallol erfolgt dann eine Reaktionskaskade von Transhydroxylierungen, um Phloroglucin zu bilden. Ungewöhnliche Reaktionen mit 1,2,3,5-Tetrahydroxybenzol als Cosubstrat sind beteiligt. Eine Hydroxylgruppe des Tetrahydroxy-

benzols wird auf die Position 5 des Pyrogallols übertragen, sodass Phloroglucin und ein neues Molekül Tetrahydroxybenzol gebildet wird. Phloroglucin entsteht auch direkt aus Phloroglucinat durch Decarboxylierung.

Oxidationsreaktionen am aromatischen Ring folgen im Abbau von α-Resorcylat und Resorcin in den denitrifizierenden Bakterien *Azoarcus anaerobius* und *Thauera aromatica* Stamm AR-1. In beiden Fällen wird der aromatische Ring durch Einführung einer weiteren Hydroxylgruppe zusätzlich destabilisiert. Produkte dieser Reaktionen sind Hydroxyhydrochinon aus Resorcin sowie 2,3,5-Trihydroxybenzoat aus α-Resorcylat. 2,3,5-Trihydroxybenzoat kann leicht decarboxyliert werden, wodurch ebenfalls Hydroxyhydrochinon als Produkt gebildet wird (◘ Abb. 6.24).



◘ **Abb. 6.24** Resorcin- und Phloroglucinbildung

6.1.4.2.2 Dearomatisierungsreaktionen

Abbau von Benzoyl-CoA

Detaillierte Arbeiten mit *Rhodopseudomonas palustris* und *Thauera aromatica* zeigen, dass Benzoyl-CoA zu einem Dienderivat umgesetzt wird. Analog der Birch-Reduktion von Benzol wird für diese Reaktion die sequentielle Abfolge der Ein-Elektronen-Reduktion – Protonanlagerung angenommen. Mit dem physiologischen Elektronendonor Ferredoxin ist dieses ein endergoner Prozess, der in *Thauera aromatica* durch die Hydrolyse von 2 Mol ATP pro Mol Substrat getrieben wird, das heißt ein ATP für jedes addierte Elektron.

Verschiedene Routen wurden in dem denitrifizierenden *Thauera aromatica,* dem phototrophen *Rhodopseudomonas palustris* und einem Gärer gefunden (◘ Abb. 6.25).

In *Thauera aromatica* ist das nächste Intermediat, welches aus dem Dien folgt, 6-Hydroxycyclohex-1-en-1-carboxyl-CoA aufgrund der Addition von Wasser. Dann gibt es eine Wissenslücke zwischen 6-Hydroxycyclohex-1-en-1-carboxyl-CoA und 3-Hydroxypimelyl-CoA, dem ersten nicht cyclischen Intermediate. Am einfachsten lässt sich die Bildung des Intermediates durch Addition von Wasser an die Doppelbindung in 6-Hydroxycyclohex-1-en-1-carboxyl-CoA, die Oxidation des resultierenden Alkohols zur Carbonylverbindung und die hydrolytische Ringspaltung erklären.

In *Rhodopseudomonas palustris* wird das cyclische Dien weiter zum Cyclohex-1-en-1-carboxyl-CoA reduziert. Nachfolgende β-Oxidation führt zur Bildung einer cyclischen β-Oxoverbindung. Dieser folgt hydrolytische Ringöffnung zum Pimelyl-CoA, welches weiter wie bei *Thauera aromatica* über 3-Hydroxypimelyl-CoA oxidiert wird. Die gleiche Route via Cyclohex-1-en-1-carboxyl-CoA wird auch durch *Syntrophus gentianae* genutzt, welches Gärung mit Benzoat durchführt.

Die weitere β-Oxidation von 3-Hydroxypimelyl-CoA führt zum Glutaryl-CoA sowie Acetyl-CoA. Die Oxidation von Glutaryl-CoA zu 2 Acetyl-CoA sowie CO_2 verläuft über Glutaconyl-CoA und Crotonyl-CoA und wird durch eine Glutaryl-CoA-Dehydrogenase katalysiert.

Abbau von Abbau von Resorcin, Phloroglucin und Hydroxyhydrochinon

Bei den Abbauwegen für Resorcin, Phloroglucin und Hydroxyhydrochinon erfolgt keine CoA-Thioester-Aktivierung.

Eine reduktive Dearomatisierung leitet bei den Resorcin- und Phloroglucin-Wegen die Ringspaltung ein.

Im Resorcin polarisieren die beiden *meta*-ständigen Hydroxylgruppen die π-Elektronenwolke dergestalt, dass unter Ausbildung des Oxotautomers eine „isolierte" Doppelbindung im Ring bestehen kann, die relativ leicht selektiv mit zwei Elektronen reduziert werden kann. Dihydroresorcin entsteht und damit ist der aromatische Charakter des Moleküls aufgehoben. Die drei Hydroxylgruppen im Phloroglucin polarisieren die π-Elektronenwolke noch stärker als die beiden des Resorcins. In wässriger Lösung ist deshalb das Trioxotautomer anzutreffen. Folglich hat Phloroglucin keinen aromatischen Charakter und kann leicht mit milden reduzierenden Agenzien reduziert werden.

Resorcinabbauende fermentierende Bakterien (*Clostridium* sp.) folgen dieser Abbaustrategie und 1,3-Dioxocyclohexan wird als endgültige alicyclische Verbindung erzeugt. Offensichtlich trägt das C-3-Atom von 1,3-Dioxocyclohexan genügend positive Ladung, um die hydrolytische Spaltung zum 5-Oxocaproat zu erlauben.

Anaerobe phloroglucinabbauende Bakterien, wie *Coprococcus* sp., *Eubacterium oxidoreducens, Pelobacter acidigallici* oder *Rhodopseudomonas gelatinosa,* reduzieren zuerst Phloroglucin zum Dihydrophloroglucin (1,3-Dioxo-5-hydroxycyclohexan) in einer NADPH-abhängigen Reaktion. Nucleophiler Angriff auf eine der Carbonylgruppen des Dihydrophloroglucins öffnet den Ring und erzeugt 3-Hydroxy-5-oxocaproat. Der weitere Abbau des partiell oxidierten Caproats stellt

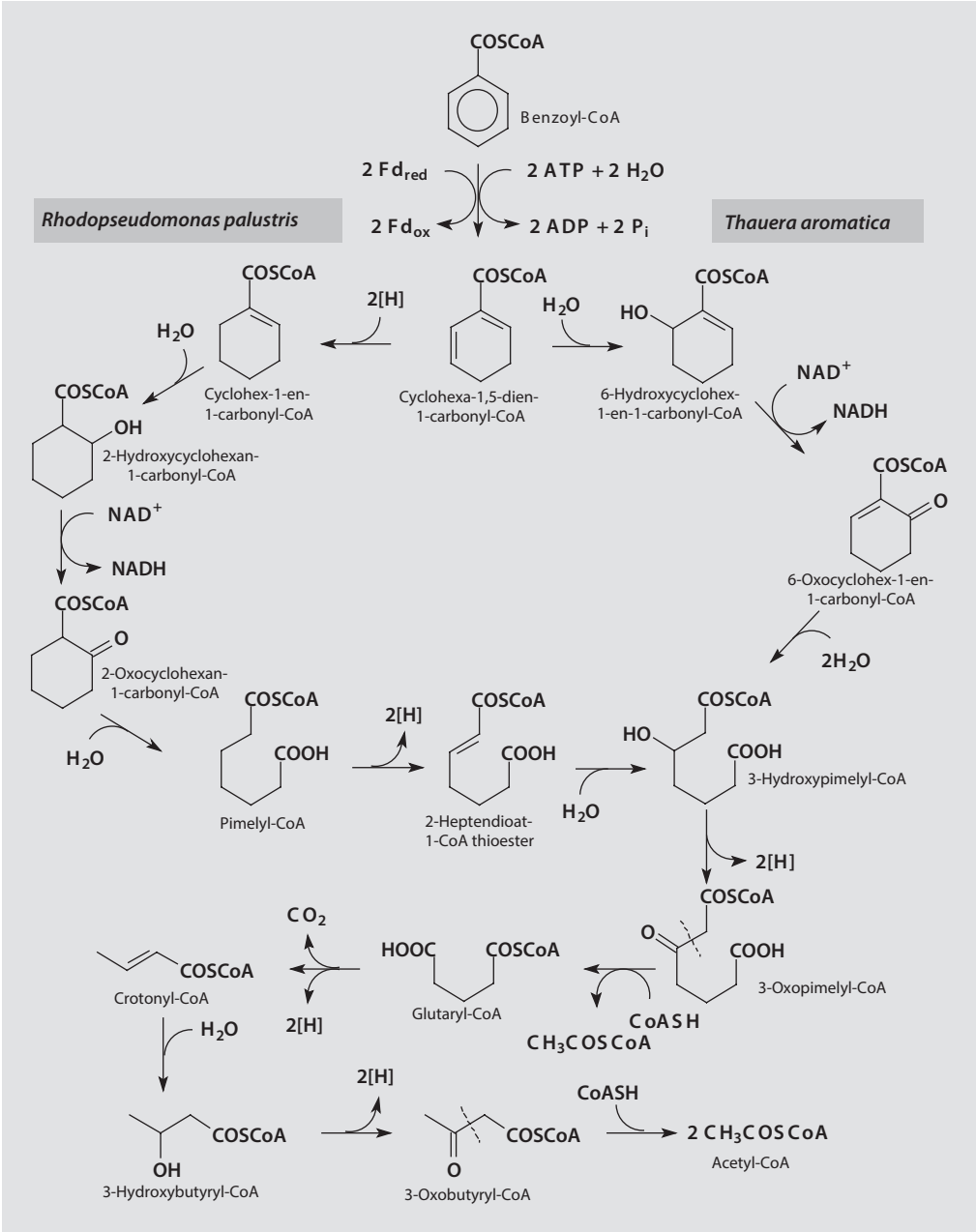


Abb. 6.25 Abbau von Benzoyl-CoA zu Acetyl-CoA durch ein phototrophes und ein denitrifizierendes Bakterium

keine grundsätzlichen biochemischen Probleme mehr dar (Abb. 6.26).

Ein fundamental anderer Weg der Dearomatisierung findet sich beim Abbau von Resorcin durch *Azoarcus anaerobius* sowie von α-Resorcylat durch *Thauera aromatica* AR-1. Hier wird Hydroxyhydrochinon, Intermediat beider Abbauwege, von

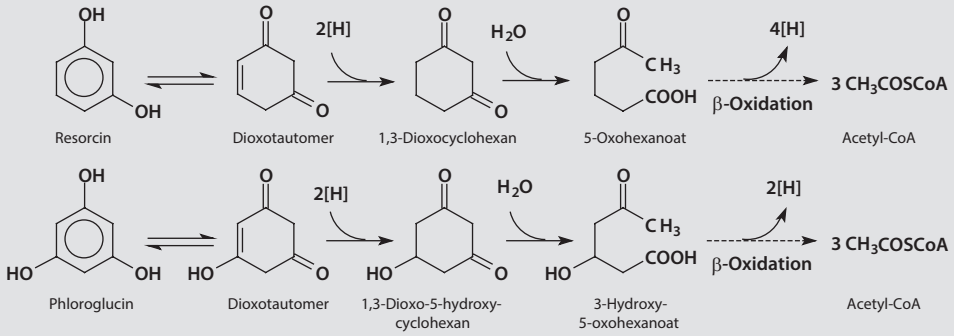


Abb. 6.26 Vorgeschlagene Abbausequenzen für Resorcin (oben) und Phloroglucin (unten)

der Hydroxyhydrochinon-Dehydrogenase zu 2-Hydroxybenzochinon oxidiert. Das heißt hier wird der aromatische Charakter durch Oxidation und nicht durch Reduktion aufgehoben. Der weitere Abbauweg ist noch nicht geklärt.

Die Fähigkeit zum anaeroben Aromatenabbau kommt bei fakultativ und obligat anaeroben Bakterien vor. Sie wurde bei nitratreduzierenden *Moraxella*- und *Pseudomonas*-Stämmen, sulfatreduzierenden *Desulfobacterium*- und *Desulfomaculum*-Spezies, phototrophen *Rhodopseudomonas*- und *Rhodospirillum*-Arten sowie methanogenen Konsortien nachgewiesen. Viele der genannten Vertreter können Aromaten als einzige Kohlenstoff- und Energiequelle nutzen; die Wachstumsrate ist niedrig und die Ausbeute gering.

Hypothese: Anaerober Abbau von nackten Aromaten

Von großem Interesse und deshalb schon seit langer Zeit bearbeitet ist der anaerobe Abbau von Benzol, welches in vielen anaeroben Sedimenten nachgewiesen wurde. Hier sind andere Mechanismen zu erwarten, da kein Anknüpfungspunkt zur Erzeugung einer Carboxylgruppe wie zum Beispiel beim Toluol vorhanden ist. Es wird eine Sequenz über Phenol und anschließend Benzoat beim Benzol vorgeschlagen, wobei die Carboxylgruppe auch aus dem Benzol und nicht CO_2 stammen soll.

Bildung von Sauerstoff unter anaeroben Bedingungen aus Perchlorat und Abbau von Aromaten

Die Oxyanionen Chlorat (ClO_3^-) und Perchlorat (ClO_4^-) werden im großen Umfang für verschiedenste Zwecke eingesetzt. Chlorat wird als Herbizid oder Entlaubungsmittel verwendet. Es wird freigesetzt, wenn Chlordioxid (ClO_2) als Bleichmittel in der Papier- und Faserindustrie eingesetzt wird. Perchlorat wird in großen Mengen als energiereiche Verbindung im Festtreibstoff für Raketen hergestellt. Falsche Handhabung dieser Verbindungen und die Tatsache, dass sie in Wasser chemisch stabil sind, führte zu gesundheitsgefährdenden Konzentrationen in Oberflächen- und Grundwässern. Verschiedene Mikroorganismen sind bekannt bezüglich der Fähigkeit, (Per)chlorat zu reduzieren, entweder zum Chlorit (ClO_2^-) oder vollständig zum Chlorid. Die erst-genannte Reaktion ist lange bekannt und wird von denitrifizierenden Bakterien durch die Enzyme Nitrat- oder Chlorat-Reduktase durchgeführt. Diese Organismen sind wahrscheinlich nicht in der Lage mit (Per)chlorat als Elektronenakzeptor zu atmen. Die komplette Reduktion von **(Per)chlorat** zu Chlorid

ist aber bei neueren Isolaten an das Wachstum gekoppelt, es findet eine **anaerobe Atmung** statt. Chlorat hat ein Redoxpotenzial, das noch positiver als das des O_2/H_2O-Paares ist.

$$ClO_3^- \rightarrow Cl^- + 3\,H_2O$$

$$(6e^- + 6H^+;\ E^{0'} = +1030\,mV)$$

Die verschiedenen, chloratreduzierenden Bakterien sind meistens fakultativ anaerob und daher zu aerobem Wachstum fähig. Da alle Perchloratreduzierer auch Chlorat reduzieren, kann ein identischer Abbauweg vermutet werden. Der Weg für die (Per) chloratreduktion wurde wie folgt vorgeschlagen:

$$ClO_4^- \rightarrow ClO_3^- \rightarrow$$

$$ClO_2^- \rightarrow Cl^- + O_2$$

Es ist nachgewiesen worden, dass die Organismen eine Dismutierung des gesundheitsschädlichen Chlorits in Chlorid und Sauerstoff mittels Chlorit-Dismutase durchführen. Der komplette Abbauweg beinhaltet auch eine (Per) chlorat-Reduktase.

Es sind Organismen isoliert worden, die den Abbau von Benzol und anderen Monoaromaten mit Perchlorat unter anaeroben Bedingungen durchführen. Ob die Mechanismen des oxischen Abbaus mit ringaktivierenden und -spaltenden Dioxygenasen, das heißt die Nutzung von molekularem Sauerstoff dabei eine Rolle spielen, wird in der Zukunft zu klären sein. Oder fungiert der bei der Dismutation entstehende Sauerstoff auch als Elektronenakzeptor der Atmungskette?

6

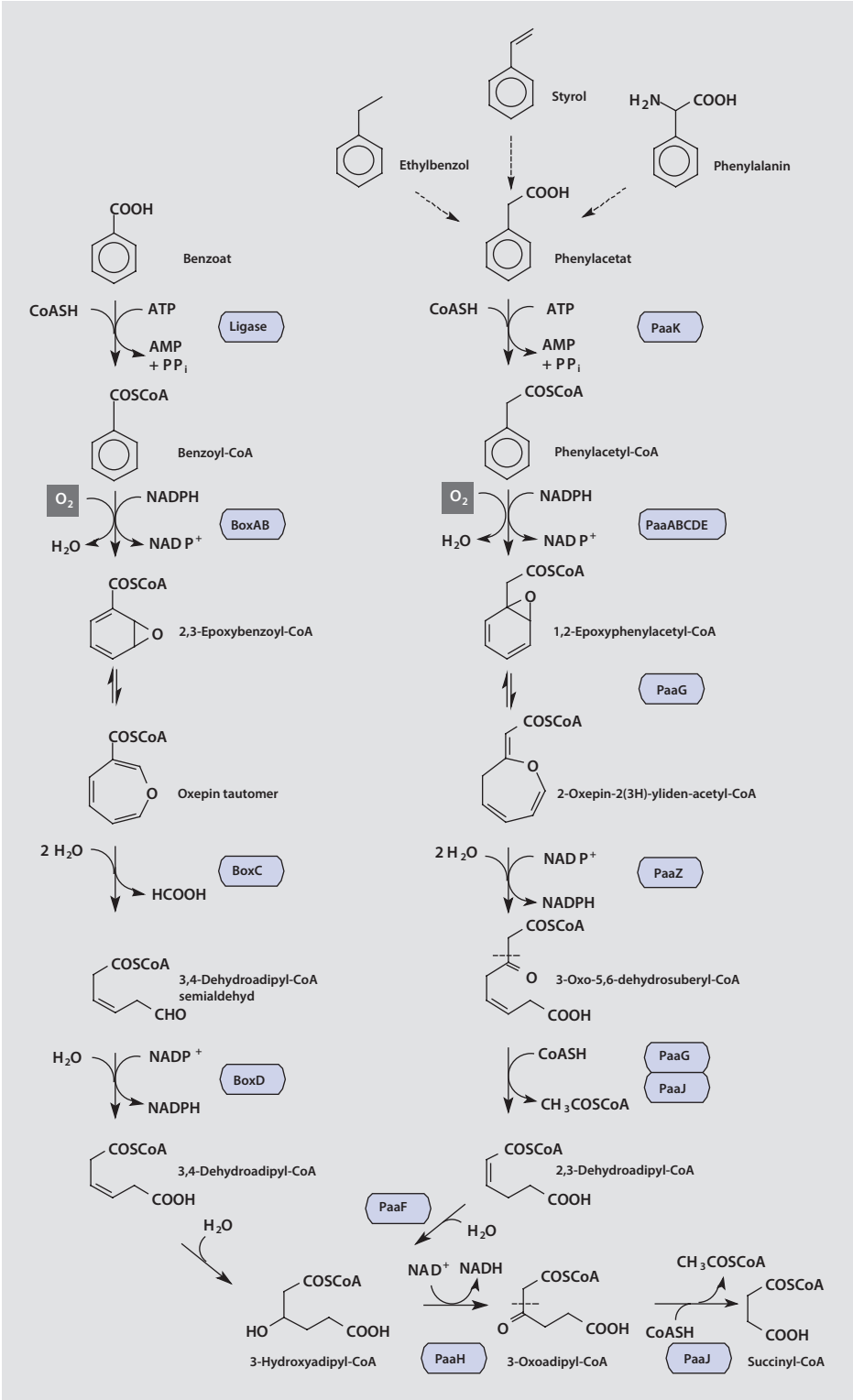
6.1.4.3 Strategien eines unorthodoxen aeroben Abbaus von Aromaten

Eine elegante Strategie, mit der hohen Resonanzenergie von aromatischen Substraten zurechtzukommen, zeigt sich in sogenannten Hybrid-Abbauwegen, die bisher meist übersehen worden sind (siehe ◘ Abb. 6.27 für Benzoat und Phenylacetat). Dort wird ein CoA-Thioester wie im anaeroben Metabolismus verwendet. Es wird auch Sauerstoff genutzt, aber anders als im klassischen aeroben Abbauweg wird ein Epoxid mittels Monooxygenase gebildet und damit die Ringspaltung vorbereitet, die dann keinen weiteren Sauerstoff mehr benötigt.

6.1.4.3.1 Hybridweg für Benzoat

Der komplizierte Abbauweg für Benzoat, in den denitrifizierenden fakultativ aeroben *Azoarcus evansii* und *Bacillus stearothermophilus* untersucht, benötigt die Bildung von Benzoyl-CoA, gefolgt von einer Oxygenase-Reaktion und einer nicht-oxygenolytischen Ringspaltung. Die Benzoyl-CoA-Transformation wird durch die eisenenthaltende Benzoyl-CoA-Oxygenase (BoxB) durchgeführt. Die Elektronen erhält sie aus NADPH durch die Reduktase (BoxA), die Eisen-Schwefel-Zentren und FAD zum Transfer nutzt. Die Benzoyl-CoA-Oxygenase bildet ein nicht-aromatisches 2,3-Epoxid. Die Enoyl-CoA-Hydratase (BoxC) braucht dann zwei Moleküle Wasser, um zuerst hydrolytisch den

◘ Abb. 6.27 CoA-abhängige aerobe Abbauwege für Aromaten. Reaktionen und Intermediate des aeroben Benzoatabbaus sind in *Azoarcus evansii* untersucht worden (*links*). Reaktionen und Intermediate des aeroben Phenylacetatabbaus sind in *E. coli* K12 und *Pseudomonas* sp. Stamm Y2 untersucht worden (*rechts*). BoxAB: Benzoyl-CoA, NADPH:oxygen Oxidoreduktase (2,3-Epoxid-forming); Trivialname CoA 2,3-Epoxidase, BoxC: 2,3-Epoxybenzoyl-CoA-Dihydrolase, BoxD: 3,4-Dehydroadipyl-CoA-semialdehyd-Dehydrogenase, PaaK: Phenylacetat-CoA-Ligase (AMP-forming), PaaABCDE: 1,2-Phenylacetyl-CoA-Epoxidase (NADPH), PaaG: 1,2-Epoxyphenylacetyl-CoA-Isomerase (Oxepin-CoA-forming), postulierte 3,4-Dehydroadipyl-CoA-Isomerase, PaaZ: Oxepin-CoA-Hydrolase/3-Oxo-5,6-dehydrosuberyl-CoA-semialdehyd-Dehydrogenase ($NADP^+$), PaaJ: 3-Oxoadipyl-CoA/3-Oxo-5,6-dehydrosuberyl-CoA-Thiolase, PaaF: 2,3-Dehydroadipyl-CoA-Hydratase, PaaH: 3-Hydroxyadipyl-CoA-Dehydrogenase (NAD^+) ▶


Styrol
Ethylbenzol
Phenylalanin
Benzoat
Phenylacetat
CoASH
ATP
AMP
+ PPi
Ligase
PaaK
Benzoyl-CoA
Phenylacetyl-CoA
O2
NADPH
H2O
NADP+
BoxAB
PaaABCDE
2,3-Epoxybenzoyl-CoA
1,2-Epoxyphenylacetyl-CoA
PaaG
Oxepin tautomer
2-Oxepin-2(3H)-yliden-acetyl-CoA
2 H2O
HCOOH
BoxC
PaaZ
3,4-Dehydroadipyl-CoA
semialdehyd
CHO
3-Oxo-5,6-dehydrosuberyl-CoA
BoxD
CH3COSCoA
PaaJ
3,4-Dehydroadipyl-CoA
2,3-Dehydroadipyl-CoA
PaaF
HO
3-Hydroxyadipyl-CoA
PaaH
3-Oxoadipyl-CoA
Succinyl-CoA

Ring des 2,3-Epoxybenzoyl-CoA zu öffnen, welches über seine tautomere sieben-gliedrige Oxepin-Ringform abläuft. Dann wird das C2 des Ringes als Formiat abhydrolysiert, sodass 3,4-Dehydroadipyl-CoA-semialdehyd entsteht. Die Bildung von Formiat erklärt auch den alten Befund, dass Gene für Enzyme des Benzoat- und Formiatmetabolismus co-induziert werden. Das Semialdehyd wird durch eine $NADP^+$-abhängige Aldehyd-Dehydrogenase (BoxD) zu 3,4-Dehydroadipyl-CoA oxidiert. Die nachfolgende Abbausequenz liefert in Analogie zum Fettsäureabbau Acetyl-CoA und Succinyl-CoA.

Die Gesamtstöchiometrie des aeroben Benzoatabbaus über CoA-Ligation ergibt die folgende Gleichung:

$$\begin{aligned}\text{Benzoat} + \text{ATP} + 2\,\text{CoASH} + \text{O}_2 \\ + 3\,\text{H}_2\text{O} + \text{NAD}^+ \rightarrow \\ \text{Acetyl-CoA} + \text{Succinyl-CoA} \\ + \text{Formiat} + \text{AMP} + \text{PP}_\text{i} \\ + \text{NADH} + \text{H}^+\end{aligned}$$

Der aerobe Benzoatabbau über den 3-Oxoadipat-Weg zeigt hingegen die folgende Gleichung:

$$\begin{aligned}\text{Benzoat} + \text{CoASH} + 2\text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \\ \rightarrow \text{Acetyl-CoA} + \text{Succinat} + \text{CO}_2\end{aligned}$$

Das heißt der „neue" Abbauweg braucht weniger Sauerstoff und bildet die reduzierten Produkte NADH und Formiat.

6.1.4.3.2 Hybridweg für Phenylacetat

Ein substantieller Teil von aromatischen Verbindungen (wie zum Beispiel Phenylalanin oder Styrol) wird durch Bakterien über Phenylacetat metabolisiert. Die oben für Benzoat aufgeführte außergewöhnliche Strategie, ein Charakteristikum typisch für den anaeroben und nicht den aeroben Aromatenabbau, findet man auch für Phenylacetat: Das erste Enzym des Abbauweges, die Phenylacetat-CoA-Ligase (PaaK), überführt Phenylacetat in Phenylacetyl-CoA. Die weiteren Intermediate werden dann als CoA-Thioester verarbeitet. Der aromatische Ring von Phenylacetyl-CoA wird zu einem 1,2-Epoxid durch eine spezielle aus mehreren Komponenten bestehende Oxygenase (PaaABCDE) aktiviert. Das reaktive nicht-aromatische Epoxid isomerisiert mittels 1,2-Epoxyphenylacetyl-CoA-Isomerase (PaaG) zu einem sieben-gliedrigen O-heterocyclischen Enolether, einem Oxepin. Dieser Isomerisierung folgt die hydrolytische Ringspaltung, die in einer beispiellosen Reaktion von Oxepin-CoA-Hydrolase/3-Oxo-5,6-dehydrosuberyl-CoA-semialdehyd-Dehydrogenase ($NADP^+$) (PaaZ) katalysiert wird. Oxepine sind einer Hydrolyse zugänglich. Wasser wird dazu an die Doppelbindung der Seitenkette addiert, der Ring geöffnet und das zwischenzeitlich auftretende 3-Oxo-5,6-dehydrosuberyl-CoA-semialdehyd zu 3-Oxo-5,6-dehydrosuberyl-CoA oxidiert.

Es muss betont werden, dass das Produkt der thiolytischen Spaltung von 3-Oxo-5,6-dehydrosuberyl-CoA durch die 3-Oxoadipyl-CoA/3-Oxo-5,6-dehydrosuberyl-CoA-Thiolase (PaaJ) nicht, wie beim Benzoatabbau die 2,3-Dehydroverbindung, sondern 3,4-Dehydroadipyl-CoA ist. Die 3,4–2,3 Isomerisierungsreaktion wird wahrscheinlich durch die Enoyl-CoA-Isomerase (PaaG) katalysiert, wenngleich auch PaaJ selbst die Reaktion ausführen kann.

Die anschließenden β-Oxidationsschritte, die zu Acetyl-CoA und Succinyl-CoA führen, werden von Enoyl-CoA-Hydratase (PaaF), Alkohol-Dehydrogenase (PaaH) und β-Ketothiolase (PaaJ) katalysiert.

Zusammengefasst zeigt die nachfolgende Gleichung die Bildung von zwei Molekülen Acetyl-CoA und einem Molekül Succinyl-CoA aus Phenylacetat:

$$\begin{aligned}\text{Phenylacetat} + \text{O}_2 + 2\,\text{H}_2\text{O} \\ + 3\,\text{CoASH} + \text{ATP} \\ + \text{NAD}^+ \rightarrow 2\,\text{Acetyl-CoA} \\ + \text{Succinyl-CoA} + \text{AMP} \\ + \text{PP}_\text{i} + \text{NADH} + \text{H}^+\end{aligned}$$

6.1.4.3.3 Sind die Hybridabbauwege von Signifikanz?

Der bisher übersehene Benzoatabbauweg kommt in 4–5 % aller Bakterien vor, deren

Genom sequenziert worden sind, und zeigt damit den weiten Gebrauch der aufgeführten Strategie. Zum Vergleich besitzen 7 % der Spezies die Gene für eine Benzoat-1,2-Dioxygenase (BenABC) und eine *cis*-Diol-Dehydrogenase (BenD), welche charakteristisch für den klassischen Benzoatabbauweg mit ring-spaltender Dioxygenase sind. Manche Organismen besitzen beide Typen von Benzoatabbauwegen.

Beim Abbau von Phenylacetat ist es noch eindeutiger, da der Weg der einzige für den aeroben Abbau durch Bakterien ist. Die große Signifikanz wird dadurch verdeutlicht, dass Phenylacetat ein zentrales Schlüsselintermediat im Aromatenabbau ist und die Aminosäure Phenylalanin hauptsächlich über dieses metabolisiert wird. Konservierte Gene des Phenylacetatabbauweges wurden bisher in 16 % der sequenzierten Bakterienspezies gefunden, was klar die Relevanz anzeigt. Diese Spezies beinhalten viele Mitglieder der *Proteobacteria,* wie die Modellorganismen *Escherichia coli* oder *Pseudomonas putida,* Pathogene wie *Bordetella pertussis* und *Shigella dysenteriae* oder opportunistische Pathogene wie *Burkholderia xenovorans* und *Burkholderia cenocepacia.* Grampositive Organismen wie *Rhodococcus* sp. oder Mitglieder der *Deinococcus/Thermus* Gruppe benutzen auch diesen Abbauweg. Der Abbauweg scheint sich in der bakteriellen Domäne entwickelt zu haben, da die einzigen Archaea, die die Schlüsselgene des Abbauweges tragen, einige Mitglieder der Halobacteria sind.

Versuche zur Erklärung/Deutung von Hybridabbauwegen mit CoA-Intermediaten (Nach Georg Fuchs, Freiburg)

Der Gebrauch von CoA-Estern in einem aeroben Aromatenabbauweg erscheint auf den ersten Blick nicht sinnvoll. Die Energie, die bei der CoA-Thioester-Bildung investiert wird, ist jedoch nicht verloren, sondern sie wird später in der Form des Acetyl-CoA zurückerlangt. Ein CoA-thioester-abhängiger Abbauweg hat gegenüber den klassischen oxischen beziehungsweise anoxischen Wegen einen Vorteil unter schwankenden oxischen/anoxischen Bedingungen. Ein solcher hybrider Abbauweg erlaubt eine Flexibilität und rasche Anpassung an veränderliche Sauerstoff-Niveaus, da CoA-Thioestersubstrate sowohl bei der oxischen wie auch der anoxischen Situation benötigt werden. Würde der klassische anaerobe Weg für Benzoat laufen, so würde der Wechsel von anoxisch zu oxischen Bedingungen zu der Akkumulation von Benzoyl-CoA führen, da das ring-reduzierende Enzym, die Benzoyl-CoA-Reduktase des anoxischen Weges, sauerstoff-sensitiv ist und folglich inaktiviert würde. Das gesamte zelluläre CoA würde in diesem Dead-Endprodukt eingefangen, da die Benzoate-CoA-Ligase sauerstoff-unempfindlich ist und auch unter diesen Bedingungen weiter funktioniert. Ein CoA-Mangel würde letztendlich lethal sein. Zudem hat die Benzoyl-CoA-Oxygenase, das Enzym, welches Benzoyl-CoA dearomatisiert, eine hohe Affinität zu Sauerstoff und würde deshalb unter mikroaeroben Bedingungen arbeiten.

Die Isomerase PaaG-vermittelte Oxepinbildung ist durch den CoA-Thioester erleichtert, sodass die nachfolgende Ringspaltung hydrolytisch erfolgen kann und kein weiterer Sauerstoff notwendig ist. CoA-Thioester-Intermediate scheinen weniger toxisch als die analogen Metabolite der klassischen aeroben Abbauwege zu sein, besonders solche der *meta*-Abbausequenzen. Weiterhin scheint die CoA-Thioester-Bildung indirekt den Transport von aromatischen Säuren zu erleichtert. Zudem werden CoA-gebundene Intermediate in der Zelle zurückgehalten. Sie können schnell erkannt und über die CoA-bindende Motive der Verarbeitungsenzyme gebunden werden. Diese schnelle Erkennung und Bindung kann für das hoch reaktive Intermediat 1,2-Epoxyphenylacetyl-CoA wichtig sein, da freie Epoxide die Zelle schädigen würden.

6.1.5 Abbau und Humifizierung von Mehrkern-Kohlenwasserstoffen

Polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAKs) sind Verbindungen, deren Grundgerüst aus zwei und mehr kondensierten (anellierten) Benzolringen besteht. Der einfachste PAK mit zwei kondensierten Benzolringen ist **Naphthalin.** Die weitere Kondensation kann linear oder im Winkel erfolgen, daraus ergeben sich zwei verschiedene dreikernige Systeme, **Anthracen** und **Phenanthren.** Mit der Zahl der Ringe steigt die Zahl der möglichen Anordnungen und damit der PAK-Strukturen. Verbreitete vierkernige Verbindungen sind **Benzo[a]anthracen** und **Pyren.** Das fünfkernige **Benzo[a]pyren** ist aufgrund der krebsauslösenden Eigenschaften eines der bekanntesten Umweltgifte. Mit dem sechskernigen **Perylen** soll die Aufzählung abgeschlossen werden.

Neben den unsubstituierten Ringsystemen gibt es eine Vielzahl substituierter PAK, vor allem methylsubstituierte Verbindungen und kondensierte Systeme mit einem Cyclopentadienring, zum Beispiel **Fluoren** und **Fluoranthen.**

PAK sind in geringer Konzentration **ubiquitär** verbreitet, da sie bei Verbrennungsprozessen von organischem Material entstehen (Waldbrände, Zigarettenrauch). Im Erdöl sind sie in geringer Konzentration enthalten, sie entstehen jedoch bei der unvollständigen Verbrennung, vor allem in Motoren (zum Beispiel Diesel-Russ).

Hohe Konzentrationen liegen auf Kokerei- und Gaswerkstandorten vor. In der Vergangenheit wurden PAK-reiche Teerrückstände unkontrolliert an diesen Standorten abgelagert. Die Verunreinigungen aus der Carbochemie und der Kohleverbrennung gehen auf die Kohlestruktur zurück. Kohle ist ein amorphes Polymer, das aus ein- und mehrkernigen aromatischen Verbindungen und Heterocyclen aufgebaut ist, die durch Kohlenstoff- und Sauerstoffbrücken

Aktivierung und Inaktivierung von Benzo[a]pyren und seinen Metaboliten in der Leber.

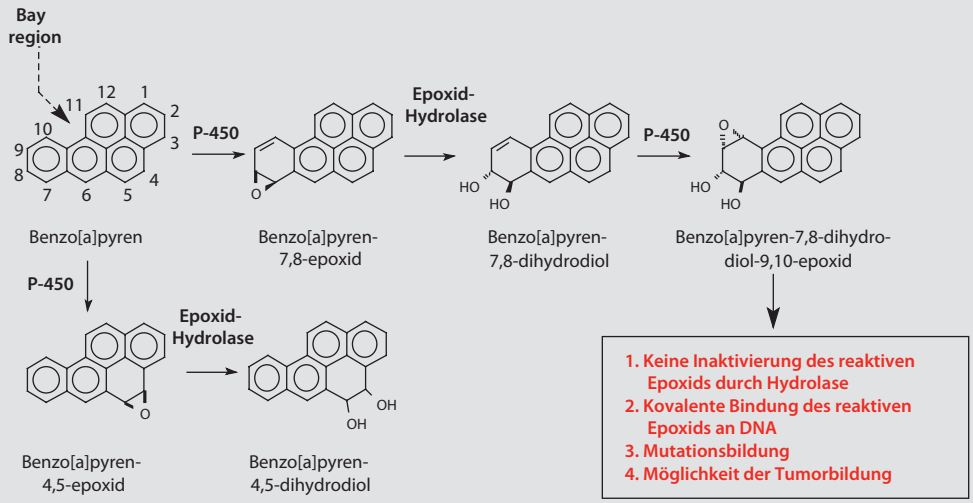


Abb. 6.28 Reaktionsfolge für Benzo[a]pyren zur Erklärung der kanzerogenen Eigenschaft

miteinander vernetzt sind. Beim Erhitzen zerfällt das Makromolekül in Fragmente. Im Steinkohlenteer sind neben Phenolen und Xylolen vor allem mehrkernige PAK enthalten.

Die hohe Umweltrelevanz der PAK ist auf die kanzerogenen Eigenschaften einiger Verbindungen zurückzuführen. Die mutagene und kanzerogene Wirkung in der Leber resultiert durch metabolische Aktivierung von Verbindungen wie dem Benzo[a]pyren, welche die sogenannte **Bay-Region** besitzen. Das an der Bay-Region gebildete Epoxid wird nicht durch die Epoxid-Hydrolase inaktiviert, sondern kann als reaktiver Metabolit mit DNA reagieren.

Mit der zunehmenden Zahl der kondensierten Ringe und der Molekülgröße nimmt die Wasserlöslichkeit stark ab. Beim Naphthalin beträgt sie 31,7 mg/L, bei Phenanthren 1,6 mg/L, beim Benzo[a]pyren nur noch 0,003 mg/L. Die mikrobielle **Abbaubarkeit** geht ebenfalls mit zunehmender Ringzahl zurück. Während Naphthalin, Anthracen und Phenanthren gut bakteriell abbaubar sind, wurde bisher noch kein Mikroorganismus isoliert, der Benzo[a]pyren als einzige Kohlenstoff- und Energiequelle nutzen kann. Die hohe Persistenz bedeutet aber nicht, dass die höherkernigen PAK nicht metabolisiert werden.

6.1.5.1 Bakterieller aerober Abbau von PAKs

Der vollständige bakterielle Abbau, durch den ein PAK als einzige Kohlenstoff- und Energiequelle genutzt werden kann, soll am Beispiel des Naphthalins im Detail erläutert werden. In ähnlicher Weise werden Phenanthren, Anthracen und von wenigen Bakterien auch Pyren abgebaut. Der bakterielle Naphthalin-Abbau erfolgt Ring für Ring (◘ Abb. 6.28). Charakteristische Reaktionen des Abbaus des ersten Ringes sind:

1. Bildung eines *cis*-Dihydrodiols durch eine Dioxygenase.
2. Dehydrogenierung zu einem Dihydroxyderivat.
3. Extradiole Ringspaltung durch eine zweite Dioxygenasereaktion.
4. Abspaltung von Pyruvat, welches zum Einring-Zwischenprodukt führt.

Bei den verschiedenen Bakterienarten gibt es Unterschiede. Der weitere Abbau des Salicylates erfolgt entweder über Brenzcatechin und den *meta*-Weg (siehe ◘ Abb. 6.16) oder über Gentisat (siehe ◘ Abb. 6.18).

Die für Phenanthren gefundene Abbausequenz macht deutlich, dass sich Reaktionsfolgen nach erreichen der Dihydroxy-Derivatstufe wiederholen (◘ Abb. 6.30). Die gezeigte Folge ist für *Pseudomonas* charakteristisch. Weitere Bakterienarten, die PAK mineralisieren, sind Vertreter der Gattungen *Beijerinckia, Flavobacterium, Mycobacterium* und *Rhodococcus.*

6.1.5.2 Abbau von PAKs durch Pilze

Pilze können PAKs in Gegenwart eines Wachstumssubstrates umsetzen. Vertreter der Schimmelpilze, zu denen sowohl Phycomyceten wie *Cunninghamella* und *Rhizoctonia* als auch Deuteromyceten wie *Aspergillus* gehören, oxidieren nieder- und höhermolekulare PAK durch Cytochrom-P450-Monooxygenasen zu Epoxiden, die weiter zu *trans*-Dihydrodiolen als Hauptmetabolite umgesetzt werden. Der Angriff kann in verschiedenen Positionen des Ringsystems erfolgen, dadurch wird ein breites Spektrum von Diolen gebildet. Daneben entstehen auch phenolische und methoxylierte Derivate. Auch Konjugate mit Glucuronat und Sulfat wurden nachgewiesen. ◘ Abb. 6.31 zeigt am Beispiel von Naphthalin die vorgestellte Reaktionsfolge.

Die holzabbauenden Weißfäulepilze, welche überwiegend zu den Basidiomyceten gehören, besitzen ein zusätzliches Enzymsystem, welches u. a. auch zum PAK-Abbau befähigt ist. Die Enzyme des ligninolytischen Systems vor allem die Lignin-Peroxidase, Mangan-abhängige Peroxidase, Laccase und wahrscheinlich auch die Lipid-Peroxidasen (Lipoxygenase) katalysieren die Oxidation von PAK.

Lignin-Peroxidase von *Phanerochaete chrysosporium*, dem am besten untersuchten Weißfäulepilz, katalysiert direkt die Ein-Elektron-Oxidation von Aromaten. Das

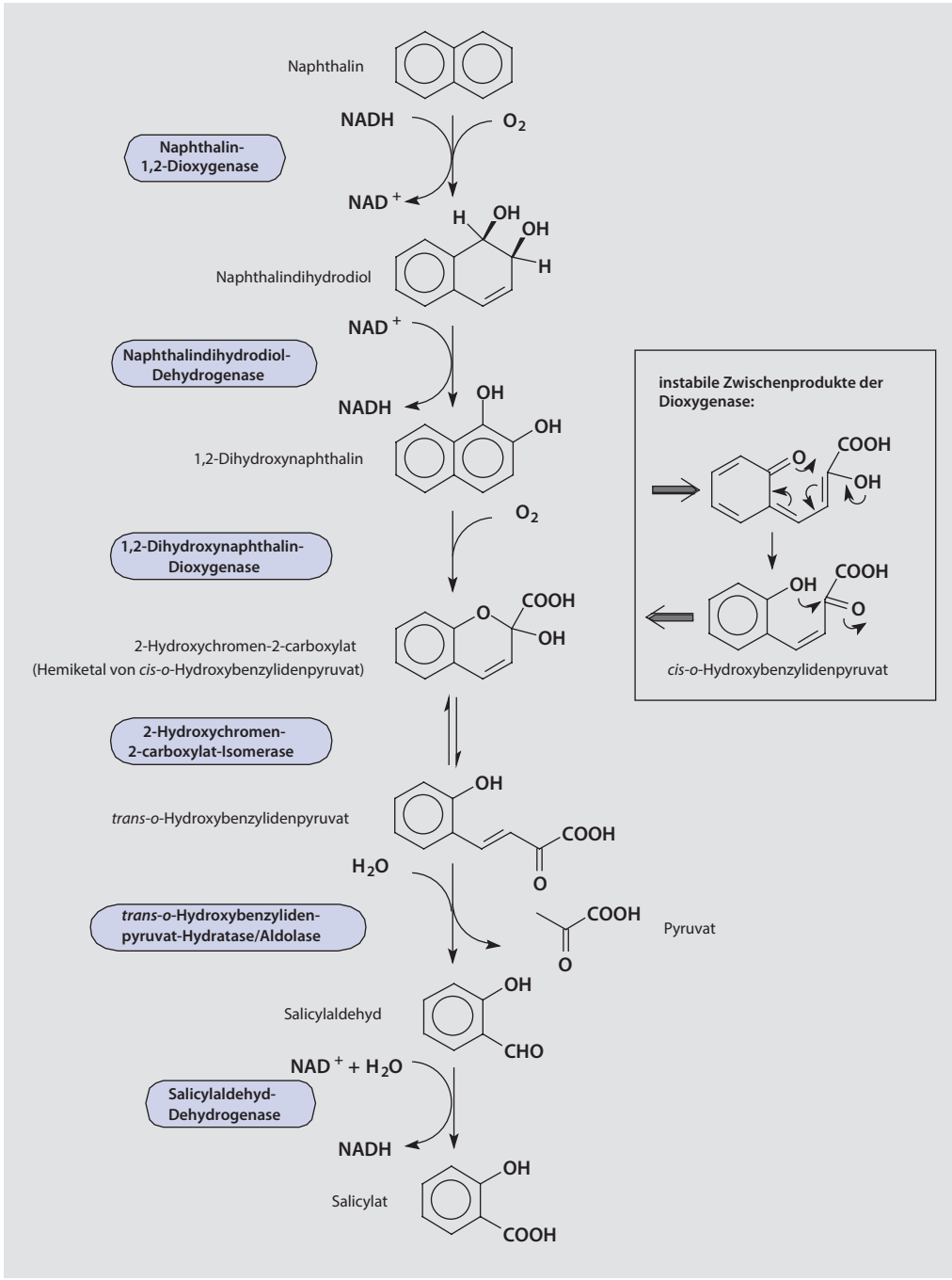


Abb. 6.29 Bakterielle Abbausequenz für Naphthalin

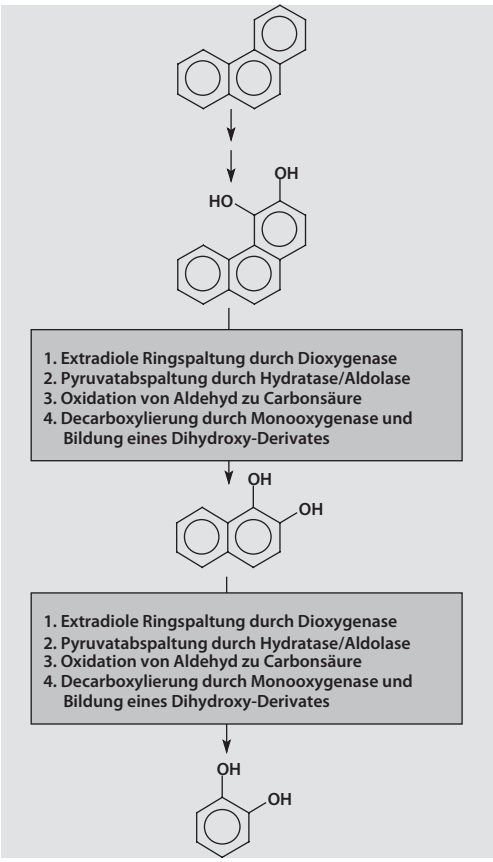


Abb. 6.30 Reaktionsfolgen des Abbaus von Phenanthren durch Pseudomonaden

resultierende Aryl-Kation-Radikal unterliegt dann einer spontanen Umlagerung und Abbau. Es wurde beobachtet, dass eine Transformation durch die Lignin-Peroxidase nur mit solchen PAKs abläuft, deren Ionisierungspotenzial (IP) < 7,6 eV ist. Die isolierte Lignin-Peroxidase ist nicht in der Lage, mit Substanzen mit einem IP über diesem Grenzwert zu reagieren. Folglich ist der mit ganzen Zellen gezeigt Umsatz von Substanzen wie Triphenylen, Phenanthren, Fluoranthen, Chrysen, Benzo[b]fluoranthen und Benzo[e]pyren nicht durch die direkte Wirkung der Lignin-Peroxidase erklärbar. Es wurde berichtet, dass eine Mangan-abhängige Peroxidase-vermittelte Lipidperoxidation zur Oxidation von Phenanthren durch *Phanerochaete chrysosporium* führt. Der Abbau von Drei- bis Sechs-Ring PAKs mit IPs zwischen 7,2 und 8,1 eV ist IP-abhängig während der *in vivo* and *in vitro* Lipid-Peroxidation. Dies legt nahe, dass ein Ein-Elektron-Oxidationsmittel stärker als die Lignin-Peroxidase oder Mn^{3+} beteiligt ist.

Abb. 6.32 zeigt die Reaktion, die durch Lipoxygenase durchgeführt wird. Sie katalysiert die Bildung eines allylischen Hydroperoxides einer mehrfach ungesättigten Säure oder eines Esters, wenn diese ein *cis,cis*-1,4-Pentadien-System besitzen. Das zuerst gebildete Lipidradikal wird weiter über das Peroxylradikal zum Lipidhydroperoxid umgesetzt. Die homolytische Spaltung des Lipid-Hydroperoxides durch die Lignin-Peroxidase oder die Mangan-abhängige Peroxidase führt dann zum Alkoxylradikal ($RO^{\bullet}$), welches als sehr starkes Oxidationsmittel bekannt ist.

Die primäre Peroxidasereaktion ist also ein Ein-Elektronenentzug. An das entstehende Kation-Radikal wird durch nukleophilen Angriff Sauerstoff angelagert, der aus dem Wasser stammt. Der weitere Elektronenentzug führt zu hydroxylierten PAK, welche durch nochmalige Wasseranlagerung und Elektronenentzug zu Chinonen umgesetzt werden. Bei Pyren wurde die Bildung von Pyren-1,6- und 3,6-chinon nachgewiesen. Dies ist schematisch in Abb. 6.33 dargestellt. Der Abbau von PAK kann teilweise bis zum CO_2 führen. Während die Bildung der Chinone als schneller Prozess beobachtet worden ist, verläuft die Transformation zum CO_2 sehr langsam. In der Natur werden die reaktiven Intermediate des PAK-Abbaus mit Komponenten der Bodenmatrix reagieren (Tab. 6.2).

Da die Weißfäulepilze neben den extrazellulären ligninolytischen Enzymen auch die intrazellulären Monooxygenasen, Cytochrom-P450 Enzyme, besitzen, verfügen sie über ein hohes und komplexes Abbaupotenzial. Neben dem gut untersuchten Weißfäulepilz *Phanerochaete chrysosporium* haben auch weitere Weißfäulepilze und Abbauer der Streu (Pflanzenresten auf dem Waldboden) ligninolytische Enzyme, zum Beispiel *Bjerkandera* sp., *Crinipellis stipitaria, Pleurotus ostreatus, Stropharia rugosa-annulata* und *Trametes versicolo.*

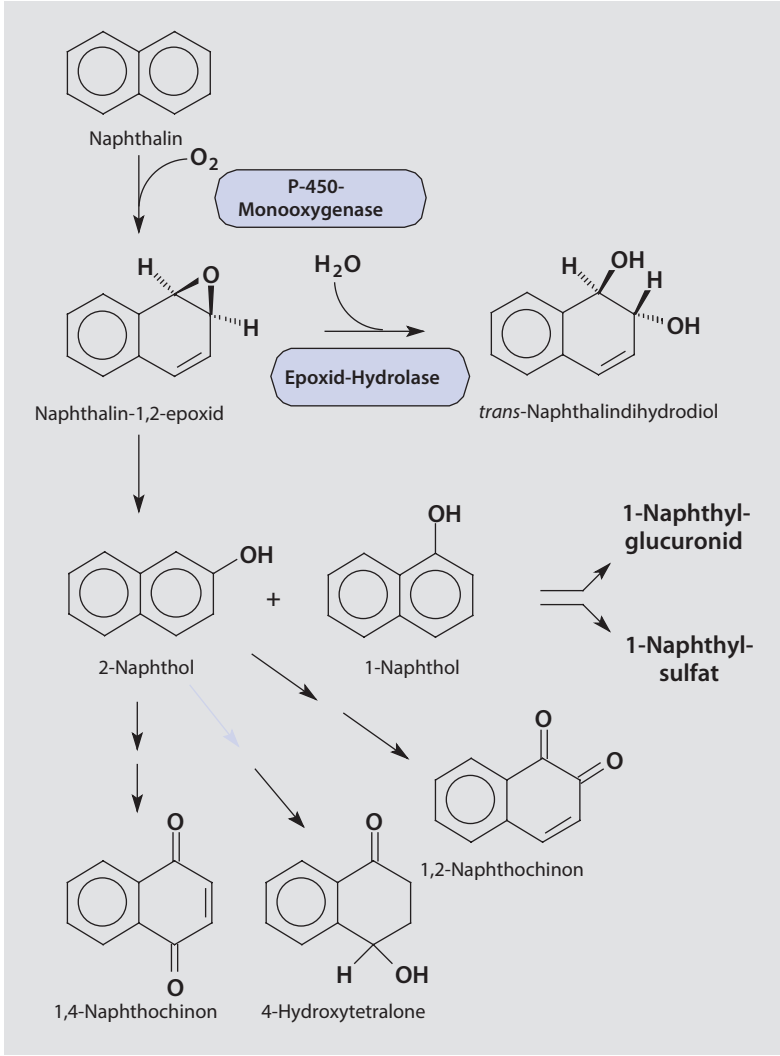


Abb. 6.31 Transformationsreaktionen durch Schimmelpilze am Beispiel des Naphthalins

6.1.5.3 Bakterieller anaerober Abbau von PAKs

PAKs sind in einer Vielzahl von anaeroben Sedimenten nachgewiesen worden. Der anaerobe Abbau von polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffen ist folglich von großem Interesse, wenngleich bisher kaum positive Befunde vorliegen. Seit langer Zeit ist der anaerobe Abbau von Naphthalin als Modell-PAK durch sulfatreduzierende Bakterien untersucht worden. Insgesamt sind jedoch nur wenige Daten ermittelt worden, die die Abbausequenz beschreiben. Beim Naphthalin scheint eine Carboxylierung unter Nutzung von CO_2 den Abbau einzuleiten. Der weitere Abbau der gebildeten 2-Naphthalincarbonsäure soll dann reduktiv analog des anaeroben Benzoyl-CoA-Weges verlaufen.

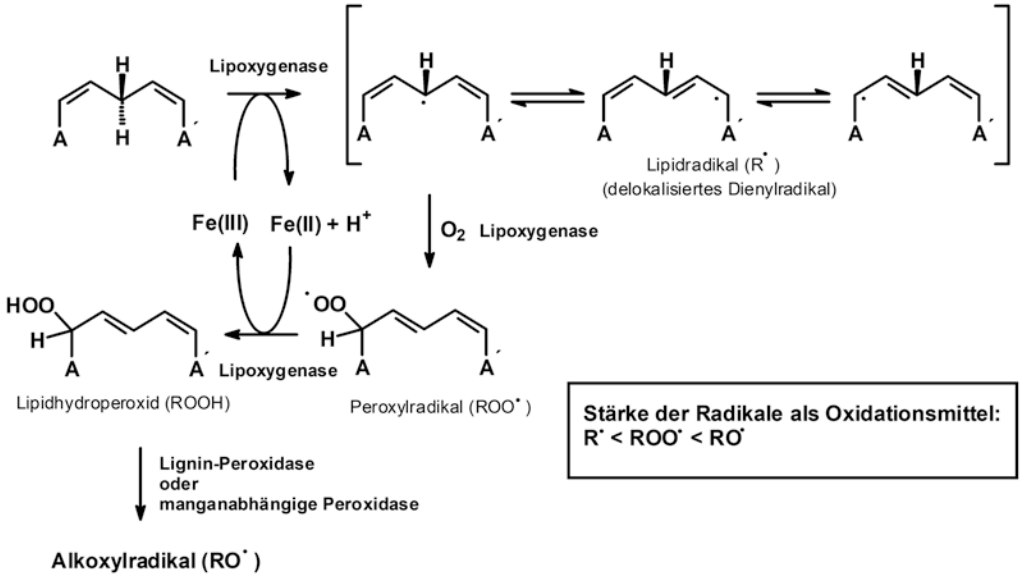


Abb. 6.32 Lipoxygenase katalysierte Bildung des sehr starken Oxidationsmittels, das Alkoxylradikal

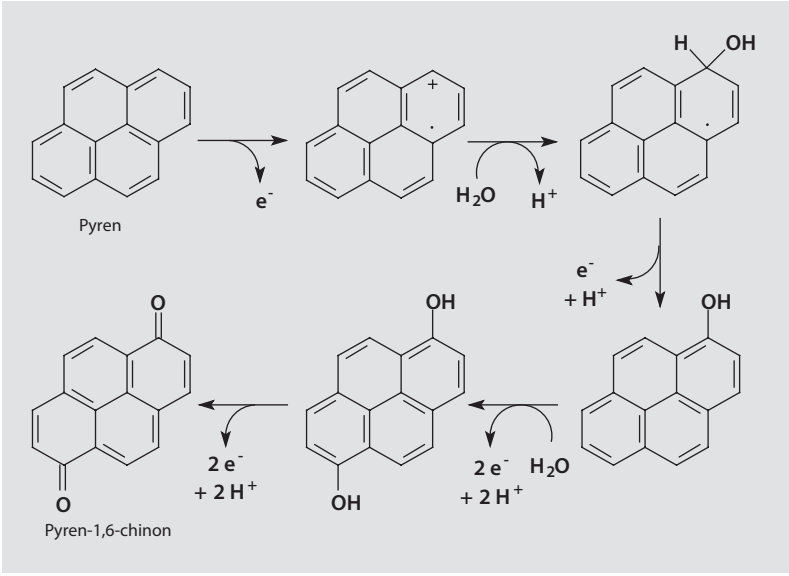
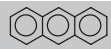
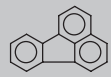
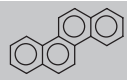
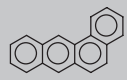


Abb. 6.33 Schematische Darstellung der Reaktionsfolge am Pyren zum Pyren-1,6-chinon durch Ligninase

6.1.6 Abbau von Heterocyclen

Grundwässer ehemaliger Kokereien, Russfabriken, Gaswerke und Holzimprägnierwerke sind mit Teerölinhaltsstoffen (nach Schätzungen über 10.000 verschiedene Verbindungen) belastet. Neben PAK und BTEX sind auch homo- und heterocyclische Verbindungen anzutreffen, die bis zu 15 % im Teeröl enthalten sein können. Zu den

Tab. 6.2 Polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe und für ihre Beurteilung wichtige physiko-chemische Eigenschaften

Verbindung	Struktur	Wasserlöslichkeit (mg/L) bei 25°C	Octanol/Wasser Koeffizient (log K_{OW})	Ionizationspotenzial (eV)
Naphthalin		31,7	3,37	8,12
Acenaphthen		3,42	4,33	7,61
Anthracen		0,075	4,45	7,43
Phenanthren		1,6	4,46	8,03
Fluoranthen		0,265	5,33	7,85
Pyren		0,148	5,32	7,53
Chrysen		0,002	5,61	7,81
Benzo[a]anthracen		0,014	5,61	7,56

Heterocyclen, Verbindungen mit ringförmigen Molekülen, die außer Kohlenstoffatomen auch ein oder mehrere Atome anderer Elemente im Ring enthalten wie Stickstoff-, Sauerstoff- oder Schwefelatome, zählen Substanzen wie einkernige flüchtige Verbindungen wie Furan, Pyridin, Pyrrol und Thiophen sowie mehrkernige wie Acridin, Benzo[b]thiophen, Carbazol, Chinolin und Dibenzofuran. S-Heterocyclen sind für den Schwefelgehalt im Erdöl verantwortlich.

Durch das Heteroatom im Molekül kommt es im Vergleich zu analogen PAK zu einer Zunahme der Wasserlöslichkeit, die ein wichtiges Kriterium für die Mobilität im Grundwasser darstellt. Ein weiterer Parameter zur Einschätzung der Mobilität ist der Octanol-Wasser-Koeffizient. Stoffe mit log-P_{ow}-Werten über 4 adsorbieren recht stark an Bodenmatrix und werden somit nicht weit im Grundwasserleiter transportiert. Fast alle ein- und zweikernigen Heterocyclen haben Werte unter 4. Besonders die einkernigen Heterocyclen zeigen eine starke Flüchtigkeit aus wässrigem Milieu, welche durch den Henry-Koeffizienten K'_H charakterisiert wird. Stoffe mit $K'_H > 0{,}04$ (dimensionslos, entspricht $K_H \sim 1$ atm L/mol) werden als stark flüchtig bezeichnet, bis zu einem Wert von 0,0004 weisen sie noch eine deutliche Flüchtigkeit auf.

Die Berichte über den biologischen Abbau von Heterocyclen zeigen kein eindeutiges Bild bezüglich des Abbaus unter aeroben und anaeroben Bedingungen. Vollständiger aerober Abbau wurde berichtet, aber teilweise lagen lange lag-Phasen vor. Für anaerobe

Verhältnisse wurde in Laborversuchen sowohl von einer weitgehenden Persistenz, als auch von einem Abbau einzelner Stoffe unter nitrat- und sulfatreduzierenden sowie methanogenen Bedingungen berichtet. Die stickstoffhaltigen Heterocyclen wie Pyridin, Indol und Chinolin scheinen dabei leichter umgesetzt zu werden, als die entsprechenden schwefel- und sauerstoffhaltigen Verbindungen.

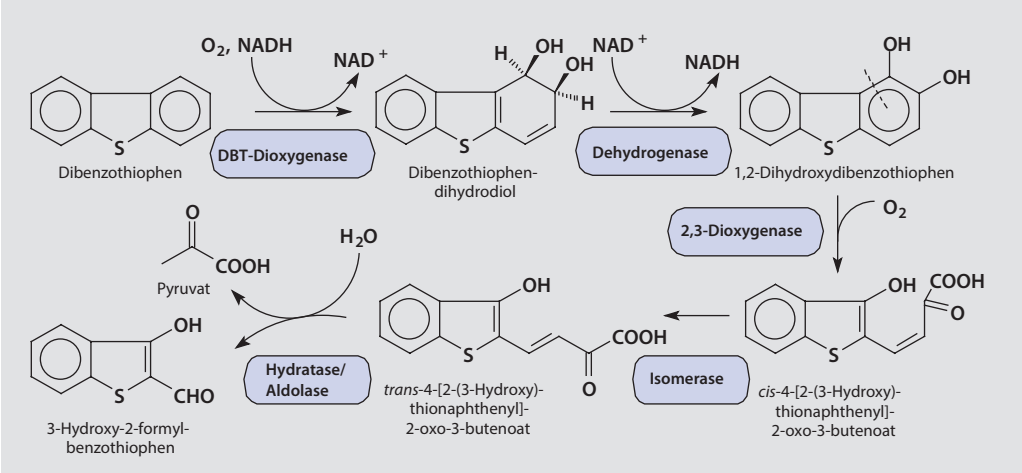
6.1.6.1 Schwefelhaltige Heterocyclen

Zwei Typen von Metabolismen mit schwefelhaltigen Heterocyclen wurden am Beispiel des aeroben Abbaus von Dibenzothiophen beschrieben: a) die Substanz ist Kohlenstoff- und Energiequelle, b) die Substanz dient als Schwefelquelle, sodass eine Biodesulfurisation der Erdölkomponente erfolgt.

Der sogenannte „Kodama pathway" wurde für *Burkholderia* und *Pseudomonas* berichtet. Er entspricht in seiner Reaktionsfolge dem für Aromaten wie Naphthalin gefundenen Weg (siehe ◘ Abb. 6.29) mit aktivierender Dioxygenase, Dehydrogenase, ringspaltender 2,3-Dioxygenase, einer Isomerase sowie der wasseranlagernden Hydratase gefolgt von der Aldolase, sodass ein Aldehyd (3-Hydroxy-2-formylbenzothiophen) sowie Pyruvat entsteht. Eine Mineralisierung des Gesamtmoleküls von Dibenzothiophen wurde bisher nicht beschrieben, sodass man folgern kann, dass einzig das Pyruvat zum Wachstum verwendet wird. Eine Biodesulfurisation scheint nicht vorzuliegen (◘ Abb. 6.34).

Mit Dibenzothiophen als Modellverbindung für organischen Schwefel im Erdöl ist aber, im Gegensatz zu dem beschriebenen Ziel des Abbaus, nicht das Erreichen des Intermediärstoffwechsels intendiert, sondern die Entschwefelung.

Durch *Rhodococcus* erfolgt eine Umsetzung bis zum 2-Hydroxybiphenyl, welches ins Medium ausgeschieden wird. Dies ist auch beabsichtigt, da wie gesagt einzig die Entschwefelung des fossilen Energieträgers und nicht der Abbau erfolgen soll. Die Transformation in ein schwefelfreies Produkt, welches weiter als Energieträger fungieren soll, ist also das Ziel bei der Nutzung des Organismus. Der *Rhodococcus* und viele andere Organismen wie *Arthrobacter, Bacillus subtilis, Brevibacterium, Corynebacterium, Gordonia desulfuricans, Gordonia amicalis* und der thermophile *Paenibacillus* nutzen den freigesetzten Schwefel als Schwefelquelle.



◘ **Abb. 6.34** Kodama-Abbauweg für Dibenzothiophen

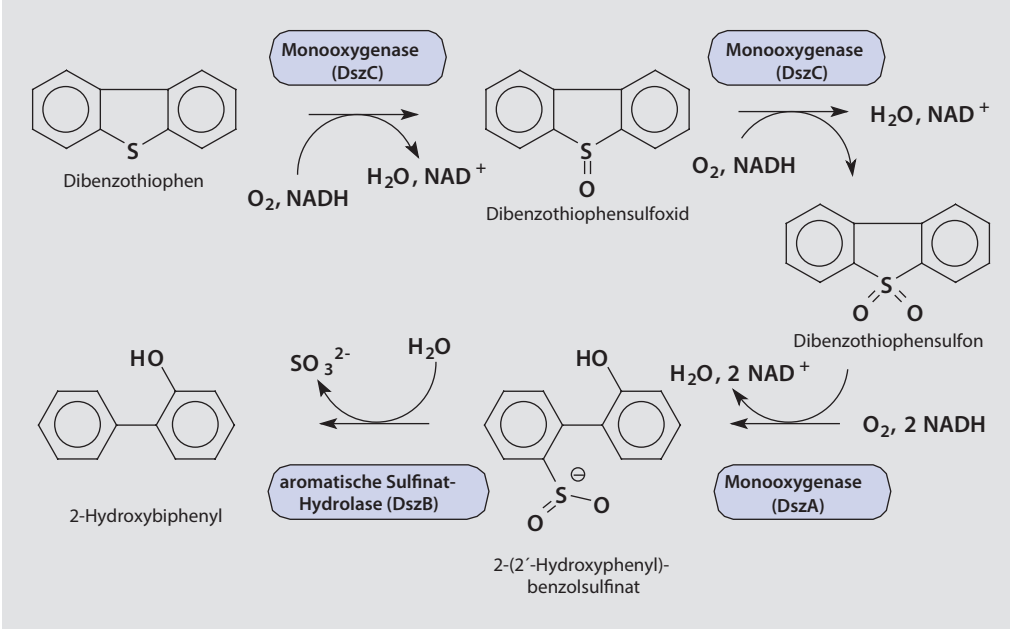


Abb. 6.35 Desulfurifikation von Dibenzothiophen bei der Nutzung als Schwefelquelle für *Corynebacterium* sp., *Paenibacillus polymyxa* und *Rhodococcus erythropolis*

Die in Abb. 6.35 gezeigte Abbausequenz wurde für *Rhodococcus erythropoli, Corynebacterium* sp. und *Paenibacillus polymyxa* beschrieben. Sie beinhaltet nacheinander drei Monooxygenase-Schritte, gefolgt von einer Hydrolase, die Sulfit sowie 2-Hydroxybiphenyl bildet. Die sie kodierenden Gene liegen auf einem Operon: *Bacillus subtilis (bdsABC),* thermophiler *Paenibacillus (tdsABC), Rhodococcus erythropolis (dszABC).*

In *Rhodococcus* sp. sind die Operons *dszABC* (**de**sulphuri**z**ation) oder *soxABC* (**s**ulfur **ox**idizing) auf Plasmiden lokalisiert.

Die Expression der Enzyme DszABC wird durch Sulfid, Sulfat, Methionin, Cystein repremiert und zeigt an, dass in natürlicher Umgebung die Desulfurization damit eher unwahrscheinlich ist.

Die genannten Gene sind in Umweltproben nachgewiesen worden: *dszABC* ist in ölkontaminierten Böden immer vorhanden, während der Nachweis in sauberen Böden zum Teil negativ verlief.

Es sind kaum Berichte über den Abbau von schwefelhaltigen Heterocyclen unter anaeroben Verhältnissen vorhanden. Bei Thiophen und Benzothiophen wurde bislang nur von einem cometabolischen Abbau mit Benzol oder Naphthalin als Cosubstrat berichtet. Als Abbauprodukte unter anaeroben Bedingungen wurden Carboxythiophene identifiziert, die inzwischen auch an einem Standort im Grundwasser nachgewiesen worden sind.

6.1.6.2 Stickstoffhaltige Heterocyclen

Der Abbau von N-heteroaromatischen Verbindungen kann durch zwei Typen von Reaktionen eingeleitet werden: 1) am Heterocyclus durch nucleophilen Angriff mit Wasser (molybdän-abhängige Hydroxylase) oder 2) elektrophil am aromatischen Ring mit Sauerstoff als Elektrophil (Mono- oder Dioxygenase).

Der Abbau von N-heteroaromatischen Verbindungen mit einleitender Hydroxylie-

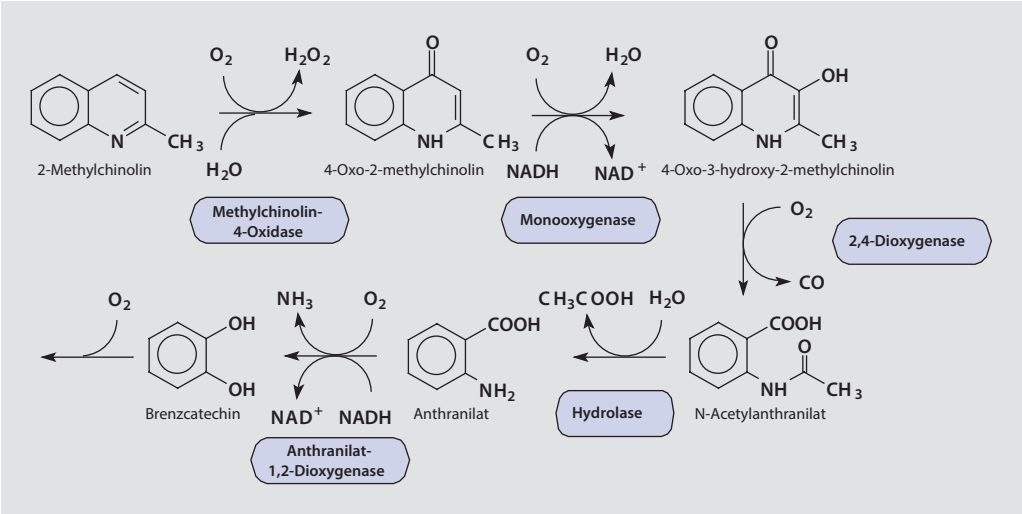


Abb. 6.36 Anthranilat-Weg für Methylchinolin

rung benachbart oder in *para*-Stellung zum N-Heteroatom wurde für Pyridin, Picolinat, Nicotinat, Isochinolin, Chinolin und Methylchinolin gezeigt. Die Reaktion wird durch eine molybdän-abhängige Hydroxylase katalysiert, indem ein nucleophiler Angriff von Wasser erfolgt. Der Sauerstoff des Produktes stammt also nicht aus dem Luftsauerstoff. Tautomerisierung des Produktes der Hydroxylase führt zur Oxoverbindung, die im wässrigen Milieu vorherrscht. Der weitere Abbau ist häufig eine ungewöhnliche dioxygenolytische Spaltung des heteroaromatischen Ringes mit Bildung von Kohlenmonoxid. Die gesamte Reaktionsfolge ist für Methylchinolin gut untersucht (Abb. 6.36) und verbindet die Hydroxylase, die Sauerstoff aus Wasser in das Substrat einbaut und molekularen Sauerstoff als Elektronenakzeptor benutzt, und die ungewöhnliche 2,4-Dioxygenase, die zwei C-C-Bindungen spaltet und dabei CO freisetzt, mit dem gewöhnlichen 3-Oxoadipat-Weg. Die vermutete Amid-Hydrolase, die N-Acetyl-anthranilat zu Anthranilat umsetzt, ist nicht untersucht worden. Die Bildung von Brenzcatechin aus Anthranilat kann durch eine Anthranilat-1,2-Dioxygenase katalysiert werden, wenngleich auch dieser Schritt nur postuliert worden ist. Der Abbau von Brenzcatechin wird durch *ortho*-Ringspaltung mittels Brenzcatechin-1,2-Dioxygenase bewerkstelligt und folgt dann dem bekannten 3-Oxoadipat-Weg, welcher Acetyl-CoA und Succinyl-CoA liefert.

Pyridinabbau ist weit verbreitet unter Mikroorganismen. Da eine Vielzahl meist aliphatischer Intermediate nachgewiesen wurde, ist eine eindeutige Abbaufolge nur schwer zu erkennen. Der Mechanismus der Spaltung des Pyridinringes ist bisher nicht bekannt.

Einige Bakterien wurden isoliert, die Isochinolin verwerten können. Alle Isolate metabolisieren Isochinolin über Isochinolinon (1-Oxoisochinolin). Für *Brevundimonas diminuta* wurde ein möglicher Weg über Phthalat, 4,5-Dihydroxyphthalat und Protocatechuat vorgeschlagen (Abb. 6.37).

Der 8-Hydroxycumarin-Weg ist für den Abbau von Chinolin beschrieben worden, das heißt auch hierbei wird erst der Pyridinring angegriffen, bevor eine Spaltung des Benzolringes erfolgt. Die Reaktionsfolge des Chinolinabbaus ist aber noch immer unklar: Nur wenige Metabolite, 1 H-2-Oxochinolin, 8-Hydroxycoumarin und

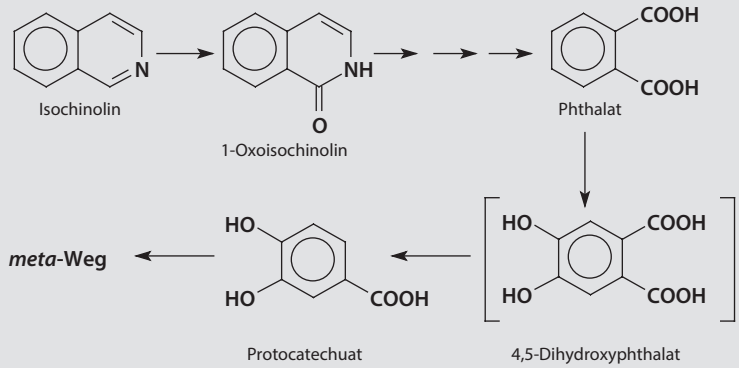


Abb. 6.37 Abbau von Isochinolin durch *Brevundimonas diminuta*

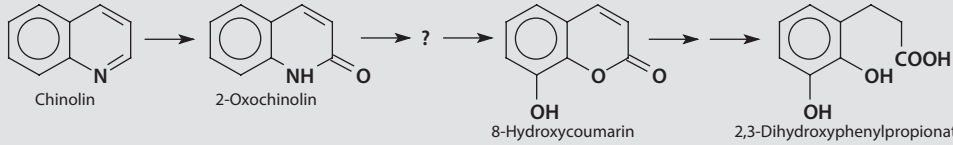


Abb. 6.38 Abbau von Chinolin

3-(2,3-Dihydroxyphenyl)propionsäure, wurden als echte Zwischenprodukte identifiziert. Der Mechanismus für die Spaltung des N-heterocyclischen Ringes ist unbekannt (Abb. 6.38).

Der Abbau von Carbazol folgt einer Reaktionssequenz wie sie für andere Aromaten wie Biphenyl beschrieben worden ist. Hier führt eine anguläre Dioxygenierung, wie auch beim Dibenzofuran und Dibenzodioxin, zur Spaltung der Kohlenstoff-Heteroatom-Bindung. Während die Spaltung der Ether-Bindung in den O-Heterocyclen aufgrund der Bildung des instabilen Halbacetals erfolgt, ist hier ein **Halbaminal** Produkt der Dioxygenierung, gefolgt von der spontanen Bildung des Aminodihydroxybiphenyls. Der hydroxylierte Ring wird durch eine *meta*-spaltende Dioxygenase geöffnet. Es folgt die hydrolytische Spaltung der vinylogen 1,3-Dioxoverbindung zu Anthranilat und dem aus dem *meta*-Weg bekannten C_5-Körper, 2-Hydroxypenta-2,4-dienoat. Der weitere Abbau ist unter ▶ Abschn. 6.1.4.1 in Abb. 6.16b schon vorgestellt worden.

Beim Fehlen von Sauerstoff als Reaktionspartner in zentralen Abbaureaktionen wird ein Abbau von N-Heterocyclen wie in Abb. 6.39 gezeigt beschrieben. Mit Ausnahme einer Untersuchung mit *Desulfobacterium indolicum* erfolgten die meisten Analysen zum anaeroben Abbau mit Umweltproben als Katalysator. Details zur Enzymologie der Abbausequenzen fehlen (Abb. 6.40).

6.1.6.3 Sauerstoffhaltige Heterocyclen

Der aerobe Abbau der O-Heterocyclen Dibenzofuran und Dibenzo-*p*-dioxin erfolgt analog dem des Abbaus von Carbazol und damit der generellen Reaktionsfolge für Aromaten. Ein wichtiger Schritt ist wieder die anguläre Dioxygenierung, der beide Atome des

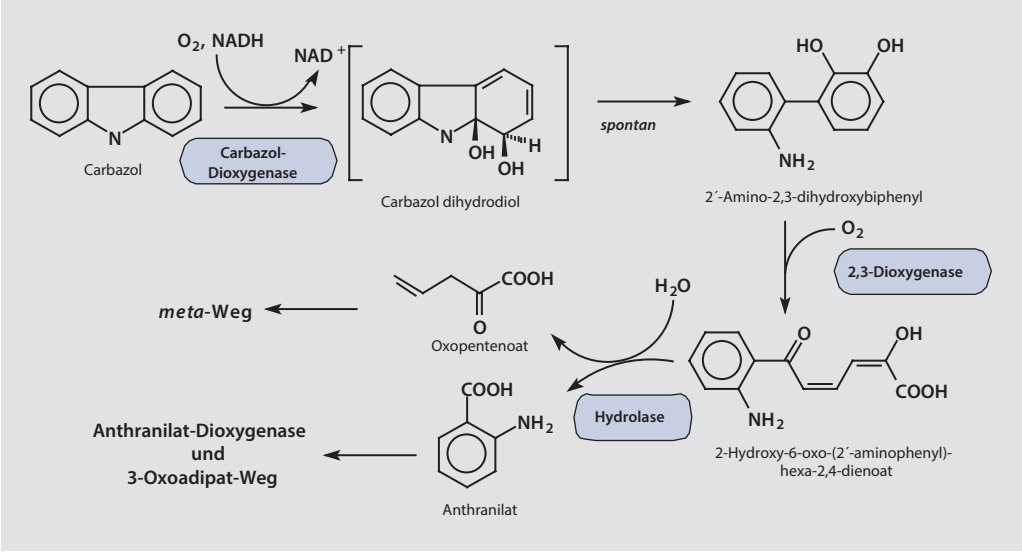


Abb. 6.39 Abbauweg für Carbazol (Identifizierung von Metaboliten und in Analogie zum Biphenylabbauweg)

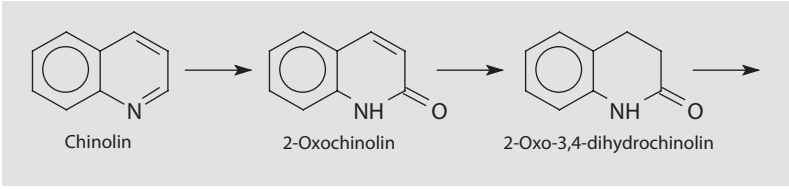


Abb. 6.40 Einleitende Schritte im anaeroben Abbau von Chinolin durch *Desulfobacterium indolicum*

Luftsauerstoffs so in das jeweilige Substrat inkorporiert, dass ein instabiles **Halbacetal** gebildet wird, welches spontan zur Spaltung der Etherbindung führt. Anders als bei der „normalen" Aromatenabbau-Sequenz folgt also keine Dehydrogenase-Reaktion. Das im Abbau von Dibenzofuran gebildete Trihydroxybiphenyl unterliegt anschließend einer *meta*-Spaltung des dihydroxylierten Ringes, sodass eine vinyloge 1,3-Dioxoverbindung resultiert, welche zu 2-Oxopentenoat und Salicylat hydrolysiert wird. Im Abbau von Dibenzo-*p*-dioxin führt *meta*-Spaltung des Trihydroxyphenyldihydroxy-phenylethers zu einem Ester. Brenzcatechin und 2-Hydroxymuconat beziehungsweise das tautomere 2-Oxocrotonat sind die Hydrolyseprodukte. Die in beiden Wegen gebildeten Carbonsäuren sind Metabolite des *meta*-Weges und werden entsprechend abgebaut. Der Abbau von Salicylat und Brenzcatechin erfolgt wie vorne beschrieben (siehe ► Abschn. 6.1.4.1) (◘ Abb. 6.41).

6.1.7 Bildung von Biotensiden/ Aufnahme von Mineralöl-Kohlenwasserstoffen

Kohlenwasserstoffe (langkettige Alkane und PAKs) sind lipophile Verbindungen, die nur wenig wasserlöslich und damit schlecht bioverfügbar sind. Zur Aufnahme durch die überwiegend hydrophilen Zellen müssen **Phasengrenzen** überwunden werden. Bakterien haben im Laufe der Evolution Strategien

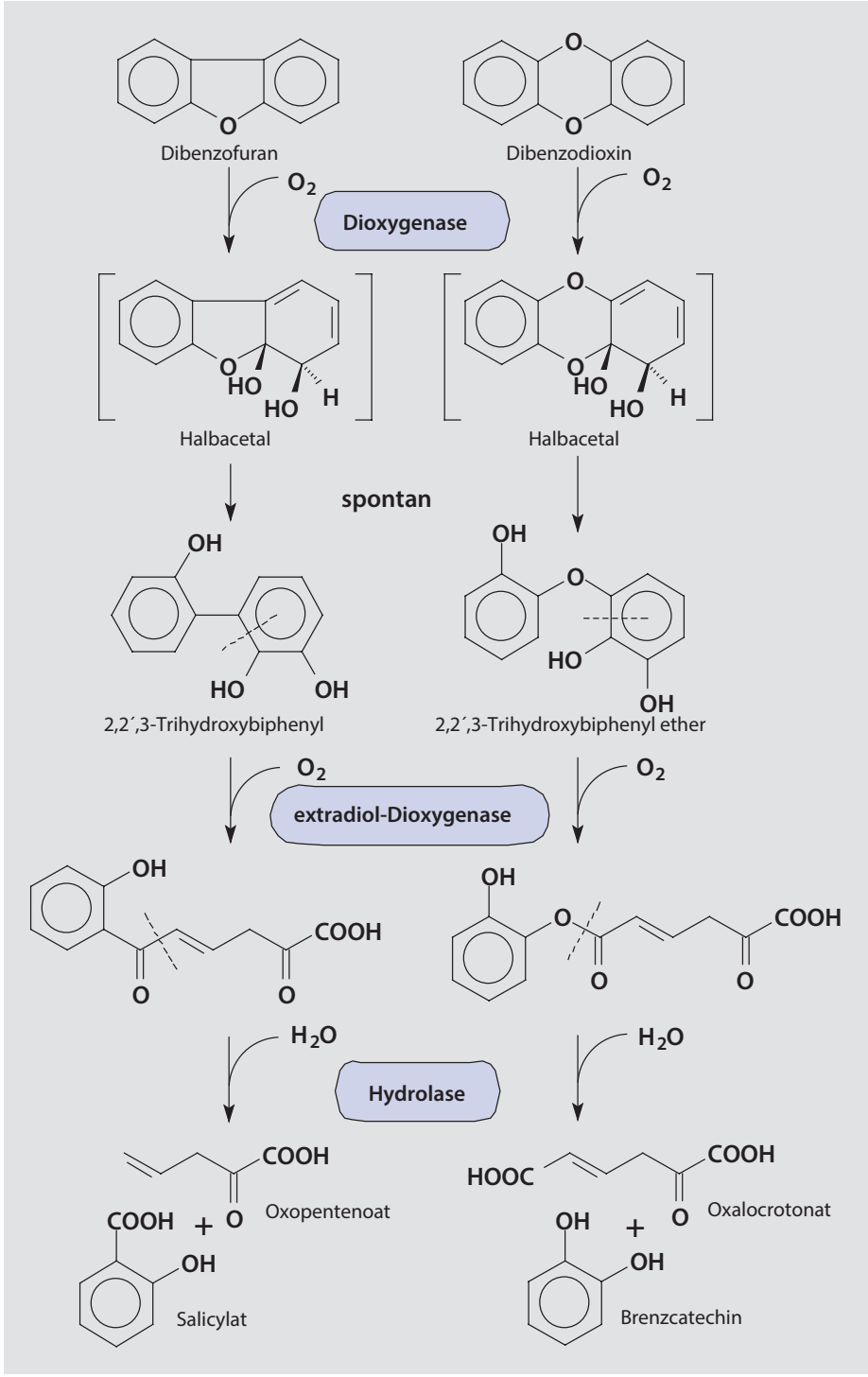


Abb. 6.41 Abbauwege für O-Heterocyclen

entwickelt, die Bioverfügbarkeit solcher schwer zugänglicher Substanzen zu erhöhen. Zum einen können sie die Fluidität ihrer Zellhülle ändern und so einen verbesserten Kontakt mit festen Substraten bewirken. Eine zweite Strategie besteht in der Produktion und der Freisetzung oberflächenaktiver Verbindungen, der Biotenside.

6.1.7.1 Oberflächenaktive Substanzen (Biotenside, Biosurfactants)

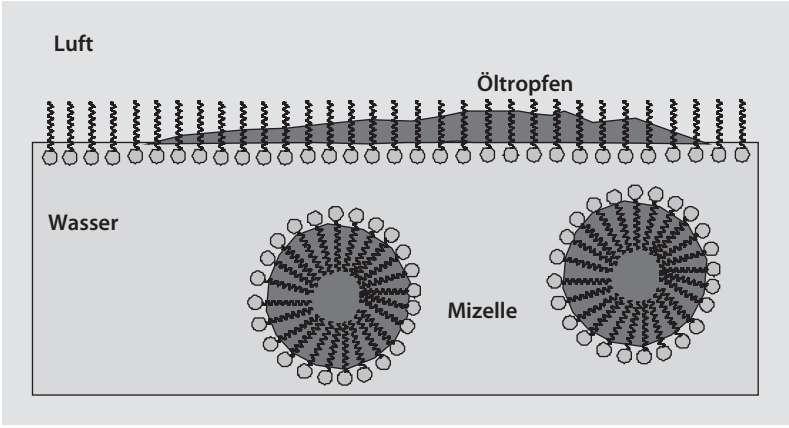
Biotenside besitzen wie auch die synthetischen Tenside eine amphiphile Struktur, das heißt sie bestehen aus einem hydrophilen (wasserlöslichen, fettabweisenden) und einem hydrophoben (wasserunlöslichen, fettliebenden) Anteil. Diese Strukturen richten sich an Grenzflächen unterschiedlicher Polarität (flüssig/flüssig, flüssig/gasförmig, flüssig/fest) aus und bewirken eine Reduzierung der dort herrschenden Grenzflächenspannung (◘ Abb. 6.42).

Dies äußert sich in makroskopisch sichtbaren Phänomenen wie Benetzung, Emulsifizierung und Schaumbildung. Erreicht die Konzentration des Biotensids einen spezifischen Grenzwert (die Kritische-Mizellen-Konzentration), so bilden sich kugelförmige Tensidstrukturen (Mizellen), in die einzelne Moleküle oder Molekülaggregate der hydrophoben Verbindung eingeschlossen werden. Die Verbindung wird quasi gelöst, „pseudosolubilisiert". Gelangen solche substratbeladenen Mizellen an die Zellhülle, so „verschmelzen" diese mit der Zellmembran und die hydrophobe Komponente diffundiert ins Zellinnere. Ein zweiter möglicher Mechanismus zur Verbesserung der Substrataufnahme basiert auf der gesteigerten Hydrophobisierung der Zelloberfläche durch Anlagerung des Biotensids. Dies ermöglicht der Zelle einen erhöhten Kontakt zu Substratpartikeln.

Mikrobielle Tenside, durch Bakterien, Hefen oder Pilze gebildet, haben in der letzten Zeit großes Interesse hervorgerufen, nicht nur weil sie im Vergleich zu synthetischen Tensiden weniger toxisch und stärker biologisch abgebaut werden können, sondern auch weil sie effektiv bei extremen Temperaturen, pH-Werten und Salzgehalten arbeiten.

6.1.7.1.1 Struktur der Biotenside

Bislang charakterisierte Biotenside sind ausschließlich neutraler und anionischer Natur. Die hydrophilen Strukturkomponenten sind Mono-, Di- oder Polysaccharide, Aminosäuren oder Peptide. Die hydrophobe Strukturkomponente besteht meist aus einer gesättigten oder ungesättigten, verzweigten oder unverzweigten, hydroxylierten oder nicht-hydroxylierten Fettsäure.



◘ **Abb. 6.42** Verhalten von amphiphilen Molekülen an Grenzflächen und in Konzentrationen oberhalb der Kritischen-Mizellen-Konzentration

Biotenside werden nach ihrem biochemischen Charakter und nach den Mikroorganismen klassifiziert, durch die sie gebildet werden. Typischer Weise werden die mikrobiellen Tenside dabei in folgende Klassen unterteilt:

- Fettsäuren
- Glykolipide
- Lipopeptide und Lipoaminosäuren
- Polymere Biotenside

Fettsäuren

Die einfachste Form der Biotenside sind die Fettsäuren, die entweder als einfache, gesättigte Fettsäuren mit 12 bis 14 Kohlenstoffatomen oder auch als komplexe Fettsäuren, die Hydroxylgruppen und Alkylverzweigungen aufweisen, auftreten können.

Glycolipide

Glycolipide sind die am häufigsten isolierten und studierten Biotenside. Sie beinhalten verschiedene Zuckeranteile (zum Beispiel Rhamnose, Trehalose und Sophorose), welche mit langkettigen Fettsäuren oder Hydroxyfettsäuren verbunden sind. Die folgende Abbildung zeigt Strukturformeln der drei Glycolipide, die bis jetzt am besten untersucht sind.

In **Rhamnolipiden** sind ein oder zwei Rhamnosemoleküle mit einem oder zwei Molekülen der β-Hydroxydecansäure verbunden. Am häufigsten wurden bis jetzt zwei Typen der Rhamnolipide isoliert, nämlich das Rhamnolipid R-1 (L-Rhamnosyl-L-rhamnosyl-β-hydroxydecanoyl-β-decanoat, ◘ Abb. 6.43) und das Rhamnolipid R-2 (L-Rhamnosyl-β-hydroxydecanoyl-β-decanoat). Der erste Typ besteht aus zwei Rhamnosen, der zweite aus einer, an die jeweils eine Kette aus zwei β-Hydroxydecansäuren gebunden ist. Beide Typen werden von *Pseudomonas aeruginosa* produziert.

Trehalolipide bestehen aus zwei Glucosemolekülen (= Trehalose), die jeweils am sechsten Kohlenstoffatom mit Mycolsäuren verbunden sind. Mycolsäuren sind langkettige α-verzweigte β-Hydroxyfettsäuren, deren Anzahl der C-Atome und Doppelbindungen variieren kann. Die Trehalolipide sind mit den Zellwandstrukturen der meisten Spezies der Genera *Corynebacterium, Mycobacteriu*m, *Nocardia* und *Rhodococcu*s assoziiert.

Sophorolipide werden vorwiegend von Hefen produziert. Sie bestehen aus dem dimeren Kohlenhydrat Sophorose und den damit verbundenen langkettigen Hydroxycarbonsäuren.

Lipoproteine und Lipopeptide

Lipopeptide bestehen aus kurzen Polypeptiden (3–12 Aminosäuren), welche mit einer hydrophoben Kette verbunden sind. Eines der effektivsten Biotenside ist das Lipopeptid Surfactin, welches durch *Bacillus subtilis* gebildet wird. Es besteht aus sieben Aminosäuren und enthält eine verbrückende Hydroxyfettsäure (◘ Abb. 6.44). Ein hervorstechendes Merkmal der genannten Lipopeptide ist ihre ausgeprägte antibiotische Breitenwirkung.

Polymere Biotenside

Zu den am besten untersuchten polymeren Biotensiden gehören Emulsan (◘ Abb. 6.45) und Liposan. Emulsan wird von *Acinetobacter lwoffii* RAG-1 produziert (◘ Abb. 6.46) und hat weniger die Eigenschaft, Grenzflächenspannungen herabzusetzen, als vielmehr Emulsionen zu stabilisieren. Es ist eine polyanionische, amphiphile, heteropolysaccharide Verbindung, wobei der heteropolysaccharide Charakter von einem sich n-mal wiederholenden Trisaccharid stammt, das aus *N*-Acetyl-*D*-galactosamin, *N*-Acetyl-galactosaminuronat und 2,4-Diamino-6-deoxyglucosamin besteht. Die Fettsäuren (C_{10} bis C_{18}, gesättigt und einfach-ungesättigt) machen 5 bis 23 % des Gesamtgewichtes eines Emulsanmoleküls aus. Sie sind mit dem Polysaccharid über Ester- und Amidbindungen verknüpft. **Emulsan** ist bereits in Konzentrationen von 0,001–0,01 % eine sehr effiziente emulgierende Substanz für Kohlenwasserstoffe in Wasser und ist gleichzeitig einer der besten

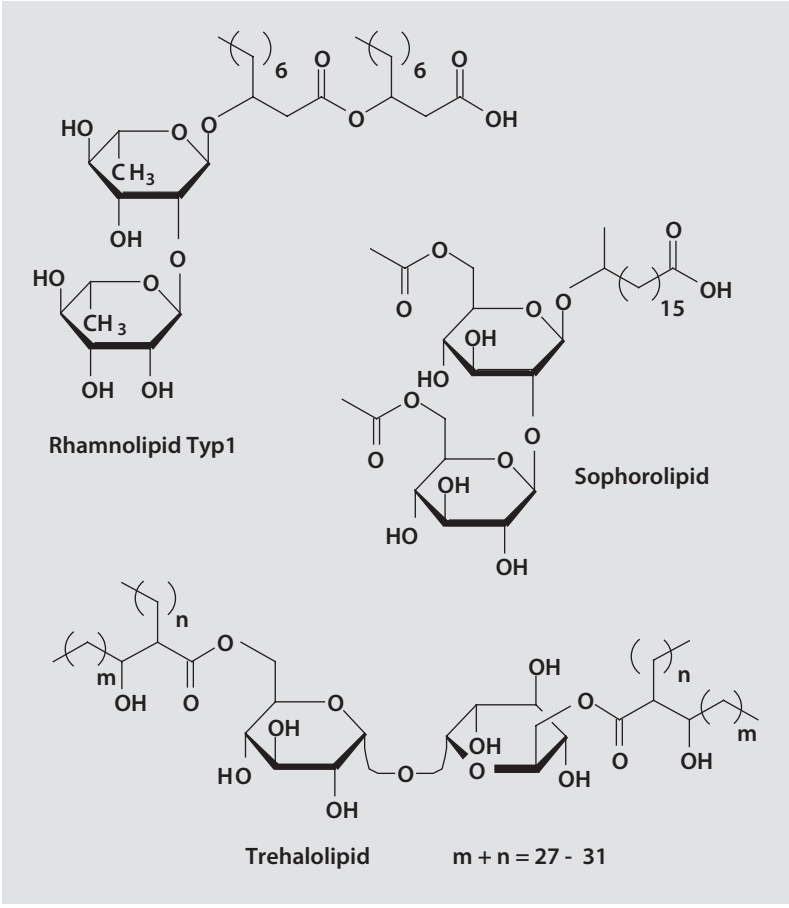


Abb. 6.43 Struktur der häufigsten Glycolipid-Biotenside

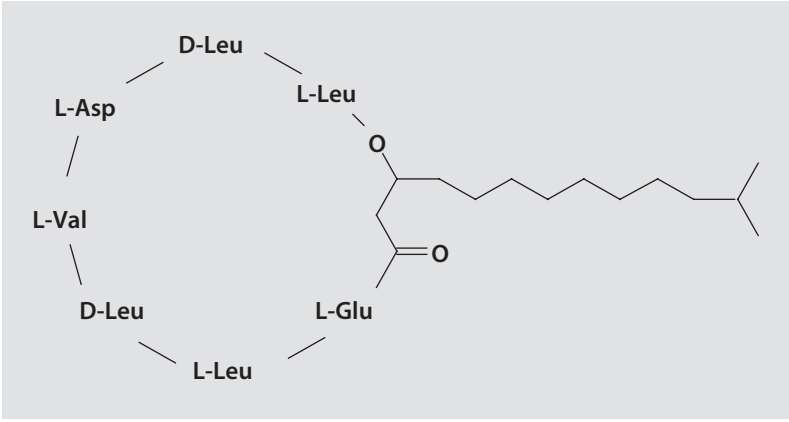


Abb. 6.44 Struktur des Surfactins produziert durch *Bacillus subtilis*

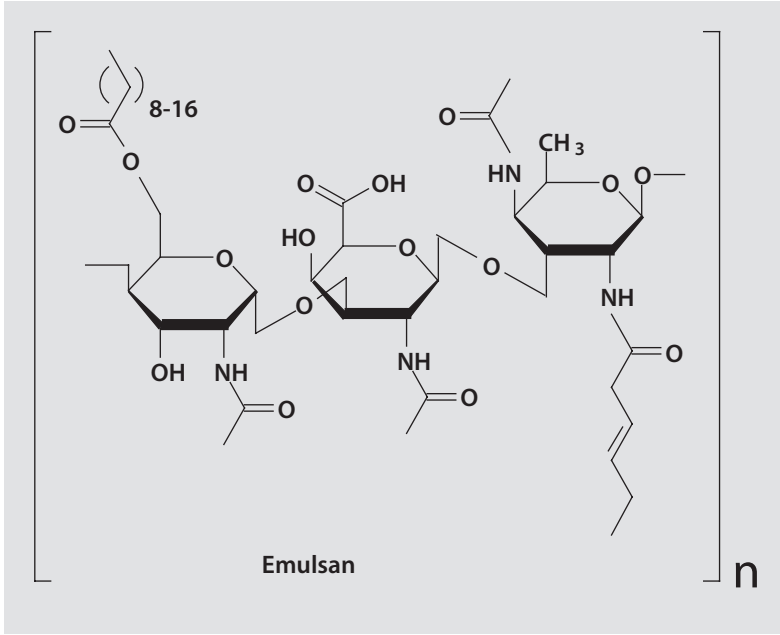


Abb. 6.45 Strukturvorschlag eines polymeren Biotensides

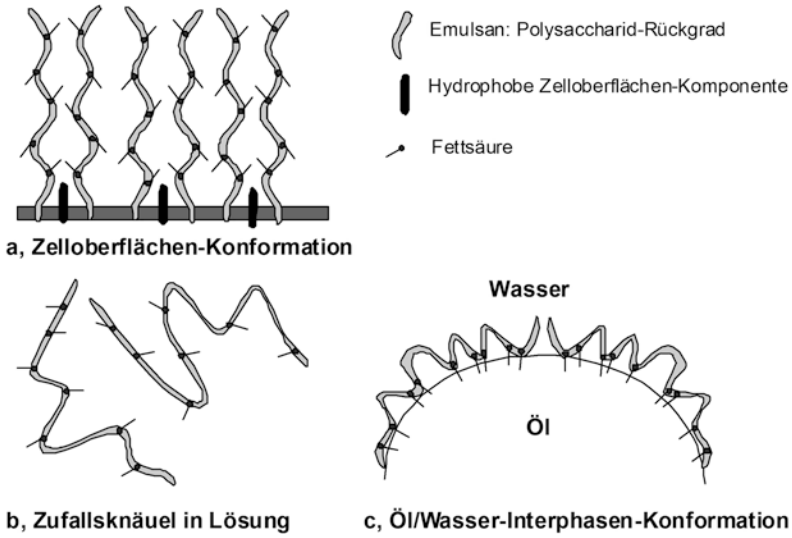


Abb. 6.46 Modell, welches die Ähnlichkeit zwischen Emulsan auf der Zelloberfläche von Stamm RAG-1 und Emulsan auf der Oberfläche eines Öltropfens zeigt. Ablauf: a → c (Nach Gutnick-Vortrag)

bekannten Emulsionsstabilisatoren. Ebensolche emulgierende Eigenschaft weist das Liposan auf, welches zu 83 % aus Kohlenhydraten und 17 % aus Proteinen besteht und durch *Candida lipolytica* gebildet wird. Der Kohlenhydratanteil ist ein Heteropolysaccharid und besteht aus Glucose, Galactose, Galactosamin und Galacturonsäure.

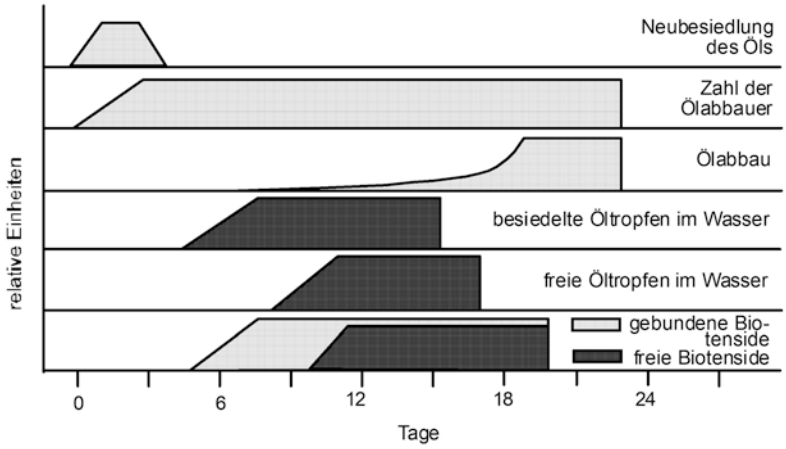


Abb. 6.47 Ablauf der Besiedelung eines Öltropfens. (Nach Poremba et al., 1989)

6.1.7.2 Ablauf der Besiedlung eines Öltropfens

Der Ablauf der Besiedlung eines Öltropfens lässt sich wie folgt beschreiben: Zunächst findet eine rasche, unspezifische Besiedlung des neuen Lebensraums durch hydrophobe Bakterien statt (siehe Abb. 6.47). Die Öltröpfchen werden mehrschichtig von Mikroorganismen besetzt. Nach kurzer Zeit ist dieser Prozess abgeschlossen. Etwas verzögert, aber schnell zunehmend, vermehren sich die Ölabbauer und erreichen schon nach wenigen Tagen maximale Zellzahlen. Dann erscheinen von Bakterien besiedelte und stabilisierte Öltropfen in der wässrigen Phase und später in zunehmendem Maße freie Öltropfen. Zunächst werden also zellgebundene Biotenside synthetisiert, die den Kontakt und die innige Besiedlung mit dem Öl ermöglichen. Zeitlich verzögert entstehen freie Biotenside, die ohne direkte Mitwirkung von Bakterienzellen die angreifbare Öloberfläche vergrößern.

6.1.7.3 Einsatz von Biotensiden

Unter Kulturbedingungen werden von den Mikroorganismen Biotensidmengen bis zu 1 g/L gebildet.

Biotenside sind mikrobiell gut abbaubar, daher sind sie auch für Detergenzien (Spülmittel) und für die tertiäre Erdölförderung von Bedeutung. Sie finden Einsatz im Umweltschutz, im Pflanzenschutz, bei der Rohölförderung sowie in der Kosmetik- und Pharmaindustrie.

Im Boden ist die Bildung der Biotenside schwer nachweisbar. Bei Untersuchungen zur Bodensanierung wurden Biotenside zugesetzt. Fördernde Effekte sind jedoch umstritten, da sie unter schwer reproduzierbaren Bedingungen erzielt wurden. Bei Tankerhavarien und Verschmutzungen von sandigen Küsten wurden Biotenside in Verbindung mit geeigneten Stickstoff- und Phosphorquellen mit Erfolg eingesetzt.

6.2 Abbau chlorierter Schadstoffe

6.2.1 Abbau von Chloraromaten

6.2.1.1 Chloraromaten als Umweltproblem

6.2.1.1.1 Produktion und Verwendung

Chloraromaten sind wichtige Endprodukte und Syntheseintermediate der chemischen Industrie. Bei den chlorierten aromatischen Verbindungen wurden für die Chlorphenole 200.000 t und für die Chlorbenzole etwa

1 Mio. t pro Jahr genannt. Die jährlichen Mengen an polychlorierten Biphenylen (PCBs) waren dagegen geringer. Der Beginn der industriellen Produktion von PCBs erfolgte im Jahre 1929. Die gesamte, weltweit bis ins Jahr 1983 produzierte Menge beläuft sich auf etwa 1,5 Mio. t. 1991 schwankten die Angaben über weltweite jährliche Produktionsmengen von Pentachlorphenol (PCP) zwischen 25.000 und 90.000 t. In Deutschland wurden 1985 noch über 1000 t PCP hergestellt. Die ◘ Tab. 6.3 macht deutlich, wie universell chlorierte Benzole, Phenole und Biphenyle verwendet wurden beziehungsweise werden.

Für einige Chloraromaten gibt es Herstellungs- und Verwendungsverbote. So gilt seit 1989 die PCP-Verbotsverordnung für die Bundesrepublik beziehungsweise seit 1993 die Chemikalien-Verbotsverordnung. Die Herstellung, das Inverkehrbringen und die Verwendung von PCP und PCP-haltigen Materialien sind vollständig untersagt.

Aufgrund gesetzlicher Regelungen findet heute keine Produktion von PCBs mehr statt. 1973 wurde eine Beschränkung auf geschlossene Systeme erlassen. Die Einstellung der Produktion erfolgte in den USA 1977 und in der BRD 1983. Bei der Kontamination von Umweltmedien durch PCBs

◘ Tab. 6.3 Beispiele für die Verwendung von Chloraromaten

Verbindung	Verwendung
Polychlorierte Biphenyle (PCBs, Gemische aus bis zu 70 Kongeneren)	*In geschlossenen Systemen:* Transformatoren, Kondensatoren, Wärmeübertragung, Hydraulikflüssigkeit (besonders im Bergbau)
	In offenen Systemen: Schneidöl, Bohröl, Weichmacher, Druckfarben, Kitte, Klebstoffe, Nagellack
Chlorbenzol	Lösemittel, Intermediat in Synthesen
1,2-Dichlorbenzol	Lösemittel, Intermediat in Synthesen, Wärmeübertragungsmittel
1,4-Dichlorbenzol	Geruchsvertilger, Insektenabwehrmittel, Intermediat in Synthesen
1,2,4-Trichlorbenzol	Intermediat, Wärmeübertragungsmittel, Dielektrikum in Transformatoren, Kondensatoren, Intermediat in Synthesen
1,2,4,5-Tetrachlorbenzol	Intermediat, Dielektrikum in Transformatoren, Kondensatoren
Hexachlorbenzol	Intermediate in Synthesen, Fungizid, Holzschutzmittel, Zusatz bei der PVC und Gummiherstellung
2-Chlorphenol	Desinfektionsmittel, Fungizid, Bakterizid, Intermediate in Synthesen
3-Chlor- und 4-Chlorphenol	Antiseptikum, Bakterizid, Intermediate in Synthesen
2,4-Dichlorphenol	Antiseptikum, Mottengift, Intermediate in Synthesen von Herbiziden
2,4,5-Trichlorphenol	Intermediate in Synthesen von Herbiziden
2,4,6-Trichlorphenol	Fungizid, Akarizid, Intermediate in Synthesen
Pentachlorphenol	Desinfektions- und Konservierungsmittel für Leder und Textilien, Holzschutzmittel, Insektizid, Herbizid

handelt es sich also um ein Problem, dessen Ursache in der Regel vor 1983 lag.

Am 17. Mai 2004 trat das Stockholmer Übereinkommen zum Verbot der zwölf weltweit gefährlichsten Chemikalien, die sogenannte „POP-Konvention" (Persistent Organic Pollutants – POPs), in Kraft. Die Konvention sieht ein weltweites Verbot der Herstellung und Verwendung von zwölf der gefährlichsten Chemikalien vor („Das Verbot des sogenannten *Dreckigen Dutzend*"). Dazu zählen 8 Pflanzenschutzmittel, sowie DDT, Dioxine, Furane, polychlorierte Biphenyle und Hexachlorbenzol (◘ Tab. 6.3).

6.2.1.1.2 Physiko-chemische Eigenschaften und Nachweise

Die physiko-chemischen Eigenschaften der Chloraromaten werden maßgeblich vom Grad der Chlorsubstitution bestimmt. Mit zunehmender Substitution werden Wasserlöslichkeit und Dampfdruck reduziert. Die Wasserlöslichkeit der Monochlorphenole liegt im Bereich von 20 bis 30 g/L und nimmt bis zum Pentachlorphenol auf etwa 10 mg/L ab. Monochlorbenzol zeigt eine Löslichkeit von etwa 0,5 g/L, während Hexachlorbenzol sich nur noch zu 5 µg/L löst. Analog zu den beiden genannten Gruppen von Chloraromaten nimmt auch die Löslichkeit der polychlorierten Biphenyle mit steigender Zahl der Chlorsubstituenten von einfach substituierten Biphenylen mit einer Löslichkeit im mg-Bereich zu den höher substituierten mit Löslichkeiten im Bereich von 1 µg/L ab.

Aufgrund des relativ hohen Dampfdruckes ist die Luft für Chlorbenzole ein bevorzugtes Umweltkompartiment. Die Gefahr der „Strippung" (Schadstoffe werden aus der flüssigen Phase in die Gasphase überführt) aus Abwasser ist gegeben.

Bei der Betrachtung des Verteilungskoeffizienten K_{ow} fällt auf, dass die Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln mit steigendem Chlorgehalt zunimmt. Dies ist ein Indiz für die zunehmende Akkumulationstendenz in biologischem Material beziehungsweise der organischen Matrix eines Bodens mit zunehmender Chlorsubstitution. Es kann deshalb erwartet werden, dass PCBs akkumuliert werden. Die Tendenz zur Bioakkumulation bei den PCBs ist höher als bei den Chlorbenzolen.

Aufgrund ihrer physiko-chemischen Eigenschaften findet man die Chloraromaten in unterschiedlichen Konzentrationen in nahezu jedem Umweltmedium sowie akkumuliert in biologischem Material. Neben dem Nachweis in einer Vielzahl von Sedimenten und Böden, ist diese Verbindungsklasse in Deponieabwässern und als Kontamination in Grundwässern anzutreffen. In kontaminiertem Boden und im Belebtschlamm wurden Chlorbenzole und Chlorphenole bis zu einer Konzentration von 1000 mg/L beziehungsweise mg/kg nachgewiesen. Während Monochlorbenzol in Gewässern in Konzentrationen bis 5 mg/L anzutreffen ist, war sie bei Hexachlorbenzol 2 Zehnerpotenzen niedriger. Die Chlorphenole zeigen aufgrund ihrer besseren Löslichkeit eine durchschnittliche Belastung der Gewässer eher im Bereich von mg/L.

6.2.1.1.2 Möglichkeiten des mikrobiellen Abbaus von Chloraromaten

Chloraromaten können durch die Aktivität von Mikroorganismen unschädlich gemacht werden, wobei die Chemikalien im besseren Fall einen **Nutzen für die Organismen** darstellen oder im anderen **zufällig,** das heißt **ohne Nutzen,** durch die vorhandenen Enzyme umgeformt werden. Beim letztgenannten Metabolismus handelt es sich um **Cometabolismus**, während die Nutzung als **Kohlenstoff- und Energiequelle** oder als **Elektronenakzeptor** mit dem Wachstum der Organismen verbunden ist (siehe ◘ Abb. 5.4).

6.2.1.2.1 Cometabolischer Abbau

Cometabolische Umsetzungen durch aerobe Bakterien nach Wachstum auf Aromaten

Anhand weniger Beispiele soll gezeigt werden, welche Dead-End-Metabolite aus Chloraromaten entstehen können, die zum Teil toxisch für die sie bildenden Mikroorganismen sind. Vielfach wurde beobachtet, dass Zellen, die mit Biphenyl gewachsen sind, 4-Chlorbiphenyl als Substratanalogon bis zum 4-Chlorbenzoat cooxidieren können. Der weitere Abbau findet meistens nicht statt, da Benzoat-1,2-Dioxygenasen besonders für die in 4-Position substituierten Benzoate häufig einen Engpass darstellen (◘ Abb. 6.48).

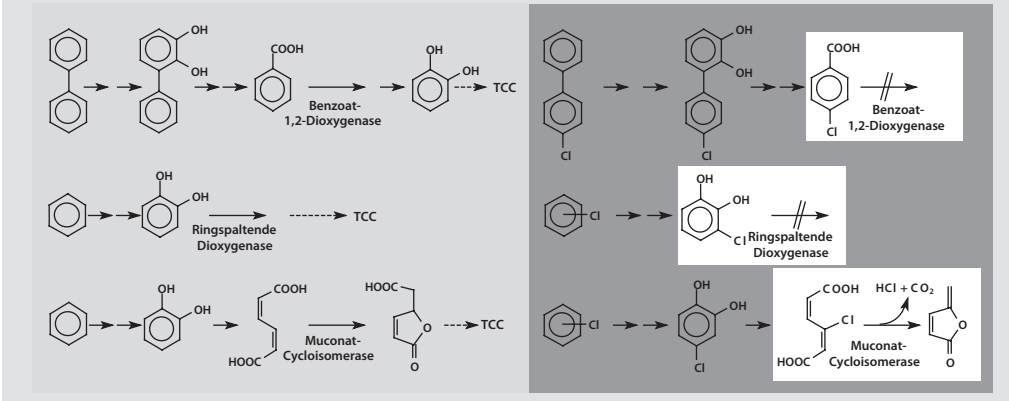
Durch cometabolische Transformationen können auch **toxische Metabolite** gebildet werden. So werden Chloraromaten durch viele aromatenabbauenden Enzymsequenzen bis zur Stufe der **Chlorbrenzcatechine** umgesetzt. Der fehlende oder ungenügend schnelle Umsatz durch ringspaltende Dioxygenasen bewirkt dann eine Akkumulation zum Beispiel von **3-Chlorbrenzcatechin,** welches anschließend nach Autoxidation mit allgemein toxischen Effekten auf die Mikroorganismen endet.

Ein anderes Beispiel ist die durch Bodenpopulationen gezeigte Umwandlung von Chloraromaten über 4-Chlorbrenzcatechin zu **Protoanemonin,** einem für eine Vielzahl von Mikroorganismen toxischen Metaboliten.

In Organismen mit modifiziertem *ortho*-Weg (siehe später, auch Hybridstämme mit solchen Wegen) treten die beiden letztgenannten Vergiftungen nicht auf.

Cometabolischer Abbau durch ligninolytische Pilze

Anders als Bakterien können Pilze Chloraromaten nicht als Kohlenstoff- und Energiequelle nutzen. Der Abbau von Chloraromaten erfolgt also durch Enzyme, die für einen anderen Zweck synthetisiert werden. Die ligninolytischen Pilze wie *Phanerochaete chrysosporium* sind Organismen, die aufgrund ihrer unspezifischen, extrazellulären Enzyme ein Abbaupotenzial für eine große Anzahl von Umweltchemikalien wie chlorierten Anilinen, Benzolen, Phenolen, Phenoxyacetaten, Biphenylen und Dibenzo-*p*-dioxinen besitzen. Die zur Verfügung stehenden Daten reichen



◘ **Abb. 6.48** Cometabolische Umsetzung von Chloraromaten durch Biphenylverwerter, Aromatenverwerter und Bodenpopulationen: Bildung von neutralen und toxischen Endprodukten (*links*: „natürliche" Reaktionen; *rechts*: cometabolische Reaktionen mit chloranaloger Substanz). Endprodukte: 4-Chlorbenzoat (oben), 3-Chlorbrenzcatechin (Mitte), Protoanemonin (unten)

jedoch nicht aus, um das Abbaupotenzial der Pilze für Chloraromaten richtig abschätzen zu können. Die erreichten Abbauraten variieren sehr stark und sind häufig sehr niedrig.

Cometabolische Dechlorierung durch anaerobe bakterielle Populationen

Man hat herausgefunden, dass Dechlorierung von Chloraromaten durch Umweltmaterial (kontaminiertes Sediment, Grundwasser) erfolgen kann, wenn denitrifizierende, sulfatreduzierende oder auch methanogene Bedingungen vorliegen. Die langsame, anaerobe Dechlorierung, die zu den nicht-chlorierten oder niederchlorierten Aromaten führt, wurde für chlorierte Aniline, Benzoate, Benzole, Biphenyle, Brenzcatechine, Dibenzo-*p*-dioxine, Phenole und Phenoxyacetate nachgewiesen. Dass es sich dabei um mikrobielle Prozesse handelt, konnte aus den folgenden Befunden geschlossen werden:

1. Mit autoklaviertem Umweltmaterial findet keine Dechlorierung statt.
2. Die reduktive Dechlorierung kann durch den Zusatz von organischen Elektronendonoren wie Lactat, Acetat, Pyruvat, Ethanol oder Glucose stimuliert werden. H_2 kann als Elektronendonor fungieren. In einigen Kulturen ist der Zusatz von Elektronendonoren essentiell für die Dechlorierung.
3. Die Dechlorierung ist sehr spezifisch und durch verschiedene Umweltproben unterschiedlich: Es werden nur gewisse Kongenere als Substrate genutzt wie zum Beispiel *meta*-substituierte Benzoate oder *meta*- und *para*-substituierte PCBs.

Nach heutigem Wissen könnte es sich bei den beschriebenen Prozessen auch um **Dehalorespiration** handeln, die nachfolgend abgehandelt wird.

6.2.1.2.2 Chloraromaten mit Nutzen für Mikroorganismen

Mikroorganismen können Chloraromaten auf zweierlei Weise nutzen, wobei Dechlorierung in beiden Fällen auftritt:

1. Der Chloraromat dient anaeroben Bakterien als Elektronenakzeptor, und
2. der Chloraromat dient als Kohlenstoff- und Energiequelle für aerobe Bakterien.

Dehalorespiration, eine anaerobe Atmung

Neben anorganischen Stickstoff- und Schwefelverbindungen oder CO_2 kann eine Vielzahl weiterer Substanzen, sowohl organische als auch anorganische als Elektronenakzeptoren für anaerobe Atmung dienen. Hierzu gehören insbesondere Fe^{3+}, Mn^{4+}, aber auch Huminstoffe und verschiedene Chloraromaten. Bei der Dehalorespiration fungiert der Chloraromat als Elektronenakzeptor für metabolische Oxidationsprozesse. Die dabei ablaufende Reduktion des Chloraromaten führt zur Eliminierung mindestens eines Chlorsubstituenten. Die Bildung eines nicht-chlorierten oder niederchlorierten Aromaten ist an die Erzeugung eines Protonengradienten gekoppelt. Ein skalarer Mechanismus ist hierfür verantwortlich, den ◘ Abb. 6.49 zeigt: in der Zelle werden Protonen verbraucht und außerhalb freigesetzt. Die ATP-Erzeugung erfolgt dann nachfolgend durch den Rückfluss der Protonen in die Zelle mittels der ATP-Synthase. Die Dehalorespiration von Chloraromaten ist mit *Desulfitobacterium chlororespirans, D. dehalogenans, D. frappieri, Desulfomonile tiedjei* und *Desulfovibrio* sp. nachgewiesen worden.

Nach Kalkulationen von Jan Dolfing liegen die Redoxpotenziale für die Ar-X/Ar-H Redoxpaare im Bereich zwischen 286–478 mV. Dies bedeutet, dass halogenierte Aromaten geeignet Elektronenakzeptoren für Mikroorganismen unter anaeroben Bedingungen sein können.

Wird **ein** Chlorsubstituent aus einer halogenierten aromatischen Verbindungen eliminiert, so liegen die für die Dehalogenierung zur Verfügung stehenden freien Gibbs-Energien im Bereich 130–171 kJ/mol (◘ Tab. 6.4). Bei Chlorbenzoaten wurden 130–171 kJ/mol ermittelt, bei Chlorphenolen sind es 131–168 kJ/mol und bei Chlorbenzolen 146–171 kJ/mol.

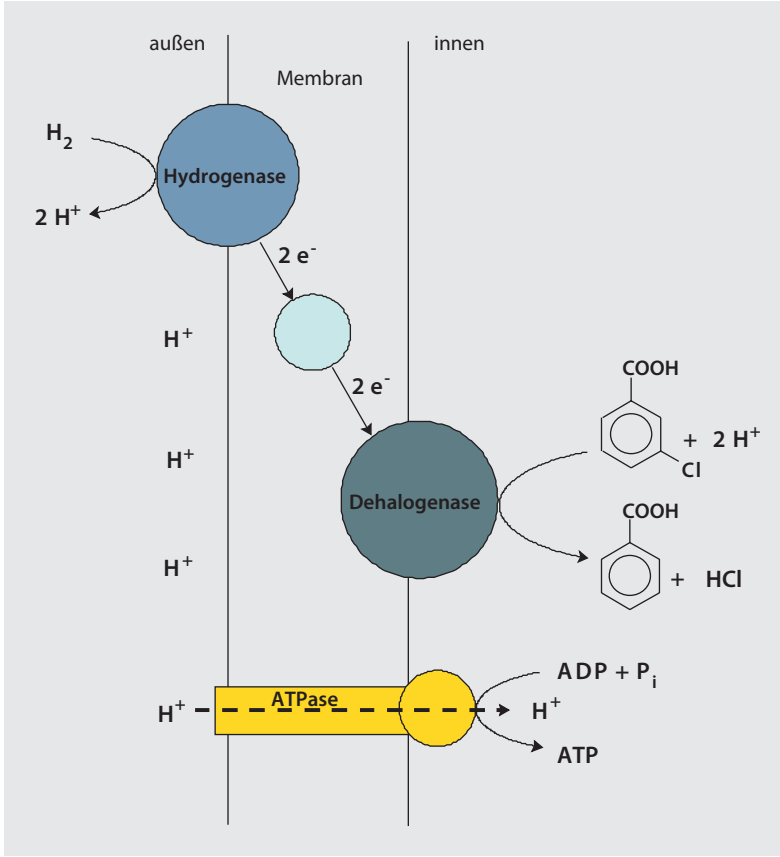


Abb. 6.49 Schematische Darstellung der Atmungskette unter Nutzung eines Chloraromaten als Elektronenakzeptor am Beispiel des 3-Chlorbenzoats

Die reduktive Dechlorierung von Hexa-, Penta-, und Tetrachlorbenzol setzt pro Dechlorierungsschritt ~20 kJ/mol mehr als die Dechlorierung von Tri-, Di- und Monochlorbenzol frei.

Ein Vorteil für die Nutzung von 3-Chlor-4-hydroxyphenylacetat als Elektronenakzeptor gegenüber *ortho*-substituierten Chlorphenolen wird in der vergleichbaren Struktur, aber einer geringeren Toxizität gegenüber den Mikroorganismen gesehen.

Da das Belüften von Böden und Grundwasserleitern eher schwierig und teuer ist, stellt der Metabolismus der Dehalorespiration eine mögliche Alternative zum nachfolgend dargestellten aeroben Abbau von Chloraromaten bei der Reinigung dar.

Chloraromaten als Kohlenstoff- und Energiequelle von aeroben Bakterien

Schon länger ist bekannt, dass Chloraromaten für aerobe Bakterien als Kohlenstoff- und Energiequelle dienen können, wobei die Mineralisierung zu CO_2, Chlorid und Biomasse führt.

Die Chloraromaten müssen, wie auch die nicht-halogenierten Analoga, zuerst zu Dihydroxy- oder Trihydroxyaromaten umgewandelt (aktiviert) werden, welche dann durch Dioxygenasen gespalten werden. Die Abbauwege bei Einring-Chloraromaten können wie folgt eingeteilt werden:

1. anhand der Eliminierung des/der Chlorsubstituenten **vor der Ringspaltung,** das heißt von einer aromatischen Stufe,

Tab. 6.4 Nutzbare Elektronendonoren, -akzeptoren und Kohlenstoffquellen bei Bakterien mit Dehalorespiration (mit freien Gibbs-Energien der Dechlorierung nach Jan Dolfing)

Elektronendonor	H_2, Formiat, Acetat, Lactat, Pyruvat, Crotonat, Butyrat, Succinat, Ethanol, Benzoat, Methoxybenzoate
Elektronenakzeptor (in Klammern $\Delta G^{0\prime}$ in kJ/mol der Reaktion: Substrat + H_2 → Produkt + H^+ + Cl^-)	***meta*-substituierte Chlorbenzoate:** 3-Chlor- (−137,3) 3,5-Dichlor- (−143,7)
	3-Chlor-4-hydroxyphenylacetat
	***ortho*-substituierte Chlorphenole:** 2-Chlor- (−156,9) 2,3-Dichlor- (−144,3 oder −147,9)[a] 2,6-Dichlor- (−135,3) 2,4,6-Trichlor- (−141,5 oder −146,0) Pentachlor- (−156,9, −167,8 oder −166,0)
	Chlorbenzole: 1,2,3-Trichlor- (−158,6 oder −161,2) 1,2,4-Trichlor- (−147,3, −149,9 oder −153,4) 1,2,3,4-Tetrachlor- (−155,2 oder −166,5) 1,2,3,5-Tetrachlor- (−148,6, −163,5 oder −159,9) 1,2,4,5-Tetrachlor- (−164,3) Pentachlor- (−161,1, −167,7 oder −163,4) Hexachlor- (−171,4)
Kohlenstoffquelle	CO_2 und organische Verbindungen

[a]Die freie Gibbs-Energie hängt von der Position der Dechlorierung ab: sie führt zum Beispiel zu 2-Chlor- oder 3-Chlorphenol als Produkt

beziehungsweise **nach der Ringspaltung,** das heißt von einer nicht-aromatischen Stufe oder beides,
2. nach dem **Typ des Ringspaltungssubstrates,** welches gebildet wird, Brenzcatechin, Hydrochinon, Protocatechuat, und
3. nach dem **Typ der Ringspaltungsreaktion,** welche das chlorierte Ringspaltungssubstrat als Metabolit spaltet, ***ortho*- oder *meta*-Spaltung.**

Bei bicyclischen Systemen wie Chlorbiphenylen wird gewöhnlich der nicht- oder niedrigsubstituierte Ring geöffnet, sodass Chlorbenzoate entstehen und damit die Einring-Stufe erreicht ist.

▪ Eliminierung vor der Ringspaltung

Der Mechanismus der Dechlorierung vor der Ringspaltung kann hydrolytische, oxygenolytische oder reduktive Eliminierung des Chlorsubstituenten beinhalten.

▪ Hydrolytische Eliminierung

Hydrolytische Dechlorierung wurde in den Abbauwegen von 4-Chlorbenzoat und einigen Chlorphenolen beobachtet. Besonders gut untersucht ist dabei die Reaktion mit 4-Chlorbenzoat wie sie in *Alcaligenes-*, *Arthrobacter-*, *Micrococcus-*, *Nocardia-* und *Pseudomonas-*Stämmen genutzt wird. Das 4-Chlorbenzoat-Dehalogenase-System besteht aus drei Komponenten. Die Rolle der einzelnen Komponenten wurde durch Klonierung der entsprechenden Gene und durch Studien mit gereinigten Enzymen geklärt (Abb. 6.50). Die Aktivierung des Substrates zum CoA-Derivat benötigt ATP und wird durch eine Ligase durchgeführt. Hydrolytische Eliminierung des Chlorsubstituenten durch die Dehalogenase folgt. Aufgrund von Sequenzähnlichkeit wird

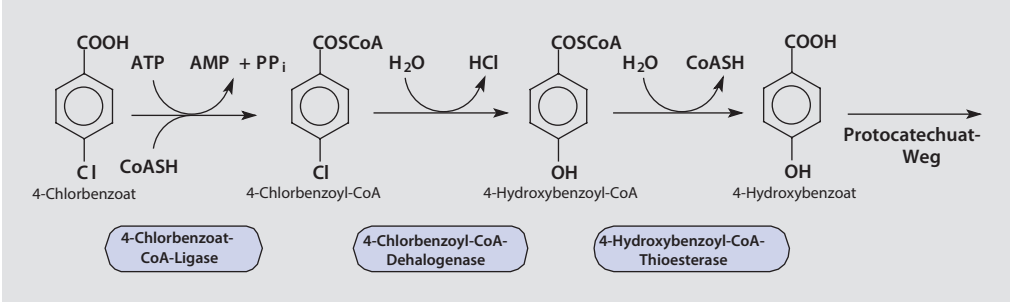


Abb. 6.50 Aktivierung und hydrolytische Dechlorierung von 4-Chlorbenzoat

6

vermutet, dass die Ligase und die Dehalogenase ursprünglich aus der β-Oxidation von Fettsäuren stammen. Der letzte Schritt der Bildung von 4-Hydroxybenzoat wird durch die 4-Hydroxybenzoat:Coenzym A-Thioesterase durchgeführt, man gelangt so in den Protocatechuat-Abbauweg (Abb. 6.50).

Die Dehalogenierung scheint auf halogenierte Benzoate mit Substitution in *para*-Position beschränkt zu sein.

Hydrolytische Eliminierungen wurden auch für andere Chloraromaten wie Chlorphenole im sogenannten Chlorhydrochinon-Abbauweg beschrieben.

▪ Oxygenolytische Eliminierung durch Dioxygenasen

Dechlorierung durch Dioxygenasen ist ein anderer Mechanismus, der Entfernung eines Chlorsubstituenten bewirkt, wobei 1,2-Diphenole gebildet werden. Die einleitende Dioxygenase, die für die Ringaktivierung verantwortlich ist, bildet ein *cis*-Dihydrodiol, welches normalerweise durch eine Dehydrogenase in das 1,2-Diphenol umgewandelt wird. Der molekulare Sauerstoff wird aber hier durch die Dioxygenase so am aromatischen Ring platziert, dass eine der vicinalen Hydroxylgruppen des jeweiligen *cis*-Dihydrodiols am selben Kohlenstoffatom steht wie der Chlorsubstituent (Abb. 6.51 für 2-Chlorbenzoat). Von diesem **instabilen Dihydrodiol** eliminiert der Chlorsubstituent spontan, also ohne weitere Enzymeinwirkung, und es kommt zur Bildung des *ortho*-Diphenols.

Aufgrund der Ortsspezifität der Einfügung des Sauerstoffes, zum Beispiel durch die Benzoat-1,2-Dioxygenase in die Positionen 1 und 2, kann eine Eliminierung des Chlorsubstituenten nur aus der Position 2 des Benzoates erfolgen. Ein ähnlich enges Eliminierungspotenzial wurde für andere Dioxygenasen wie für die Phenylacetat-3,4-Dioxygenase beobachtet. Während

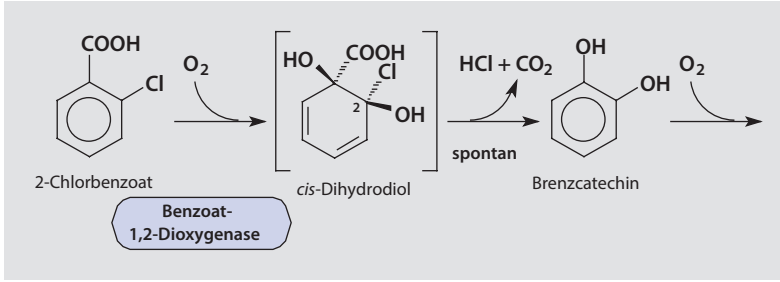


Abb. 6.51 Oxygenolytische Dechlorierung von 2-Chlorbenzoat durch Benzoat-1,2-Dioxygenase

4-Chlorphenylacetat ein Substrat ist, scheitert das Enzym mit allen anderen, chlorierten Phenylacetaten.

Der Hydrochinon-Weg

Im Hydrochinon-Weg sind alle drei Mechanismen der Eliminierung von Chlorsubstituenten **vor der Ringspaltung** realisiert, hydrolytisch, oxygenolytisch oder reduktiv vom Aromaten. Der Abbau von Pentachlorphenol ist am besten in *Sphingobium chlorophenolicum* (ältere Bezeichnungen: *Sphingomonas chlorophenolica, Flavobacterium chlorophenolicus*) bekannt. Der Weg wird mit der **oxidativen Dechlorierung durch eine Monooxygenase** zum Tetrachlor-*p*-chinon eingeleitet. Es folgt die Reduktion zum Tetrachlor-*p*-hydrochinon. **Reduktive Dechlorierung** von Tetrachlor-*p*-hydrochinon wird durch eine glutathionabhängige Reduktase durchgeführt. Der erste Chlorsubstituent des Tetrachlor-*p*-hydrochinones wird durch Glutathion substituiert. Glutathion wird dann vom Aromaten mittels eines zweiten Glutathionmoleküls entfernt, wodurch oxidiertes Glutathion entsteht. Diese Reaktionsfolge läuft ein zweites Mal ab und führt zur Bildung von 2,6-Dichlorhydrochinon (Abb. 6.52). Die Gesamtreaktion vom Tetrachlor-*p*-hydrochinon zum 2,6-Dichlorhydrochinon ist vergleichbar mit einer reduktiven Dechlorierung, wie sie bei anaeroben Organismen abläuft. Mit 2,6-Dichlorhydrochinon ist das Ringspaltungssubstrat erreicht.

Auch aus 2,4,6-Trichlorphenol wird durch eine Monooxygenase-Reaktion 2,6-Dichlorhydrochinon erzeugt. Anders als im Abbau des Pentachlorphenols wurde in *Cupriavidus necator* JMP134 (früher: *Alcaligenes eutrophus, Ralstonia eutropha, Woutersia eutropha*) eine hydrolytische Eliminierung und Bildung des Ringspaltungssubstrates 6-Chlorhydroxyhydrochinon nachgewiesen.

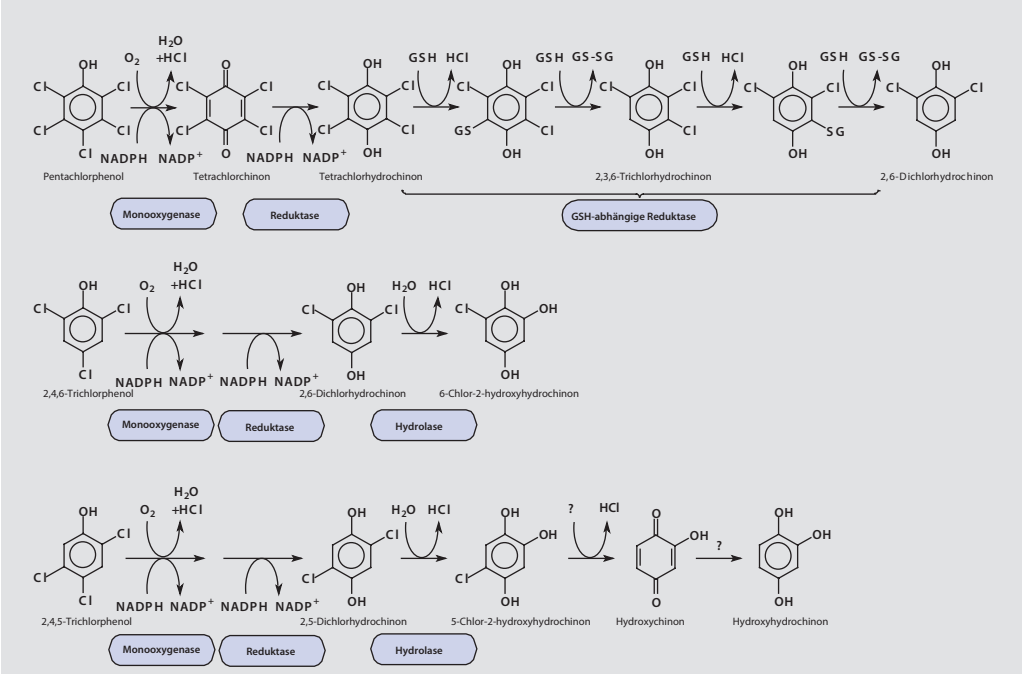


Abb. 6.52 Hydrochinon-Weg für Pentachlor-, 2,4,5-Trichlor- und 2,4,6-Trichlorphenol in *Sphingobium chlorophenolicum, Burkholderia phenoliruptrix* AC1100 (früher: *Burkholderia cepacia*), *Cupriavidus necator* JMP134 bis zur Stufe der Ringspaltung: Oxidative, reduktive und hydrolytische Dechlorierung

Der Abbau von 2,4,5-Trichlorphenol verläuft anfänglich analog den beiden anderen Substraten, nämlich einer Monooxygenase-katalysierten Eliminierung mit nachfolgender Reduktion zum 2,5-Dichlorhydrochinon. Eine Hydrolase bewirkt die Substitution eines Chlorsubstituenten durch eine Hydroxylgruppe, das heißt Bildung von 5-Chlorhydroxyhydrochinon, welches weiter über Hydroxychinon zum Hydroxyhydrochinon, dem Ringspaltungssubstrat umgewandelt wird.

Der folgende Schluss kann für die hydrolytische Dechlorierung vom aromatischen Ring gezogen werden: Die Entfernung des Substituenten durch nucleophile Substitution von einem an π-Elektronen reichen System ist schwierig. Deshalb muss der Ring durch Coenzym A oder die Gegenwart von Hydroxyl- oder weiteren Halogensubstituenten aktiviert werden.

▪ Eliminierung nach Ringspaltung

Die folgenden chlorierten, hydroxylierten Aromaten treten als zentrale Metabolite im Abbau von Chloraromaten und auch Lindan als Ringspaltungssubstrate auf: chlorierte Brenzcatechine, Hydrochinone, Hydroxyhydrochinone.

Die Reaktionen, die die Bildung der Chlorbrenzcatechine durchführen, sind ähnlich den peripheren Reaktionen, die für den Abbau der nicht-chlorierten Aromaten benutzt werden. Zum Teil werden sie von denselben Enzymen, zum Teil auch von spezialisierten Enzymen katalysiert. Im Verlauf der peripheren Reaktionen kann es je nach Stamm und Verbindung zu einer teilweisen Dechlorierung (zum Beispiel oxygenolytisch durch Dioxygenasen) kommen. Sie kann aber auch völlig unterbleiben. Das bedeutet, dass gegebenenfalls mehrere Reaktionen mit chlorierten Metaboliten ablaufen müssen.

Die Dechlorierung von Chlorbrenzcatechinen und Chlorhydroxyhydrochinonen findet nach *ortho*-Spaltung , aber auch im Verlauf der *meta*-Ringspaltung statt (◘ Abb. 6.53).

▪ Der ortho-Weg für Chlorbrenzcatechine

Die durch periphere Enzyme gebildeten Chlorbrenzcatechine werden wie folgt abgebaut: Die Ringspaltung führt unter Verwendung von molekularem Sauerstoff durch Chlorbrenzcatechin-1,2-Dioxygenase (meist als Chlorcatechol-1,2-Dioxygenase, abgekürzt CC12O, in der Literatur bezeichnet) zur Bildung der entsprechenden Chlor-*cis,cis*-muconate. Diese werden anschließend durch eine Chlormuconat-Cycloisomerase zu einem Lacton, also einem intramolekularen Ester, umgewandelt. In den meisten Fällen sind die Chlormuconat-Cycloisomerasen nicht nur in der Lage, die eigentliche Cycloisomerisierung zu katalysieren, sondern auch noch eine Eliminierung des Chlorids durchzuführen. So entsteht eine zusätzliche, exocyclische Doppelbindung im Produkt, dem sogenannten *cis*- oder *trans*-Dienlacton. Im Falle des Abbaus von 3-Chlorbrenzcatechin über 2-Chlor-*cis,cis*-muconat kann auch zunächst (+)-5-Chlormuconolacton freigesetzt und anschließend durch eine 5-Chlormuconolacton-Dehalogenase zu *cis*-Dienlacton dechloriert werden. Aufgrund der exocyclischen Doppelbindung können die Dienlactone direkt unter Bildung von Maleylacetat beziehungsweise 2-Chlormaleylacetat hydrolysiert werden. Maleylacetat-Reduktase führt durch Reduktion der Doppelbindung zur Bildung von 3-Oxoadipat und damit zum Einschleusen des Chloraromatenabbaus in den Weg für den herkömmlichen Aromatenabbau (siehe ◘ Abb. 6.16a). Zusätzlich sind die Maleylacetat-Reduktasen in der Lage, aus der Position 2 von Chlormaleylacetaten den Chlorsubstituenten reduktiv zu eliminieren und so zur Dehalogenierung von höher chlorierten Brenzcatechinen beizutragen.

Der beschriebene Abbauweg funktioniert für Chlorbrenzcatechine mit bis zu 4 Chlorsubstituenten, wie im Abbau von 1,2,3,4-Tetrachlorbenzol beschrieben. Bisher sind allerdings nur die zwei in ◘ Abb. 6.54 gezeigten Dechlorierungsschritte gut verstanden. Wo der dritte und vierte Substituent

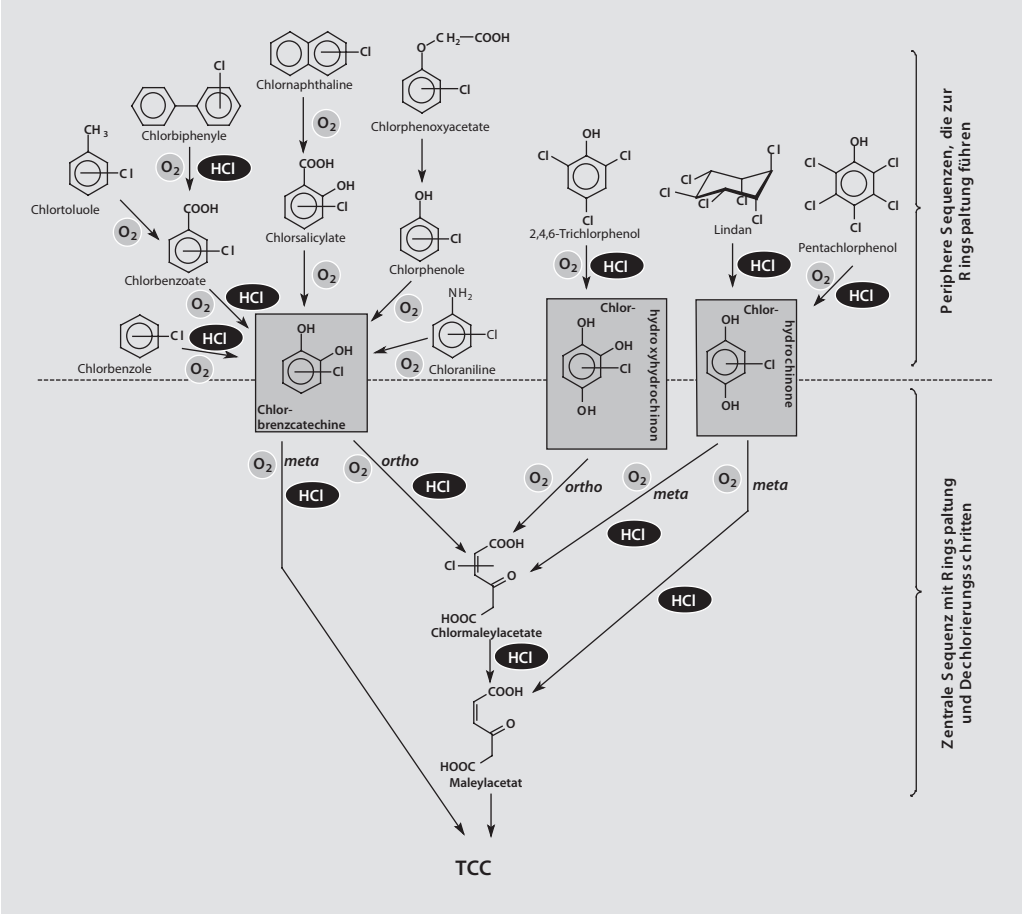


Abb. 6.53 Schematische Darstellung der Mineralisierung von Chloraromaten und Lindan mit Chlorbrenzcatechinen, Chlorhydrochinonen und Chlorhydroxyhydrochinonen als Schlüsselmetabolite. Bei einer Vielzahl der gezeigten Verbindungen ist eine Festlegung des Chlorsubstituenten an eine bestimmte Stelle im Ring vermieden

eliminiert wird, ist bisher nicht bekannt (Abb. 6.55).

Die ortho-Spaltung von Chlorhydroxyhydrochinon

Im Abbau von 2,4,6-Trichlorphenol entsteht Chlorhydroxyhydrochinon als Ringspaltungssubstrat. Dieses wird durch Chlorhydroxyhydrochinon-1,2-Dioxygenase, ein Enzym mit Sequenzenähnlichkeit zu typischen *ortho*-spaltenden Enzymen wie Brenzcatechin-1,2-Dioxygenase, zu 2-Chlormaleylacetat umgesetzt. Die Dechlorierung erfolgt, wie für die Dichlorbrenzcatechine oben gezeigt, mittels Maleylacetat-Reduktase.

Dechlorierung als Teil des meta-Weges

Lange Zeit galt der Abbau von Chloraromaten über den *meta*-Weg als nicht möglich. Ein Grund hierfür war die Beobachtung, dass aus 3-Chlorbrenzcatechin durch Brenzcatechin-2,3-Dioxygenase ein sogenanntes Suizidprodukt, ein reaktives Acylchlorid, gebildet wird, welches zur Inaktivierung des Ringspaltungsenzymes führt (Abb. 6.56). Außerdem war mit einem anderen *Pseudomonas*

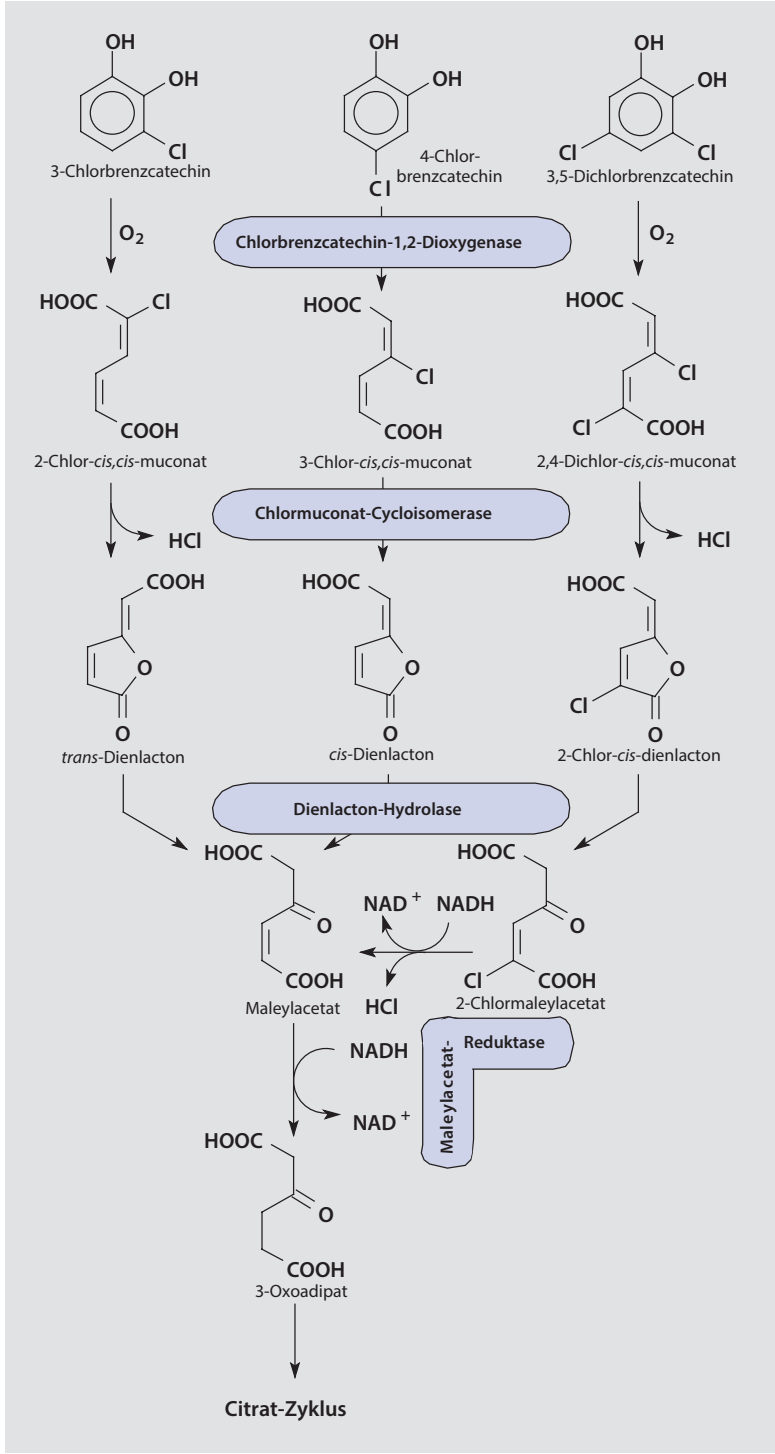


Abb. 6.54 *ortho*-Weg für den Abbau von 3-Chlor-, 4-Chlor- und 3,5-Dichlorbrenzcatechin

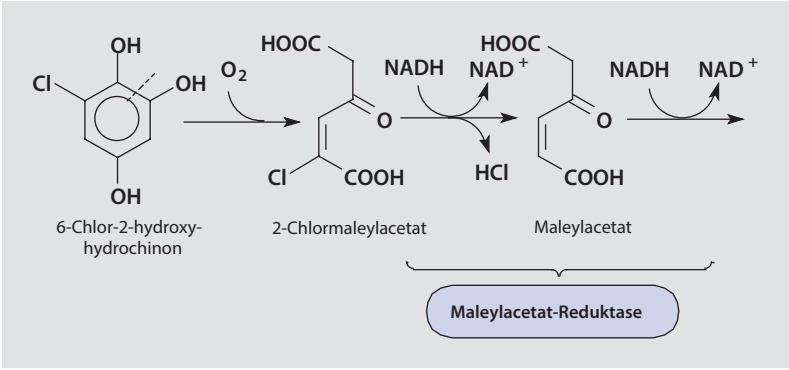


Abb. 6.55 Chlorhydroxyhydrochinon-Abbau: Ringöffnung

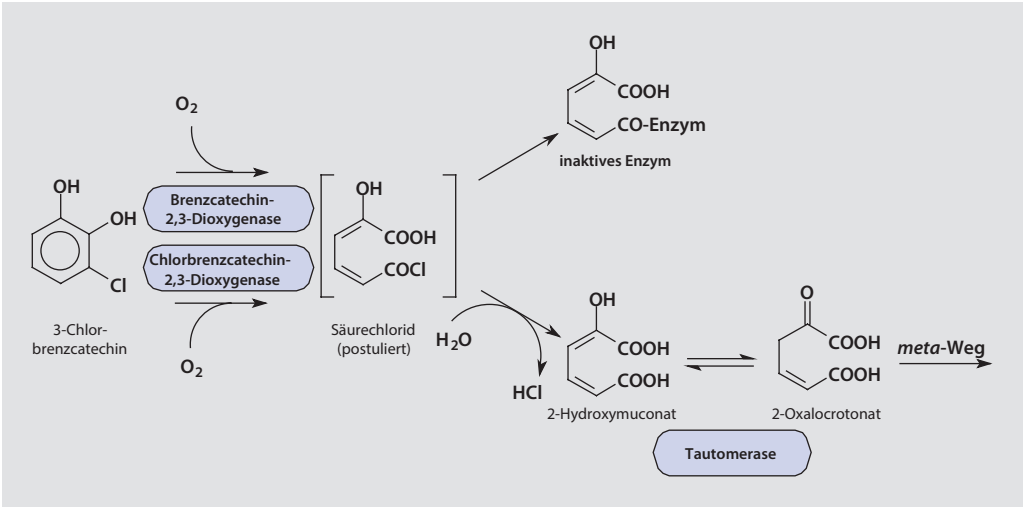


Abb. 6.56 3-Chlorbrenzcatechin und der *meta*-Weg. oben: unproduktive Reaktion mit Inaktivierung; unten: produktiver Abbau

putida-Stamm gezeigt worden, dass auch 3-Chlorbrenzcatechin selbst eine Brenzcatechin-2,3-Dioxygenase reversibel inaktivieren kann, da es die Eigenschaft hat, das Fe^{2+} zu komplexieren. Die Oxidation des für die Reaktion essenziellen Fe^{2+}zum Fe^{3+} in Gegenwart von Brenzcatechinen ist ein weiterer Mechanismus, der zur Inaktivierung führt.

Neuere Publikationen beschreiben Wachstum unter Nutzung des *meta*-Weges von solchen Chloraromaten, die über Brenzcatechine mit einem Chlorsubstituenten in der 4-Position abgebaut werden. Bisher fehlen jedoch genauere Informationen zur Eliminierung des Chlorsubstituenten. Weiter wurde herausgefunden, dass manche *Pseudomonas putida*-Stämme schnell auf Chlorbenzol wachsen können und dabei den *meta*-Weg benutzen. Erstaunlicherweise wurde 3-Chlorbrenzcatechin als Metabolit nachgewiesen (Abb. 6.56). Im Gegensatz zu anderen Brenzcatechin-2,3-Dioxygenasen, die einer Inaktivierung unterliegen, setzt die sogenannte Chlorbrenzcatechin-2,3-Dioxygenase 3-Chlorbrenzcatechin produktiv um. Stöchiometrische Freisetzung von Chlorid

führt zur Bildung von 2-Hydroxymuconat, welches dann weiter über den *meta*-Weg abgebaut wird.

- **Dechlorierung als Folge der meta-Spaltung von Chlorhydrochinon**

Das im Chlorhydrochinon-Weg aus Pentachlorphenol gebildete 2,6-Dichlorhydrochinon wird durch eine aauerstoffabhängige Reaktion geöffnet. Sequenzvergleiche zeigen hohe Ähnlichkeit des Enzyms zu *meta*-spaltenden Enzymen wie Brenzcatechin-2,3-Dioxygenase. Hydrolyse des entstehenden Säurechlorides führt zur Bildung von 2-Chlormaleylacetat, welches wie im Abbauweg für Chlorbrenzcatechine beschrieben, durch die Maleylacetat-Reduktase dechloriert, zum 3-Oxoadipat umgesetzt und so dem Citrat-Zyklus zugeführt wird.

Analog läuft die Ringspaltung bei 2-Chlorhydrochinon, dem Metaboliten im Lindanabbau (siehe auch ◘ Abb. 6.68 für die Bildung). Das Enzym LinE erzeugt ein Säurechlorid, welches hydrolytisch zum Maleylacetat umgesetzt und so dem zentralen Stoffwechsel zugänglich wird.

6

Gedanken zur Evolution der Abbauwege

1. Vergleich zwischen Enzymen und Genen des Brenzcatechin- und des Chlorbrenzcatechin-Abbaus

Anhand eines Vergleiches der Enzyme und Gene des Brenzcatechin- und des Chlorbrenzcatechin-Weges lässt sich beispielhaft zeigen, wie neue Abbauwege für Fremdstoffe entstehen beziehungsweise entstanden sind.

Die Chlorbrenzcatechin-1,2-Dioxygenasen sowie die Chlormuconat-Cycloisomerasen katalysieren Reaktionen, die denen der Brenzcatechin-1,2-Dioxygenase und Muconat-Cycloisomerase analog sind. Sequenzanalysen haben gezeigt, dass die Brenzcatechin- und die Chlorbrenzcatechin-1,2-Dioxygenasen aus einem **gemeinsamen Ursprungsenzym** entstanden sind (◘ Abb. 6.57 und 6.58).

Entsprechendes gilt für die Muconat- und die Chlormuconat-Cycloisomerasen. Die Chlorbrenzcatechin-1,2-Dioxygenasen unterscheiden sich von den entsprechenden Brenzcatechin-1,2-Dioxygenasen in der **Substratspezifität,** also dadurch, dass sie zusätzlich zu Brenzcatechin auch 3-Chlor- und 4-Chlor- sowie 3,5-Dichlorbrenzcatechin mit hohen Affinitäten und hohen relativen Aktivitäten umsetzen. In ähnlicher Weise akzeptieren die Chlormuconat-Cycloisomerasen neben *cis,cis*-Muconat auch 2-Chlor-, 3-Chlor- oder 2,4-Dichlormuconat als Substrate, während die Muconat-Cycloisomerasen gegenüber den zuletzt genannten Substraten sehr ungünstige Affinitäten und niedrige relative Aktivitäten aufweisen. Die Chlormuconat-Cycloisomerasen aus manchen 2,4-D-Verwertern zeigen zwar auch Aktivität, jedoch eine sehr geringe Affinität gegenüber *cis,cis*-Muconat und zum Teil auch 2-Chlor-*cis,cis*-muconat. Sie besitzen also eine relativ ausgeprägte Substratspezifität für das im 2,4-D-Abbau entstehende 2,4-Dichlormuconat (◘ Abb. 6.59).

Neue Befunde machen deutlich, dass zusätzlich zu der Anpassung der Chlormuconat-Cycloisomerasen an die bessere Verwertung von chlorierten Substraten auch die Fähigkeit der **Eliminierung von Chlorid** entstanden ist. Beim Umsatz von 2-Chlormuconat durch Muconat-Cycloisomerasen kommt es nämlich nicht zur Chloridfreisetzung, sondern zur Bildung des stabilen Zwischenproduktes 5-Chlormuconolacton und oft auch 2-Chlormuconolacton. Auch beim 3-Chlormuconat- und 2,4-Dichlormuconatumsatz fördern die Chlormuconat-Cycloisomerasen die Chlorideliminierung.

Aus diesen Substraten bilden normale Muconat-Cycloisomerasen anscheinend zunächst 4-Chlor- beziehungsweise 2,4-Dichlormuconolacton, woraus vermutlich durch nicht-enzymatische Reaktion

toxisches Protoanemonin beziehungsweise Chlorprotoanemonin entsteht.
Ein Sequenzvergleich macht deutlich, dass die Dienlacton-Hydrolasen des Chlorbrenzcatechin-Weges mit den analogen Enzymen des Brenzcatechin- und Protocatechuat-Abbaus, den 3-Oxoadipatenollacton-Hydrolasen, anscheinend nur sehr entfernt verwandt sind. Die Dienlacton-Hydrolasen setzen den entsprechenden Metaboliten des 3-Oxoadipat-Weges, 3-Oxoadipatenollacton, ebensowenig um, wie die 3-Oxoadipatenollacton-Hydrolasen *cis*- und *trans*-Dienlacton hydrolysieren. Die Dienlacton-Hydrolasen sind also nicht einfach 3-Oxoadipatenollacton-Hydrolasen mit einer geringen Substratspezifität. Die Spezialisierung mancher Enzyme des Chloraromatenabbaus auf die Metabolite dieses Weges geht also so weit, dass sie für den normalen Aromatenabbau nicht einsetzbar sind und dass sie nicht ohne weiteres als Enzyme geringerer Spezifität gelten können. Die Maleylacetat-Reduktasen haben kein Äquivalent im 3-Oxoadipat-Weg. Dienlacton-Hydrolasen und Maleylacetat-Reduktasen sind notwendig im Abbau von solchen Verbindungen, bei denen durch Eliminierung eines Chlorsubstituenten während oder nach Cycloisomerisierung eine zusätzliche Doppelbindung entsteht. Beide Enzymarten müssen für den Chlorbrenzcatechin-Abbau aus anderen Abbau- oder Synthesewegen als aus dem Brenzcatechin-Abbau rekrutiert worden sein.

Während die Gene des Brenzcatechin-Abbaus, die *cat*-Gene, in der Regel auf dem Bakterienchromosom liegen, werden die des Chlorbrenzcatechin-Abbaus normalerweise von Plasmiden kodiert. Sehr gut untersucht sind das Plasmid pAC27 aus dem 3-Chlorbenzoatverwerter *Pseudomonas putida* AC858 mit den *clc*-Genen (steht für **ch**l**o**ro**c**atechol), das Plasmid pJP4 aus dem 2,4-D-Verwerter *Cupriavidus necator* JMP134 mit den *tfd*-Genen (steht für **t**wo-**f**our-**D**) sowie das Plasmid pP51 aus dem 1,2,4-Trichlorbenzolverwerter *Pseudomonas* sp. P51 mit den *tcb*-Genen (steht für **t**r**i**chloro**b**enzene). Trotz unterschiedlicher Herkunft der Bakterien ist die Struktur der entsprechenden Operons nahezu gleich, wie in ◘ Abb. 6.60 dokumentiert, wo die Gene und die jeweiligen Enzyme zugeordnet sind. So sind die *clc*- und *tcb*-Gene identisch organisiert, und das *tfdCDEF*-Operon unterscheidet sich von diesen nur durch das Fehlen eines offenen Leserahmens (ORF) zwischen *tfdD* und *tfdE*. Die mutmaßlichen Regulationsgene *tfdT, clcR* und *tcbR* sind entgegengesetzt den Strukturgenen orientiert. Die *cat*-Gene von *Acinetobacter calcoaceticus* und *Pseudomonas putida* sind dagegen völlig anders organisiert.

2. Evolution und Zeitpunkt der Entstehung der Chlorbrenzcatechin-Operons

Es stellt sich die Frage, wie und wann die Operons des Chlorbrenzcatechin-Abbaus entstanden sind. Für eine einmalige Entstehung der Chlorbrenzcatechin-Abbauwege spricht neben der großen Ähnlichkeit der Sequenzen auch die Gleichartigkeit der Operonstruktur auf den untersuchten Plasmiden. Bei mehrfacher Entstehung dieser Wege wäre nicht damit zu rechnen, dass zum Beispiel das Dienlacton-Hydrolasegen (*clcD, tcbE* und *tfdE*) an jeweils der gleichen Position im Operon steht. Die Herkunft der Plasmide zeigt, dass das ursprüngliche Operon nach seiner Entstehung weltweit verbreitet wurde. Dabei wurde es mit verschiedenen peripheren Abbauwegen kombiniert, und die Enzyme entwickelten gewisse, zum Teil markante Unterschiede in ihrer Substratspezifität. Alle drei diskutierten Chlorbrenzcatechin-Operons enthalten ein Gen für eine Dienlacton-Hydrolase sowie eins für eine Maleylacetat-Reduktase. Beide Enzyme haben nur dann eine Funktion, wenn nach der Cycloisomerisierung durch eine Eliminierungsreaktion eine exocyclische Doppelbindung am Lacton entsteht. Dies deutet an, dass die Operons wohl tatsächlich im Zusammenhang mit dem Chlorbrenzcatechin-Abbau entstanden sind.
War die Evolution dieser Abbauwege eine Antwort auf die Freisetzung großer Mengen von Chloraromaten durch den Menschen in den letzten hundert Jahren oder fand dieser Prozess schon vorher statt? Die seit der Divergenz zum Beispiel der von pJP4 und pAC27 kodierten Cycloisomerasen aus einem gemeinsamen Vorläufer verstrichene Zeit sollte einen Anhaltspunkt für das Alter der Chlorbrenzcatechin-Abbauwege

geben. Dieser Zeitraum lässt sich aus der Häufigkeit sogenannter synonymer Differenzen abschätzen. Dies sind Mutationen, die wegen der Degeneriertheit des genetischen Codes keine Veränderung der Proteinsequenz zur Folge haben und die deshalb keiner Selektion auf der Proteinebene unterliegen. Bei Annahme einer absoluten Evolutionsrate von 7×10^{-9} Mutationen pro Basenpaar und Jahr lässt sich abschätzen, dass die von den Plasmiden pJP4 und pAC27 kodierten Enzyme des Chlorbrenzcatechin-Abbaus vor etwa 140 Mio. Jahren divergiert sind. Problematisch an solchen Berechnungen ist die Frage der Richtigkeit der angenommenen Mutationsrate, insbesondere, ob Mutationen aufgrund spezieller Mechanismen oder wegen der Gegenwart mutagener Agenzien nicht auch häufiger als angenommen auftreten können. Da jedoch zwischen dem errechneten Wert und der Entwicklung der chemischen Industrie immerhin sechs Zehnerpotenzen liegen, kann es als gesichert gelten, dass die Abbauwege für Chlorbrenzcatechine entstanden sind, lange bevor der Mensch größere Mengen Chloraromaten produziert und die Umwelt mit diesen Stoffen belastet hat.
Während also die weltweite Verbreitung der Chlorbrenzcatechin-Abbauwege nicht neueren Datums ist, kann man davon ausgehen, dass die Häufigkeit des Vorkommens mit der Chlorchemie im engen Zusammenhang steht.

3. Gentransfer und Abbauwege
Es ist allgemein bekannt, dass Gentransfer zwischen Bakterien durch die Aufnahme von DNA **(Transformation),** durch Bakteriophagen als Überträger **(Transduktion)** oder durch eine Art sexuellen Prozess, der **Konjugation** genannt wird, erfolgen kann. Die Transformation wurde unter natürlichen Umweltbedingungen beobachtet, aber sie ist durch die Barriere der Restriktion (Zerschneiden der Fremd-DNA durch Restriktions-Endonucleasen) stark eingeschränkt und im Allgemeinen auf Bakterien begrenzt, die mit den Spenderbakterien verwandt sind. Ähnliche Leistungen und Grenzen konnten auch für die Transduktion festgestellt werden, da das Infektionsspektrum der meisten Bakteriophagen nicht besonders breit ist.
Die Konjugation ist ein Gentransfer, der durch Plasmide vermittelt wird. Plasmide haben, ebenso wie das Chromosom ihrer Wirtszellen, eine zirkuläre Form und können autonom repliziert werden. Sie sind aber meist viel kleiner als das Chromosom und zumindest für die wichtigen Funktionen im Zusammenhang mit dem vegetativen Wachstum ihrer Wirte entbehrlich. Außerdem besitzen sie häufig die Fähigkeit zum Selbsttransfer in andere Bakterien (Tra-Funktionen).
Neben der genetischen Grundlage für ihre Selbstreplikation und ihren Selbsttransfer können Plasmide Gene für eine Vielzahl von Funktionen tragen, die ihren Wirten häufig einen gewissen Überlebensvorteil geben (Resistenzfunktionen) und die Kolonisierung spezifischer Biotope erlauben (zum Beispiel katabolische Plasmide zum Abbau von organischen Verbindungen wie Aromaten oder Chloraromaten). Wie ◘ Tab. 6.5 zeigt, sind eine Vielzahl von Abbausequenzen auf Plasmiden kodiert, sowohl Gene für periphere Abbauwege, als auch solche für zentrale.
Mit der obigen Kenntnis lassen sich im Labor Chloraromatenverwerter erzeugen, wenn man geeignete Partnerstämme mit komplementären Abbausequenzen auf festen Nährmedien zusammenbringt. Der horizontale, konjugative Gentransfer führt zu Stämmen, die neue Substanzen als Wachstumssubstrate nutzen können. Diese *In-vivo*-Konstruktion von Abbaustämmen durch Transfer von Gensequenzen lässt sich für den Chloraromatenabbau relativ leicht realisieren (siehe ◘ Abb. 6.61). Bei Stämmen aus der Natur, welche Anilin, Benzol, Benzoat, Biphenyl, Phenol, Salicylat und Toluol als Kohlenstoff- und Energiequelle nutzen, konvergiert der Abbau der Aromaten auf der Stufe des Brenzcatechins. Solche Stämme lassen sich in Spezialisten umwandeln, die Chloraniline, Chlorbenzole, Chlorbenzoate, Chlorbiphenyle, Chlorphenole, Chlorsalicylate und Chlortoluole verwerten. Während die Wildtypen die

chlorierten Aromaten unter Nutzung der Abbauwege für die Aromaten nur zu den Chlorbrenzcatechinen umsetzen, können die Hybridstämme durch den Erwerb einer Chlorbrenzcatechine abbauenden Enzymsequenz den Totalabbau der Chloraromaten durchführen.
Als Donor-Stamm für die Gene, die für den Abbau von Chlorbrenzcatechinen kodieren, hat sich *Pseudomonas* sp. B13 herausgestellt, doch hier liegen die Abbaugene auf einer **Genominsel,** dem sogenannten 105 kb großen *clc*-Element, und nicht auf einem konjugativen Plasmid. Genominseln sind instabile Bereiche auf dem Bakterienchromosom, die sich manchmal selbst von einem Bakterium direkt in das Genom eines anderen einschleusen. Genominseln zeichnen sich dadurch aus, dass sie ein Gen für eine Integrase besitzen, welche für das Herausschneiden und Wiedereinsetzen des Elementes verantwortlich ist. Ferner gehört das Einfügen an einen spezifischen Ort im Chromosom zu den Eigenschaften einer Genominsel. Da das Element nur für einen kurzen Augenblick als Plasmid im Ablauf vorliegt (siehe ◘ Abb. 6.62) ist auch die Schwierigkeit beim Nachweis eines vermuteten Plasmides erklärt.
Ein Weg der Erzeugung von Hybridstämmen ist also der Transfer der Gene des Chlorbrenzcatechin-Abbaus in Stämme, die Chloraromaten bis zur Stufe der Chlorbrenzcatechine cometabolisieren. Ein anderer beinhaltet die Übertragung der Gene, die die peripheren Abbausequenzen kodieren, in die chlorbrenzcatechinverwertenden Stämme wie Stamm B13.
Es gibt Beispiele, wo eine periphere Enzymsequenz nicht in der Lage ist, einen Chloraromaten bis zur Stufe des Chlorbrenzcatechins umzusetzen. Dann ist nicht nur die Kreuzung zweier Stämme notwendig, sondern der „neue" Abbauweg muss aus Teilsegmenten aus drei Stämmen in einem Stamm angesammelt werden.
Dies ist in ◘ Abb. 6.63 für verschiedene Chlorbiphenyle schematisch dargestellt.
Wichtig ist festzuhalten, dass nicht nur die Abbausequenzen vereinigt werden müssen, sondern dass auch die Regulatorgene neben den Strukturgenen übertragen werden und die Regulationselemente mit den strukturanalogen chlorierten Aromaten harmonieren müssen.
Auch bei Isolaten aus der Natur wurde herausgefunden, dass Gentransfer für die Evolution von Abbauwegen verantwortlich ist. Am Beispiel des Abbaus von Chlorbenzolen durch *Pseudomonas* sp. P51 wird dies besonders gut deutlich. Der Organismus besitzt den identischen Chlorbrenzcatechinabbau auf dem Plasmid pP51 mit dem gleichen Gencluster wie Stamm B13. Der Abbauweg wird aber durch ein Operon eingeleitet, welches normalerweise den Toluolabbau kodiert (siehe ◘ Abb. 6.64).
Nur sind in Stamm P51 die Gene *tcbAaAbAcAdB,* die die Toluol-Dioxygenase sowie die Dihydrodiol-Dehydrogenase kodieren, jetzt auch auf dem Plasmid pP51 lokalisiert.
Bei Toluolverwertern wie *P. putida* F1 befindet sich hingegen diese Sequenz im Chromosom. Anders als im Original ist in Stamm P51 die Sequenz des in den *meta*-Weg führenden Teils des Toluolabbauweges jedoch nicht mehr vorhanden.
Das die periphere Abbausequenz kodierende Operon *tcbAaAbAcAdB* befindet sich bei Stamm P51 an einer anderen Stelle auf dem Plasmid pP51 als das den zentralen Abbau kodierende *tcbCDEF* (◘ Abb. 6.65).
Am Beispiel von *Pseudomonas* sp. Stamm PS12 wird die obige Beobachtung noch deutlicher. Das upper Operon zeigt noch die "Reste" des *meta*-Weg-Genclusters mit einem mutierten, inaktiven *tecE* Gen.
Abbauwege sind bei Hybridstämmen aus dem Labor wie auch bei Isolaten aus der Natur ein **Mosaik aus verschiedenen Quellen.** Hinweise auf verschiedene Quellen für Abbauteilsequenzen erhält man leicht anhand der unterschiedlichen GC-Gehalte der Teilstücke.

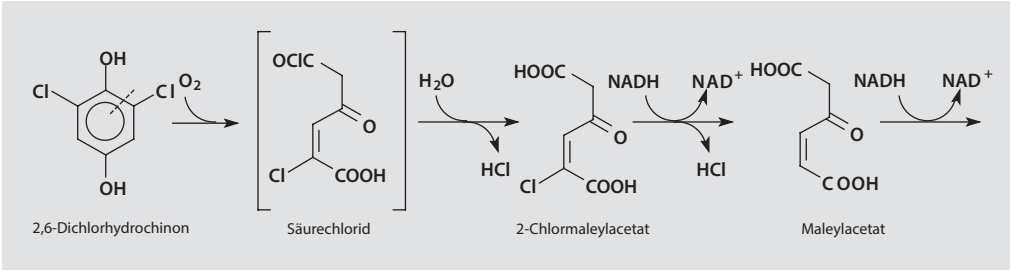


Abb. 6.57 2,6-Dichlorhydrochinon-Abbau

6

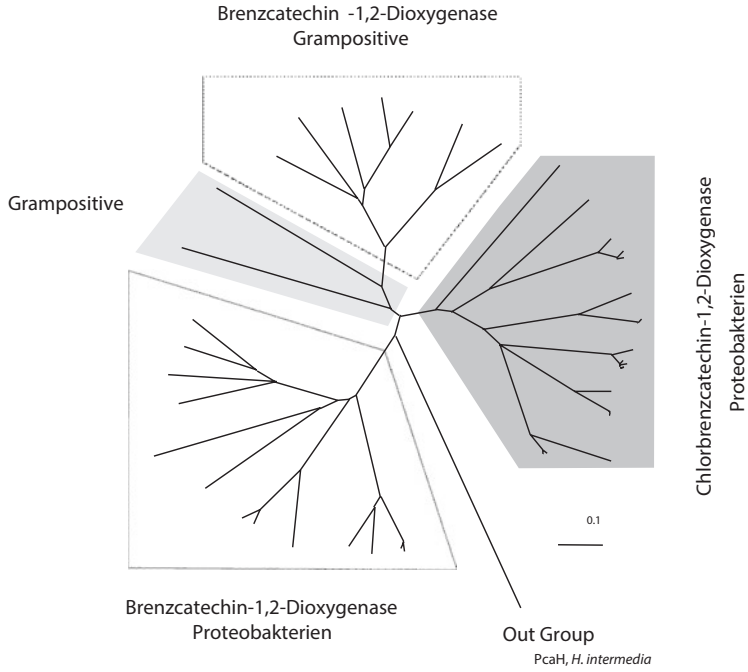


Abb. 6.58 Dendrogramm zur Veranschaulichung der Verwandtschaft von Brenzcatechin-1,2-Dioxygenasen (CatA, PheB) und Chlorbrenzcatechin-1,2-Dioxygenasen (Clc, TfdC, CplC, CbnA, TcbC, TetC). (Maßstab: Änderungen pro Stelle; OutGroup: Protocatechuat-3,4-Dioxygenase, PcaH, von *Hydrogenophaga intermedia*)

6.2.2 Abbau von Hexachlorcyclohexan

Hexachlorcyclohexane (HCHs, $C_6H_6Cl_6$) sind chlorierte Cyclohexane mit acht Stereoisomeren, die je nach Stellung der Chlorsubstituenten mit α- bis ϑ-HCH (alpha- bis theta-HCH) bezeichnet werden. Die anteilsmäßig wichtigsten Isomere, die bei der Produktion des Insektizides Lindan (γ-HCH) gebildet werden, sind *α β- und γ-HCH* (Abb. 6.66).

Lindan wird durch die Chlorierung von Benzol im UV-Licht hergestellt und aus dem Isomerengemisch durch Extraktion mit Methanol isoliert.

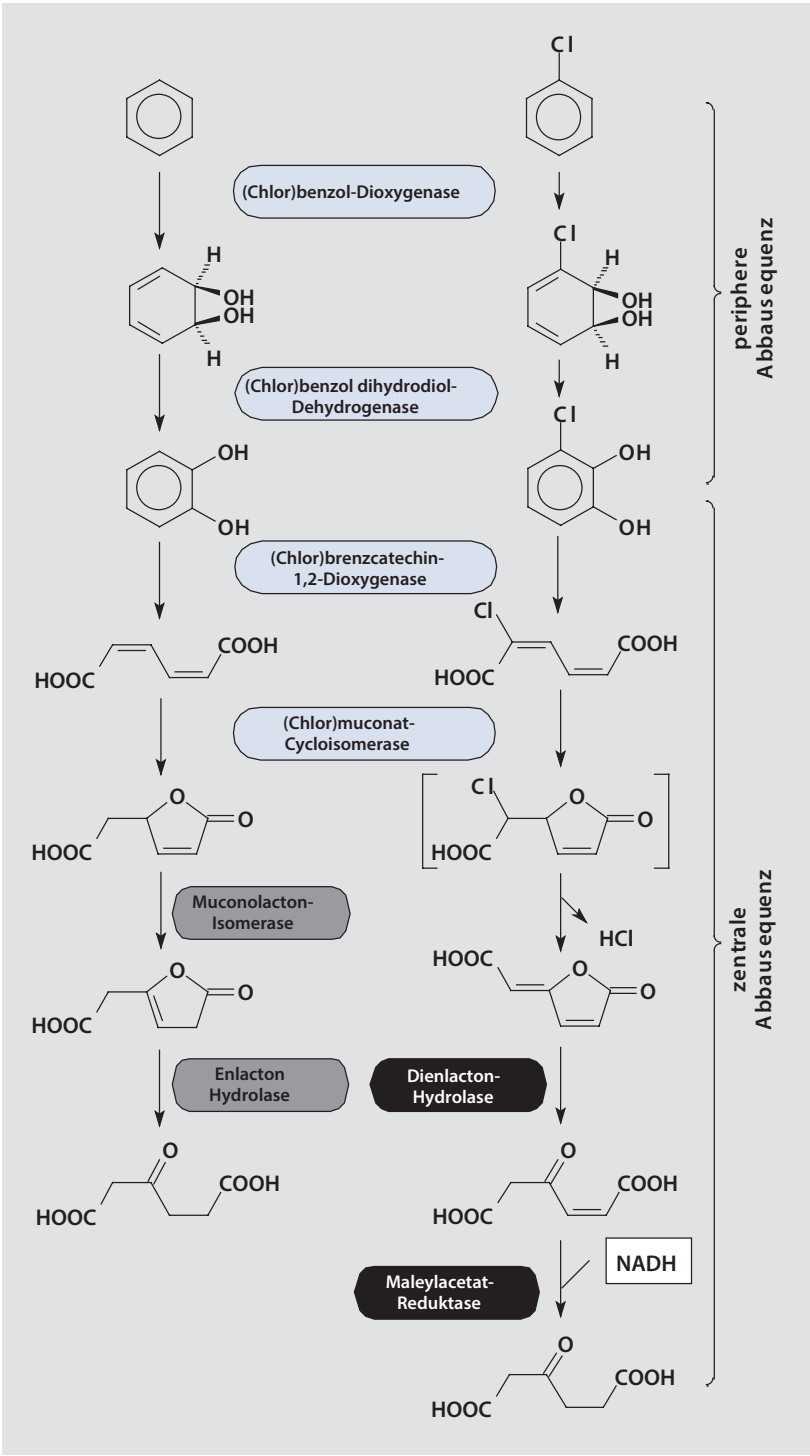


Abb. 6.59 Vergleich der Abbauwege: Aromat gegen Chloraromat am Beispiel Benzol/Chlorbenzol

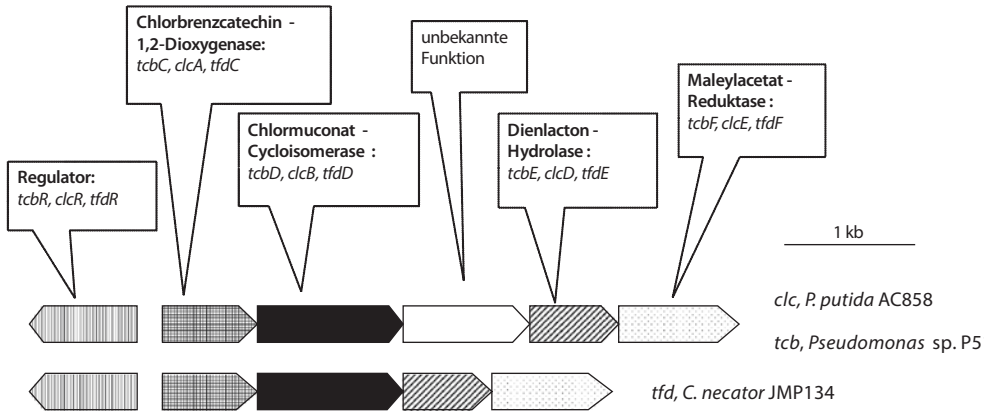


Abb. 6.60 Operonstruktur des *ortho*-Abbauweges für Chlorbrenzcatechine

Tab. 6.5 Degradative Plasmide, die für die Konstruktion von chloraromatenabbauenden Hybridstämmen von Relevanz sind. *Periphere Sequenzen kodieren Abbauenzyme zur Umsetzung der Chloraromaten bis zur Stufe der Chlorbrenzcatechine, Zentrale Sequenzen solche für den Umsatz bis in den Citrat-Zyklus*

Plasmid	Größe (kb)	konjugativ	Inkompatibilitätsgruppe	Substrate	Wirt
PERIPHERE SEQUENZ					
TOL, pWWO	117	+	P-9	Xylole, Toluol, Toluat	*Pseudomonas putida*
NAH7	83	+	P-9	Naphthalin über Salicylat	*Pseudomonas putida*
SAL1	85	+	P-9	Salicylat	*Pseudomonas putida*
pKF1	82	–	NU	Biphenyl über Benzoat	*Rhodococcus globerulus*
pCITI	100	NU	NU	Anilin	*Pseudomonas* sp.
pEB	253	NU	NU	Ethylbenzol	*Pseudomonas fluorescens*
pRE4	105	NU	NU	Isopropylbenzol	*Pseudomonas putida*
pWW174	200	+	NU	Benzol	*Acinetobacter calcoaceticus*
pVI150	mega	+	P-2	Phenol, Cresole, 3,4-Dimethylphenol	*Pseudomonas* sp.

(Fortsetzung)

Tab. 6.5 (Fortsetzung)

Plasmid	Größe (kb)	konjugativ	Inkompatibilitätsgruppe	Substrate	Wirt
ZENTRALE SEQUENZ					
pAC25	117	+	P-9	3-Chlorbenzoat	*Pseudomonas putida*
pJP4	77	+	P-1	3-Chlorbenzoat, 2,4-D	*Cupriavidus necator*
pBR60	85	+	NU	3-Chlorbenzoat	*Alcaligenes* sp.
pP51	100	–	NU	1,2,4-Trichlorbenzol	*Pseudomonas* sp.

NU: nicht untersucht;
2,4-D: 2,4-Dichlorphenoxyacetat;
Inkompatibilität (Unverträglichkeit): zwei Plasmide der selben Gruppe sind nicht stabil in einer Zelle, ein Plasmid geht verloren oder es bildet sich ein Cointegrat-Plasmid

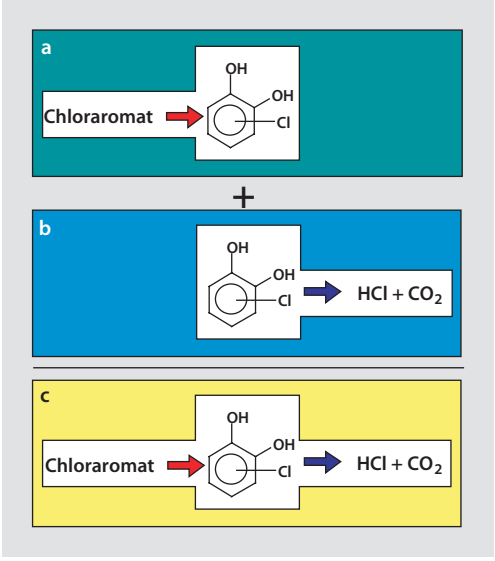


Abb. 6.61 Generelles Prinzip der Konstruktion der Abbauwege

Lindan, das als Fraß- und Kontaktgift wirkt, war bis zum Anfang der 80er Jahre eines der am häufigsten verwendeten Insektizide weltweit. Es wurde gegen Bodenschädlinge, zur Behandlung von Saatgut, zur Bekämpfung von Parasiten bei Nutztieren, zum Holzschutz und in Insektensprays eingesetzt.

Die HCHs sind schlecht wasserlöslich, kaum flüchtig und persistent. Aufgrund dessen können sie in der Nahrungskette angereichert werden. Im Boden werden sie sorbiert, sodass ein Transport durch Sickerwasser in das Grundwasser nur in geringem Ausmaß stattfindet. Lindan und die Nebenprodukte bilden aufgrund ihrer Persistenz und Ökotoxizität ein Gefährdungspotenzial. Dies gilt besonders für ehemalige Produktionsstätten.

Lindan wurde nicht in die POP-Liste aufgenommen. Die Verwendung des Stoffes ist heute verboten.

Die Geschwindigkeiten der biologischen Umsetzungen werden durch die Wasserlöslichkeiten begrenzt. Wie bei den PAK schränkt die Geschwindigkeit der Desorption beziehungsweise des Nachlösens die Möglichkeiten der Verbesserung von Abbauleistungen ein. Die biologische Abbaubarkeit der HCHs wird durch die räumliche Stellung der Chloratome am Ring beeinflusst. Daneben sind deutliche Unterschiede in der Abbaugeschwindigkeit wie auch im Abbaugrad in Abhängigkeit von den Umweltbedingungen (oxisch oder anoxisch)

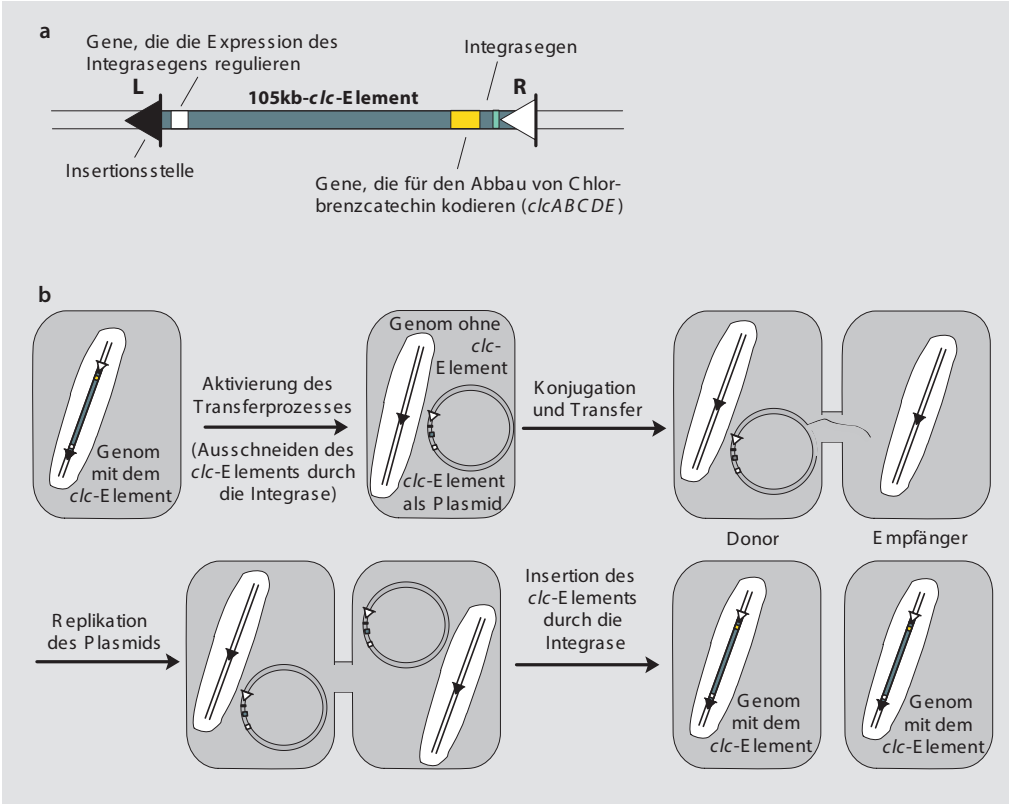


Abb. 6.62 Die Gene, die für den Chlorbrenzcatechin-Abbauweg in *Pseudomonas* sp. Stamm B13 kodieren, sind auf dem *clc*-Element integriert im Chromosom lokalisiert („genomic island")

feststellbar. Der Schwerpunkt von Untersuchungen zum biologischen Abbau der HCHs lag überwiegend auf landwirtschaftlich orientierten Untersuchungen zum Verbleib von Lindan, mit dem Ergebnis, dass es unter aeroben Bedingungen langsamer als unter anaeroben dechloriert wird.

Es gibt keine Anzeichen für einen biologischen Abbau von β-HCH (hier stehen alle Chlorsubstituenten äquatorial).

Anaerob wird γ-HCH relativ schnell reduktiv dechloriert. Als Produkt entsteht durch Abspaltung von 2 HCl und Bildung von Doppelbindungen 1,3,4,6-Tetrachlorcyclohexen, das weiter zu Chloraromaten oxidiert wird (Abb. 6.67). α-HCH ist unter anaeroben Bedingungen schlechter abbaubar als γ-HCH und reichert sich daher in Böden relativ an. Es kann wie γ-HCH, aber anscheinend nur langsam unter Bildung von Chloraromaten reduktiv dechloriert werden.

Aerob wird aus α-HCH ebenfalls im ersten Schritt durch Dehydrodehalogenierung HCl abgespalten. Das dabei gebildete α-Pentachlorcyclohexen scheint labiler zu sein als das γ-Isomer, denn es ist mineralisierbar. Bei Zugabe gut verwertbarer Nährstoffe kann eine Mineralisierung aber auch unterbleiben.

Die für eine biologische Sanierung wichtige Frage, ob die abbaubaren HCH-Isomeren besser anaerob oder aerob und zu welchen Endprodukten umgesetzt werden können, lässt sich anhand der vorliegenden Ergebnisse aus der Praxis nicht beantworten.

Es gibt bakterielle Isolate, die Lindan als Kohlenstoff- und Energiequelle nutzen

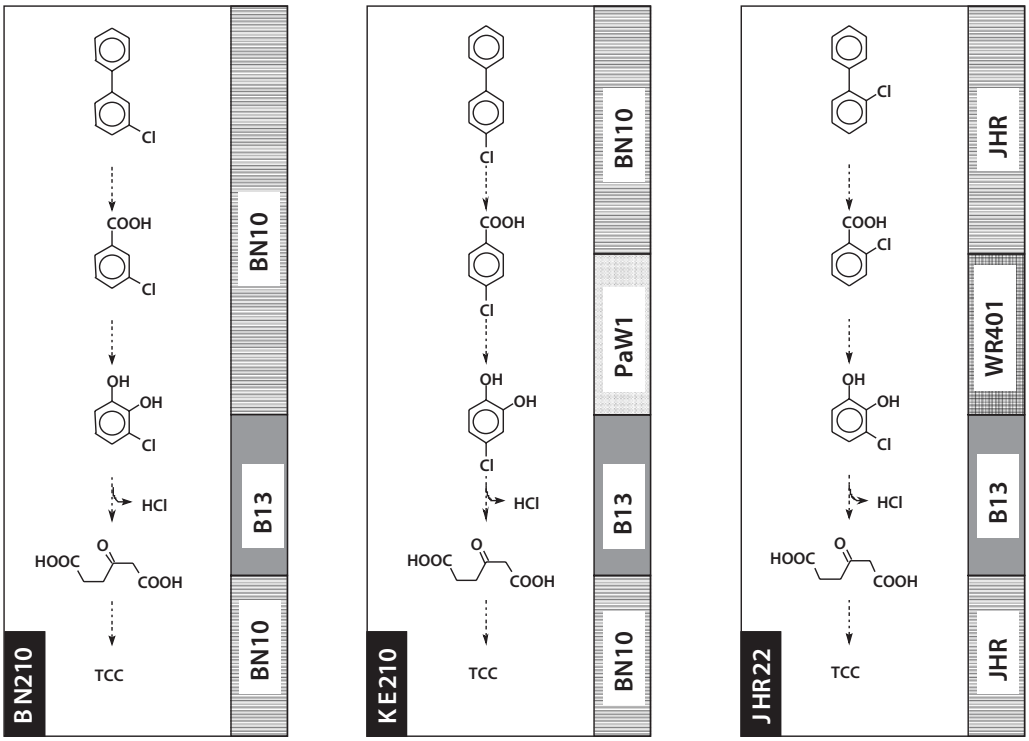


Abb. 6.63 Mosaikstruktur der Wege für den Abbau von Chlorbiphenylen durch im Labor erzeugte „neue" Stämme

können. Der Abbauweg ist für *Sphingomonas paucimobilis* in Abb. 6.68. dargestellt, wobei die Bildung der Dead-End-Produkte 1,2,4-Trichlorbenzol und 2,5-Dichlorphenol nicht berücksichtigt wurde. Einleitend werden zwei Dehydrohalogenierungen von zwei hydrolytischen Dechlorierungsschritten gefolgt. Rearomatisierung zum 2,5-Dichlorhydrochinon und glutathionabhängige reduktive Dechlorierung schließen sich an.

6.2.3 Abbau von Triazinen

Eine wichtige Wirkstoffgruppe bei den Herbiziden sind die Triazine, mit den Vertretern Atrazin, Simazin und Terbuthylazin. Diese Herbizide werden im Maisanbau verwendet. Ihre Wirkung als Herbizid beruht auf der Hemmung des Elektronentransfers bei der Photosynthese. In der Maispflanze wird das Herbizid jedoch schnell durch Umwandlung in die nicht auf die Photosynthese einwirkende Hydroxyverbindung desaktiviert, weshalb die Triazine im Maisanbau als selektive Totalherbizide angewendet werden. Atrazin wurde auch zur Unkrautbekämpfung im Spargel-, Kartoffel- und Tomatenanbau eingesetzt (Abb. 6.69).

Atrazin besitzt eine relativ hohe Wasserlöslichkeit (33 mg/L) und einen geringen Verteilungskoeffizienten (K_{ow} 25–155). Beide führen dazu, dass das Herbizid eine relativ hohe Mobilität vom Boden in Oberflächengewässer und Grundwasser zeigt. Atrazin sorbiert wenig an Boden- und Sedimentpartikel, es gilt als schwer abbaubar und kann daher in das Grundwasser ausgewaschen werden. Mit Bodenkolonen wurde gezeigt, dass Atrazin im gesättigten Boden schneller als Terbuthylazin wandert.

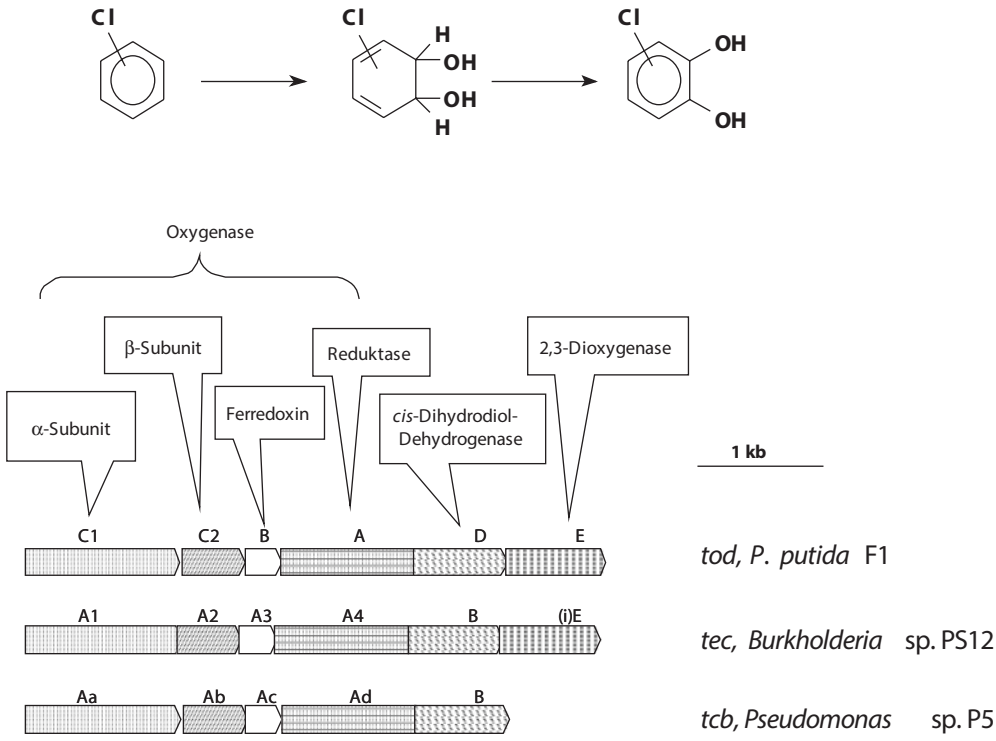


Abb. 6.64 „Upper pathway gene cluster", die für (Chlor)benzol-Dioxygenase, (Chlor)benzoldihydrodiol-Dehydrogenase und Brenzcatechin-2,3-Dioxygenase mit Funktion im Toluol- beziehungsweise Chlorbenzolabbau kodieren

Seit 1991 besteht in Deutschland und Frankreich für Atrazin ein vollständiges, für Simazin ein eingeschränktes Anwendungsverbot. Terbuthylazin ist zugelassen und hat Atrazin teilweise ersetzt. Auf europäischer Ebene wird die Aufnahme des Wirkstoffs auf eine Positivliste zulassungsfähiger Wirkstoffe geprüft.

In Deutschland wurden trotz des Anwendungsverbotes die Stoffe Atrazin, Simazin, wie auch der Metabolit Deethylatrazin im Grundwasser in Konzentrationen nachgewiesen, die den jeweiligen Grenzwert der Trinkwasserverordnung von 0,1 µg/L überschreiten. Zwei Drittel der im Grundwasser Deutschlands gefundenen Pflanzenschutzmittel gehören der Herbizidgruppe der 1,3,5-Triazine an (UBA, 2000).

Die Isolierung von Mikroorganismen für den Abbau von Atrazin ist möglich, da manche die N-heterocyclische Ringstruktur sowohl als Kohlenstoff- und Energie- als auch als Stickstoffquelle nutzen können. Organismen, die mit Atrazin wachsen sind *Agrobacterium radiobacter, Pseudoaminobacter* sp. *Pseudomonas* ssp. und *Ralstonia* sp. In *Pseudomonas* sp. Stamm ADP verläuft die links in Abb. 6.70 gezeigte Sequenz. Einleitende, hydrolytische Reaktionen, die den Chlorsubstituenten sowie die beiden Alkylseitengruppen eliminieren, bilden Cyanursäure, den zentralen Metabolit. Die Gene *atzA-C,* die die hydrolytischen Enzyme kodieren, sind bekannt. Weitere drei hydrolytische Schritte setzen die Mineralisierung der Cyanursäure zu CO_2 und NH_3 fort.

Die rechts gezeigten dealkylierten Metabolite (Deethyl- und Deisopropylatrazine) fand man bei Untersuchungen mit Boden.

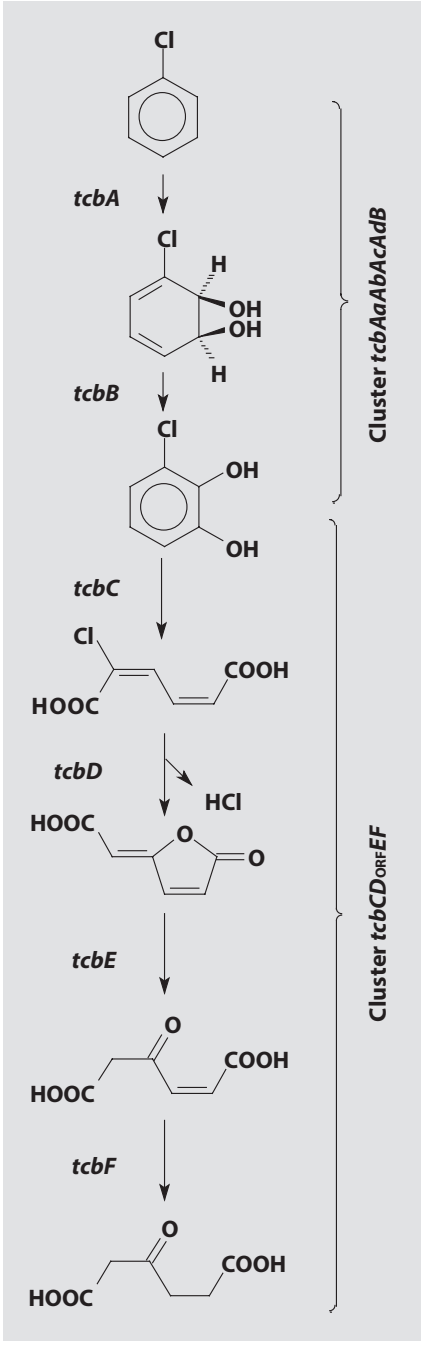


Abb. 6.65 Abbau von Chlorbenzol durch *Pseudomonas* sp. Stamm P51. Der Stamm wurde mit 1,2,4-Trichlorbenzol als Wachstumssubstrat aus dem Rhein isoliert. Die aus verschiedenen Quellen stammenden Gencluster sind gezeigt

6.2.4 Abbau von Chloraliphatischen Verbindungen

6.2.4.1 Umweltproblem am Beispiel der leichtflüchtigen Chlorkohlenwasserstoffe

Die **leichtflüchtigen Chlorkohlenwasserstoffe**, abgekürzt **LCKW,** gehören zu den problematischen Chemikalien mit Risiken für die Umwelt. Zu ihnen zählen Chlorethene, Chlorethane und Chlormethane. Bedingt durch ihre physiko-chemischen Eigenschaften (LCKW haben ausgezeichnete öl- und fettlösende Eigenschaften und sind mit Ausnahme des unbrennbaren Tetrachlorethen und 1,1,2-Trichlorethan nur schwer brennbar) sind die Einsatzbereiche der LCKW äußerst vielfältig (Tab. 6.6).

Als Schwerpunkte der Anwendungsgebiete der gebräuchlichsten LCKW außerhalb der chemischen Industrie können folgende Bereiche angesehen werden: Metallentfettung, chemische Reinigung oder – in geringen Mengen – als Lösemittel in Klebstoffen und Lacken. Sie sind ferner wichtige synthetische Chemikalien.

Aufgrund der hohen Anwendungsmengen und der Einsatzbereiche sind PER und TRI in der Umwelt weitverbreitet. Das Verhalten in und zwischen Umweltkompartimenten wird durch die recht gute Wasserlöslichkeit und hohe Flüchtigkeit bestimmt. Die Verbindungen sind durch eine relativ große Mobilität in Wasser und Atmosphäre charakterisiert. Obwohl einfache Verteilungsmodelle voraussagen, dass sie sich überwiegend in der Atmosphäre aufhalten sollten, zeigt sich, dass sie eine Gefahr für das Grundwasser darstellen.

Sie sind sehr mobil im Untergrund. Ihre hohe Dichte bedingt eine rasche Verfrachtung in tiefere Bodenschichten. Sorption an Böden erfolgt in Abhängigkeit des Gehaltes an organischem Kohlenstoff, insgesamt ist die Stoffretention im Boden jedoch gering.

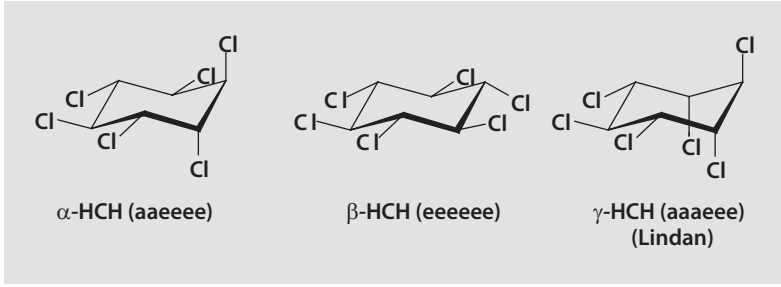


Abb. 6.66 Hauptstereoisomere HCHs im Lindan. (Konformation: a = axial, e = äquatorial)

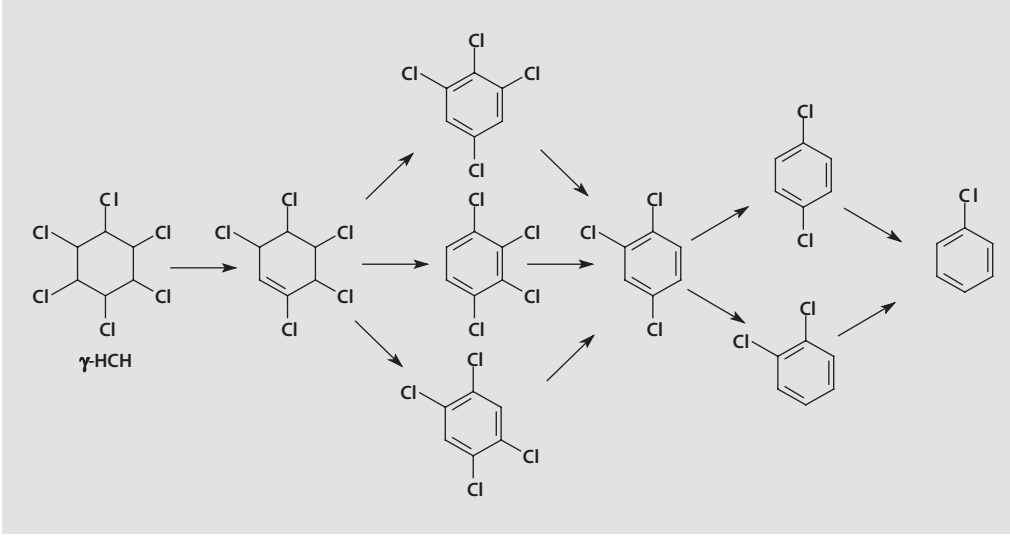


Abb. 6.67 Anaerober Abbau von γ-HCH

Die kinematische Zähigkeit der LCKW, die wesentlich unter jener von Wasser liegt, führt zusammen mit der relativ hohen Dichte dazu, dass sie in andere Materialien – auch in feinporöse, wie zum Beispiel wasserundurchlässigen Beton – eindringen und diese durchdringen. Dadurch können sie leicht und rasch in den gewachsenen Boden gelangen.

Zu den ökologischen Risiken dieser Stoffgruppe gehören also:

- Grundwasserbelastungen aus Industriealtlasten (chemische und metallverarbeitende Industrie, chemische Reinigungen, Tierkörperbeseitigungsanlagen) und daraus resultierende Trinkwasserkontaminationen,
- die hohe aquatische Toxizität und die nur langsamen Abbauraten.

6.2.4.2 Möglichkeiten des mikrobiellen Abbaus von chloraliphatischen Verbindungen

Fünf verschiedene Typen von Wechselwirkung zwischen von Mikroorganismen und chloraliphatischen Verbindungen sind beobachtet worden:

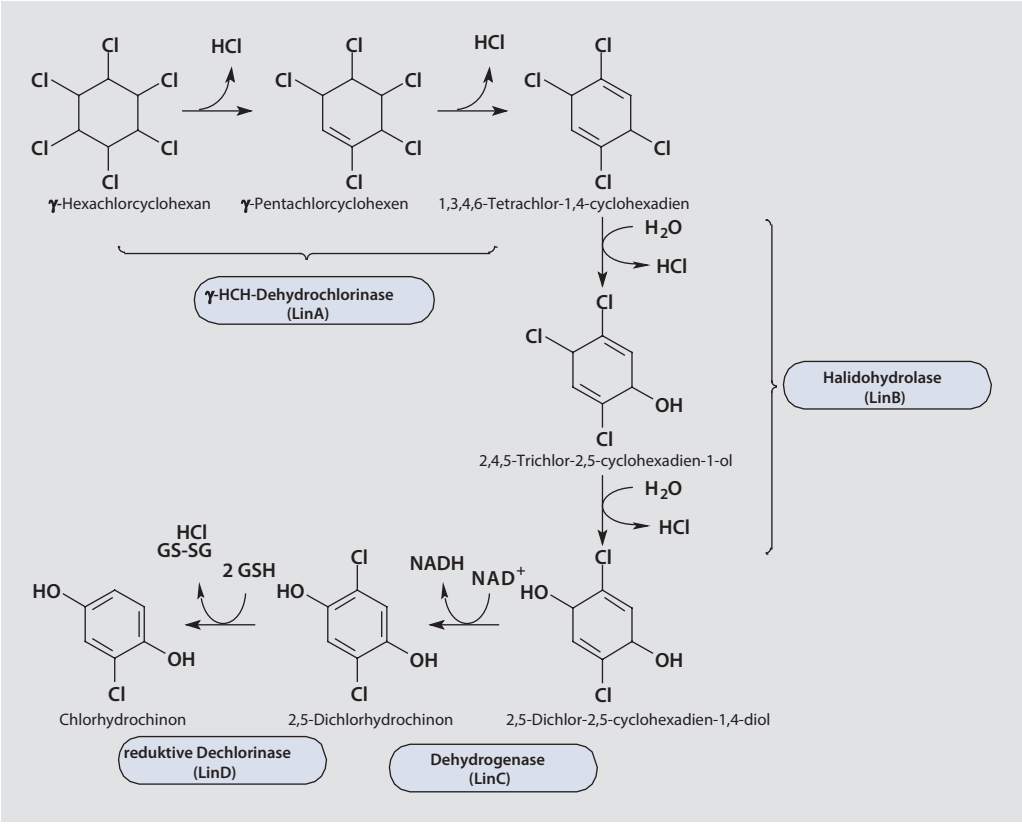


Abb. 6.68 Abbauweg für γ-HCH durch *Sphingomonas paucimobilis*

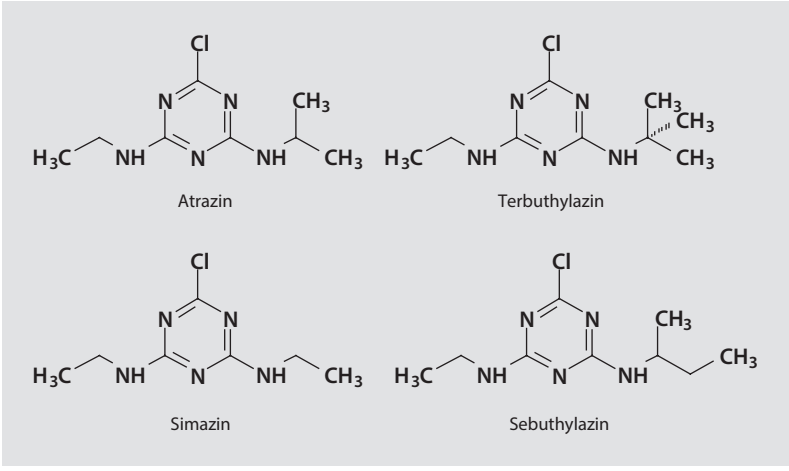


Abb. 6.69 Wichtige Triazine

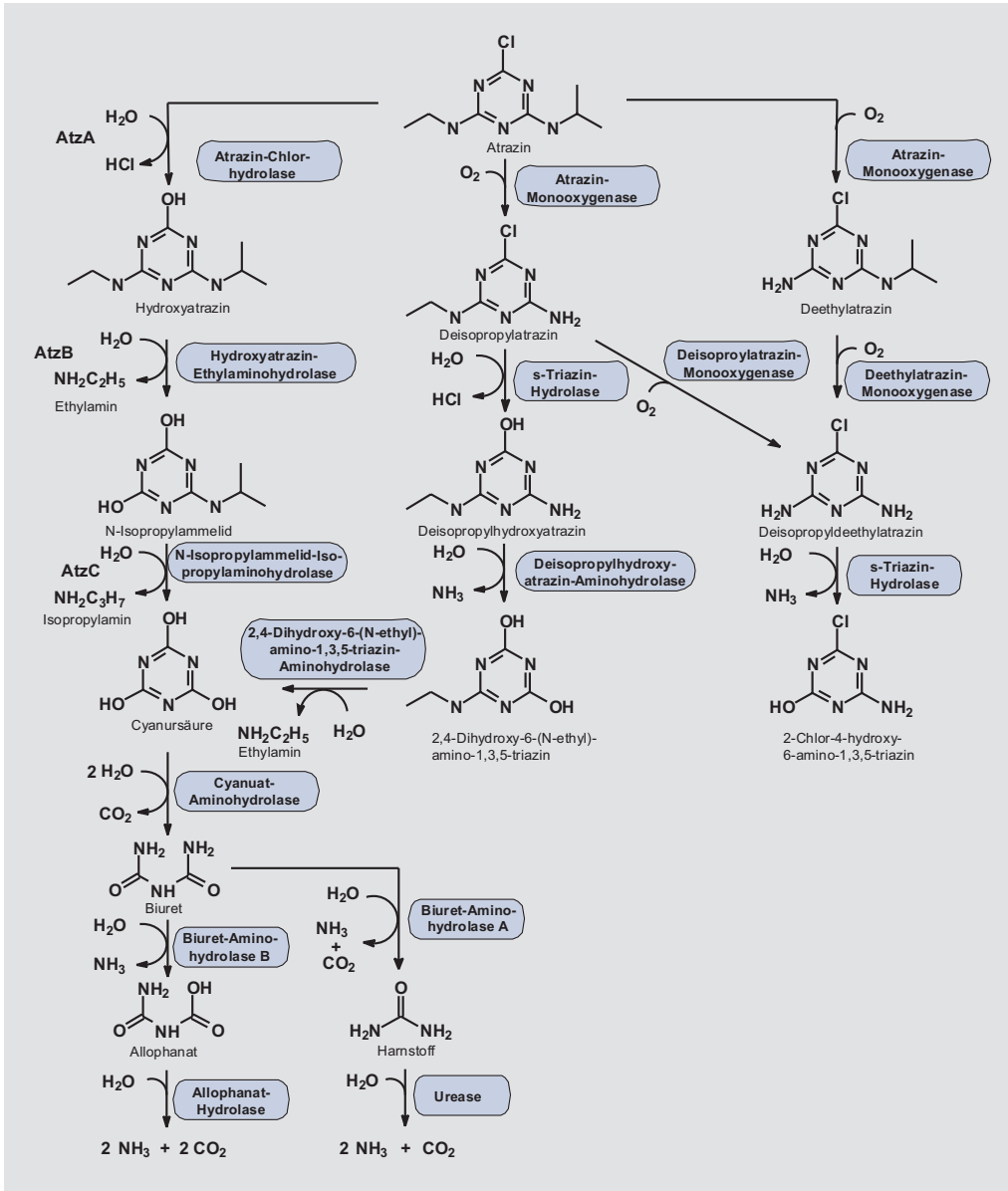


Abb. 6.70 Abbau von Atrazin

Tab. 6.6 Gebräuchliche LCKWs mit ihren Stoffeigenschaften und Produktionsmengen

Stoffeigenschaft	Trichlorethen (Trichlorethylen, Tri, TRI)	Tetrachlorethen (Perchlorethylen, TCE, Per, PER, PCE, Tetrachlorethylen)	Dichlormethan (Methylenchlorid)	Trichlormethan (Chloroform)	1,1,1-Trichlorethan (Methylchloroform)
Dampfdruck bei 20 °C (mm Hg)	60	14	349	155	100
Wasserlöslichkeitbei 20 °C (g/L)	1,1	0,149	13,2	8,22	4,4
K_H (atm m^3/mol)	0,0103	0,0096	0,003	0,0042	0,0049
Dichte bei 20 °C	1,46	1,626	1,3255	1,489	1,35
$\log P_{ow}$	2,29	2,53	1,25	1,97	2,17
Produktion (1000 t/a)	74 EU (2000) 93 US (2001)	70 EU (2000) 152 US (2001)	147 EU (2000) 90,7 US (2003)	297 US (2003)	**verboten**[a]

[a]Nach EU-Verordnung für ozonabbauende Stoffe;
in Klammern sind gebräuchliche Abkürzungen und andere Bezeichnungen angegeben
US-Daten: ► http://www.the-innovation-group.com/chemprofile.htm und
EU-Daten: ► http://ecb.jrc.it/existing-chemicals

1. Die Substanz dient als alleinige **Kohlenstoff- und Energiequelle** für das Wachstum aerober bakterieller Reinkulturen (◘ Tab. 6.7).
2. Die Substanz dient als **Wachstumssubstrat** für Organismen, die einen anderen Elektronenakzeptor als Sauerstoff verwenden **(Nitratatmung).**
3. Die Substanz dient als Wachstumssubstrat in einer **Acetogenese.**
4. Die Substanz dient nur als Substrat für Enzyme in aeroben and anaeroben Bakterien, wobei die Mikroorganismen auf einer anderen Verbindung wachsen, **Cometabolismus** (◘ Tab. 6.8 und 6.9).
5. Die Substanz wird als **Elektronenakzeptor** unter anaeroben Bedingungen verwendet (◘ Tab. 6.10).

Die Chloraliphaten können also von Mikroorganismen **genutzt werden** oder es findet nur eine Transformation **zufällig und ohne Nutzen** statt, wobei in beiden Fällen Dechlorierung auftreten kann.

Die meisten LCKW können sowohl oxisch, als auch bei Fehlen von Sauerstoff, anoxisch abgebaut werden. Die Standortbedingungen entscheiden dann, welcher der möglichen Abbauwege beschritten wird. Eine Ausnahme bildet das PER: Es lässt sich bis heute nur anaerob abbauen.

6.2.4.2.1 Aerobes Wachstum mit Chloraliphaten

◘ Tab. 6.7 fasst die von aeroben Bakterien als Kohlenstoff- und Energiequelle nutzbaren Chloraliphaten zusammen. TRI ist im Closed-bottle-Test (OECD 301D) als **nicht leicht abbaubar** beurteilt worden. Man findet auch keine Reinkulturen, die mit dieser Substanz wachsen.

Verschiedene Typen von Enzymen sind in der Lage als Dehalogenasen zu fungieren: Hydrolasen, Lyasen, Hydratasen, Glutathion-Transferasen, Monooxygenasen und Methyltransferasen. Dies soll am Beispiel von Dichlorethan, 1,3-Dichlorpropen, Dichlormethan, Chlormethan und Chlorcrotonat gezeigt werden.

- **Dichlorethan**

Zwei hydrolytische Dehalogenasen sind am Abbau von 1,2-Dichlorethan in *Ancylobacter aquaticus* und *Xanthobacter autotrophicus* beteiligt. Die Verbindung wird in vier nacheinander ablaufenden Schritten über 2-Chlorethanol, Chloracetaldehyd und Chloracetat zum Glycolat abgebaut, bevor es die zentralen Wege erreicht (◘ Abb. 6.71). Die Dehalogenase (DhlA), die 1,2-Dichlorethan umsetzt, gehört zur sogenannten α/β-Hydrolase-Gruppe. Eine spezielle Aldehyd-Dehydrogenase ist dann notwendig für die Umsetzung des toxischen Aldehyds. Die weitere Umsetzung wird durch die Chloracetat-Dehalogenase (DhlB) durchgeführt, eine L-spezifische Halocarbonsäure-Dehalogenase.

In *Pseudomonas* sp. DCA1 leitet eine Monooxygenase-Reaktion den Abbau von 1,2-Dichlorethan ein. Der Organismus zeigt sehr hohe Affinität für das Substrat. Die Oxidation führt zur Bildung des instabilen Intermediates, 1,2-Dichlorethanol, welches spontan Chlorid freisetzt und so Chloracetaldehyd bildet Der weitere Abbau verläuft über den für *Ancylobacter aquaticus* und *Xanthobacter autotrophicus* beschriebenen Weg.

- **1,3-Dichlorpropen**

Eine Haloalkan-Dehalogenase, die 1,3-Dichlorpropen zu 3-Chloroallylalkohol hydrolysiert, wurde in *Pseudomonas cichorii* charakterisiert. Der Gesamtabbauweg mit dem zweiten Dechlorierungsschritt ist in ◘ Abb. 6.72 dargestellt.

- **Dichlormethan**

Glutathion-Transferasen führen im Abbau von halogenierten Verbindungen die nucleophile Entfernung eines Halogensubstituent und weiter den spontanen Zerfall des resultierenden Glutathionaddukts durch (◘ Abb. 6.73). Erste Hinweise auf die

Tab. 6.7 Halogenierte Aliphaten als Wachstumssubstrate für aerobe bakterielle Reinkulturen

Substrate		Andere, gebräuchliche Bezeichnungen	Formeln
Haloalkane	Chlormethan	Methylchlorid	CH_3Cl
	Dichlormethan	Methylendichlorid	CH_2Cl_2
	Chlorethan	Ethylchlorid	CH_3CH_2Cl
	1,2-Dichlorethan	Ethylendichlorid	CH_2ClCH_2Cl
	1-Chlorpropan		$CH_3CH_2CH_2Cl$
	1-Bromoctan		$CH_3(CH_2)_6CH_2Br$
	1-Chloroctan		$CH_3(CH_2)_6CH_2Cl$
	1,3-Dichlorpropan		$CH_2ClCH_2CH_2Cl$
	1,9-Dichlornonan		$CH_2Cl(CH_2)_7CH_2Cl$
Haloalkene	Chlorethen	Vinylchlorid	$CH_2=CHCl$
	1,3-Dichlorpropen	Allyldichlorid	$CH_2ClCH=CHCl$
Haloalkanole	2-Chlorethanol		CH_2CH_2OH
	2,3-Dichlor-1-propanol		$CH_2ClCHClCH_2OH$
	1,3-Dichlor-2-propanol		$CH_2ClCHOHCH_2Cl$
Haloalkenole	2-Chlorallyl alkohol		$CH_2=CClCH_2OH$
	3-Chlorallyl alkohol		$CHCl=CHCH_2OH$
Haloalkanoate	Chloracetat		$CH_2ClCOOH$
	Dichloracetat		$CHCl_2COOH$
	Trichloracetat		CCl_3COOH
	2,2-Dichlorpropionat		CH_3CCl_2COOH
Haloalkenoate	3-Chloracrylat		$CHCl=CHCOOH$
	3-Chlorcrotonat		$CH_3CCl=CHCOOH$

Beteiligung von Glutathion-Transferasen bei der bakteriellen Dehalogenierung wurden mit den fakultativ und obligat Methylotrophen der Genera *Hyphomicrobium* und *Methylobacterium* erhalten, die Dichlormethan als Kohlenstoffquelle zum Wachstum verwenden.

Dichlormethan-Dehalogenasen sind untypische Enzyme unter den Glutathion-*S*-Transferasen. Im Gegensatz zu den meisten Enzymen der Glutathion-*S*-Transferase-Superfamilie ist ihr Substratspektrum sehr eng und auf Dihalomethane beschränkt. Halomethane und Dihaloethane werden nicht umgesetzt.

▪ Chlormethan

Aerobe methylotrophe Bakterien der Genera *Hyphomicrobium* und *Methylobacterium* sind charakterisiert worden, die Chlormethan als Wachstumssubstrat nutzen können. Physiologische und genetische Untersuchungen zeigten, dass *Methylobacterium* sp. Chlormethan durch einleitende Dehalogenierung über eine Methyltransfer-Reaktion

Tab. 6.8 Beispiele für halogenierte aliphatische Verbindungen als Substrate für cometabolische Prozesse: *aerobe Transformation*

Transforma-tionssubstrat	Wachstumssubstrat	Organismen: Enzym
Trichlorethen	Methan	*Methylosinus trichosporium, Methylocystis* ssp., *Methylomonas methanica, Methylococcus capsulatus*
	Propan	*Mycobacterium vaccae*, *Rhodococcus* ssp.
	Phenol	*Burkholderia cepacia*, *Ralstonia eutropha*
	Toluol	*Pseudomonas putida*: Toluol-2,3-Dioxygenase *Burkholderia cepacia*: Toluol-2-Monooxygenase *Burkholderia pickettii:* Toluol-3-Monooxygenase *Pseudomonas mendocina:* Toluol-4-Monooxygenase
	Cumol	*Rhodococcus erythropolis*
	Propen	*Xanthobacter* sp.
	Isopren	*Alcaligenes denitrificans* spp. *xylosoxidans*
	Ammoniak	*Nitrosomonas europaea*
Chloroform	Toluol	*Pseudomonas* sp.: Toluol-2-Monooxygenase *Pseudomonas mendocina:* Toluol-4-Monooxygenase
Vinylchlorid	Propan	Actinomycetales, *Rhodococcus* ssp.

Tab. 6.9 Beispiele für halogenierte aliphatische Verbindungen als Substrate für cometabolische Prozesse: *anaerobe Transformation durch Reinkulturen*

Transformationssubstrat	Nachgewiesene Produkte	Organismen
Tetrachlormethan	Trichlormethan, Dichlormethan, Chlormethan, CO_2	*Methanobacterium thermoautotrophicum, Methanosarcina barkeri, Desulfobacterium autotrophicum, Acetobacterium woodii, Clostridium thermoaceticum, Shewanella putrefaciens*
Trichlormethan	Dichlormethan, Chlormethan	*Methanosarcina* spp.
1,2-Dichlorethan	Chlorethan, Ethen	Methanogene
1,1,1-Trichlorethan	1,1-Dichlorethan	*Methanobacterium thermoautotrophicum, Desulfobacterium autotrophicum, Acetobacterium woodii, Clostridium* sp.
Bromethan	Ethan	Methanogene
1,2-Dibromethan	Ethen	Methanogene
Tetrachlorethen	Trichlorethen	Methanogene, *Desulfomonile tiedjei*, *Methanosarcina* sp., *Acetobacterium woodii*
1,2-Dibromethen	Acetylen	Methanogene

Tab. 6.10 Bakterien, die Tetrachlorethen als Elektronenakzeptor nutzen, sowie die dabei gebildeten Produkte

Stamm	Elektronendonor	Elektronenakzeptor	Dechlorierungsprodukt aus PER
Sulfospirillum (Dehalospirillum) multivorans	H_2, Formiat, Lactat, Pyruvat, Ethanol, Glycerol	PER, TRI	*c*DCE
Dehalobacter restrictus PER-K23[a]	H_2	PER, TRI	*c*DCE
Desulfitobacterium sp. PCE-1	Formiat, Lactat, Pyruvat, Ethanol, Butyrat, Succinat	PER	TRI
Desulfitobacterium frappieri PCE-S	H_2, Acetat, Pyruvat	PER, TRI	*c*DCE
Dehalococcoides ethenogenes 195	H_2	PER, TRI	Ethen
Desulfuromonas chloroethenica TT4B	Acetat, Pyruvat	PER, TRI	*c*DCE
Desulfitobacterium frappieri TCE1	H_2, Formiat, Lactat, Ethanol, Butyrat, Crotonat	PER, TRI	*c*DCE

[a]Eine Eigentümlichkeit von *Dehalobacter restrictus* ist, dass bisher nur PER als Elektronenakzeptor benutzt werden kann. Als „natürlicher" Akzeptor könnten Huminstoffe fungieren

metabolisiert. Eine Reihe von Dehydrogenase-abhängigen Schritten folgt, die verschieden zu den nachfolgenden Schritten des Methanolmetabolismus im gleichen Organismus sind. Dichlor- und Trichlormethan sind weder Wachstumssubstrat noch werden sie durch Zellen von *Methylobacterium* sp. dechloriert, welches die hohe Spezifität des Dechlorierungsschrittes verdeutlicht (◘ Abb. 6.74).

- **Chlorcrotonat und Chlorbutyrat**

Es gibt Hinweise darauf, dass die Dehalogenierung von chlorierten Carbonsäuren nach der Bildung der CoA-Derivative erfolgen kann (◘ Abb. 6.75). Es wurde gezeigt, dass die Dechlorierung von *trans*-3-Chlorocrotonat und 3-Chlorbutyrat, die als Kohlenstoff- und Energiequelle durch *Alcaligenes* sp. verwendet werden, nach der Aktivierung der Säure zum jeweiligen Coenzym A Derivativ durchgeführt wird. Die Dechlorierungsreaktion ist nicht verstanden. Derselbe Mechanismus könnte auch in den Organismen benutzt werden, die mit Chlorallylalkoholen wachsen.

6.2.4.2.2 Cometabolischer Abbau

Es sind bisher keine Organismen als Reinkulturen isoliert worden, die TRI oder Chloroform als Kohlenstoff- und Energiequelle nutzen können. Folglich sucht man nach alternativen Umsetzungen zum Beispiel Cooxidationsreaktionen.

- **Aerobe cometabolische Prozesse**

Monooxygenasen, deren Funktion die Oxidation von Naturstoffen wie Methan, Propan, Alkylarene (Toluol, Cumol) oder Alkene (Propen, Isopren) aber auch Phenol oder Ammoniak ist, wurden als wirksam für die Dechlorierung von Chlorethenen außer PER herausgefunden. Ferner wurden **Dioxygenase,** die im Abbau von Toluol oder Cumol

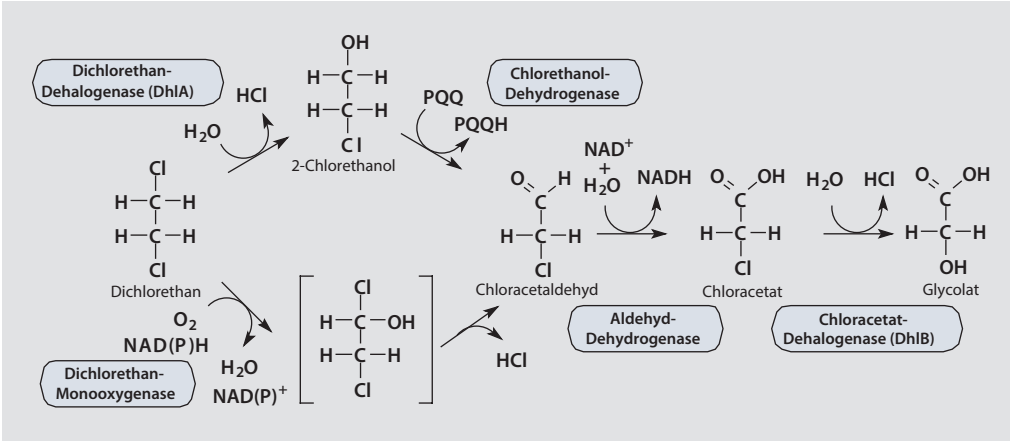


Abb. 6.71 Abbauweg für 1,2-Dichlorethan in *Ancylobacter aquaticus* und *Xanthobacter autotrophicus* (oben) und *Pseudomonas* sp. Stamm DCA1 (unten)

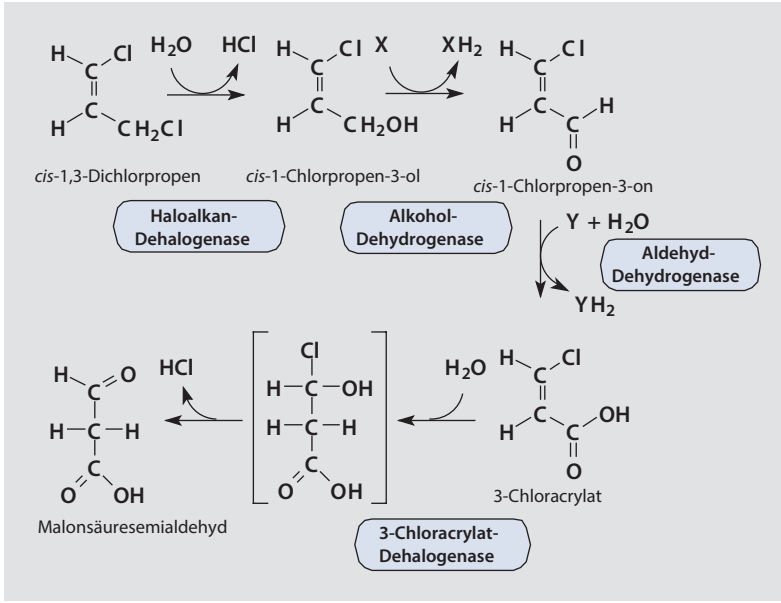


Abb. 6.72 *cis*-1,3-Dichlorpropenabbau. Der Weg funktioniert auch für das *trans*-Isomere (X und Y = unbekannt)

fungieren, auf die Fähigkeit der Dechlorierung von TRI hin untersucht. Insgesamt beschäftigt sich die Mehrzahl der Untersuchungen mit der Möglichkeit der Beseitigung von TRI.

Der Umsatz von TRI mit den ursprünglich am häufigsten untersuchten Methan-Monooxygenasen führte zu einer Vielzahl von Produkten und auch teilweise Dechlorierung (Abb. 6.76). Eine schnelle Inaktivierung der Enzyme der Methylotrophen während der Transformation des TRI wurde jedoch beobachtet.

Als besonders wirksam haben sich isoprenabbauende Bakterienstämme erwiesen.

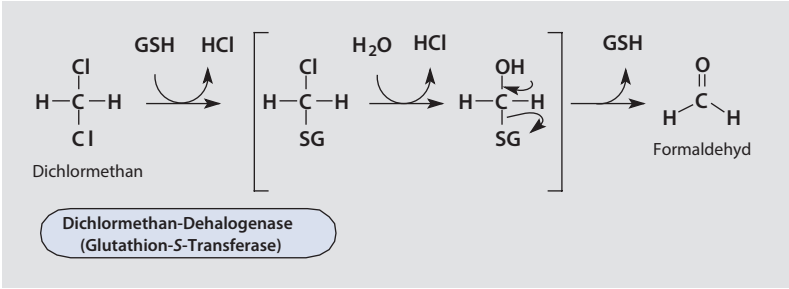


Abb. 6.73 Dichlormethanabbau

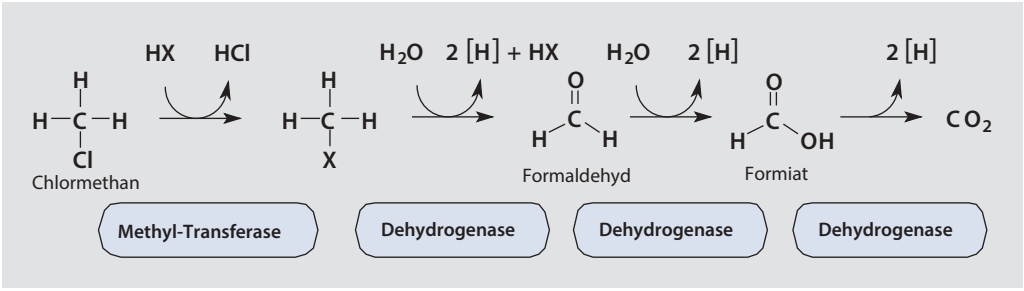


Abb. 6.74 Chlormethanabbau (X = unbekannt)

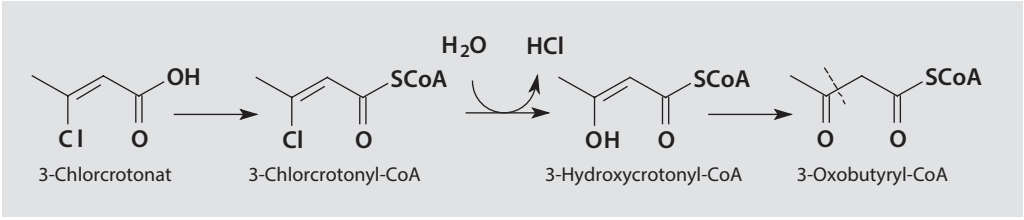


Abb. 6.75 Vorgeschlagene Abbausequenz für *trans*-3-Chlorcrotonat

Das durch die Monooxygenase im Isoprenabbau gebildete 3,4-Epoxy-3-methyl-1-buten (Isoprenoxid) wird zum Diol hydrolysiert (Abb. 6.77). Diese Enzymaktivität scheint es den isoprenabbauenden Zellen zu ermöglichen, dass sie im Gegensatz zu methylotrophen Bakterien hohe Konzentrationen an TRI tolerieren. Es wurde angenommen, dass die Methan-Monooxygenase der methylotrophen Bakterien durch das bei der Cooxidation von TRI entstehende Epoxid schnell inaktiviert wird. Andere Intermediate, die aus dem Epoxid durch nicht-enzymatische Hydrolyse oder Isomerisierung entstehen wie Glyoxyl-, Ameisen- und Dichloressigsäurechlorid oder Dichlorcarben, scheinen jedoch die eigentlichen Agenzien für die Enzymschädigung in den methylotrophen Bakterien zu sein. Bei isoprenabbauenden Zellen liefern nach der Diolbildung die nachfolgenden Reaktionen ohne Aktivitätsverlust drei Äquivalente Chlorid. Der Vorteil von Isopren gegenüber Methan als Cosubstrat wird darin gesehen,

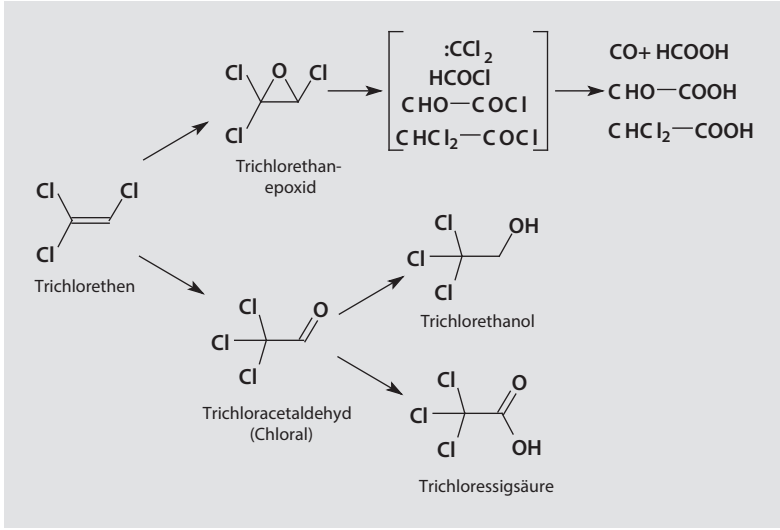


Abb. 6.76 Oxidation von Trichlorethen durch die Monooxygenase von *Methylosinus trichosporium.* oben: Hauptreaktion, unten: Nebenweg; in der Klammer: reaktive Produkte der Isomerisierung beziehungsweise Hydrolyse des Epoxides

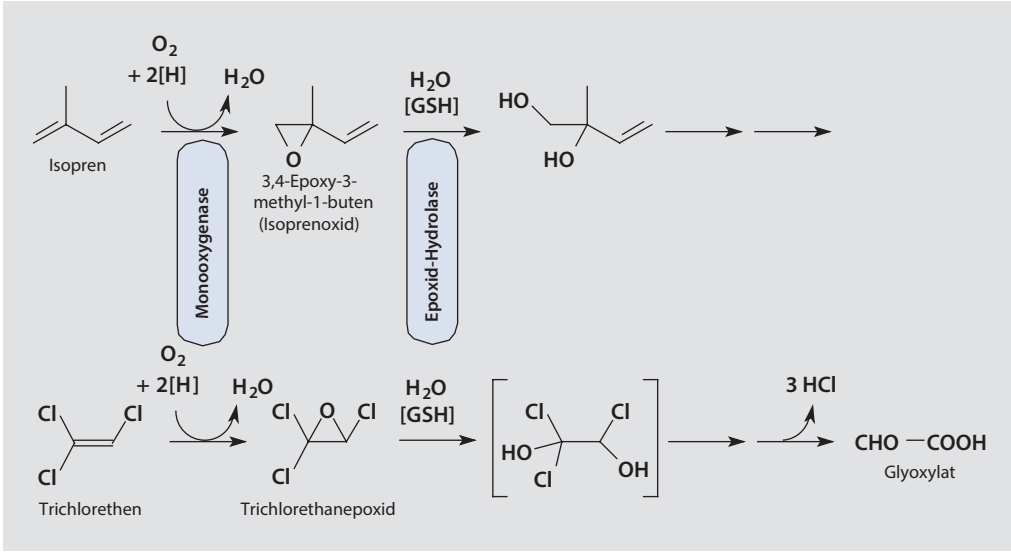


Abb. 6.77 Initialreaktionen des Abbaus von Isopren (oben) und des Cometabolismus von Trichlorethen durch *Rhodococcus erythropolis* (unten)

dass durch die Epoxid-Hydrolase drei Äquivalente Chlorid abgespalten werden und eine Inaktivierung weitgehend unterbleibt.

Eine stöchiometrische Freisetzung von Chlorid aus TRI wird auch beobachtet, wenn die Substanz durch Bakterien umgesetzt wird, die mit Cumol (Isopropylbenzol) als Energiesubstrat isoliert worden sind. Offensichtlich ist die direkte Bildung des instabilen Diols (1,2-Dihydroxy-1,1,2-trichlorethan) auf eine unspezifischen Isopropylbenzol-2,3-Dioxygenase zurückzuführen.

Weniger Inaktivierung wurde auch mit Toluol-2-Monooxygenase beim Umsatz von TRI beobachtet, Produkte sind CO, Formiat und Glyoxylat.

Festzuhalten ist, dass immer das natürliche Substrat gefüttert werden muss. Nur wenn immer neues Enzym gebildet wird, kann die Transformation erfolgen. TRI ist normalerweise kein Induktor für die cooxidierenden Enzyme, Anstrengungen zur Beseitigung dieses Problems werden unternommen.

▪ Anaerobe cometabolische Prozesse

Cometabolische Umsetzungen unter anaeroben Bedingungen wurden für eine Vielzahl von Chlor/Brom C_1- und C_2-Verbindungen untersucht. ◘ Tab. 6.9 fasst Daten mit Reinkulturen zusammen.

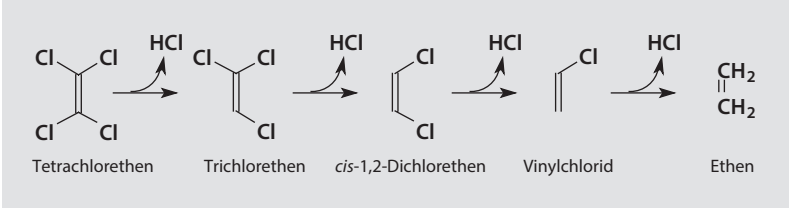
Ferner wurden Dechlorierungen insbesondere von PER und TRI in der Umwelt untersucht. Sukzessive können die Chlorsubstituenten mittels mikrobieller Populationen aus den Umweltproben eliminiert werden. Aus PER entsteht TRI. Im zweiten Abbauschritt wird TRI dann in *cis*-Dichlorethen (*c*DCE) umgewandelt. Das andere Stereoisomere, *trans*-Dichlorethen, entsteht in nennenswertem Umfang nur bei abiotischen Prozessen, also bei Vorgängen, die nicht an die Anwesenheit von Organismen gebunden sind. Der biologische Abbau von LCKW führt dagegen hauptsächlich zu *cis*-Dichlorethen , seine Bildung ist also ein Indiz für die Anwesenheit von mikrobieller Abbauaktivität für TRI und PER in einem Umweltmedium.

Der dritte Schritt der Dechlorierungssequenz wandelt *cis*-Dichlorethen in Vinylchlorid um. Das ist ein problematischer Metabolit, da krebserregend. Der biologische Abbau darf an dieser Stelle also keinesfalls zum Erliegen kommen. Dies verhindert der letzte Schritt der Dechlorierung, bei dem Vinylchlorid zu einer chlorfreien Verbindung umgewandelt wird, nämlich zu Ethen. In vielen Fällen bleibt der Abbau von TRI und PER aber auf der Stufe des *cis*-Dichlorethens stehen.

6.2.1.2.1 Chloraliphaten mit Nutzen für anaerobe Mikroorganismen

▪ Acetogenese von Chlormethanen

Chlor- und Dichlormethan können für anaerobe Organismen wie *Dehalobacterium formicoaceticum* als Wachstumssubstrat in einer Acetogenese dienen. Die Abbausequenz ist für Dichlormethan in ◘ Abb. 6.78 dargestellt. Es werden pro 3 Mol Dichlormethan 3 ATP sowie die Produkte Acetat und Formiat im molaren Verhältnis von 1:2 gebildet. Im ersten Reaktionsschritt werden durch die Dichlormethan-Dehalogenase



◘ **Abb. 6.78** Sukzessive Dechlorierung von Tetrachlorethen

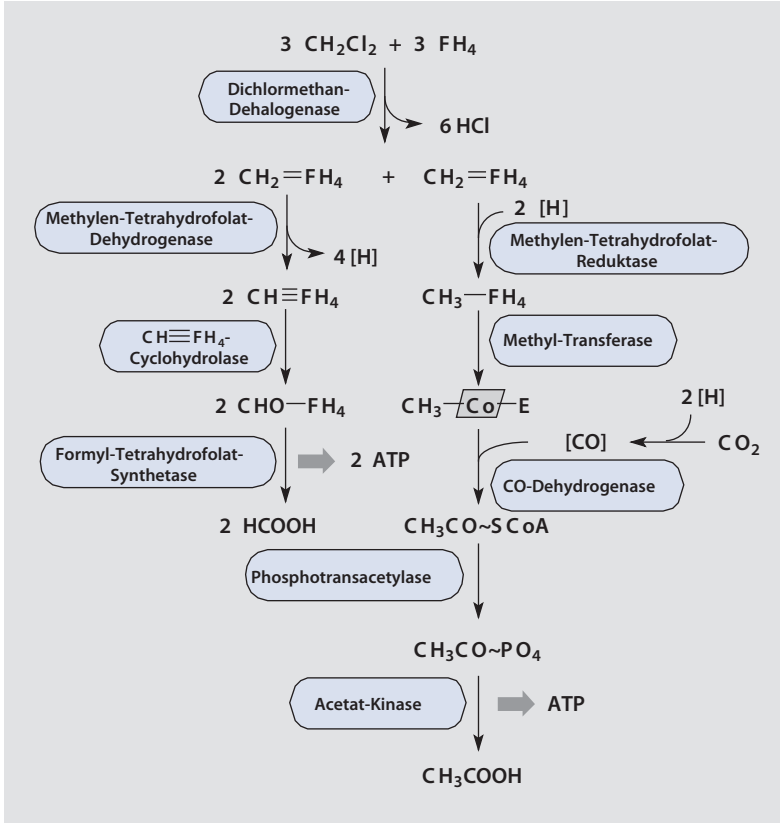


Abb. 6.79 Abbausequenz für Dichlormethan durch *Dehalobacterium formicoaceticum* (FH_4 = Tetrahydrofolat)

die beiden Chlorsubstituenten eliminiert, es entsteht Methylen-Tetrahydrofolat. Zwei Drittel werden zum Formiat oxidiert, während 1 Drittel des Methylen-Tetrahydrofolat zum Acetat umgesetzt wird, indem CO_2 durch die Acetyl-CoA-Synthetase-Reaktion eingebaut wird. Eine ausgeglichene Bilanz bei den Reduktionsäquivalenten ergibt sich durch die Oxidation im Acetyl-CoA-Weg und dem Verbrauch durch die Methylen-Tetrahydrofolat-Reduktase sowie die CO-Dehydrogenase. 1 ATP wird über Substratstufen-Phosphorylierung durch die Acetat-Kinase gebildet. Der Nachweis einer ATP-Synthase spricht zudem für einen chemiosmotischen Mechanismus der ATP-Bildung (Abb. 6.79).

Chlorethene als Elektronenakzeptoren

Polychlorierte Ethene wie PER und TRI können als Elektronenakzeptor unter anaeroben Bedingungen verwendet werden (Tab. 6.10). Es findet eine reduktive Dechlorierung statt, die meistens auf der Stufe des *cis*-Dichlorethens endet. Bei *Dehalococcoides ethenogenes* 195 wird vollständige Dechlorierung und Bildung von Ethen beobachtet.

Abb. 6.80 zeigt ein vereinfachtes Schema der Energiebildung während der reduktiven Dechlorierung von Tetrachlorethen zum *c*DCE mit Wasserstoff als Elektronendonor. Es findet kein H^+-Transport durch die Membran statt, sondern ein **Verbrauch** von H^+ innen und **Bildung** von H^+ außen und damit die Bildung eines Protonengradienten. Dieser wird

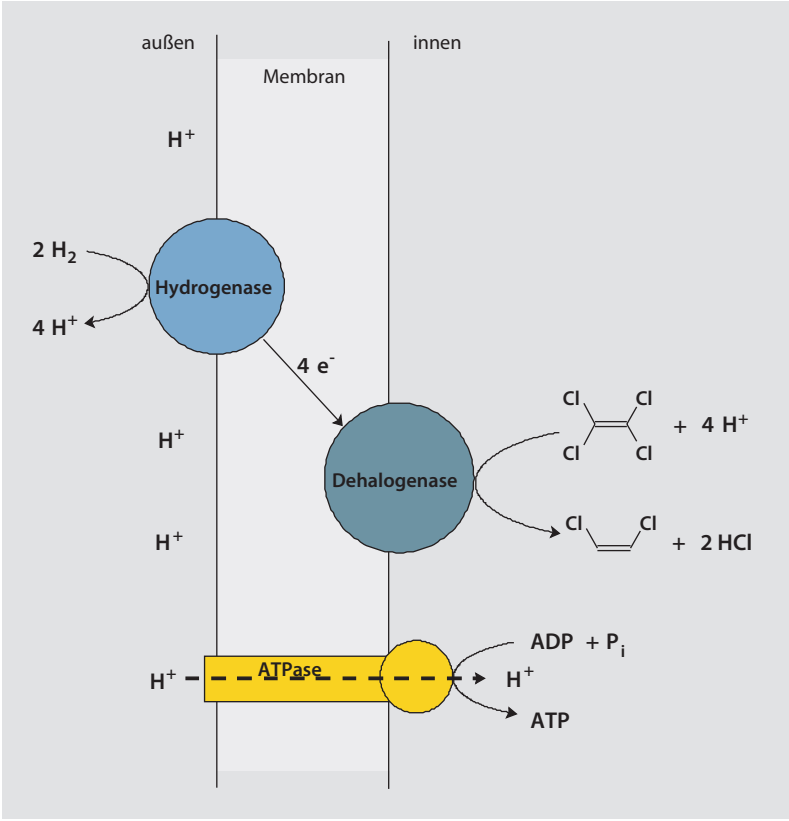


Abb. 6.80 Schema der Dehalorespiration von Tetrachlorethen, skalarer Mechanismus der Erzeugung des Protonengradienten

dann durch die ATP-Synthase für die ATP-Erzeugung genutzt.

6.2.5 Organohalogene aus der Natur/aus natürlichen Quellen

Organohalogenverbindungen sind prominente Umweltschadstoffe aus anthropogenen Quellen. Lange Zeit wurde vermutet, es gäbe kaum natürliche Quellen für halogenierte organische Verbindungen. Durch leistungsfähige Analytik gelang in den letzten Jahren immer öfter der Nachweis von natürlichen Organohalogenen.

Die ubiquitäre Verbreitung der vier Halogenide (Cl^-, Br^-, I^-, F^-) hat zur Folge, dass Organohalogene in allen Regionen unserer Erde (Meere und terrestrische Umwelt) sowohl abiotisch als auch biogen gebildet werden. Abiotische Quellen von Organohalogenen in der Umwelt sind zum Beispiel vulkanische Aktivitäten und Biomasseverbrennung (Andreae und Merlet, 2001; Jordan et al., 2000; Rudolph et al., 1995).

Mehr als 5000 natürlich auftretende Verbindungen aus der Stoffgruppe der Halogenorganika wurden schon identifiziert (Gribble, 1992–2015). Obwohl die meisten der entdeckten Verbindungen Chlorverbindungen sind, wurden auch Bromide, Iodide und Fluoride gefunden (Abb. 6.81a). Das tyrianische Purpur, Dibromindigo, ist für die Bromide repräsentativ. Das von der Schilddrüse abgesonderte Thyroxin ist ein Iodid und das

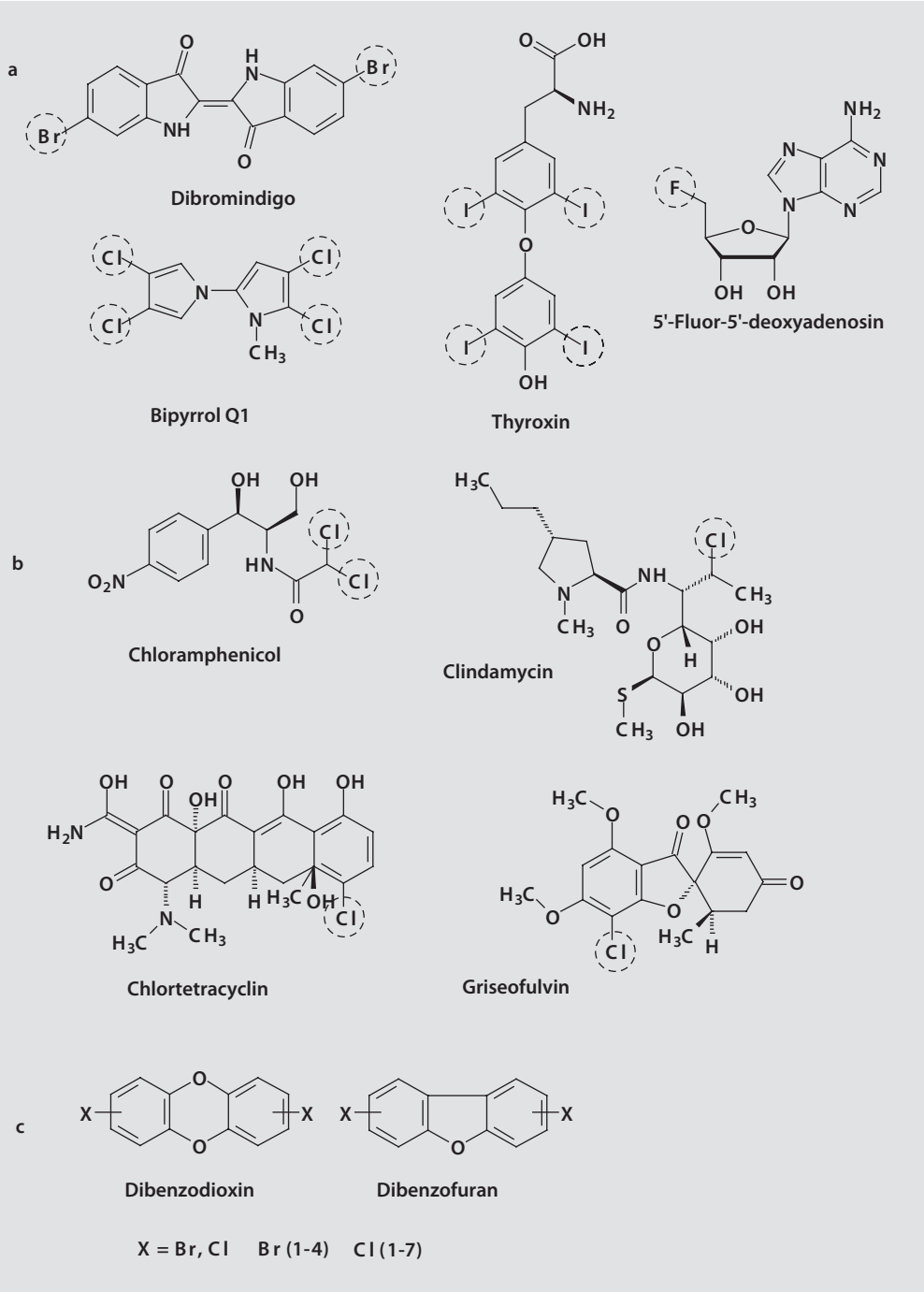


Abb. 6.81 Einige Beispiele von Organohalogenverbindungen, die durch natürliche Systeme hergestellt werden. (**a**) komplexe Verbindungen, die Chlor-, Brom-, Iod- oder Fluorsubstituenten tragen, (**b**) Verbindungen mit antibiotischer Wirksamkeit, (**c**) Verbindungen mit hohem Umweltgefährdungspotenzial: Chlor- und Bromdibenzodioxine oder – furane

hochtoxische Fluoracetat eines der seltenen Organofluoride. Diese drei Vertreter, Thyroxin vom Menschen, tyrianisches Purpur von Schnecken und Fluoracetat von Pflanzen, zeigen auch, dass unabhängige Arten Halogenorganika für verschiedene Zwecke verwenden.

Hinweise liegen vor, dass die Mehrzahl der Organohalogene durch mikrobielle Aktivitäten entsteht. Viele dieser Substanzen sind für Organismen von Relevanz als Sekundärmetabolite. Die Halogenierung ist dabei die Strategie, die biologische Aktivität zu erhöhen. Die halogenierten Naturstoffe entstehen also nicht „zufällig", sondern erfüllen wichtige Aufgaben.

Mehrere Antibiotika, die aus Pilzen und Bakterien isoliert wurden, sind halogenierter Natur, zum Beispiel Chloramphenicol, Chlortetracyclin, Clindamycin und Griseofulvin (◘ Abb. 6.81b). Ein beeindruckendes Beispiel für die Wirksamkeit chlorhaltiger Naturstoffe ist das Antibiotikum Chloramphenicol, welches von *Streptomyces venezuelae* produziert wird. Es ist ein Breitbandantibiotikum und wird seit den 50er Jahren auch synthetisch hergestellt.

Bemerkenswert ist der Befund, dass bromierte und chlorierte Dibenzodioxine und Dibenzofurane durch natürliche Systeme wie Algen, Flechten und Schwämme sowie in Torf und huminstoffreichen Bodenschichten gebildet werden (◘ Abb. 6.81c). Anders als früher behauptet, sind Waldbrände keine wesentliche Quelle für diese Verbindungen.

Neben solchen komplexen, biochemisch aktiven Substanzen werden in verschiedenen Ökosystemen wie hypersalinen Seen (Ruecker et al., 2014; Weissflog et al., 2005), Süßwasserfeuchtgebieten (Hardacre und Heal, 2013), marinen Ökosystemen (Ballschmiter, 2003; Carpenter, 2003) und Böden (Albers et al., 2011; Haselmann et al., 2000, 2002; Keppler et al., 2002, 2006) auch VOX freigesetzt: einfache Alkane wie Chlor-, Dichlor-, Trichlor- und Tetrachlormethan, Brommethan, andere einfache Bromalkane, gemischte Bromchlormethane, Iodmethane, andere einfache Iodalkane, einfache Organofluorine.

Eine große Quelle sind Meeresalgen, die mehrere chlorierte methan- und ethanhaltige Verbindungen produzieren. Zudem werden jährlich mehrere Millionen Tonnen Methylbromid durch marine Organismen erzeugt. Nach ersten Massenbilanzen sind natürliche Organohalogenverbindungen nicht nur allgegenwärtig in unserer Umwelt, sondern bei einigen Verbindungen – zum Beispiel Chlor-, Trichlor- oder Tetrachlormethan – überschreitet die natürliche Bildung die anthropogene Synthese um das Zehn- bis Einhundertfache (◘ Tab. 6.11).

Da Halogenide nicht besonders reaktiv sind, müssen sie für eine Halogenierung aktiviert werden. Bisher wurden fünf verschiedene Enzymklassen gefunden, die die Halogenierungsreaktionen durchführen (◘ Tab. 6.12).

Weiterhin sind Methyltransferasen in Pflanzen, Pilzen und Algen bei der Bildung von Halomethanen beteiligt (Wuosmaa et al., 1990).

6.3 Abbau und Humifizierung von Nitroaromaten

6.3.1 Umweltproblem durch Nitroaromaten

Nitroaromaten sind bedeutende Bausteine für chemische Synthesen von Farbstoffen, Herbiziden, Pharmazeutika, Polyurethan-Schäumen, aber auch für weit verbreitete Duftstoffe (Moschus Xylol und Moschus Keton). Einträge über Industrieabwasser in die Umwelt beschränken sich im Wesentlichen dementsprechend auf den Wasserpfad. Di- und besonders Trinitroderivate des Benzols, Toluols und Phenols haben für die Herstellung von Sprengstoffen Bedeutung, weshalb man Kontaminationen von TNT (2,4,6-**Tri**-**n**-**i**tro-**t**oluol), Trinitrobenzol, Pikrinsäure (2,4,6-Trinitrophenol) häufig im Untergrund ehemaliger Anlagen zur Herstellung und Verarbeitung von Sprengstoffen findet. Die Gesamtproduktion von TNT, des wichtigsten Sprengstoffes des 2.Weltkrieges, belief sich im Dritten Reich auf über 800´000t. Im

Tab. 6.11 Quellen und geschätzte Mengen von Dichlor- und Trichlormethan (Gg pro Jahr)

Quellen	Dichlormethan	Trichlormethan (Chloroform)	Literatur
Ozeane	190	360	Cox et al. (2003)
Boden/Pilze		235	Cox et al. (2003), Trudinger et al. (2004)
Termiten		100	Khalil et al. (1990)
Torfmoore		4,7	Dimmer et al. (2001)
Biomasseverbrennung	60	2	Cox et al. (2003), Rudolph et al. (1995)
Reisanbau		23	Laturnus et al. (2002)
Vulkane	0,021 ± 0,013	0,095	Schwandner et al. (2004)
Microalgen		23	Laturnus et al. (2002)
Macroalgen (nicht See-tang)	0,32	10	Baker et al. (2001), Ekdahl et al. (1998),
Industrie	650	66	Cox et al. (2003), Trudinger et al. (2004)

1 Gg (Gigagram) = 10^9 g ≈ 1000 t

Dritten Reich wurde bis zum Ende des 2. Weltkrieges in zwanzig Produktionsstätten Munition produziert und gelagert. Die Munitionsanstalten waren über das ganze Land verteilt. Eine Studie von 1996 listet 3240 Rüstungsaltlasten-Verdachtsflächen auf, von denen mindestens 750 potenziell mit Explosivstoffen kontaminiert sind. Man schätzt, dass sich die kontaminierten Flächen auf über 10.000km^2 aufsummieren.

6.3.2 Möglichkeit des mikrobiellen Abbaus von Nitroaromaten

Es sind verschiedene initiale Reaktionen für die Eliminierung von Nitrogruppen von Nitroaromaten nachgewiesen worden (Abb. 6.82):

1. Oxidative Abspaltung von Nitrit.
2. Reduktion einer Nitrogruppe und Abspaltung von Ammonium.
3. Reduktion des aromatischen Ringes und Eliminierung von Nitrit.

Der erst-genannte Abbaumechanismus ist unter aeroben Bedingungen für verschiedene Mono- und Dinitroaromaten (4-Nitrophenol, Nitrobenzol, 2,4-Dinitrotoluol, 2,6-Dinitrotoluol) beschrieben worden. Die genannten Nitroaromaten werden als Wachstumssubstrat verwertet. Es läuft in zwei Stufen ab: 1) Eine **Monooxygenase** bildet aus *p*-Nitrophenol einen labilen *gem*-Nitroalkohol, aus welchem spontan Nitrit eliminiert wird (Abb. 6.83). Das entstandene Chinon wird durch eine Reduktase in das Ringspaltungssubstrat Hydrochinon umgewandelt. 2) Eine **Dioxygenase** bildet Brenzcatechin indem sie ein labiles Dihydrodiol zum Beispiel aus Nitrobenzol erzeugt, welches spontan rearomatisiert und dabei die Abspaltung von Nitrit bewirkt. Der weitere Abbau erfolgt über bekannte Wege.

Die zweite Alternative ist für den aeroben Abbau von 4-Nitrotoluol beschrieben worden und vereint oxidative und reduktive Schritte (Abb. 6.84): Drei Oxidationsschritte bewirken die Umwandlung von 4-Nitrotoluol zum 4-Nitrobenzoat. Die anschließende

Tab. 6.12 Fünf Klassen von halogenierenden Enzymen

Halogenasen	Halogenierungsmechanismus	vorgeschlagene Form des aktivierten Halogens	Notwendigkeiten an Substrat	Notwendiger Cofaktor und Cosubstrat	Literatur
Häm-eisen-abhängige Haloper-oxidasen	unspezifisch, elektrophil in Pflanzen, Pilzen, Bakterien, Säugern	X^+	aromatisch und elektronenreich	Häm, H_2O_2	Blasiak und Drennan (2003); Butler und Sandy (2009); van Pée und Unversucht (2003); Vaillancourt et al. (2006)
vanadiumabhängige Haloperoxidasen	unspezifisch, elektrophil in Pil-zen, Bakterien, marinen Algen	X^+	aromatisch und elektronenreich	Vanadat, H_2O_2	
flavinabhängige Halogenasen	spezifisch und regioselektiv z. B. Antibiotika *P. fluorescens*	X^+	aromatisch und elektronenreich	$FADH_2$, O_2	van Pée und Patallo (2006)
nichthäm-eisenabhängige Halogenasen	radikalisch	$X^{\cdot}$	aliphatisch, nicht-aktivierte C-H-Zentren	Fe(II), O_2, α-Ketoglutarat	Vaillancourt et al. (2005)
nukleophile Haloge-nasen	*Streptomyces cattleya*	X^-	elektrophil, gute Abgangsgruppe (S-Adenosyl-L-methionin)		Dong et al. (2004)

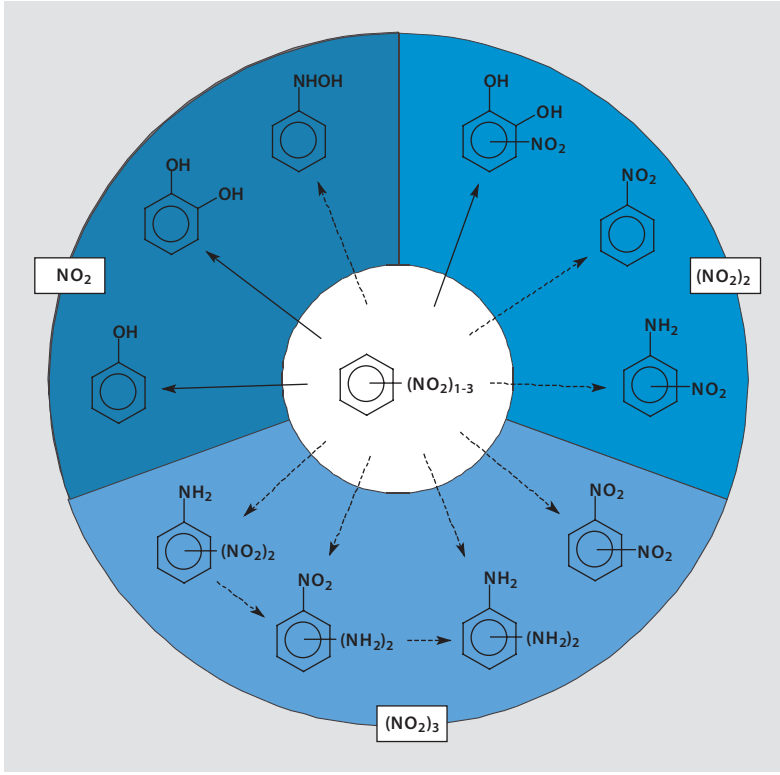


Abb. 6.82 Initialreaktionen beim mikrobiellen Abbau von aromatischen Nitroaromaten: die drei Segmente zeigen die entstehenden Produkte bei Abbau von mononitro- (dunkelgrau/blau), dinitro- (mittelgrau) und trinitrosubstituierten Verbindungen (hellgrau); volle Pfeile stehen für oxidative, unterbrochene Pfeile für reduktive Mechanismen

Reduktion der Nitrogruppe erfolgt über die Zwischenstufe Nitroso- (R-NO) zur Hydroxylaminoverbindung (R-NHOH), aus der Ammonium mittels Lyase freigesetzt wird. Es handelt sich also um eine sogenannte partielle Reduktion der Nitrogruppe, da sie auf der Stufe der Hydroxylaminogruppe endet und nicht bis zur Aminogruppe ($R\text{-}NH_2$) verläuft.

Cometabolisch wurde die initiale Reduktion einer Nitrogruppe beobachtet, die schrittweise über die Zwischenstufen Nitroso- und Hydroxylamino- zur Aminogruppe führt, wobei häufig die Akkumulation von Produkten des Teilabbaus auftrat.

Eine ungewöhnliche initiale Reaktion der Reduktion des aromatischen Ringes ist für Polynitroaromaten wie TNT, 2,4-Dinitro- und 2,4,6-Trinitrophenol (Pikrinsäure) beschrieben worden. Die enzymatisch katalysierte Hydrierung des Ringes führt zu gefärbten Hydrid-Meisenheimer-Komplexen, aus denen Nitrit eliminiert wird (Abb. 6.85). Es konnten Bakterienstämme isoliert werden, die Dinitrophenol und Pikrinsäure über Hydrid-Meisenheimer-Komplexe denitrieren und sie als Kohlenstoff-, Energie- und Stickstoffquelle nutzen können. Dieselben Stämme vermögen auch TNT reduktiv zu hydrieren, eine Abspaltung von Nitrit erfolgt jedoch nicht.

Aufgrund seiner elektrophilen Eigenschaften und der chemischen Struktur ist TNT biologisch schwer mineralisierbar. Durch die dreifache Substitution mit Nitrogruppen ist TNT hochoxidiert und vor einem oxidativen Angriff aerober Mikroorganismen weitgehend geschützt. Für eine mikrobielle Umsetzung

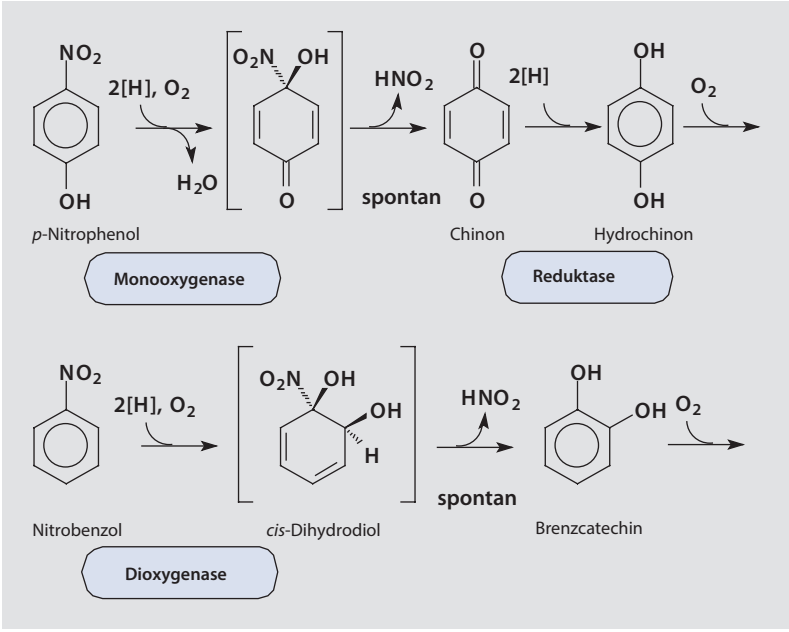


Abb. 6.83 Oxidative Mechanismen beim Abbau von *p*-Nitrophenol und Nitrobenzol

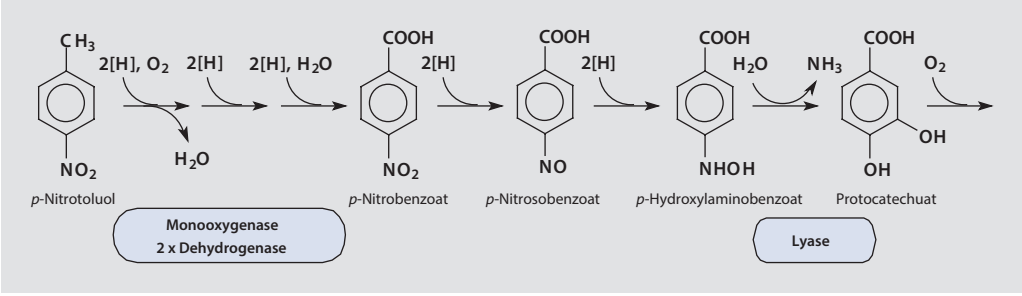


Abb. 6.84 Reaktionsfolge beim Abbau von 4-Nitrotoluol

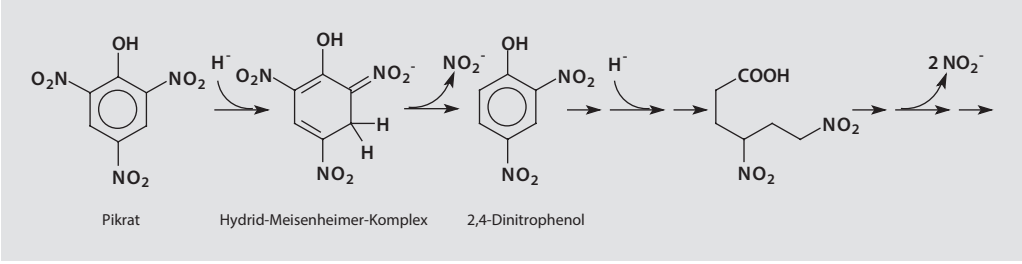


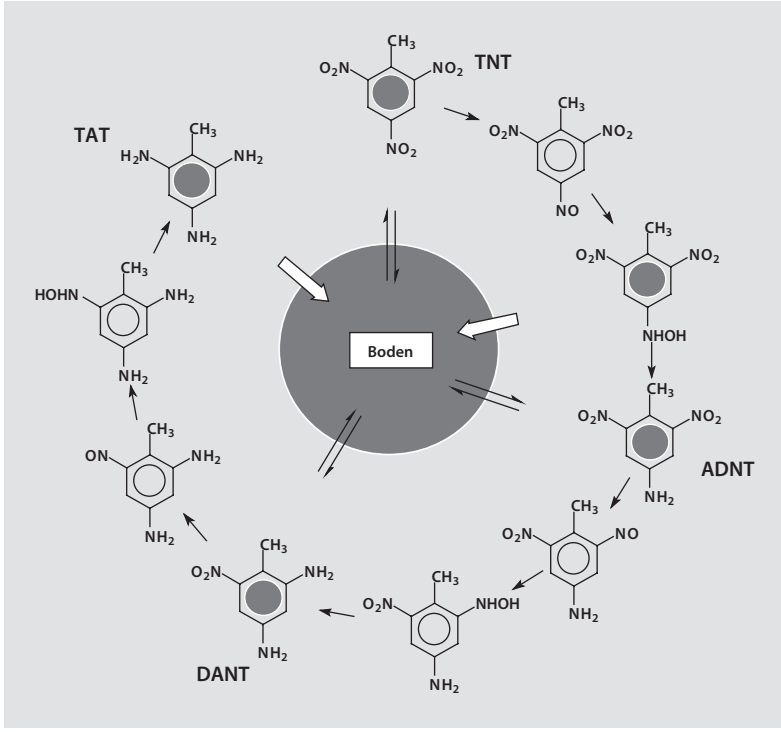
Abb. 6.85 Reaktionsfolge des Abbaus von Pikrinsäure mit Bildung eines Hydrid-Meisenheimer-Komplexes

kommen daher nur reduktive Initialreaktionen in Frage. Offensichtlich ist die Fähigkeit zur anaeroben Reduktion von Nitrogruppen zu Aminogruppen in anaeroben Populationen, wie beim TNT gezeigt, ubiquitär verbreitet. Daneben kann es durch aerobe Bakterien auch zu einer reduktiven Ringhydrierung kommen. Durch **aerobe Mikroorganismen** konnte bisher nur eine partielle Reduktion der Nitrogruppen nachgewiesen werden, unter **anaeroben Bedingungen** ist hingegen eine vollständige Reduktion der Nitrogruppen möglich. TNT wird dabei über Aminodinitrotoluol (ADNT) (4-Amino-2,6-dinitrotoluol beziehungsweise 2-Amino-4,6-dinitrotoluol) und Diaminonitrotoluol (DANT) (2,6-Diamino-4-nitrotoluol beziehungsweise 2,4-Diamino-6-nitrotoluol) zu Triaminotoluol (TAT) reduziert. Verglichen mit der hohen Umsatzrate des TNT gehen die Geschwindigkeiten des Umsatzes von Aminodinitro- und Diaminonitrotoluol mit der Zahl der reduzierten Nitrogruppen zurück.

6.3.3 Eliminierung von Trinitrotoluol durch Sequestierung an Boden

Es wurden Verfahren zur biologischen Sanierung TNT-kontaminierter Böden entwickelt. Sie beruhen – da ein vollständiger Abbau des TNT im Boden nicht erfolgt – auf einer Festlegung der TNT-Metabolite in Form nichtextrahierbarer Rückstände. Im Wesentlichen wird dabei durch Zugabe von leicht abbaubaren Kohlenstoffquellen auf eine cometabolische Reduktion des TNT und eine nachfolgende Einbindung dieser Metabolite in die organische Bodenmatrix abgezielt. Für TNT und seine reduzierten Metabolite ist sowohl eine Sorption an Tonminerale als auch eine Sorption und Bindung an die organische Substanz des Bodens beschrieben worden (◘ Abb. 6.86).

Als Verfahren zur Einbindung von TNT in die Huminstoffe sind ein zweistufiger



◘ **Abb. 6.86** Wechselwirkung von TNT und nachgewiesenen Metaboliten mit dem Boden. Irreversible Sorptionen sind durch starke hohle Pfeile dargestellt. Metabolite mit Tendenz zur Bindung an Bodenbestandteile sind durch Färbung der Ringe kenntlich gemacht

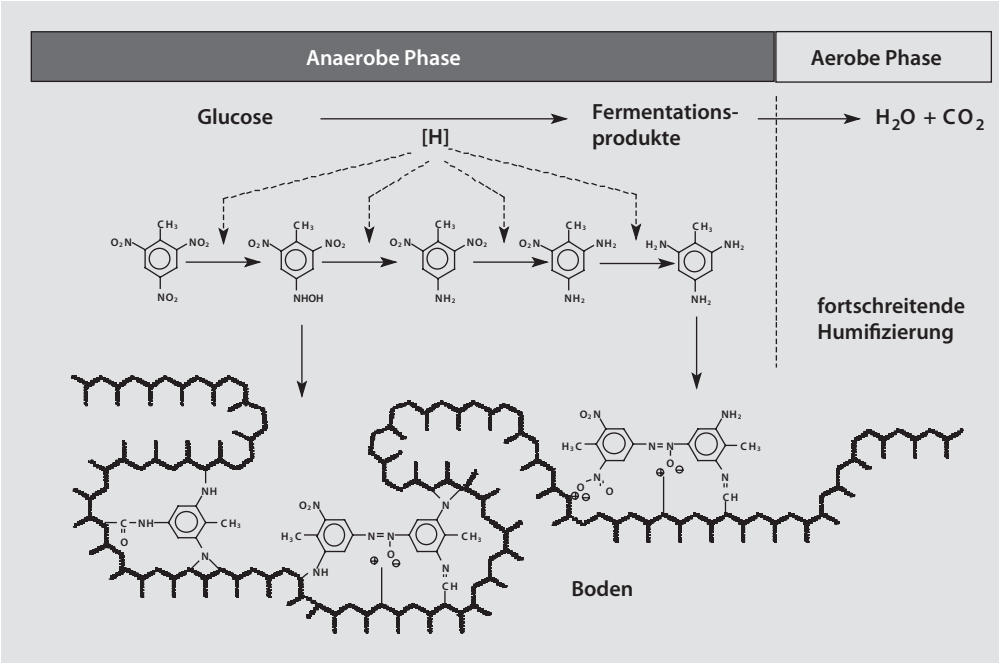


Abb. 6.87 Reduktion und kovalente Einbindung der Transformationsprodukte von TNT in die Huminstoffe des Bodens während einer Anaerob-Aerob-Behandlung in Bodensuspension. (Nach Achtnich et al., 1999)

Anaerob/Aerob-Prozess in Bodensuspension (siehe Abb. 6.87) und verschiedenen Kompostierungsverfahren erprobt worden.

6.4 Abbau von aromatischen Sulfonsäuren und Azofarbstoffen

6.4.1 Aromatische Sulfonsäuren

6.4.1.1 Verwendung und Umweltrelevanz

Weltweit werden rund 1,5 Mio. t **Lineare Alkylbenzolsulfonate (LAS)** pro Jahr produziert. Sie finden ihre Verwendung in pulverförmigen, aber auch flüssigen Wasch-, Spül- und Reinigungsmitteln. Lineare Alkylbenzolsulfonate bestehen aus aromatischen Sulfonsäuren, die in *para*-Stellung mit linearen Alkylketten verbunden sind. Zur Gruppe der anionischen Tenside gehörend sind die LAS ein Gemisch verschiedener Isomere mit Kettenlängen zwischen 10 und 13 C-Atomen. Durch ihre sowohl polare (SO_3H-Gruppe) wie auch apolare Struktur (C-Kette) sind sie einerseits wasserlöslich und zeigen andererseits auch eine Affinität zu Fetten, wodurch sie ihre oberflächenaktiven Eigenschaften erhalten (Abb. 6.88).

LAS zählen zu den anionischen Tensiden, deren Nachweis mittels des Summenparameters methylenblauaktive Substanzen **„MBAS"** erfolgen kann.

Die Gewässertoxizität der LAS wird wie folgt beschrieben: Je länger die C-Kette des hydrophoben Teiles des Moleküls ist, desto höher ist die aquatische Toxizität. Es wurde bei *Daphnia magna* eine LD_{50} von 8,5 mg/l nach 48h Exposition festgestellt.

Neben den Alkylbenzolsulfonaten sind aromatische Aminosulfonsäuren als Vorstufen und Abbauprodukte von Azofarbstoffen von großer Bedeutung.

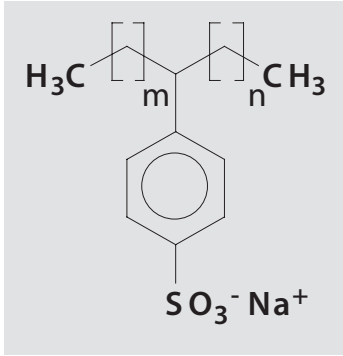


Abb. 6.88 Struktur von Linearen Alkylbenzolsulfonaten

DAnteil aromatischer Sulfonsäuren betrug 1978 im Niederrhein 7–15 % der gesamten, organischen Fracht, abhängig von den jahreszeitlichen Schwankungen der Wasserführung (Malle, 1978), und machte schon damals die Bedeutung als wichtige Kontamination deutlich.

6.4.1.2 Abbau von aromatischen Sulfonsäuren

Aromatische Sulfonsäuren sind hochpolare Stoffe und besitzen insbesondere durch das Vorhandensein der Sulfonsäuregruppe hohen Fremdstoffcharakter.

Nach dem Gebrauch gelangt der größte Teil der als Reinigungsmittel verwendeten LAS ins Abwasser und in weiterer Folge zur Kläranlage. Sie sind biologisch unter aeroben Bedingungen gut und rasch, unter anaeroben Bedingungen nicht abbaubar. Der Gesamt-Eliminierungsgrad für die LAS liegt bei einer biologischen dreistufigen Abwasserreinigungsanlage (Belebtschlammverfahren) in der Regel über 99 %. Da LAS anaerob nicht abgebaut werden, reichern sie sich im Faulturm an und stellen neben Nonylphenol (Hauptmetabolit der Alkylphenolethoxylate) die mengenmäßig wichtigsten, xenobiotischen organischen Substanzen im Klärschlamm dar.

Bei der Isolierung von Bakterien, die aromatische Sulfonsäuren nutzen können, wurden zwei Strategien angewendet: 1) Die

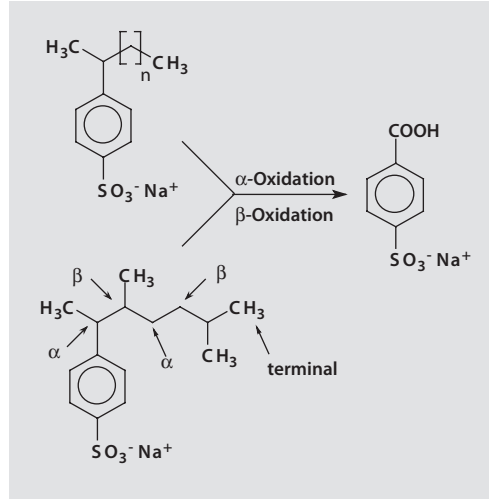


Abb. 6.89 Abbau der LAS und verzweigt-kettiger Alkylbenzolsulfonate (mögliche Oxidationen in der Seitenkette sind durch Pfeile markiert) und Bildung von Sulfobenzoat

Sulfonsäuren wurden als Kohlenstoff- und Energiequelle eingesetzt; 2) sie dienten als Schwefelquelle. Beide Wege führten zum Erfolg, wenngleich die Versuche mit Sulfonsäuren als Schwefelquelle sehr schwierig waren, da gegenüber Kohlenstoff nur ein Gewichtsanteil von 1/500 vom Schwefel gebraucht wird. Geringe Verunreinigungen durch andere Schwefelquellen mussten deshalb ausgeschlossen werden.

Im Weiteren werden die Abbausequenzen von Organismen angesprochen, die die Substanzen als Kohlenstoff- und Energiequelle nutzen. Der Abbau von LAS und auch von verzweigt-kettigen Alkylbenzolsulfonaten erfolgt zunächst an der Alkylkette, wobei die beim Abbau von Alkanen bekannte Enzymfolge wie die terminale Monooxygenase und/oder α-Oxidation und nachfolgend β-Oxidations-Kaskade abläuft. Es wird so Sulfobenzoat gebildet (Abb. 6.89).

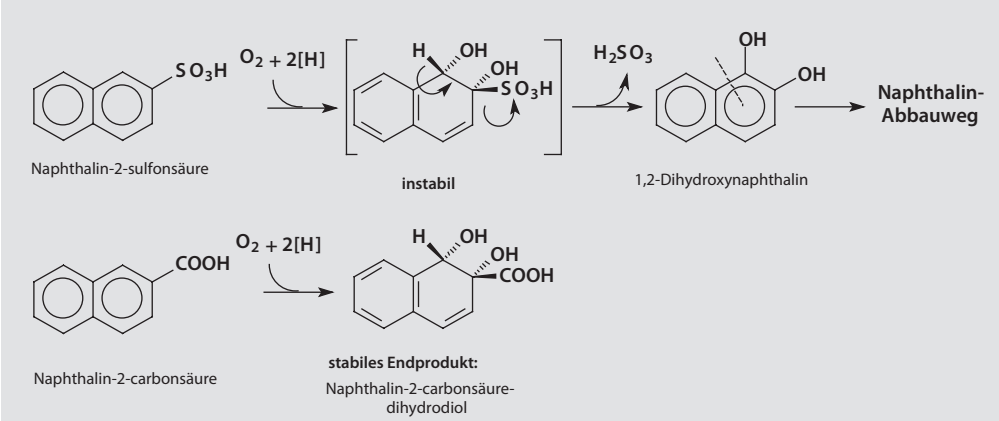
Wichtige Ergebnisse zum mikrobiellen Abbau von aromatischen Sulfonsäuren wurden mit Naphthalin-2-sulfonsäure als Kohlenstoff- und Energiequelle erhalten. Die Desulfonierung, der entscheidende Schritt

im Abbau, erfolgt einleitend mittels einer **Dioxygenase,** die ein instabiles Produkt erzeugt. Die inerte C-SO_3H-Bindung wird so destabilisiert (Sauerstoff und SO_3H-Gruppe sitzen am selben Kohlenstoffatom), dass spontan die SO_3H-Gruppe als Sulfit eliminiert wird und 1,2-Dihydroxynaphthalin, ein Metabolit des Naphthalin-Abbaus entsteht. Es ist also kein spezifisches Enzym für die Desulfonierung verantwortlich, sondern eine „normale" Naphthalin-1,2-Dioxygenase führt den Schritt der Aktivierung des aromatischen Ringes durch. Dies wurde wie folgt gezeigt: Wurde statt Naphthalin-2-sulfonsäure Naphthalin-2-carbonsäure eingesetzt, so entstand durch die Zellen ein stabiles Produkt, welches ausgeschieden wurde und isoliert werden konnte. Die eigentliche Eliminierung der SO_3H-Gruppe läuft also spontan ab. Beim Abbau der Naphthalin-2-sulfonsäure wird die im Naphthalinabbau der ringaktivierenden Dioxygenase-Reaktion folgende Dehydrogenase übersprungen, da sofort durch die Freisetzung von Sulfit die Diphenolstufe erreicht wird (◘ Abb. 6.90).

Am Beispiel von 6-Aminonaphthalin-2-sulfonat sowie *p*-Toluolsulfonat lässt sich die Vielschichtigkeit des Abbaus von aromatischen Sulfonsäuren gut darstellen.

Der Abbau von 6-Aminonaphthalin-2-sulfonat macht deutlich, dass manchmal die Zusammenarbeit von Stämmen für den gesamten Abbau notwendig ist. Entscheidend für den Abbau dieses Fremdstoffes ist zunächst, wie in ◘ Abb. 6.91 gezeigt, die Doppelhydroxylierung durch den Bakterienstamm BN6, die die spontane (nicht-enzymatische) Abspaltung der Sulfonsäuregruppe als Sulfit zur Folge hat. Eine Limitierung des Abbaus besteht auf der Stufe des 5-Aminosalicylates, welches durch den desulfonierenden Stamm nicht weiter abgebaut, sondern an das Medium abgegeben wird. Durch die Verwertung der drei C-Atome (als Pyruvat) des sulfonierten Ringes ist zwar der für den Bakterienstamm BN6 gewinnbringende Abbau denkbar, jedoch wird erst durch das Vorhandensein eines zweiten Bakterienstammes BN9, der das 5-Aminosalicylat als Wachstumssubstrat sehr effizient verwertet, ein vollständiger Abbau von 6-Aminonaphthalin-2-sulfonat erreicht.

Das Beispiel des Abbaus von *p*-Toluolsulfonat macht deutlich, dass die Eliminierung der Sulfonsäuregruppe sowohl **direkt** durch einleitende ringaktivierende Dioxygenierung als auch **auf einer späteren Stufe**



◘ **Abb. 6.90** Einleitende Dioxygenierung mit Eliminierung der Sulfonsäuregruppe für Naphthalin-2-sulfonsäure sowie analoge Reaktion mit Naphthalin-2-carbonsäure zur Bildung des stabilen Dihydrodiols. (Nach Beckmann, 1976)

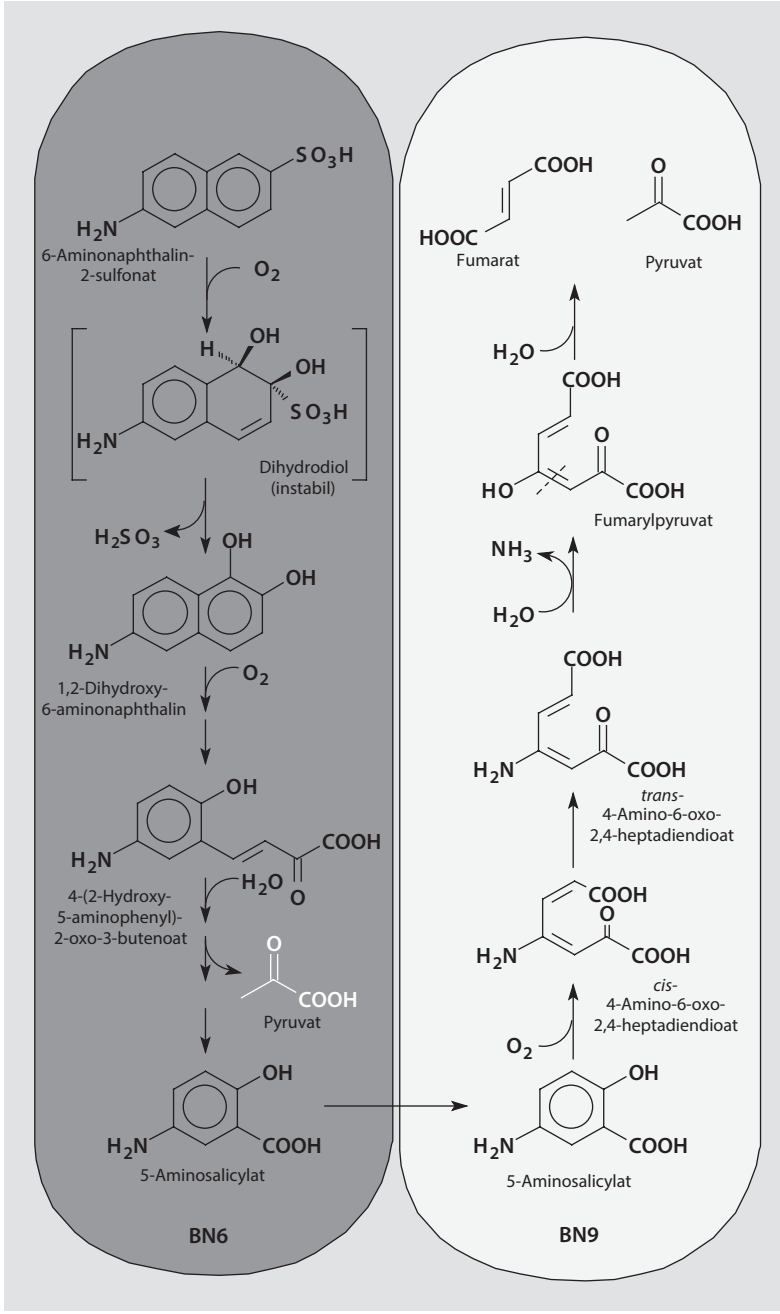
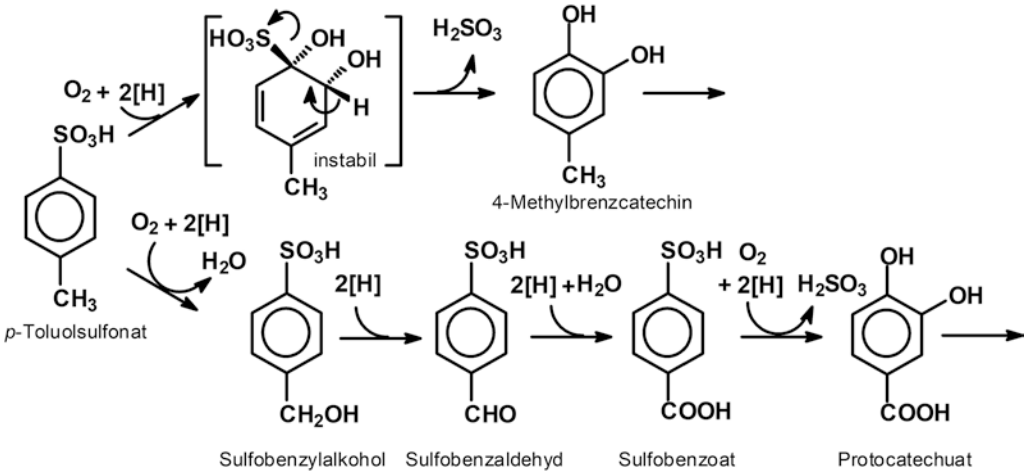


Abb. 6.91 Syntrophie des Abbaus am Beispiel von 6-Aminonaphthalin-2-sulfonat

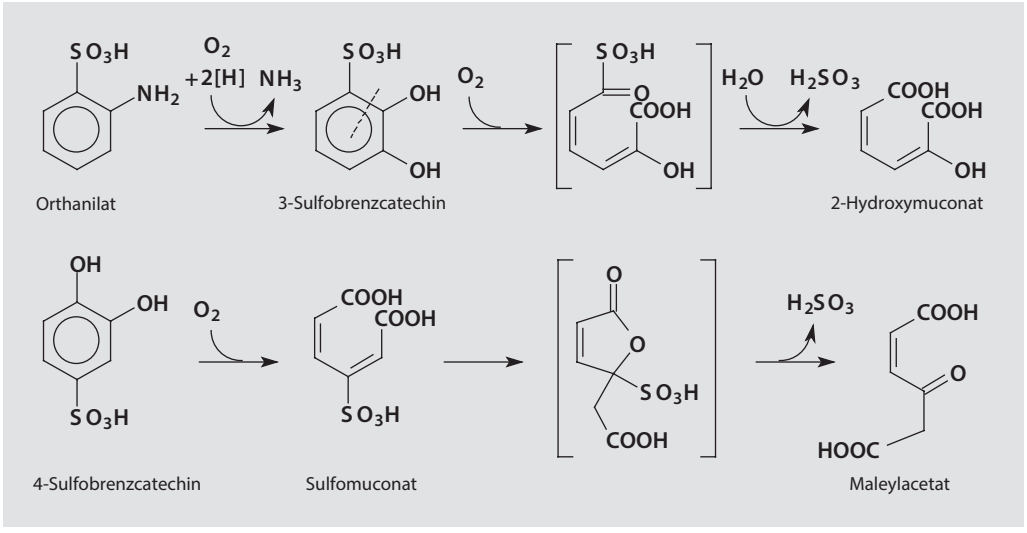
durch die Dioxygenierung mittels Sulfobenzoat-1,2-Dioxygenase erfolgen kann.

Analoge Reaktionsfolgen, die man aus dem Abbau von Chloraromaten mit Chlorbrenzcatechinen als zentralen Metaboliten kennt, sind auch für den Abbau von aromatischen Sulfonsäuren beschrieben worden. Beim Orthanilat ist

die Eliminierung der Sulfonsäuregruppe Folge der *meta*-spaltenden Dioxygenase mit 3-Sulfobrenzcatechin, sodass ein normaler Metabolit des *meta*-Weges 2-Hydroxymuconat entsteht. Beim 4-Sufobrenzcatechin, welches aus 4-Sulfoanilin gebildet wird, findet die Eliminierung aus dem Produkt der Muconat-Isomerisierung statt und entspricht der Reaktion im Abbau von 4-Chlorbenzcatechin (◘ Abb. 6.92, 6.93).



◘ **Abb. 6.92** Desulfonierung durch ringaktivierende Dioxygenasen im Abbau von Toluolsulfonat: Initiale und späte Eliminierung



◘ **Abb. 6.93** Beispiele für die späte Eliminierung einer Sulfonsäuregruppe: während oder nach der Ringspaltung

6.4.2 Abbau von Azofarbstoffen

Azofarbstoffe sind charakterisiert durch die Anwesenheit einer oder mehrerer Azogruppen (–N=N–) sowie von Sulfonsäuregruppen ($-SO_3H$). Sie sind die größte und vielseitigste Klasse von Farbstoffen. Mehr als 2000 verschiedene Azofarbstoffe sind heute im Gebrauch, um verschiedenartige Materialien wie Textilen, Leder, Plastik, Kosmetika und Lebensmittel anzufärben.

Die größte Menge der Azofarbstoffe wird für die Färbung von Textilien eingesetzt. Man schätzt, dass etwa 10 % der benutzten Farbstoffe während des Färbeprozesses nicht an die Fasern binden, in die Kläranlagen gelangen und dann in der Umwelt freigesetzt werden.

Es gibt nur ein einziges Beispiel für eine Azogruppe in einem Naturprodukt (4,4′-Dihydroxyazobenzol) und deshalb sind die durch die Industrie produzierten Azofarbstoffe auch als Xenobiotika anzusprechen. Folglich ist es nicht überraschend, dass Azofarbstoffe sich in konventionellen Kläranlagen als persistent herausstellen.

Der gegenwärtige Stand der Technik für die Reinigung von Abwasser, welches mit Azofarbstoffen kontaminiert ist, beinhaltet physiko-chemische Techniken wie Adsorption, Präzipitation, chemische Oxidation, Photodegradation oder Membranfiltration.

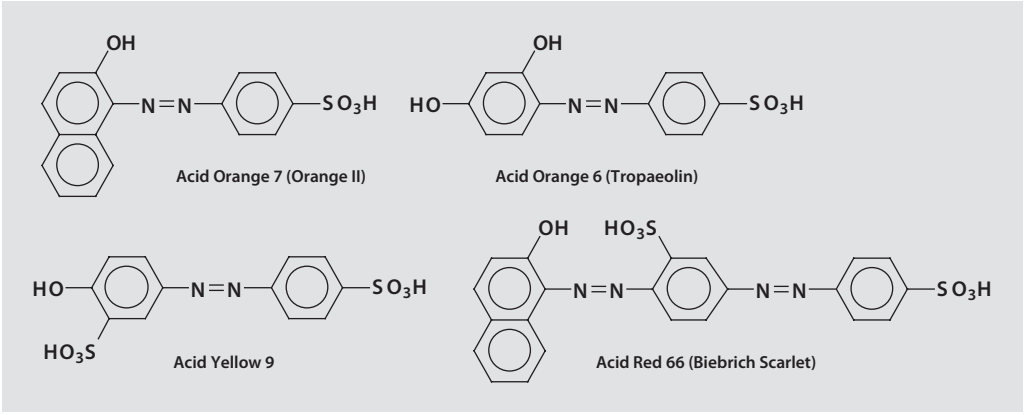
Obwohl die Azofarbstoffe als kaum biologisch abbaubar angesehen werden, ist in den letzten Jahren gezeigt worden, dass Mikroorganismen unter bestimmten Umweltbedingungen in der Lage sind, Azofarbstoffe zu nicht-farbigen Produkten zu transformieren oder sie sogar vollständig zu mineralisieren, wobei die folgenden Möglichkeiten untersucht wurden:

1. Entfärbung von Azofarbstoffen durch ligninabbauende Enzyme von Weißfäulepilzen.
2. Cometabolische reduktive Spaltung der Azofarbstoffe durch aerobe Bakterien.
3. Wachstum von aeroben Bakterien mit Azofarbstoffen als Kohlenstoff- und Energiequelle.
4. Anaerobe Reduktion der Azofarbstoffe durch Bakterien (unspezifische Reduktion).

Lignolytische Pilze können mit ihren Ligninasen, manganabhängigen Peroxidasen oder Laccasen Azofarbstoffe entfärben (◘ Abb. 6.94).

Für einige Modell-Azofarbstoffe sind die Abbauwege untersucht und die Mineralisierung zu CO_2 gezeigt worden.

In den meisten Fällen beginnt der bakterielle Abbau mit einer reduktiven Spaltung



◘ **Abb. 6.94** Beispiele für Azofarbstoffe, die durch Weißfäulepilze entfärbt werden

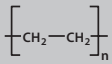
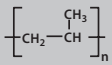
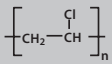
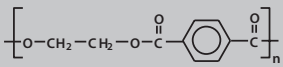
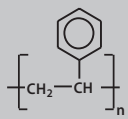
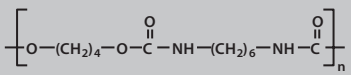
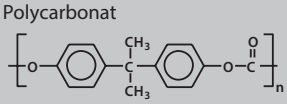
der Azogruppe und damit der Bildung von farblosen Aminen. Diese reduktiven Prozesse sind für einige aerobe Bakterien beschrieben worden, die mit sehr einfachen Azofarbstoffen wachsen. Diese besonders adaptierten Mikroorganismen bilden „wirkliche" Azoreduktasen, welche die Azogruppe reduktiv in Gegenwart von molekularem Sauerstoff spalten.

Sehr viel verbreiteter ist die reduktive Spaltung der Azofarbstoffe unter anaeroben Bedingungen. Diese Reaktion findet gewöhnlich mit sehr niedriger spezifischer Aktivität statt, sie wird aber von einer Vielzahl von Organismen recht unspezifisch durchgeführt. In diesen unspezifischen anaeroben Prozessen sind Redoxmediatoren kleiner Molekülgröße (zum Beispiel Flavine oder Chinone) sehr häufig beteiligt, welche enzymatisch durch Zellen reduziert werden. Diese reduzierten Mediatorverbindungen können die Azogruppe in einer rein chemischen Reaktion reduzieren. Die sulfonierten Amine, die durch diese Reaktionen gebildet werden, können dann aerob mikrobiell abgebaut werden.

6.5 Kunststoffe, Biokunststoffe

Der Verbrauch herkömmlicher Kunststoffe betrug 2005 in Europa etwa 53 Mio. t und in Deutschland mehr als 9 Mio. t. Die Produktion soll im Jahr 2010 weltweit 304 Mio. t und europaweit 75 Mio. t betragen haben. Die Mengen verteilen sich auf unterschiedliche Kunststoffsorten (siehe ◘ Tab. 6.13).

◘ **Tab. 6.13** Synthetische Kunststoffe

Kunststoffsorte/Grundeinheit	Anwendungsbeispiel	Anteil (%)
Polyethylen (PE) 	Tragetaschen	24
Polypropylen (PP) 	Rohre	14
Polyvinylchlorid (PVC) 	Fußbodenbeläge	12
Polyethylenterephthalat (PET) 	Getränkeflaschen	14
Polystyrol (PS) 	Einwegverpackungen Lebensmittel	6
Technische Kunststoffe (inkl. Blends)	Automobilbau	7
Synthetische Elastomere	Reifen	4
Polyurethan (PU) 	Matratzen	4
Polycarbonat 	CDs & DVDs	1,5
Sonstige		~14

Seit etwa 20 Jahren sind verstärkt Bemühungen zu verzeichnen, Kunststoffe zum Teil oder auch vollständig aus nachwachsenden Rohstoffen zu erzeugen. Probleme in der Abfallwirtschaft, das Erkennen der Begrenztheit fossiler Rohstoffe und die allgemeine Diskussion über treibhausrelevante Gase trugen dazu bei, dass nachwachsende Rohstoffe verstärkt zur Herstellung von Kunststoffen zum Einsatz kommen.

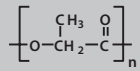
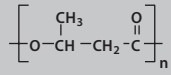
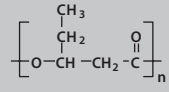
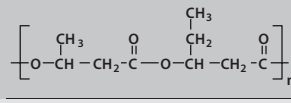
Kunststoffe aus nachwachsenden Rohstoffen werden in der Regel als Biokunststoffe oder Biopolymere bezeichnet. Nach gegenwärtigem Sprachgebrauch steht die Vorsilbe „bio" für die Eigenschaften „biobasiert" und „biologisch abbaubar". Biobasiert nennen sich Erzeugnisse, die teilweise oder vollständig aus nachwachsenden Rohstoffen stammen. Diese Erzeugnisse können sowohl biologisch abbaubar als auch nicht abbaubar sein.

Die Produktions- und Verbrauchsmengen von Biokunststoffen sind im Vergleich zu herkömmlichen Kunststoffen noch sehr gering. Statistiken über Produktion und Verbrauch von Biokunststoffen existieren bisher nicht. Der Verbrauch von Biokunststoffen wurde für das Jahr 2005 in Europa auf 50.000 t und in Deutschland auf etwa 5000 t geschätzt. Der Anteil der Biokunststoffe am Gesamtkunststoffverbrauch betrug in Europa damit nur etwa 0,1 % und in Deutschland etwa 0,05 % (◘ Tab. 6.14).

Gestalt und Ordnung der Makromoleküle sind ein wichtiges Unterscheidungsmerkmal von Kunststoffen:

- **Thermoplaste** haben eine lineare oder auch verzweigte Struktur und sind nicht vernetzt. Sie werden beim Erwärmen weich und sind schmelzbar. Beispiele sind Polyethylen, Polystyrol und Polyvinylchlorid.
- Bei **Duroplasten** sind die Molekülketten engmaschig dreidimensional vernetzt. Wärmezufuhr führt daher nicht zum Schmelzen, sondern bei genügend hoher Temperatur zum Zersetzen. Beispiele sind Bakelit und bestimmte Polyurethane.

◘ **Tab. 6.14** Biologische Kunststoffe (Obwohl bei biologisch abbaubaren Kunststoffen in den letzten Jahren aufgrund neuer Entwicklungen sowie der Errichtung größerer Produktionskapazitäten eine Reduzierung der Produktpreise zu verzeichnen war, bleibt die ökonomische Wettbewerbsfähigkeit von biologisch abbaubaren Kunststoffen eingeschränkt. Verglichen etwa mit Polyethylen oder Polypropylen sind bei biologisch abbaubaren Kunststoffen immer noch Preisunterschiede im Bereich von Faktor 2 bis 5 vorhanden.)

Kunststoffsorte/Grundeinheit	Anwendungsbeispiel
Polylactic acid (PLA) 	Verpackung kurzlebiger Güter, Mulchfolien Landwirtschaft, Cateringartikel, Medizintechnik
Polyhydroxyalkanoate (PHAs)  (PH3B)  (PHV)  (copolymer PHBV)	Biomaterial für medizinische Anwendungen

- **Elastomere** sind hart- oder weichelastische Kunststoffe, bei denen die Makromoleküle weitmaschig dreidimensional angeordnet sind. Weichelastische Elastomere können durch Strecken um ein Vielfaches ihrer Länge verformt werden, wobei sie nach Entlasten in ihre ursprüngliche Form zurückkehren. Das bekannteste Beispiel ist Gummi.

Je nach molekularem Aufbau variiert also die Eigenschaft des Kunststoffes. Durch geeignete Syntheseverfahren lassen sich heute nahezu maßgeschneiderte Kunststoffe herstellen, was auch ein wesentlicher Grund für ihre weite Verbreitung und vielfache Anwendung ist.

Für die Herstellung müssen Kunststoffen auf Basis nachwachsender Rohstoffe in der Regel petrochemische Komponenten sowie weitere Hilfs- und Zusatzstoffe – etwa Gleitmittel, Stabilisatoren und Antistatika – zugegeben werden. Nur so entsprechen die Eigenschaften der Erzeugnisse annähernd denen herkömmlicher Kunststoffe. Die Anteile an Additiven können mengenmäßig bedeutsam sein. So kann beispielsweise in Stärkekunststoffen der Anteil fossiler Zusatzstoffe bis zu 50 % betragen.

Die Hauptanwendungen biologisch abbaubarer Kunststoffe in Europa liegen im Verpackungs- und Cateringbereich. Daneben existieren Anwendungen in der Landwirtschaft und im Gartenbau sowie im Pharma- und Medizinbereich.

Bereits in relativ breitem Umfang auf dem Markt eingeführt sind Produkte wie:

- Abfallsäcke,
- Tragetaschen,
- Einweggeschirr (Becher, Tassen, Teller, Besteck),
- Verpackungsfolien,
- Flaschen,
- Obst- und Gemüseschalen,
- Verpackungshilfsmittel (Loose-fill-Chips),
- expandierbare Schäume,
- Mulchfolien,
- Blumentöpfe.

In Asien tauchen darüber hinaus vermehrt Anwendungen im technischen Bereich auf – etwa als Handy- oder PC-Gehäuse.

6.5.1 Abbaubarkeit von Kunststoffen

Biologisch abbaubare Kunststoffe sind nicht zwangsläufig aus nachwachsenden Rohstoffen hergestellt; es gibt auch Kunststoffe aus fossilen, nicht nachwachsenden Ressourcen, die biologisch abbaubar sind. Die biologische Abbaubarkeit ist also nicht an die Rohstoffbasis gebunden, sondern hängt allein von der chemischen Struktur des Werkstoffes ab.

Um die Umweltverträglichkeit von Kunststoffen sicherstellen zu können, bemühen sich seit dem Ende der 80er Jahre verschiedene Organisationen eine geeignete Basis zur Beurteilung abbaubarer polymerer Werkstoffe zu erarbeiten (◘ Abb. 6.95).

Untersuchungen zur Bewertung der biologischen Abbaubarkeit erfolgen meist in einer dreistufigen Testhierarchie wie zum Beispiel:

1. **Bestimmung des Bioabbaupotenzials eines Stoffes:** Screening-Tests wie zum Beispiel der CO_2-Entwicklungstest (OECD-Guideline 301B) werden im Labor unter definierten Bedingungen in synthetischen Umgebungen (definierte Nährmedien) durchgeführt.
2. **Untersuchung des biologischen Abbaus unter realitätsnahen Bedingungen:** Im Labor durchgeführte Simulationstests, die Bedingungen zum Beispiel während eines Kompostierungsprozesses (DIN V 54900–2, Abschn. 8) simulieren und eine Bilanzierung des Abbauverhaltens eines Stoffes ermöglichen.
3. **Untersuchung des biologischen Abbaus unter Umweltbedingungen:** Freilandversuche in Wasser, Boden oder Kompost (komplexe Systeme, variierende Umgebungsbedingungen) sollen den höheren Ansprüchen an die Darstellung

International Standardization Organisation (ISO)
TC 61 SC5 WG 22 „Biodegradability of Plastics"
Comité Européenne de Normalisation (CEN)
TC 261 SC4 WG2 „Degradability of Packaging Materials"
American Society for Testing and Materials (ASTM)
ASTM D-20.96.01
Deutsches Institut für Normung (DIN)
FNK 103.3 „Bioabbaubare Kunststoffe"
Biodegradable Plastics Society, Japan

Abb. 6.95 Verschiedene Organisationen und von ihnen bearbeitete Normverfahren. (Nach Witt et al., 1997)

des tatsächlichen Umweltverhaltens eines Stoffes genügen (zum Beispiel DIN V 54900–3, Abschn. 7). Nach DIN EN 13432 bedeutet Bioabbaubarkeit, dass sich ein Material nach einer festgeschriebenen Zeit unter definierten Temperatur-, Sauerstoff- und Feuchtebedingungen in der Anwesenheit von Mikroorganismen zu mehr als 90 % zu Wasser, Kohlendioxid und Biomasse abgebaut haben muss.

Folgende Regeln bezüglich Abbaubarkeit von Kunststoffen wurden erhalten:

- **Hochmolekulare technisch genutzte Polymere** sind in der Regel **einem biologischen Angriff nicht zugänglich,** insbesondere wenn deren Hauptkette wie zum Beispiel bei Polyethylen, Polypropylen und Polystyrol aus reinen **C-C-Bindungen** besteht.
- Natürliche Polymere wie Proteine, Cellulose, Stärke und Lignin enthalten Heteroatome (Sauerstoff, Stickstoff) in der Polymerkette, die in biologischen Systemen Angriffspunkte für enzymatische Hydrolysen und Oxidationen bieten. So finden sich unter den als biologisch abbaubar bezeichneten, technisch genutzten Polymeren im Wesentlichen solche, die **C-O-** oder **C-N-Bindungen in der Polymerkette** enthalten.
- Die Hydrolysierbarkeit von Bindungen in der Polymerkette folgt der Reihenfolge **Ester > Ether > Amide > Urethane.**
- Eines der wenigen als abbaubar angesehenen Polymere mit reinen C-C-Bindungen in der Hauptkette ist der Polyvinylalkohol (PVOH). Hier erfolgt der Abbau über eine primäre Oxidation der OH-Gruppen mit einer anschließenden, dem Fettsäureabbau ähnlichen Spaltung der Hauptkette.
- **Polymere mit aromatischen Komponenten oder verzweigten Bereichen** tendieren zu einer größeren Resistenz gegenüber dem mikrobiellen Angriff als **geradkettige, aliphatische Komponenten.**
- Für eine enzymatische Hydrolyse muss die Polymerkette flexibel genug sein, um in das aktive Zentrum des abbauenden Enzyms hineinzupassen. Dies gilt als Erklärung für den leichten biologischen Abbau der **flexiblen aliphatischen Polyester,** während sich die **starren aromatischen Polyester** einem biologischen Abbau widersetzen.
- Einen analogen Effekt beobachtet man bei Polyamiden. Hier wird die **Einschränkung der Kettenflexibilität** durch intermolekulare Wechselwirkungen in Form von Wasserstoffbrückenbindungen bewirkt.

- Copolymere aus aliphatischen und aromatischen Polyestern sowie aus Amiden und Estern sind im Allgemeinen einem mikrobiellen Angriff zugänglich. Die Abbauraten dieser Verbindungen steigen mit zunehmendem Gehalt an aliphatischen Komponenten oder mit zunehmendem Estergehalt.
- **Quervernetzungen** in Polymeren limitieren die Mobilität der Polymerkette und damit die Erreichbarkeit des Polymers durch das Enzym, was gleichfalls zur Beeinträchtigung der Abbauraten führt.

Während die chemische Struktur und die Zusammensetzung der Polymere die grundsätzliche Bioabbaubarkeit bestimmen, beeinflussen die physikalischen Eigenschaften der Polymere im Wesentlichen die Geschwindigkeit des biologischen Abbauprozesses. Einige Tendenzen lassen sich ableiten:

- Sehr niedrige Molmassen der Polymere begünstigen den Abbau.
- Bei vergleichbaren Abbauprozessen werden Polymere mit niedrigen Schmelzpunkten besser abgebaut als solche mit hohen.
- Amorphe Bereiche im Polymer werden schneller angegriffen als kristalline Bereiche.
- Polymere mit hydrophilen Oberflächen werden besser abgebaut als hydrophobe Materialien.
- Die Abbaugeschwindigkeit nimmt mit abnehmender Partikelgröße (= größere Oberfläche) zu.

Heißhunger auf Plastik

Über 300 Mio. t Kunststoff wurden 2013 weltweit produziert, darunter etwa 56 Millionen Tonnen Polyethylenterephthalat, besser bekannt unter der Abkürzung PET. Diese Kunststoffart wird vor allem für Getränkeflaschen verwendet. Nur ein geringer Anteil davon wird später tatsächlich recycelt. Besonders problematisch ist die sehr lange Haltbarkeit. Laut Umweltbundesamt dauert es bis zu 450 Jahre, bis eine Kunststoffflasche sich aufgelöst hat. Das führt auf Mülldeponien, aber vor allem in den Weltmeeren, zu einer erheblichen Umweltbelastung. Es bildet sich (durch mechanische Zerstörung) über die Jahre Mikroplastik, was wiederum sehr negative Auswirkungen auf verschiedenste Lebewesen hat.

Yoshida et al. (2016) beschreiben den ersten bekannten Mikroorganismus, der in der Lage ist, PET abzubauen und komplett stofflich zu verwerten. Sie sammelten 250 Proben in der Nähe einer Recyclinganlage für PET-Flaschen und stießen in einem Konsortium mehrerer Mikroorganismen auf das bislang unbekannte Bakterium *Ideonella sakaiensis,* das in der Lage ist, PET zu zersetzen. Sie beobachteten, dass die Bakterien bei 30 °C nur sechs Wochen brauchten, um einen dünnen Plastikfilm fast komplett zu zersetzen.

Ideonella sakaiensis kann sich an PET-Oberflächen anheften und schleust zunächst ein hochspezifisches Enzym (PETase) aus, das die chemischen Bindungen im Kunststoff aufbricht. Die Abbauprodukte werden dann von einem zweiten selektiven Enzym (MHETase) in die Monomere Ethylenglykol (EG) und Terephthalsäure (TPA) gespalten. Diese Grundbaustoffe von PET können von *Ideonella sakaiensis* komplett abgebaut werden und dienen folglich als alleinige Wachstumsquelle. Besonders wichtig für ein Aufbrechen des Polymers ist vor allem die Zugänglichkeit der „glatten" Kunststoffoberfläche. Hier scheint der *Ideonella sakaiensis*-Stamm besondere Mechanismen entwickelt zu haben (Yoshida et al., 2016; Tanasupawat et al., 2016).

Kürzlich wurde herausgefunden, dass es weitaus mehr und vielfältigere plastikfressende Bakterien gibt, als bisher angenommen. PET hydrolasen kommen im Phylum von *Actinobacteria, Proteobacteria* and *Bacteroidetes* vor. Innnerhalb der *Proteobacteria* sind *Beta-*, *Delta-* und *Gammaproteobacteria* die Hauptwirte. Erstaunlicherweise scheinen in mariner Umwelt Bakterien innerhalb des Phylum der *Bacteroidetes* der Hauptwirt für PET hydrolase Gene zu sein, während in terrestrischen Metagenomen dies

Actinobacteria oder *Proteobacteria* waren. Insgesamt sind PET hydrolasen seltene Enzyme. Das höchste Vorkommen wurde in Proben nachgewiesen, die Rohöl belastet waren (Danso et al., 2018) (◘ Abb. 6.96).

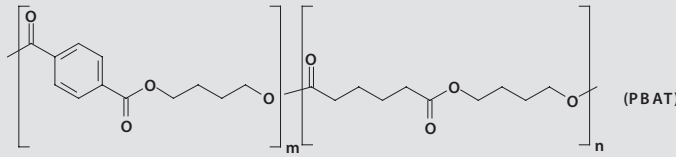
Mikroorganismen können Plastik im Boden zersetzen

Der mikrobiologische Abbau eines für die Landwirtschaft wichtigen Kunststoffs im Boden konnte direkt nachgewiesen werden. Durch die Nutzung modernster Analysemethoden wurde der Fluss des Kohlenstoffs vom biologisch abbaubaren Polymer in Kohlenstoffdioxid und mikrobielle Biomasse verfolgt.

Schon seit den 1960er Jahren werden in der Landwirtschaft Plastikfolien zum sogenannten Mulchen (Bedecken des Bodens) verwendet. Sie haben vielerlei Nutzen – zum Beispiel ermöglichen sie eine bessere Verteilung und langsamere Verdunstung von Feuchtigkeit im Boden, ideale Temperaturen für Pflanzenwurzeln und Schutz vor Unkräutern und Insekten. Damit verbessern sich die Bedingungen für das Pflanzenwachstum, während sich der Wasserverbrauch sowie der Einsatz von Herbiziden und Düngemitteln verringert.

Neben allen wirtschaftlichen Vorteilen, die die Verwendung von Mulchfilmen erzielt, gibt es jedoch möglicherweise auch große Nachteile für die Umwelt, insbesondere für die Böden. Üblicherweise bestehen Mulchfilme nämlich aus nicht-abbaubarem Polyethylen (PE). Werden diese PE-Folien nach der Ernte nicht vollständig von den Böden entfernt, bleiben Reste zurück und reichern sich auf Dauer im Boden an. Es wird geschätzt, dass 2016 weltweit sechs Millionen Tonnen Plastik in der Landwirtschaft verwendet wurden, davon allein zwei Millionen Tonnen in Form von Mulchfilmen. Selbst wenn nur ein kleiner Teil der Filme in die Böden gelangt, beeinträchtigen die Rückstände Pflanzenwachstum und Ertrag.

Ein vielversprechender Weg, die Anreicherung von Plastik in landwirtschaftlichen Böden zu umgehen, ist die Nutzung von Folien aus Polymeren, die von Bodenmikroorganismen abgebaut werden können. Ein in dieser Hinsicht vielversprechendes Polymer, das in Mulchfilmen verwendet wird, ist Polybutylenadipat-terephthalat (PBAT).



Bisher konnte der Bioabbau durch Veratmen des Polymer-Kohlenstoffs zu CO_2 und der gleichzeitige Einbau von Polymer-Kohlenstoff in Mikrobenbiomasse noch nicht direkt nachgewiesen werden. Außerdem blieb unklar, ob alle organischen Bausteine des Polymers von Mikroorganismen abgebaut werden können, um zu gewährleisten, dass keiner davon im Boden zurückbleibt.

Um den biologischen Abbau in Böden näher zu untersuchen, wurde ein spezielles PBAT, dessen Bausteine statt des herkömmlichen Kohlenstoffs ^{12}C eine erhöhte Menge des stabilen Kohlenstoffisotops ^{13}C enthielten verwendet. Da das ^{13}C-Isotop in der Umwelt nur etwa ein Prozent allen Kohlenstoffs ausmacht, kann es in angereicherter Form in Polymeren hervorragend verwendet werden, um den Fluss von Kohlenstoffatomen aus dem Polymer während des Bioabbaus in Böden zu verfolgen.

Der Abbauprozess im Boden verläuft in zwei Schritten: Zuerst muss das PBAT durch mikrobielle Enzyme in seine einzelnen Bausteine zerlegt (depolymerisiert) werden. Dann können die kleinen Bausteine von den Bodenmikroorganismen aufgenommen und verwertet werden.

Um den Einbau des ^{13}C-Kohlenstoffs in die Biomasse von Bodenmikroorganismen nachzuweisen, wurden die Polymerproben aus den Bodenexperimenten mittels hochaufgelöster Sekundärionen Massenspektrometrie (NanoSIMS) untersucht. Die Messungen zeigten, dass sowohl Pilze wie auch einzellige Mikroorganismen am Abbau des Polymers beteiligt waren. Alle drei Bestandteile des Polymers wurden von Mikroorganismen genutzt (Zumstein et al., 2018).

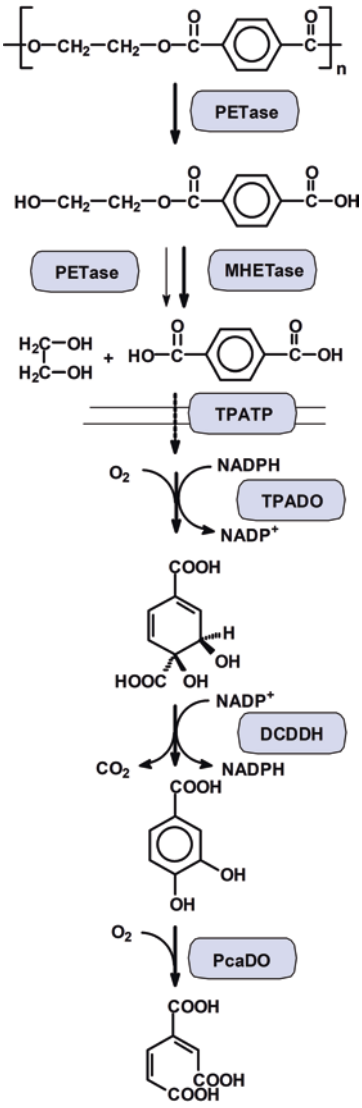


Abb. 6.96 Vorgeschlagener PET-Abbauweg. Extracellulare PETase hydrolyziert PET und bildet MHET (Mono (hydroxethyl) terephthalat) als Hauptprodukt und TPA. MHETase, ein Lipoprotein, hydrolyziert MHET zu TPA und EG. TPA wird durch den TPA-Transporter (TPATP) eingeschleust und durch TPA-1,2-Dioxygenase (TPADO) abgebaut. Es folgt der Abbau durch 1,2-Dihydroxy-3,5-cyclohexadien-1,4-dicarboxylat-Dehydrogenase (DCDDH). Ringspaltung des resultierenden PCA erfolgt durch PCA-3,4-Dioxygenase (PcaDO) (Yoshida et al., 2016)

6.5.2 Biokunststoff

Eine Systematik der Biokunststoffe hinsichtlich ihrer stofflichen Herkunft zeigt Abb. 6.97.

Naturfaserverstärkte Kunststoffe aus Hanf- und Flachsfasern mit Polypropylen, Polyethylen, Polyethylenterephthalat oder Phenolharz und Holz-Kunststoff-Verbundwerkstoffen zählen zu den wichtigsten **biobasierten, nicht abbaubaren Kunststoffen.** Bei den Holz-Kunststoff-Verbundwerkstoffen handelt es sich um thermoplastisch verarbeitbare Verbundwerkstoffe, etwa aus Polyethylen oder Polypropylen mit bis zu 80 % Holzmehl und Additiven, wie Haftvermittler, UV-Schutzmittel und Farbpigmente. In Europa setzt inzwischen allein die Bau- und Möbelindustrie 12.000 t pro Jahr ein. Die Produktionsmenge ist in der europäischen Automobilindustrie auf jährlich 50.000 t gewachsen.

Biologisch abbaubare Kunststoffe pflanzlichen Ursprungs stellen das bei weitem größte Marktsegment der Biokunststoffe dar und haben den größten wirtschaftlichen Stellenwert.

Biologisch abbaubare Kunststoffe lassen sich aus einer Vielzahl pflanzlicher Rohstoffe herstellen. Neben Cellulose und Zucker nimmt vor allem Stärke eine Schlüsselposition ein. Neben ihrer guten Verfügbarkeit bietet sie ein gutes Preis-Leistungs-Verhältnis. Die wichtigsten Stärkelieferanten sind Mais, Weizen und Kartoffeln.

Von den in den vergangenen Jahren entwickelten biologisch abbaubaren Kunststoffen haben sich vor allem die biobasierten Stärkekunststoffe, Polylactid und Polyhydroxyfettsäuren sowie der fossil basierte Polyester durchgesetzt.

- Thermoplastische Stärke ist der zurzeit wichtigste und gebräuchlichste Biokunststoff. Sein Anteil am Gesamtmarkt der Biokunststoffe beträgt etwa 80 %. Stärkekunststoffe werden vorrangig zu Folien, Spritzgussartikeln oder Beschichtungen verarbeitet.

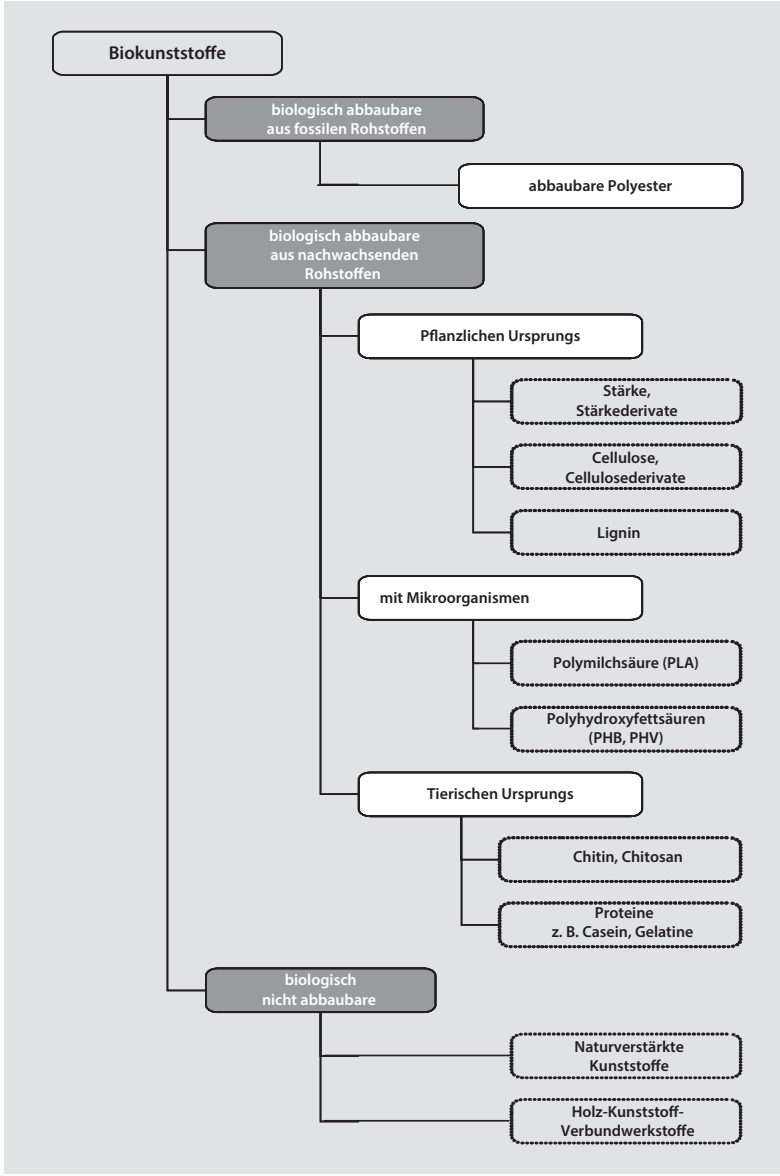


Abb. 6.97 Systematik von Biokunststoffen

- Polylactid (PLA) beziehungsweise Polymilchsäure ist ein biologisch abbaubarer Polyester und wird aus dem Monomer Milchsäure polymerisiert. Die Milchsäureproduktion erfolgt vorrangig unter Nutzung von Maisstärke. PLA und PLA-Mischungen sind seit Jahren als Spezialpolymere im medizinischen Bereich und in zunehmendem Maße als Verpackungs- und Faserwerkstoff etabliert.
- Polyhydroxyfettsäuren (PHF) sind durch die Einwirkung von Bakterien oder Pilzen auf Zucker oder Stärke gewonnene

thermoplastische Polyester. Die bekanntesten Vertreter sind Polyhydroxybutyrat (PHB) und Polyhydroxyvalerat (PHV). Mikroorganismen speichern PHF als Reservestoff. Seine Gewinnung erfolgt durch Extraktion aus den Zellen. In Abhängigkeit von der Bakterienart und der Wahl des Substrats kann eine Vielzahl von Kunststoffen mit variierenden Eigenschaften entstehen.

6.5.2.1 Biopol – ein abbaubarer thermoplastischer Kunststoff

Polyhydroxybutyrat ist ein bakterieller Speicherstoff. Er erfüllt die Funktion, die bei höheren Organismen die Fette einnehmen. Bei Überschuss an Kohlenstoffquellen wie Zucker und Mangel an Stickstoff- oder Phosphorquellen werden bei *Cupriavidus necator* (früher: *Alcaligenes eutrophus*) und anderen Bakterien bis zu 80 % des Zelltrockengewichtes als Poly-β-hydroxybutyrat intrazellulär angehäuft. Die Zucker werden bis zum Acetyl-CoA metabolisiert. Dann erfolgt die Kondensation zu Acetoacetyl-CoA, das zu β-Hydroxybutyryl-CoA reduziert und weiter zu Polybutyrat mit etwa 25.000 Einheiten polymerisiert wird. Wird dem Nährmedium Propionsäure zugeführt, so kommt es zur Bildung von Heteropolymeren, die neben Hydroxybutyrat noch Hydroxyvaleriatbausteine enthalten. Dadurch werden die Flexibilität und Elastizität der Polyhydroxyalkanoate (PHA) verbessert. Durch weitere Zusätze von aliphatischen und aromatischen Verbindungen können die Eigenschaften der Polyhydroxyalkanoate vielfältig beeinflusst werden. Die Gewinnung der Polyhydroxyalkanoate kann durch Extraktion erfolgen. Eleganter ist der enzymatische Abbau der bakteriellen Biomasse, sodass die PHA-Granula zurückbleiben, die weiter verarbeitet werden.

Mit gentechnischen Methoden wurden die für die Polyhydroxybutyrat-Synthese notwendigen Enzyme in Pflanzen übertragen und exprimiert. In den transgenen Pflanzen kommt es zur Bildung von PHB-Granula.

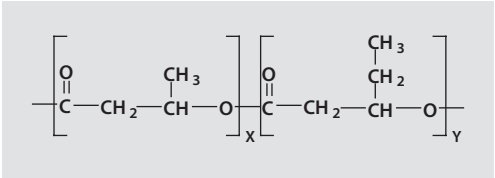


Abb. 6.98 Aufbau von Biopol

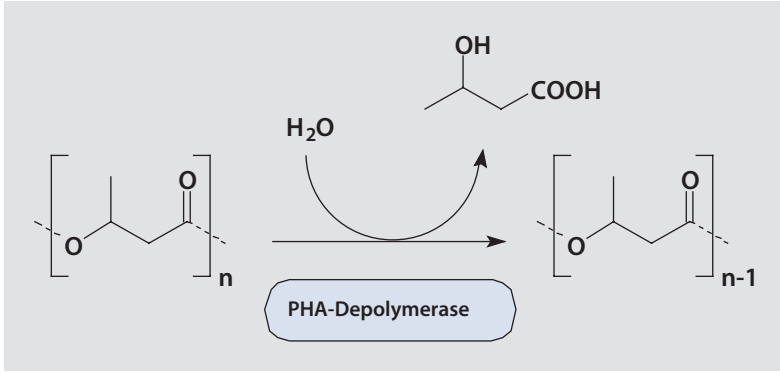
Der Name Biopol steht für eine Gruppe von thermoplastischen Polyestern auf der Basis von Hydroxybutyrat-Einheiten mit statistisch über die Polymerketten verteilten Hydroxyvalerat-Einheiten (Abb. 6.98).

Biopol ist thermoplastisch, vollständig biologisch abbaubar und in verschiedenen Ausführungen mit unterschiedlichen physikalischen Eigenschaften erhältlich. Verwendung findet der Kunststoff in der Kosmetikindustrie für Flaschen und andere Gefäße. Ebenso können Verschlüsse für Flaschen, Tuben und Gläser, mit Biopol beschichtete Papiere und Pappen für Bioabfalltüten und -säcke sowie Pappbecher hergestellt werden.

Da Polymere wegen ihrer Größe grundsätzlich nicht in eine Bakterienzelle transportiert werden können, müssen die PHA-Moleküle zunächst außerhalb der Zelle hydrolysiert werden. Dies geschieht durch extrazelluläre PHA-Depolymerasen. Sie hydrolysieren die Polyester in Oligomere, Dimere und Monomere, überführen damit den wasserunlöslichen Polyester in wasserlösliche niedermolekulare Spaltprodukte, die in die Zelle transportiert werden können. Beim Abbau von Poly(3HB) entsteht freies 3-Hydroxybutyrat, welches über Acetoacetat und Acetoacetyl-CoA in Acetyl-CoA überführt wird und so den zentralen Stoffwechsel erreicht (Abb. 6.99).

6.5.2.2 Abbaubare Kunststoffe – nicht nur aus nachwachsenden Rohstoffen

Wichtige biologisch abbaubare Kunststoffe, die zum Teil kommerziell eingeführt sind, basieren teilweise oder ganz auf fossilen Rohstoffen.



6

Abb. 6.99 PHA-Depolymerase-Reaktion, gezeigt ist die Abspaltung eines randständigen 3-Hydroxybutyrat-Moleküls von Poly(3HB). Hydrolysen der Esterbindung erfolgen auch im Polyester

Die Rohstoffbasis kann in einigen Fällen flexibel verschoben werden: je nach Preisniveau werden nachwachsende oder fossile Ausgangsmaterialien für die Synthese eingesetzt.

Polyesteramid „BAK 1095" (Bayer)
Ausgangsstoffe sind preiswerte Monomere wie ε-Caprolactam, Adipinsäure und Diole (zum Beispiel 1,4-Butandiol). Diese werden in einem Kondensationskessel miteinander in einer typischen Polykondensationsreaktion umgesetzt (Abb. 6.100).

Je nach Prozessführung können bei gleicher Bruttozusammensetzung die Eigenschaften der Polyesteramide in bestimmten Grenzen variiert werden. Die Produkte sind hervorragend verrottbar. Nach 50 Tagen ist eine Folie von 200 µm Dicke im Kompost zu über 95 % abgebaut.

6.5.3 Eine Einschätzung zur ökologischen Bewertung von Kunststoffen und Biokunststoffen

Biobasierte Kunststoffe sind Werkstoffe, die sich bisher in Nischenanwendungen behaupten und deren Marktanteile weiter wachsen werden.

Insbesondere werkstofflich recyclingfähige Erzeugnisse aus faserverstärkten Kunststoffen und Holz-Kunststoff-Verbundwerkstoffen weisen aus Umweltschutzsicht wegen der Schonung fossiler Ressourcen und der Minderung der CO_2-Emission Vorteile gegenüber Kunststoffen aus fossilen Rohstoffen auf.

Aussagefähige Umweltbetrachtungen und damit Aussagen über ihre Nachhaltigkeit liegen für die Mehrzahl der Produkte aus biobasierten biologisch abbaubaren Kunststoffen bisher nicht vor.

In einer kürzlich durchgeführten Ökobilanz nach internationalem Standard DIN EN ISO 14040 und 14044 wurden Einweggetränkebecher aus PET, Polystyrol, Karton und PLA mit einem Mehrwegbecher aus Polypropylen verglichen. Es zeigte sich, dass das Mehrwegbechersystem allen Einweglösungen aus Umweltschutzsicht deutlich überlegen ist. Das heißt, auch biologisch abbaubare Becher aus PLA stellen keine günstige Alternative dar. Die Umweltbelastungen der PLA-Becher sind vergleichbar mit jenen aus PET und liegen damit deutlich über den Einwegbechern aus Karton.

Besonders kritisch wird die Verwendung biologisch abbaubarer Kunststoffe auf Basis fossiler Rohstoffe gesehen. Denn diese Kunststoffe sind nicht – wie die Kunststoffe auf Basis nachwachsender Rohstoffe – vorteilhaft im Hinblick auf Ressourcenschonung und CO_2-Einsparung. Gleichzeitig verfügen sie nicht über das Potenzial einer werkstofflichen Verwertung wie konventionelle Kunststoffe.

In einer ökobilanziellen Betrachtung, die sowohl biologisch abbaubare Kunststoffe

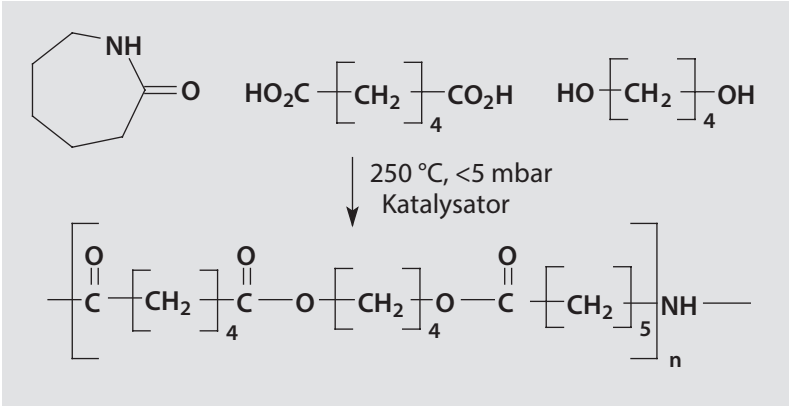


Abb. 6.100 Darstellung eines Polyesteramids aus ε-Caprolactam, Adipinsäure und 1,4-Butandiol

aus fossilen Rohstoffen als auch solche aus nachwachsenden Rohstoffen in die Untersuchung einbezieht, schneiden die fossil basierten Kunststoffe deutlich schlechter ab. Der Primärenergieeinsatz liegt hier um den Faktor 5 bis 9 und der Beitrag zum anthropogenen Treibhauseffekt um den Faktor 5 bis 7 höher als bei biologisch basierten Kunststoffen oder fossil basierten herkömmlichen Kunststoffen, wie Polyethylen und Polystyrol.

Presseinformation Nr. 37/2012 Umweltbundesamt, Dessau-Roßlau

Biokunststoffe nicht besser.Verpackungen aus bioabbaubaren Kunststoffen sind denen aus herkömmlichen Kunststoffen nicht überlegen

Die Studie des Institutes für Energie-und Umweltforschung Heidelberg (ifeu) im Auftrag des UBA „Untersuchung der Umweltwirkungen von Verpackungen aus biologisch abbaubaren Kunststoffen" hat insgesamt 85 Ökobilanzen, Studien und Fachartikel ausgewertet. Dabei wurden alle umweltbezogenen Vor- und Nachteile der jeweiligen Verpackungen berücksichtigt. Darüber hinaus analysiert die Studie die Verwendung von Verpackungen im Einzelhandel, wobei sie die aktuelle Situation, aber auch Prognosen mit einbezog (Detzel et al., 2012).

Biologisch abbaubare Kunststoffe für Verpackungen, die aus nachwachsenden Rohstoffen hergestellt werden, haben insgesamt keinen ökologischen Vorteil. Durch den Anbau und die Verarbeitung von Pflanzen für diese Verpackungen versauern Böden und eutrophieren Gewässer stärker als durch die Herstellung herkömmlicher Kunststoffverpackungen. Zudem entstehen höhere Feinstaubemissionen. Auch die vermehrt angebotenen Bioplastiktüten haben damit keinen Umweltvorteil.

Damit ist auch klar, dass die derzeit vielfach angepriesenen Bioplastiktüten keine Umweltvorteile gegenüber herkömmlichen Plastiktüten bieten. Wirklich umweltfreundlich sind nur Mehrwegtaschen, etwa Stoffbeutel und Taschen aus anderen langlebigen Materialien.

Verpackungen aus biologisch abbaubaren Kunststoffen konnten sich im Einzelhandel auch nicht durchsetzen. Im Bezugszeitraum der Studie 2009 hatten die Biokunststoffverpackungen einen Marktanteil von maximal 0,5 %. Insgesamt wurden in Deutschland in 2009 2645 Mio. t Kunststoffverpackungen verbraucht.

Für Verpackungen aus biologisch abbaubaren Kunststoffen gilt nach § 16 Absatz 2 der Verpackungsverordnung derzeit eine Sonderregelung, die ihre Markteinführung erleichtern soll: Hersteller und Vertreiber solcher Verpackungen aus biologisch abbaubaren Kunststoffen müssen sich nicht an den vorhandenen Rücknahmesystemen für Verpackungen beteiligen. Als Getränkeverpackungen unterliegen sie auch nicht der Pfandpflicht, wenn sie zu mindestens 75 % aus nachwachsenden Rohstoffen hergestellt sind.

6.6 Komplexbildner: Aminopolycarbonsäuren

Aminopolycarbonsäuren (Aminopolycarboxylate, APC) haben die Eigenschaft, sehr stabile, wasserlösliche Komplexe mit di- and trivalenten Metallionen zu bilden. Sie werden daher für eine Vielzahl von Anwendungen in Haushalt und Industrie eingesetzt, um beispielsweise die Löslichkeit und Präzipitation von Metallen zu kontrollieren oder bereits gebildete Präzipitate in Leitungen, Flaschen und an Membranen zu entfernen. Die quantitativ bedeutendsten Einsatzgebiete stellen weltweit die Photoindustrie, die Galvanik, die Papierindustrie, die Landwirtschaft sowie der Einsatz in Form von industriellen und gewerblichen Reinigungsmitteln dar. Die Verbrauchsmengen von APC beliefen sich 1998 auf etwa 180.000 t weltweit. Aufgrund des Anwendungsprofils gelangen die APC in das entsprechende Abwasser der Produktion beziehungsweise Anwendung und von dort über die Kläranlage in die aquatische Umwelt.

Die biologische Abbaubarkeit von APC wird nicht nur durch den organischen Liganden selbst, sondern auch durch das von ihm gebundene Metallion entscheidend beeinflusst. Grundsätzlich nimmt die Abbaubarkeit von Metall-APC-Komplexen mit zunehmender Größe und Komplexität des Liganden ab. Zudem verringert sich die Abbaubarkeit einer bestimmten APC in Abhängigkeit von den gebundenen Metallionen mit zunehmender Komplexstabilität.

Zu den natürlichen APC, die von Pflanzen oder Mikroorganismen produziert werden, um zum Beispiel die Aufnahme von Metallen zu realisieren, zählt Ethylendiamindisuccinat (EDDS). Dieser biologisch abbaubare Komplexbildner (eigentlich genauer: das S,S-Stereoisomer) wird unter anderem in der Bodensanierung eingesetzt, kann aufgrund seiner relativ geringen Komplexierungsfähigkeit jedoch nicht für viele industrielle Zwecke verwendet werden. Die technisch am meisten verwendeten synthetischen Aminopolycarbonsäuren sind Nitrilotriacetat (NTA) und Ethylendiamintetraacetat (EDTA). Während das strukturell einfache und nur vergleichsweise „schwache" Metall-Komplexe-bildende NTA durch viele Bakterien unter oxischen beziehungsweise anoxischen Bedingungen abgebaut wird, gilt das komplexere und relativ stabile Komplexe bildende EDTA im Allgemeinen als „biologieunfähig" und wird in Kläranlagen und in der Natur biologisch nicht abgebaut. Für den Fe(III)-EDTA-Komplex wird allerdings ein Photoabbau beschrieben, der als Hauptsenke für einen teilweisen Abbau von EDTA in aquatischen Systemen angesehen werden kann.

Die beiden am besten charakterisierten aeroben NTA-verwertenden Genera (*Chelatobacter* und *Chelatococcus*) gehören zu den *Alphaproteobacteria.* Diese Organismen sind offenbar in recht hoher Anzahl in Oberflächenwasser, Böden und Kläranlagen vorhanden.

Die NTA-Monooxygenase wurde bereits kloniert und sequenziert. Unter nitrifizierenden Bedingungen wurde ein NTA-Abbau durch eine NTA-Dehydrogenase beschrieben. Die beiden ersten Schritte des Abbaus durch *Chelatobacter* und *Chelatococcus* werden durch eine Monooxygenase (NTA-MO) und eine Membran-gebundene Iminodiacetat-Dehydrogenase (IDA-DH) katalysiert.

Auch für eine vollständige Mineralisierung von EDTA konnten verschiedene Reinkulturen isoliert werden, wobei die Abbaubarkeit im Vergleich zu NTA deutlicher vom komplexierten Metallion abhängt. So wurde gezeigt, dass Bakterien, welche verschiedene EDTA-Komplexe (zum Beispiel Ca-, Mg- und Mn-EDTA) abzubauen vermögen, mit dem stabileren Fe(III)-EDTA-Komplex nicht wachsen können (◘ Abb. 6.101).

Untersuchungen zum Metabolismus von EDTA ergaben, dass EDTA mit Hilfe eines induzierbaren, sehr spezifischen und energieabhängigen Transportsystems in die Zellen gelangt, wobei Ca^{2+} mit dem EDTA

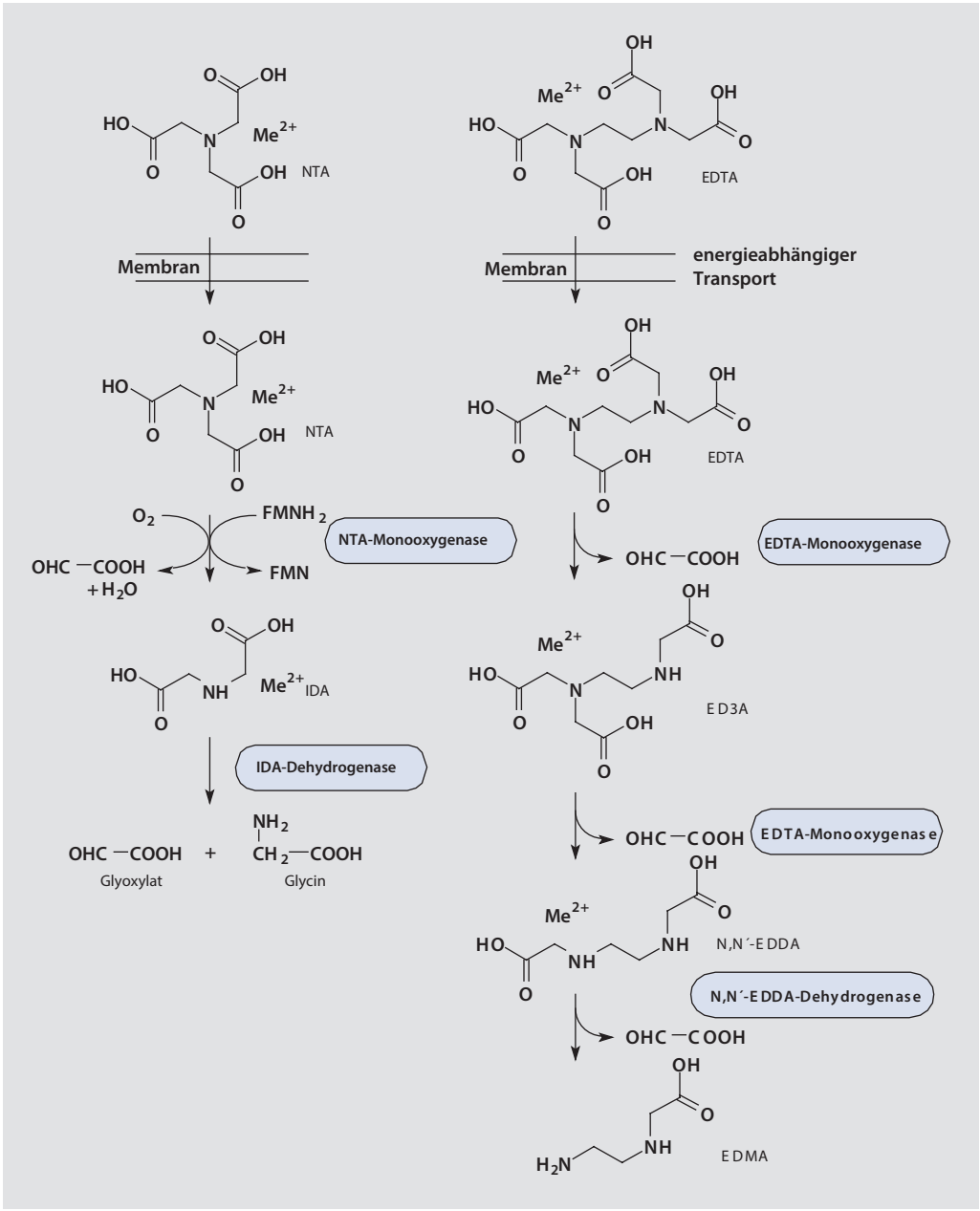


Abb. 6.101 Abbau von Komplexbildnern

transportiert wird. Für den initialen Schritt des EDTA-Abbaus ist eine EDTA-Monooxygenase (EDTA-MO) verantwortlich, die viele Charakteristika mit der NTA-MO aus strikt aeroben NTA-abbauenden Bakterien gemeinsam hat. Durch die EDTA-MO wird die sukzessive, oxidative Abspaltung zweier Acetylreste vom EDTA-Molekül katalysiert, wobei über den Metaboliten Ethylendiamintriacetat (ED3A) schließlich N,N'-Ethylendiamindiace-

tat (N,N'-EDDA) und zwei Moleküle Glyoxylat freigesetzt werden.

Der weitere Abbau von N,N'-EDDA erfolgt vermutlich auf verschiedenen Wegen, unter anderem wiederum durch Abspaltung eines Acetylrest in Form von Glyoxylat und der Bildung von Ethylendiaminmonoacetat (EDMA). Es ist anzunehmen, dass diese Reaktion von einer Dehydrogenase katalysiert wird. Allerdings wird auch die Bildung von Ethylendiamin aus N,N'-EDDA durch eine Iminodiacetat-Oxygenase aus Stamm BNC1 berichtet.

Die Art des Metall-EDTA-Komplexes beeinflusst zwar sowohl den Transport des Komplexbildners als auch dessen enzymatischen Abbau durch die EDTA-MO, jedoch wird nur für den Transport eine unmittelbare Abhängigkeit von der Stabilität des Komplexes beschrieben. Lediglich Komplexe mit relativ geringer Stabilität (Mg-EDTA, Ba-EDTA, Ca-EDTA und Mn-EDTA, konditionelle Komplexbildungskonstanten $<10^{14}$) können in die Zellen transportiert werden, wogegen eine vergleichbare Abhängigkeit für die Aktivität der EDTA-MO von der Komplexstabilität nicht festgestellt wurde. Bevorzugtes Substrat ist Mg-EDTA, gefolgt von Zn-EDTA, Mn-EDTA und Co-EDTA, während freies und mit Calcium komplexiertes EDTA nicht umgesetzt werden.

6.7 Endokrin wirksame Verbindungen

Endokrin wirksame Substanzen in der Umwelt sind seit einigen Jahren im Gespräch und die Besorgnis über die Auswirkungen dieser Substanzen führten zu zahlreichen Untersuchungsprogrammen im nationalen und internationalen Rahmen. Endokrine Substanzen, ihre Wirkung und das durch sie verursachte Risiko haben eine politische Brisanz.

Unter endokrin wirkenden Substanzen werden sowohl natürliche als auch synthetisch hergestellte Stoffe verstanden, die auf das endokrine System wirken. Hoch wirksam sind Hormone, aber es können auch andere Substanzen wie Hormone wirken oder auf anderem Wege in die hormonelle Regulation eingreifen.

Der Eintrag von natürlichen und synthetischen Hormonen in die Umwelt erfolgt nach deren Ausscheidung mit dem Urin und Fäzes über kommunale Kläranlagen. Die Östrogene kommen nur in sehr geringen Konzentrationen (wenige ng/L) im Abwasser vor und sind nur mit großem Aufwand analytisch bestimmbar. Endokrin wirksame Substanzen in Abwässern können aber auch aus dem industriellen und dem kommunalen Bereich stammen. Relevante Substanzen unter vielen anderen sind die Nonylphenole, die im Zuge der Abwasserbehandlung überwiegend als Abbauprodukte von Alkylphenolethoxylaten entstehen, aber auch Bisphenol A und Organozinnverbindungen.

6.7.1 Tributylzinnverbindungen

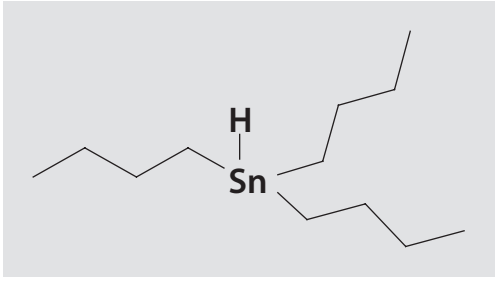
In der Natur kommen Organozinnverbindungen nicht vor. Sie werden ausschließlich synthetisch hergestellt. Die Produktion dieser Verbindungen hat im Jahre 1936 begonnen und hat sich weltweit auf 63.000 t im Jahre 1986 gesteigert. Die gegenwärtige weltweite Produktion beträgt etwa 30.000 bis 50.000 t pro Jahr (Umweltbundesamt Berlin, 2001). Etwa 60 % der Organozinnverbindungen werden als Stabilisatoren in Kunststoffen (PVC, Silikone, Polyurethane) eingesetzt. Der Rest wird als Biozid in Antifoulings, Pflanzenschutz- und Holzschutzmitteln und in industriellen Ausgangsprodukten für Tri-, Di- und Monoderivate beziehungsweise Zwischenprodukte verwendet.

Das metallorganische Tributylzinn (TBT) wurde und wird wegen seiner starken bioziden Wirkung in Antifoulingfarben gegen Bewuchs an Schiffen eingesetzt. Dabei wird TBT unvermeidlich in den umgebenden Wasserkörper abgegeben, wo es sich in Schwebstoffen und Sedimenten anreichert.

Seit 1990 ist der Verkauf von tributylzinnhaltigen Antifoulinganstrichen in den meisten Ländern Westeuropas und in den USA und Kanada verboten. Auch nach der Regulierung von Antifoulingfarben finden sich weltweit hohe TBT-Konzentrationen in Meeresseddimenten. Bedingt durch den langsamen Abbau stellen kontaminierte Sedimente Altlasten dar, die vor allem bei Hafensanierungen problematisch sind.

TBT ist bislang die einzig bekannte, nichtsteroidale Verbindung, der eine androgene Wirkung zugeschrieben wird. Mittlerweile konnte eine eindeutige Ursache-Wirkung-Beziehung zwischen dem Eintrag von TBT in die aquatische Umwelt und dem Pseudohermaphroditismus (teilweise Ausbildung männlicher Geschlechtsorgane analog den Effekten bei Zugabe von Testosteron) bei marinen Schnecken belegt werden.

Die Toxizität der Butylzinnfamilie gegenüber Bakterien fällt in der Reihenfolge Tributyl- > Dibutyl- > Monobutylzinn > Zinn. Sie zeigen Wirkung an Zellmembranen. Die Hemmkonzentrationen liegen im Bereich von 0,04–50 μM. Nur wenige Informationen liegen zum mikrobiellen und abiotischen Abbau in natürlichen Habitaten vor. Der Abbau soll die sukzessive Eliminierung der Alkylreste beinhalten. Wichtig für einen biologischen Abbau scheint eine sehr geringe Konzentration der Umweltchemikalie zu sein, da sonst die toxische Wirkung auf die Bakterien erfolgt (◘ Abb. 6.102).



◘ **Abb. 6.102** Tributylzinn (TBT)

6.7.2 Alkylphenole

Alkylphenole und insbesondere deren Derivate werden weltweit im Maßstab von etwa 500.000 t/a (Europa 100.000 t/a) vorwiegend zur Herstellung von Detergenzien der Gruppe der Alkylphenolpolyethoxylate (APnEO) produziert. Hierunter steht 4-Nonylphenol (4NP) in Deutschland bei einer Produktionskapazität von etwa 35.000 t/a mit einem Anteil von 70 % an der Spitze. Im technischen Produkt ist eine Vielzahl isomerer, **verzweigter Nonylphenole** enthalten. Weltweit haben die Nonylphenolpolyethoxylate (NPnEO) an allen APnEO einen Anteil von 82 %. NPnEO wurden seit den 40er bis Ende der 80er Jahre Haushaltsreinigern und Waschmitteln als nichtionische Tenside zugesetzt. Außerdem finden sie in vielen Industriebereichen als Antioxidanzien, Netzmittel, Emulgatoren für Pestizide, Hilfsmittel in der Leder- und Papierverarbeitung, Bohr-, Verlauf- und Färbehilfsmittel sowie zur Vorbehandlung von Wolle Anwendung. Bis zum Jahr 2000 sollten auf freiwilliger Basis auch im Bereich der Industrie in Europa alle NPnEO ersetzt werden.

NPnEO selbst sind nicht besonders toxisch und zeigen keine hormonelle Aktivität. Die Polyethoxylatketten werden jedoch beim aeroben, mikrobiellen Abbau in Kläranlagen abgespalten und zunächst Nonylphenolmonoethoxylate (NP1EO) und Nonylphenoldiethoxylate (NP2EO) gebildet. Diese Abbauprodukte sind wesentlich stabiler als die ursprünglichen NPnEO und zeigen eine hohe Tendenz zur Akkumulation an Schwebstoffen oder im Sediment von Flüssen. Ein Teil der NP1EO und NP2EO wird zu Nonylphenoxyessigsäure (NP1EC) beziehungsweise zu Nonylphenoxyethoxyessigsäure (NP2EC) oxidiert. Unter anaeroben Bedingungen im Klärschlamm oder im Sediment erfolgt der biologische Abbau der nicht oxidierten Ethoxygruppen unter Freisetzung von 4-NP (◘ Abb. 6.103).

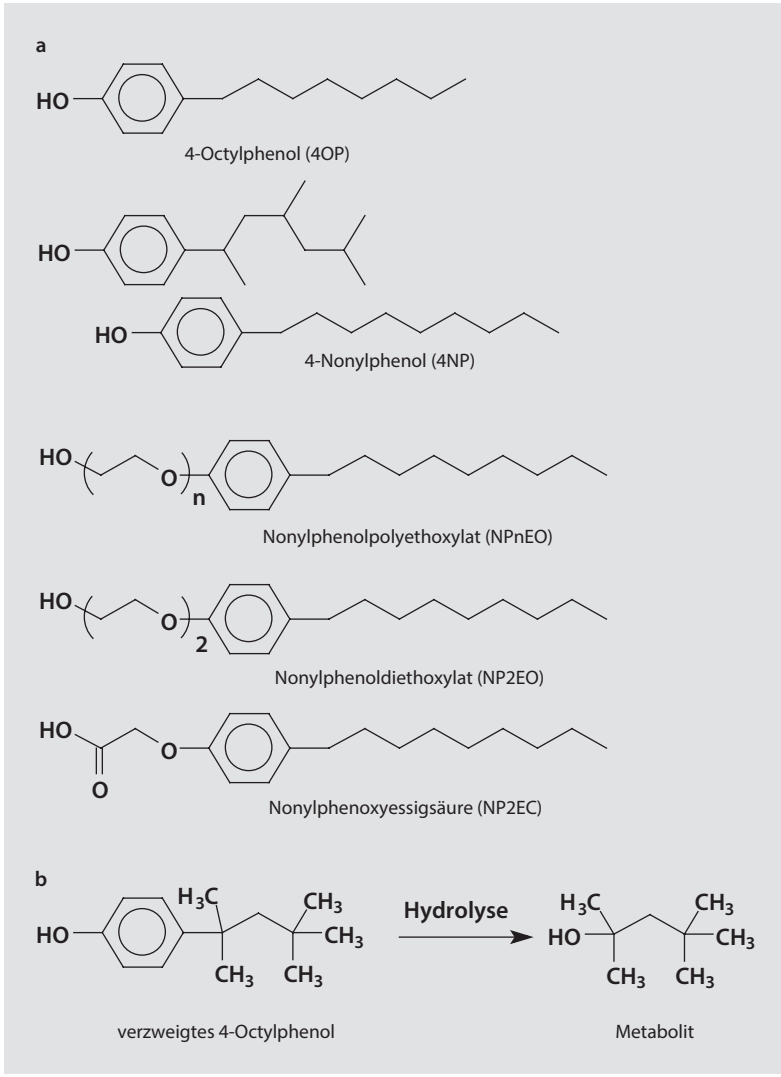


Abb. 6.103 Alkylphenole. (**a**) Beispiele für unverzweigte und verzweigte Alkylphenole sowie deren Derivate, (**b**) eine Hydrolyse beseitigt die östrogene Potenz

Neben seiner aquatischen Toxizität kommt 4-NP eine weitere besondere Bedeutung zu. Es wurde 1991 eher zufällig dessen östrogene Wirkung entdeckt. Andere kurzkettige, in 4-Position substituierte Alkylphenole wie 4-*sec*-Butylphenol, 4-*tert*-Butylphenol, 4-*tert*-Pentylphenol und 4-*iso*-Pentylphenol zeigen ebenfalls östrogene Wirkung. Alkylphenole mit kleineren Seitenketten als vier C-Atome sind inaktiv, ebenso wie alle in Position 2 und 3 substituierten Phenole. Neben den NPnEO sind auch die Abbauprodukte der Octylphenolpolyethoxylate (OPnEO), in erster Linie das 4-Octylphenol (4-OP), von Interesse.

Die Abbauprodukte der NPnEO, NP1EC und NP2EO zeigen eine abnehmende östrogene Potenz in der Reihenfolge 4-OP, NP1EC, 4-NP und NP2EO. Alkylphenolethoxylate mit mehr als drei Ethoxylatgruppen erwiesen sich

als inaktiv. Sie werden jedoch im Sediment meist in die aktiven Derivate NP1EO und NP2EO umgewandelt.

Der weitere Abbau von 4-Hydroxybenzoat verläuft über Protocatechuat und nachfolgend *meta*-Spaltung (siehe ◘ Abb. 6.16).

6.7.3 Bisphenol A

Bisphenol A (BPA) zählt mit 3,8 Mio. t pro Jahr zu den am meisten produzierten Chemikalien weltweit.

Für den Menschen wurde Bisphenol A bereits wegen seiner fortpflanzungsschädigenden und hormonellen Wirkung (BPA wirkt östrogen) als besonders besorgniserregender Stoff (SVHC) identifiziert. Die hormonelle Wirkung auf Fische und Amphibien ist belegt. BPA ist in die sogenannte Kandidatenliste unter REACH aufgenommen worden.

Bisphenole und insbesondere Bisphenol A ist Ausgangsstoff für Polykarbonat-Kunststoffe sowie Epoxidharze. Ihr Anwendungsbereich ist daher sehr breit gefächert. Der Stoff steckt noch in vielen Alltagsprodukten wie Trinkflaschen, Konservendosen, DVDs, Kassenzetteln aus Thermopapier oder Lebensmittelverpackungen. Durch ihren Einsatz in Gehäusen (Elektrotechnik, Elektronik), Brillengläsern, Autoscheinwerferscheiben sowie in Lacken und Klebern sind sie weit verbreitet anzutreffen und gelangen als Abfall auch zur Ablagerung auf Deponien.

Aufgrund seiner ubiquitären Verwendung und Verbreitung wird BPA regelmäßig in kommunalem Abwasser, Klärschlamm, Oberflächengewässern und Sedimenten nachgewiesen.

Aufgrund des lipophilen Charakters ($\log K_{ow} = 3{,}18$) kann es in Abwasserreinigungsanlagen zu einer Bindung dieser Substanzen an feste organische Substanzen und als Folge davon zu einem Austrag mit dem Klärschlamm kommen.

BPA unterliegt in Wasser, Schlamm und Boden einem relativ raschen aeroben Abbau, während ein anaerober Abbau bisher nicht festgestellt wurde (◘ Abb. 6.104).

6.8 Methyl-*tert*-butylether

Der Benzinzusatzstoff Methyl-*tert*-butylether (MTBE) zählt weltweit zu den meistproduzierten Chemikalien. Die Weltproduktionskapazität belief sich auf ungefähr 25 Mio. t 1999, in Deutschland lag die Produktion 2001 bei 680.000 t. Obwohl MTBE weltweit verwendet wird, werden 61 % in den USA verbraucht, aber nur 44 % dort produziert. MTBE wird dem Benzin seit Mitte der 70er Jahre in den USA und seit Anfang der 80er Jahre in Deutschland zur Verbesserung der Klopffestigkeit zugegeben. Für die vollständige Verbrennung von Benzin im Motor wird Sauerstoff benötigt. Dieser wird mechanisch während der Ansaugphase durch den Kolbenhub in den Ottomotor eingebracht und dort verdichtet. Da diese Sauerstoffmenge aber nicht für eine vollständige Verbrennung zu CO_2 ausreicht, wird durch Zusatzstoffe zusätzlich auf chemischem Wege Sauerstoff in den Verbrennungsraum des Motors eingebracht. Insbesondere im hoch-oktanigen Super Plus Benzin (ROZ 98, **R**esearch **O**ktan **Z**ahl) werden bis zu 15 % MTBE zugesetzt, um die Oktanzahl zu erhöhen und eine vollständigere Verbrennung zu gewährleisten.

MTBE ist vor allem wegen seiner physikochemischen Eigenschaften für das Grundwasser problematisch: leichtflüchtig (mit einer Henry-Konstante $K_H = 0{,}54$ atm• L/mol, vergleichsweise weniger flüchtig aus Wasser als Benzol $K_H = 5$ atm• L/mol), gut wasserlöslich (50 g/L bei 25 °C, im Vergleich zu anderen Komponenten von Benzin wie Benzol von 1,79 g/L) und hoch mobil im Boden (sehr geringer Verteilungskoeffizient $\log K_{ow}$ von 1,06). Dazu kommt eine niedrige Geruchs- und Geschmacksschwelle. So hat seine Verwendung in den USA zu teilweise erheblichen Grundwasserbelastungen und in der Folge zu

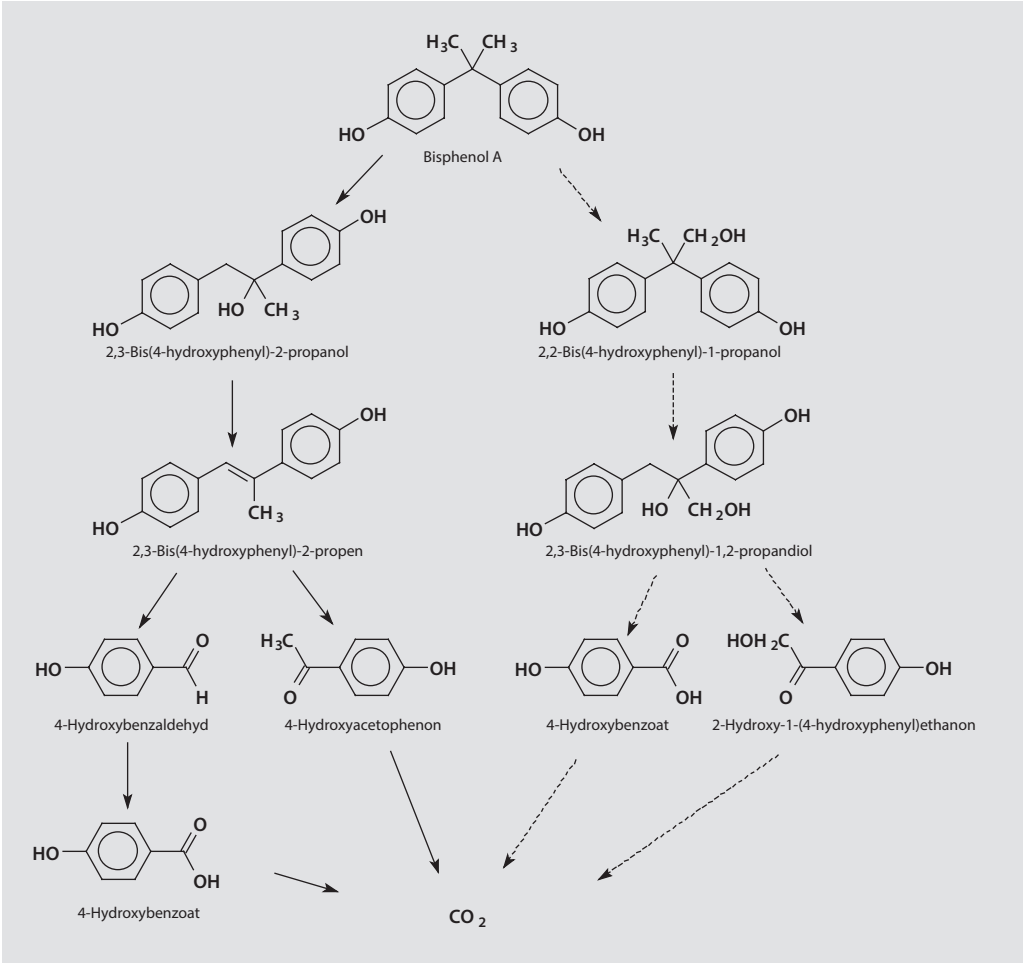


Abb. 6.104 Abbauweg für Bisphenol A: Hauptweg (*links*), Nebenweg (*rechts*)

heftigen Kontroversen bis hin zum MTBE-Verbot in Kalifornien ab 2003 geführt. Die in Europa eingesetzten Mengen liegen überwiegend niedriger.

MTBE wird diffus aus der Atmosphäre aber auch punktförmig durch Benzinkontamination in das Grundwasser eingetragen. Der Eintrag von MTBE mit Benzin mit etwa 1000 Freisetzungen jährlich kommt in der EU häufiger vor als bisher vermutet.

In Deutschland lässt sich MTBE in nahezu allen untersuchten Oberflächengewässern nachweisen. Messungen der letzten Jahre ergaben mittlere Konzentrationen von etwa 0,1 bis 0,3 µg/L. Offenbar spielt der Eintrag über den Luftpfad eine Rolle. Grundwasseruntersuchungen zeigen in städtischen Gebieten MTBE-Belastungen im Bereich von 0,1 bis 0,5 µg/L, in ländlichen Gebieten liegen diese Werte um den Faktor 10 niedriger.

Generell wird MTBE als biologisch schwer abbaubar eingeschätzt. Dennoch wird Abbau von MTBE unter aeroben, anaeroben und cometabolischen Bedingungen beschrieben.

Aerobe Mineralisierung von MTBE im Labormaßstab wurde gezeigt. Die Mikroorganismen wurden aus verschiedenen Quellen isoliert, generell aus Kläranlagen der

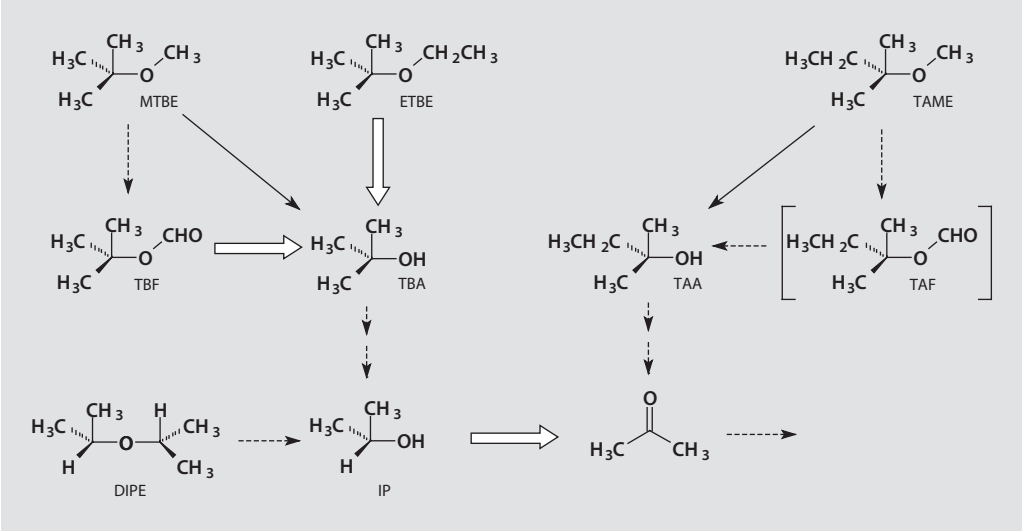


Abb. 6.105 Vorgeschlagener Abbauweg für MTBE und andere Ether durch den Stamm PM1 (Church et al., 2000). *tert*-Butylformiat (TBF), Diisopropylether (DIPE), Ethyl-*tert*-butylether (ETBE), *tert*-Butylalkohol (TBA), Isopropanol (IP), *tert*-Amylalkohol (TAA), *tert*-Amylmethylether (TAME), *tert*-Amylformiat (TAF). Die Pfeile bedeuten unterschiedliche Geschwindigkeiten: hohl: schnell; gestrichelt: sehr langsam

erdölverarbeitenden oder chemischen Industrie. Mischkulturen und auch Reinkulturen wurden erhalten, die MTBE als Kohlenstoff- und Energiequelle nutzen können. Es fällt auf, dass die Zellausbeuten mit MTBE (0,1–0,2 g Zellen/g MTBE) generell niedriger als solche mit Aromaten liegen. Ferner wurde beobachtet, dass geringere Abbauraten im Vergleich zu dem mit Aromaten resultierten.

Mit dem Stamm PM1 wurde der Abbauweg zum Teil aufgeklärt (Abb. 6.105). Er enthält jedoch weiterhin einige nur vermutete Schritte. Mit einer Abbaurate in vergleichbarer Höhe wie die für MTBE setzt der Stamm PM1 auch andere Ether wie *tert*-Amylmethylether, Ethyl-*tert*-butylether und Diisopropylether sowie Alkohole wie *tert*-Butylalkohol und *tert*-Amylalkohol um.

Widersprüchliche Daten liegen zum anaeroben Abbau von MTBE vor. Generell ist anaerober Abbau von MTBE und anderen oxygenierten Ethern unter methanogenen Bedingungen selten beobachtet worden. Untersuchungen zum Abbaupotenzial von verschiedenen Sedimenten mit MTBE und TBA zeigten dann Erfolge, wenn Fe(III)oxide und Huminstoffe den Ansätzen zugesetzt wurden. TBA wird viel schneller als MTBE unter eisen-reduzierenden und methanogenen Bedingungen abgebaut. Anaerob ist der Abbau von TBA relativ schnell und vollständig. Die Abbauraten sind vergleichbar mit dem des aeroben TBA-Abbaus. Generell wird herausgestellt, dass MTBE als Substanz klassifiziert werden muss, deren Abbau unter anaeroben Bedingungen sehr schwierig ist.

Ferner ist **cometabolische Umsetzung** von MTBE durch Bakterien und Pilze möglich. Der MTBE-Cometabolismus wird dabei besonders von solchen Mikroorganismen durchgeführt, die auf kurzkettigen Alkanen ($< C_8$) wachsen. Hier ist die Fähigkeit des Wachstums mit *iso*-Alkanen von besonderem Interesse. Es gibt eine Vielzahl von Co-Substraten, die den Abbau von MTBE unterstützen, wie Alkane, Aromaten und cyclische Verbindungen. Der einleitende Schritt beim Cometabolismus soll durch Cytochrom P-450

Monooxygenasen durchgeführt werden. Die Bildung von *tert*-Butylformiat soll der TBA-Akkumulation vorgeschaltet sein.

6.9 Glyphosat

Glyphosat ist eine Verbindung aus der Gruppe der Phosphonate. Es ist die biologisch wirksame Hauptkomponente einiger Breitband- bzw. Totalherbizide. Seit der zweiten Hälfte der 1970er Jahre wurde es von Monsanto als Wirkstoff unter dem Namen *Roundup* zur Unkrautbekämpfung auf den Markt gebracht. Weltweit ist es seit Jahren der mengenmäßig bedeutendste Inhaltsstoff von Herbiziden. Glyphosatprodukte werden mittlerweile von mehr als 40 Herstellern vertrieben. Die produzierte Menge wurde für das Jahr 2008 auf 600.000, 2011 auf 650.000 und 2012 auf 720.000 t geschätzt. Glyphosat wird in Landwirtschaft, Gartenbau, Industrie und Privathaushalten eingesetzt.

Glyphosat wirkt nicht-selektiv gegen Pflanzen. Es ist ein kompetitiver Inhibitor von Phosphoenolpyruvat der pflanzlichen 5-Enolpyruvylshikimat-3-phosphat-Synthase und verhindert somit die Biosynthese der aromatischen Aminosäuren Phenylalanin, Tryptophan und Tyrosin sowie einiger Benzoesäurederivate. Dies bedeutet, dass alle damit behandelten Pflanzen absterben. Ausnahmen bilden Nutzpflanzen, die gentechnisch so verändert worden sind, dass sie eine Herbizidresistenz gegenüber Glyphosat besitzen.

Im Vergleich mit anderen Herbiziden weist Glyphosat meist eine geringere Mobilität, eine kürzere Lebensdauer und eine niedrigere Toxizität bei Tieren auf. Dies sind für landwirtschaftlich verwendete Herbizide in der Regel wünschenswerte Eigenschaften.

Der Abbau von Glyphosat im Boden ist im Allgemeinen schnell. Die Halbwertszeit in verschiedenen Böden variiert über einen weiten Bereich. Neben der biologischen Aktivität im Boden gibt es Faktoren, die die Sorption von Glyphosat an den Boden beeinflussen und damit die Abbaurate beeinflussen.

Das Vorkommen und das Schicksal von Glyphosat und dessen Hauptmetabolit AMPA wurden auch in einem See, Greifensee, Schweiz, untersucht. Monatliche vertikale Konzentrationsprofile im See zeigten einen Anstieg der Glyphosat-Konzentrationen im Epilimnion von März zum Juli, gefolgt von einem sehr starken Rückgang im August. Ein ähnliches Muster wurde für AMPA beobachtet. Die Konzentrationen von Glyphosat und AMPA in den beiden Hauptzuflüssen waren im Allgemeinen viel höher als im See. Eine erhebliche Menge an Glyphosat und AMPA im Epilimnion wurde hauptsächlich im Juli und August, mit Halbwertszeiten von Tagen entfernt. Der schnelle Konzentrationsabfall fiel mit hohen Wassertemperaturen und Phytoplanktondichten sowie niedrigen Phosphatkonzentrationen zusammen. Dies weist darauf hin, dass Glyphosat als alternative Phosphorquelle von Bakterio- und Phytoplankton verwendet wurde. Diese Deutung stimmt mit der Kenntnis überein, dass Glyphosat und AMPA Verwertung durch das Pi-Niveau reguliert wird.

Metagenomische Analyse von Seewasser zeigte die Anwesenheit von Organismen, von denen bekannt ist, dass sie Glyphosat und AMPA abbauen können.

Verschiedene Mechanismen existieren für den Abbau von Phosphonsäuren. Unter den verschiedenen Wegen mit Spaltung der C-P-Bindungen hat der C-P-Lyase-Weg die breiteste Substratspezifität und ist der einzige bekannte Weg für die direkte Freisetzung von Phosphor aus Glyphosat. Die *phn*-Gene, die die die Enzyme für diesen Weg codieren, sind unter Bakterien weit verbreitet. Ein allgemeines Muster der Genorganisation von C-P-Lyase-Weg-spezifizierenden Genen, *phn,* hat sich unter Mikroorganismen entwickelt. Trotz dieser allgemeinen Genorganisation gibt es einen deutlichen Unterschied in der Spezifität bei der Verwendung von Glyphosat bei verschiedenen Organismen.

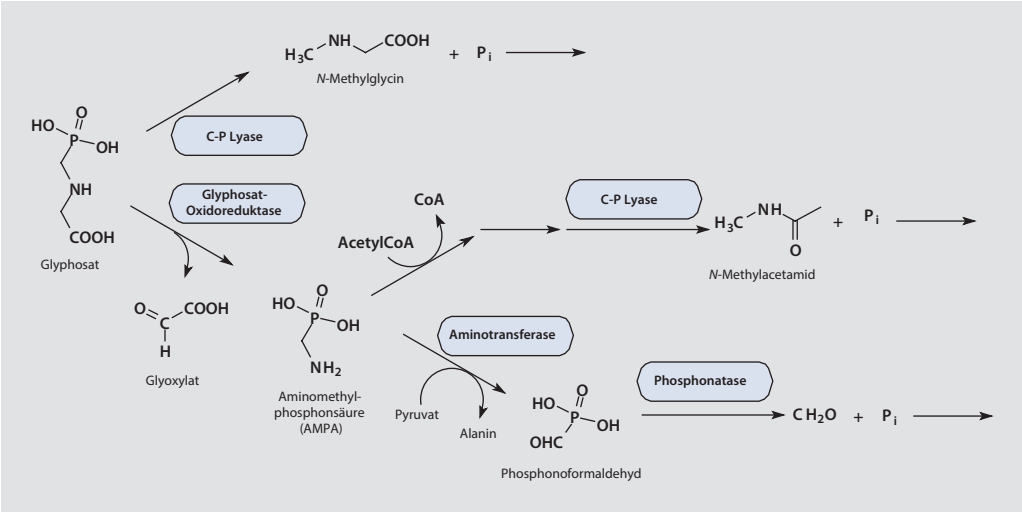


Abb. 6.106 Vorgeschlagene Abbauwege für Glyphosat

Weiter kann durch anfängliche Spaltung von Glyphosat die Bildung von AMPA erfolgen. Dieser letztere Prozess scheint eine Eigenschaft von Zellen zu sein, die in der Gegenwart von Glyphosat kultiviert wurden, was über einen längeren Zeitraum möglicherweise Veränderungen in einem oder mehreren Genen bewirkt hat, um die katalytische Eigenschaft für die Glyphosat-Spaltung zu verbessern (Hove-Jensen et al., 2014; Huntscha et al., 2018; Sviridov et al., 2015 (Abb. 6.106).

Testen Sie Ihr Wissen

Woher stammen Ölkontaminationen im Meer hauptsächlich?
Was ist Phytan, Pristan, Hopan?
Was sind „Tar Balls"?
Kalkulieren Sie grob den Verbleib von Öl nach 3 Jahren auf See.
Wozu wird Sauerstoff im mikrobiellen Alkanabbau benötigt?
Beschreiben sie die β-Oxidation von Fettsäuren.
Wie findet Alkanabbau statt, wenn kein Sauerstoff vorhanden ist? Was halten Sie von dem Kommentar, „als Sauerstoff-Ersatz wird Nitrat zugesetzt"?
Behindern Seitengruppen im Alkan den Ablauf in der Abbausequenz? Gibt es Auswege zu deren Beseitigung?
Was weiß man zum Abbau von Cycloalkanen?
Beschreiben Sie die einleitenden Reaktionsschritte beim aeroben Aromatenabbau durch Bakterien! Was machen die Pilze anders?
Wie unterscheiden sich Mono- und Diooxygenasen?
Welche Metabolite sind geeeignet zur Ringspaltung?
Was ist extra- und intradiol Ringspaltung? Welche Begriffe werden synonym verwendet?
Benennen Sie den Unterschied zwischen aerobem und anaerobem Abbau am Beispiel des Toluols!
Welches sind die Schlüsselmetabolite im anaeroben Aromatenabbau?
Woran erinnert Sie die Reaktionsfolge im Benzoyl-CoA-Abbau, wenn Sie an den Alkanabbau denken?
Warum sind PAK schlecht abbaubar?

Lignin- und Mangan-abhängige Peroxidase: Welche Substanzen werden durch sie angegriffen? Welche Rolle spielt dabei das H_2O_2? Woher kommt es?

Erklären Sie die Probleme durch Benz[*a*]pyren in Grillware!

Beschreiben Sie den Abbau von Carbazol und Dibenzofuran im Vergleich zu dem des Naphthalins!

Unterscheiden Sie die Spaltung eines Esters und eines Ethers!

Was leisten Biotenside und wie? Was ist eine Mizelle?

Skizzieren Sie Dehalorespiration am Beispiel von 3-Chlorbenzoat! Wie kommt es zur Erzeugung des Protonengradienten?

Was verstehen Sie unter dem *ortho*-Weg für Chlorbrenzcatechine?

Was ist ein Cluster, ein Operon, ein Plasmid?

Was ist Transformation, Transduktion, Konjugation wenn es um Übertragung von DNA geht?

Was verbirgt sich hinter der Abkürzung HCH?

Zeichnen Sie Atrazin!

Wie lässt sich Trichlorethen biologisch aus der Umwelt entfernen? Welches sind hierfür geeignete Co-Substrate?

Vergleichen Sie die Umsetzung von TRI durch Methan-Monooxygenase mit der durch einen Isopren-Verwerter!

Chlorethene als Elektronenakzeptoren: Welche Zwischenprodukte treten auf? Welches Produkt ist besonders problematisch?

Welche Strategie der mikrobiellen Beseitigung einer potentiellen Gefahr durch TNT im Boden bietet sich an?

Warum enthalten Azofarbstoffe SO_3H-Gruppen?

Welche Möglichkeit der Spaltung einer Azogruppe ist ubiquitär verbreitet?

Beschreiben Sie anhand des Abbaus von 6-Aminonaphthalin-2-sulfonsäure eine Syntrophie!

Welche Eigenschaften sollten Kunststoffe haben, damit sie gut abgebaut werden?

Sagen Sie etwas zur Abbaubarkeit von Komplexbildnern (siehe auch ► Kap. 15).

Welche endokrin wirksamen Substanzen in der Umwelt kennen Sie? Welche Folgen treten im Ökosystem auf?

Ist der Benzinzusatzstoff MTBE in den USA erlaubt? Welcher Teil des Moleküls macht beim Abbau Schwierigkeiten?

Literatur

Achtnich, C., Pfortner, P., Weller, M. G., Niessner, R., Lenke, H., Knackmuss, H.-J. 1999. Reductive transformation of bound trinitrophenyl residues and free TNT during a bioremediation process analyzed by immunoassay. Environ. Sci. Technol.33:3421–3426.

Albers, C. N., Jacobsen, O. S., Flores, E. M. M., Pereira, J. S. F., Laier, T. 2011. Spatial variation in natural formation of chloroform in the soils of four coniferous forests. Biogeochemistry 103:317–334.

Andreae, M. O., Merlet, P. 2001. Emission of trace gases and aerosols from biomass burning. Glob. Biogeochem. Cycles 15:955–966.

Baker, J. M., Sturges, W. T., Sugier, J., Sunnenberg, G., Lovett, A. A., Reeves, C. E., Nightingale, P. D., Penkett, S. A. 2001. Emissions of CH_3Br, organochlorines, and organoiodines from temperate macroalgae. Chemosphere – Glob. Change Sci. 3:93–106.

Ballschmiter, K. 2003. Pattern and sources of naturally produced organohalogens in the marine environment: biogenic formation of organohalogens. Chemosphere 52:313–324.

Beckmann, W. 1976. Zur biologischen Persistenz von sulfonierten aromatischen Kohlenwasserstoffen: Desulfonierung und Katabolismus der Naphthalin-2-sulfonsäure. Dissertation, Göttingen.

Blasiak, L. C., Drennan, C. L. 2003. Structural perspective on enzymatic halogenation. Acc. Chem. Res. 42:147–155.

Borrel, G., Adam, P. S., McKay, L. J., Chen, L. X., Sierra-García, I. N., Sieber, C. M. K., Letourneur, Q., Ghozlane, A., Andersen, G. L., Li, W. J., Hallam, S. J., Muyzer, G., de Oliveira, V. M., Inskeep, W. P., Banfield, J. F., Gribaldo, S. 2019. Wide diversity of methane and short-chain alkane metabolisms in uncultured archaea. Nat. Microbiol. 4:603-613.

► https://doi.org/10.1038/s41564-019-0363-3. Epub 2019 Mar 4.
Butler, A., Sandy, M. 2009. Mechanistic considerations of halogenating enzymes. Nature 460:848–854.
Carpenter, L. J., Liss, P. S., Penkett, S. A. 2003. Marine organohalogens in the atmosphere over the Atlantic and Southern Oceans. J. Geophys. Res. Atmospheres 108:4256.
Church, C. D., Pankow, J. F., Tratnyek, P. G. 2000. Effects of environmental conditions on MTBE degradation in column model aquifers. II. Kinetics. Preprints of extended abstracts, ACS National Meeting, Am. Chem. Soc., Div. Environ. Chem. 40:238–240.
Cox, M. L., Sturrock, G. A., Fraser, P. J., Siems, S. T., Krummel, P. D., O'Doherty, S. 2003. Regional sources of methyl chloride, chloroform and dichloromethane Identified from AGAGE observations at Cape Grim, Tasmania, 1998–2000. J. Atmos. Chem. 45:79–99.
Danso, D., Schmeisser, C., Chow, J., Zimmermann, W., Wei, R., Leggewie, C., Li, X., Hazen, T., Streit, W. R. 2018. New insights into the function and global distribution of polyethylene terephthalate (PET) degrading bacteria and enzymes in marine and terrestrial metagenomes. Appl. Environ. Microbiol. 84 (8): e02773-17. ► https://doi.org/10.1128/aem.02773-17
Detzel, A., Kauertz, B., Derreza-Greeven, C. 2012. Untersuchung der Umweltwirkungen von Verpackungen aus biologisch abbaubaren Kunststoffen. Bericht des Umweltbundesamtes. Nr. 52/2012 ► http://www.umweltbundesamt.de/uba-info-medien/3986.html
Dimmer, C. H., Simmonds, P. G., Nickless, G., Bassford, M. R. 2001. Biogenic fluxes of halomethanes from Irish peatland ecosystems. Atmos. Environ. 35:321–330.
Dong, C., Huang, F., Deng, H., Schaffrath, C., Spencer, J. B., O'Hagan, D., Naismith, J. H. 2004. Crystal structure and mechanism of a bacterial fluorinating enzyme. Nature 427:561–565.
Ekdahl, A., Pedersen, M., Abrahamsson, K. 1998. A study of the diurnal variation of biogenic volatile halocarbons. Marine Chem. 63:1–8.
Fent, K. 2003. Ökotoxikologie. Umweltchemie, Toxikologie, Ökologie. 2. Aufl., Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
Gribble, G. W. 1992. Naturally occurring organohalogen compounds – a survey. J. Nat. Prod. 55:1353–1395.
Gribble, G. W. 2015. A recent survey of naturally occurring organohalogen compounds. Environ. Chem. 12:396–405.
Gunkel, W. 1988. Ölverunreinigung der Meere und Abbau der Kohlenwasserstoffe durch Mikroorganismen. *In:* Angewandte Mikrobiologie der Kohlenwasserstoffe in Industrie und Umwelt. (Hrsg. R. Schweisfurth), Expert Verlag, Esslingen, Bd. 164:18–36.
Hardacre, C. J., Heal, M. R. 2013. Characterization of methyl bromide and methyl chloride fluxes at temperate freshwater wetlands. J. Geophys. Res., Atmospheres 118:977–991.
Haselmann, K. F., Laturnus, F., Svensmark, B., Grøn, C. 2000. Formation of chloroform in spruce forest soil – results from laboratory incubation studies. Chemosphere 41:1769–1774.
Haselmann, K., Laturnus, F., Grøn, C. 2002. Formation of chloroform in soil. A year-round study at a Danish spruce forest Site. Water. Air. Soil Pollut. **139:**35–41.
Hove-Jensen, B., Zechel, D. L., Jochimsen, B. 2014. Utilization of glyphosate as phosphate source: biochemistry and genetics of bacterial carbon-phosphorus lyase. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 78:176–197.
Huntscha, S., Stravs, M. A., Bühlmann, A., Ahrens, C. H., Frey, J. E., Pomati, F., Hollender, J., Buerge, I. J., Balmer, M. E., Poiger, T. 2018. Seasonal dynamics of glyphosate and AMPA in Lake Greifensee: Rapid microbial degradation in the epilimnion during summer. Environ. Sci. Technol. 52:4641-4649. ► https://doi.org/10.1021/acs.est.8b00314.
Jordan, A., Harnisch, J., Borchers, R., Le Guern, F., Shinohara, H. 2000. Volcanogenic halocarbons. Environ. Sci. Technol. 34:1122–1124.
Khalil, M. A. K., Rasmussen, R. A., French, J. R. J., Holt, J.A. 1990. The influence of termites on atmospheric trace gases: CH_4, CO, $CHCl_3$, N_2O, CO, H_2, and light hydrocarbons. J. Geophys. Res. 95:3619–3634.
Keppler, F., Borchers, R., Pracht, J., Rheinberger, S., Schöler, H. F. 2002. Natural formation of vinyl chloride in the terrestrial environment. Environ. Sci. Technol. 36:2479–2483.
Keppler, F., Borchers, R., Hamilton, J. T. G., Kilian, G., Pracht, J., Schöler, H. F. 2006. De novo formation of chloroethyne in soil. Environ. Sci. Technol. 40:130–134.
Laso-Pérez, R., Hahn, C., van Vliet, D. M., Tegetmeyer, H. E., Schubotz, F., Smit, N. T., Pape, T., Sahling, H., Bohrmann, G., Boetius, A., Knittel, K., Wegener, G. 2019. Anaerobic degradation of non-methane alkanes by "Candidatus Methanoliparia" in hydrocarbon seeps of the Gulf of Mexico. mBio10:e01814-19. ► https://doi.org/10.1128/mbio.01814-19.
Laturnus, F., Haselmann, K. F., Borch, T., Grøn, C. 2002. Terrestrial natural sources of trichloromethane (chloroform, $CHCl_3$) – An overview. Biogeochem. 60:121–139.
Malle, K.-G. 1978, Wie schmutzig ist der Rhein? Chemie in unserer Zeit 12: 111–122. ► https://doi.org/10.1002/ciuz.19780120403

National Research Council 1985. Oil in the sea – Inputs, fates and effects. National Acad. Press, Washington D. C., pp. 601.
Poremba, K., Gunkel, W., Lang, S., Wagner, F. 1989. Mikrobieller Ölabbau im Meer. Biologie in unserer Zeit. 19:145–148.
Rudolph, J., Khedim, A., Koppmann, R., Bonsang, B. 1995. Field study of the emissions of methyl chloride and other halocarbons from biomass burning in Western Africa. J. Atmospheric Chem. 22:67–80.
Ruecker, A., Weigold, P., Behrens, S., Jochmann, M., Laaksand, J., Kappler, A. 2014. Predominance of biotic over abiotic formation of halogenated hydrocarbons in hypersaline sediments in Western Australia. Environ. Sci. Technol. 48:9170–9178.
Schwandner, F. M., Seward, T. M., Gize, A. P., Hall, P. A., Dietrich, V. J. 2004. Diffuse emission of organic trace gases from the flank and crater of a quiescent active volcano (Vulcano, Aeolian Islands, Italy). J. Geophys. Res., Atmosphere 109:D04301-20.
Sviridov, A. V., Shushkova, T. V., Ermakova, I. T., Ivanova, E. V., Epiktetov, D. O., Leontievsky, A. A. 2015. Microbial degradation of glyphosate herbicides (review). Appl. Biochem. Microbiol. 51:188–195.
Tanasupawat, S., Takehana, T., Yoshida, S., Hiraga, K., Oda, K. 2016. *Ideonella sakaiensis* sp. nov., isolated from a microbial consortium that degrades PET. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 66:2813-2818, ► https://doi.org/10.1099/ijsem.0.001058
Trudinger, C. M., Etheridge, D. M., Sturrock, G. A., Fraser, P. J., Krummel, P. B., McCulloch, A. 2004. Atmospheric histories of halocarbons from analysis of Antarctic firn air: Methyl bromide, methyl chloride, chloroform, and dichloromethane. J. Geophys. Res., Atmosphere 109:D22310 1–15.
Umweltbundesamt (2001): Tributylzinnverbindungen ► http://www.umweltbundesamt.de/verkehr/verkehrstraeg/seeschiff/verschmutzung/tbt.htm sowie ► http://www.umweltbundesamt.de/wasser/themen/ow_s2_2.htm.
Vaillancourt, F. H., Yeh, E., Vosburg, D. A., Garneau-Tsodikova, S., Walsh, C. T. 2006. Nature's inventory of halogenation catalysts: oxidative strategies predominate. Chem. Rev. 106:3364–3378.
Vaillancourt, F. H., Yeh, E., Vosburg, D. A., O'Connor, S. E., Walsh, C. T. 2005. Cryptic chlorination by a non-haem iron enzyme during cyclopropyl amino acid biosynthesis. Nature 436:1191–1194.
van Pée, K. H., Unversucht, S. 2003. Biological dehalogenation and halogenation reactions. Chemosphere 52:299–312.
van Pée, K. H., Patallo, E. P. 2006. Flavin-dependent halogenases involved in secondary metabolism in bacteria. Appl. Microbiol. Biotechnol. 70:631–641.
Weissflog, L., Lange, C. A., Pfennigsdorff, A., Kotte, K. 2005. Sediments of salt lakes as a new source of volatile highly chlorinated C1/C2 hydrocarbons. Geophys. Res. Lett. 32:1–4.
Witt, U., Müller, R.-J. and Klein, J. 1997. Biologisch abbaubare Polymere – Status und Perspektiven, Report Franz-Patat-Zentrum, Braunschweig
Wuosmaa, A., Hager, L. 1990. Methyl chloride transferase: a carbocation route for biosynthesis of halometabolites. Science 249:160–162.
Yoshida, S., Hiraga, K., Takehana, T., Taniguchi, I., Yamaji, H., Maeda, Y., Toyohara, K., Miyamoto, K., Kimura, Y., Oda, K. 2016. A bacterium that degrades and assimilates poly(ethylene terephthalate). *Science* 351:1196–1199.
Zumstein, M. T., Schintlmeister, A., Nelson, T. F., Baumgartner, R., Woebken, D., Wagner, M., Kohler, H.-P. E., McNeill, K., Sander, M. 2018. Biodegradation of synthetic polymers in soils: Tracking carbon into CO_2 and microbial biomass. Sci. Adv. 4, eaas9024.

Weiterführende Literatur

Atlas, R. M. 1984. Petroleum Microbiology. Macmillan Publ. Comp., New York.
Beier, W. 2009 Biologisch abbaubare Kunststoffe. Hintergrundbericht des Umweltbundesamtes, Dessau-Roßlau.
Boll, M., Fuchs, G., Heider, J. 2002. Anaerobic oxidation of aromatic compounds and hydrocarbons. Curr. Opin. Chem. Biol. 6:604–611.
Boll, M., Fuchs, G. 2005. Unusual reactions involved in anaerobic metabolism of phenolic compounds. Biol. Chem. 386:989–997.
Breider, F., Albers, C. N. 2015. Formation mechanisms of trichloromethyl-containing compounds in the terrestrial environment: A critical review. Chemosphere 119:145–154.
Bressler, D. C., Norman, J. A., Fedorak, P. M. 1998. Ring cleavage of sulfur heterocycles: how does it happen? Biodegradation 8:297-311.
Bucheli-Witschel M, Egli T. 2001. Environmental fate and microbial degradation of aminopolycarboxylic acids. FEMS Microbiol. Rev. 25:69-106.
Cappelletti, M., Frascari, D., Zannoni, D., Fedi, S. 2012. Microbial degradation of chloroform. Appl. Microbiol. Biotechnol. 96:1395–1409.
Chakraborty, R., Coates, J. D. 2004. Anaerobic degradation of monoaromatic hydrocarbons. Appl. Microbiol. Biotechnol. 64:437–446.
Chakraborty, R., O'Connor, S. M., Chan, E., Coates, J. D. 2005. Anaerobic degradation of benzene, toluene, ethylbenzene, and xylene compounds by *Dechloromonas* strain RCB. Appl. Environ. Microbiol. 71:8649–8655.

Coates, J. D., Achenbach, L. A. 2004. Microbial perchlorate reduction: rocket fuelled metabolism. Nat. Rev. Microbiol. 2:569–580.

Cook, A. M., Laue, H., Junker, F. 1998. Microbial desulfonation. FEMS Microbiol. Rev. 22:399–419.

Corvini, P. F., Schäffer, A., Schlösser, D. 2006. Microbial degradation of nonylphenol and other alkylphenols-our evolving view. Appl. Microbiol. Biotechnol. 72:223–243.

Davenport, R. E., Dubois, F., DeBoo, A., Kishi, A. 2000. Chelating agents – CEH Product Review. *In:* Chemical Economics Handbook. SRI International

Deeb, R. A., Scow, K. M., Alvarez-Cohen, L. 2000. Aerobic MTBE biodegradation: an examination of past studies, current challenges and future research directions. Biodegradation 11:171–186.

Denef, V. J., Patrauchan, M. A., Florizone, C., Park, J., Tsoi, T. V., Verstraete, W., Tiedje, J. M., and Eltis, L. D. 2005. Growth substrate- and phase-specific expression of biphenyl, benzoate, and C1 metabolic pathways in *Burkholderia xenovorans* LB400. J. Bacteriol. 187:7996–8005.

Denef, V. J., Klappenbach, J. A., Patrauchan, M. A., Florizone, C., Rodrigues, J. L., Tsoi, T. V., Verstraete, W., Eltis, L. D., and Tiedje, J. M. 2006. Genetic and genomic insights into the role of benzoate-catabolic pathway redundancy in *Burkholderia xenovorans* LB400. Appl. Environ. Microbiol. 72:585–595.

Diaz, E., Ferrandez A., Prieto M. A., Garcia J. L. 2001. Biodegradation of aromatic compounds by *Escherichia coli*. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 65:523–568.

Dolfing, J. 1998. Halogenation of aromatic compounds: thermodynamic, mechanistic and ecological aspects. FEMS Microbiol. Lett. 167:271–274.

Egli, T., Witschel, M. 2002. Enzymology of the breakdown of synthetic chelating agents. *In:* Focus on Biotechnology (S. N. Agathos, W. Reineke, eds.) Volume 3A, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp. 205–17

Fayolle, F., Vandecasteele, J. P., Monot, F. 2001. Microbial degradation and fate in the environment of methyl *tert*-butyl ether and related fuel oxygenates. Appl. Microbiol. Biotechnol. 56:339–349.

Fetzner, S. 1998. Bacterial degradation of pyridine, indole, quinoline, and their derivatives under different redox conditions. Appl. Microbiol. Biotechnol. 49:237–250.

Fuchs, G. 2008. Anaerobic metabolism of aromatic compounds. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1125:82–99.

Gaillard, M., Vallaeys, T., Vorholter, F. J., Minoia, M., Werlen, C., Sentchilo, V., Pühler, A., van der Meer, J. R. 2006. The *clc* element of *Pseudomonas* sp. strain B13, a genomic island with various catabolic properties. J. Bacteriol. 188:1999–2013.

Gescher, J., Eisenreich, W., Wörth, J., Bacher, A., Fuchs, G. 2005. Aerobic benzoyl-CoA catabolic pathway in *Azoarcus evansii*: studies on the non-oxygenolytic ring cleavage enzyme. Mol. Microbiol. 56:1586–1600.

Gescher, J., Ismail, W., Ölgeschläger, E., Eisenreich, W., Wörth, J., Fuchs, G. 2006. Aerobic benzoyl-coenzyme A (CoA) catabolic pathway in *Azoarcus evansii*: Conversion of ring cleavage product by 3,4-dehydroadipyl-CoA semialdehyde dehydrogenase. J. Bacteriol. 188:2919–2927.

Gescher, J., Zaar, A., Mohamed, M., Schägger, H., Fuchs, G. 2002. Genes coding for a new pathway of aerobic benzoate metabolism in *Azoarcus evansii*. J. Bacteriol. 184:6301–6315.

Gribble, G. W. 1998. Naturally occurring organohalogen compounds. Acc. Chem. Res. 31:141–152.

Gribble, G. W. 1999. The diversity of naturally occurring organobromine compounds. Chem. Soc. Rev. 28:335–346.

Gribble, G. W. 2002. Neilson, A. H., ed., Naturally occurring organofluorines. Organofluorines 3n: 121–136.

Gribble, G. W. 2003. The diversity of naturally produced organohalogens. Chemosphere 52:289–297.

Gribble, G. W. 2010. Naturally occurring organohalogen compounds – A comprehensive update, Progress in the Chemistry of Organic Natural Products, Vol. 91, ► https://doi.org/10.1007/978-3-211-99323-1_1, Springer-Verlag/Wien

Habe, H., Omori, T. 2003. Genetics of polycyclic aromatic hydrocarbon metabolism in diverse aerobic bacteria.. Biosci. Biotechnol. Biochem. 67:225–243.

Harwood, C.S., Gibson, J. 1997. Shedding light on anaerobic benzene ring degradation: a process unique to prokaryotes? J. Bacteriol.179:301–309.

Haug, W., Schmidt, A., Nörtemann, B., Hempel, D. C., Stolz, A., Knackmuss, H.-J. 1991. Mineralization of the sulfonated azo dye Mordant Yellow 3 by a 6-aminonaphthalene-2-sulfonate-degrading bacterial consortium. Appl. Environ. Microbiol. 57:3144–3149.

Heider, J., Fuchs, G. 1997. Anaerobic metabolism of aromatic compounds. Eur. J. Biochem. 243:577–596.

Heiss, G., Knackmuss, H.-J. 2002. Bioelimination of trinitroaromatic compounds: immobilization versus mineralization. Curr. Opin. Microbiol. 5:282–287.

Herman, D. C., Frankenberger, W. T., Jr. 1998. Microbial-mediated reduction of perchlorate in groundwater. J. Environ. Qual. 27:750–754.

Hofmann, K. W., Knackmuss, H.-J., Heiss, G. 2004. Nitrite elimination and hydrolytic ring cleavage in 2,4,6-trinitrophenol (picric acid) degradation. Appl. Environ. Microbiol. 70: 2854–2860.

Horn, S., Bader, H. J., Buchholz, K. 2003. Kunststoffe aus nachwachsenden Rohstoffen. *In:* Green Chemistry – Nachhaltigkeit in der Chemie. (Gesellschaft Deutscher Chemiker, Hrsg.)Wiley-VCH, Weinheim 55–74.

Itterhagen, M. 2012. Biokunststoffe nicht besser. Verpackungen aus bioabbaubaren Kunstoffen sind denen aus herkömmlichen Kunststoffen nicht überlegen. Presseinformation des Umweltbundesamtes. Nr. 37/2012.

Janssen, D. B., Dinkla, I. J., Poelarends, G. J., Terpstra, P. 2005. Bacterial degradation of xenobiotic compounds: evolution and distribution of novel enzyme activities. Environ. Microbiol. 7:1868-1882.

Janssen, D. B., Oppentocht, J. E., Poelarends, G. J. 2001. Microbial dehalogenation. Curr. Opin. Biotechnol. 12:254–258.

Janssen, D. B., van der Ploeg, J. R., Pries, F. 1995. Genetic adaptation of bacteria to halogenated aliphatic compounds. Environ. Health Perspect. 103 Suppl. 5:29–32.

Landmeyer, J. E., Chapelle, F. H., Herlong, H. H., Bradley, P. M. 2001. Methyl *tert*-butyl ether biodegradation by indigenous aquifer microorganisms under natural and artificial oxic conditions. Environ. Sci. Technol. 35:1118–1126.

Logan, B. E. 1998. A review of chlorate- and perchlorate respiring microorganisms. Bioremed. J. 2:69–79.

Lopes Ferreira, N., Malandain, C., Fayolle-Guichard, F. 2006. Enzymes and genes involved in the aerobic biodegradation of methyl *tert*-butyl ether (MTBE). Appl. Microbiol. Biotechnol. 72:252–262.

Nörtemann, B. 1999. Biodegradation of EDTA. Appl. Microbiol. Biotechnol. 51:751–759.

Nojiri, H., Omori, T. 2002. Molecular bases of aerobic bacterial degradation of dioxins: involvement of angular dioxygenation. Biosci. Biotechnol. Biochem. 66:2001–2016.

Nowack, B. 2002. Environmental chemistry of aminopolycarboxylate chelating agents. Environ. Sci. Technol. 36:4009–4016.

N.N. 1996. Abschätzende Ökobilanzen zu Polymerwerkstoffen auf der Basis biologisch erzeugter Polyhydroxyfettsäuren; Fraunhofer Institut für Lebensmitteltechnologie und Verpackung, Juli 1996.

N.N. 2003. Metallocene. Kreative Baumeister. Bayer Research. Heft 15:72-75 zitiert: „Industrielle makromolekulare Chemie: die wirtschaftliche Entwicklung im Jahre 2001" *In:* Nachrichten aus der Chemie 51, 341.

N.N. 2007. Vergleichende Ökobilanz verschiedener Bechersysteme beim Getränkeausschank, Österreichisches Ökologie Institut, Carbotech, Öko-Institut e. V.; Wien, Basel, Darmstadt 2007.

Olson, G. J., Brieley, J. A., Brieley, C. L. 2003. Bioleaching part B: Progress in bioleaching: applications of microbial processes by the minerals industries. Appl. Microbiol. Biotechnol. 63:249–257.

Patel, M., Bastioli, C., Marini, L., Würdinger, E. 2005. Life-cycle Assessment of Bio-based Polymers and Natural Fiber Composites; Biopolymers Online, Wiley.

Pieper, D. H. 2005. Aerobic degradation of polychlorinated biphenyls. Appl. Microbiol. Biotechnol. 67:170–191.

Pieper, D. H., Reineke, W. 2000. Engineering bacteria for bioremediation. Curr. Opin. Biotechnol. 11:262–270.

Pieper, D. H., Reineke, W. 2004. Degradation of chloroaromatics by Pseudomona(d)s. *In: Pseudomonas* (J.-L. Ramos ed.), Kluwer Academic / Plenum Publishers, New York, 3:509–574.

Potter, M., Steinbüchel, A. 2005. Poly(3-hydroxybutyrate) granule-associated proteins: impacts on poly(3-hydroxybutyrate) synthesis and degradation. Biomacromolecules 6:552–560.

Rabus, R., Kube, M., Heider, J., Beck, A., Heitmann, K., Widdel, F., Reinhardt, R. 2005. The genome sequence of an anaerobic aromatic-degrading denitrifying bacterium, strain EbN1. Arch. Microbiol. 183:27–36.

Rather, L. J., Knapp, B., Haehnel, W., Fuchs, G. 2010. Coenzyme A-dependent aerobic metabolism of benzoate via epoxide formation. J. Biol. Chem. 285:20615–20624.

Reineke, W. 1998. Development of hybrid strains for the mineralization of chloroaromatics by patchwork assembly. Annu. Rev. Microbiol. 52:287–331.

Reineke, W. 2001. Aerobic and anaerobic biodegradation potentials of microorganisms. *In:* The Handbook of Environmental Chemistry (O. Hutzinger, ed.) Vol. 2K The Natural Environment and Biogeochemical Cycles (Volume editor: B. Beek), Springer Verlag, Berlin, pp. 1–161.

Reineke, W., Mars, A. E., Kaschabek, S. R., Janssen, D. B. 2002. Microbial degradation of chlorinated aromatic compounds. The *meta*-cleavage pathway. *In:* Focus on Biotechnology (S. N. Agathos, W. Reineke, eds.) Volume 3A, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp. 157–168.

Reineke, W., Pieper, D. H. 2005. Evolution of degradative pathways for chloroaromatic compounds. *In:* Innovative Approaches to the Bioremediation of Contaminated Sites. (F. Fava, P. Canepa, eds.), Soil Remediation Series No.5, INCA, Venice, Italy, pp. 111–127.

Schink, B. 2002. Synergistic interactions in the microbial world. Ant. v. Leeuwenhoek 81:257–261.

Schink, B. 2006. Syntrophic associations in methanogenic degradation. Prog. Mol. Subcell. Biol. 41:1–19.

Schink, B., Philipp, B., Müller, J. 2000. Anaerobic degradation of phenolic compounds. Naturwissenschaften 87:12–23.

Schink, B. 1997. Energetics of syntrophic cooperation in methanogenic degradation. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 61:262–280.
Schirmer, M., Butler, B. J., Church, C. D., Barker, J. F., Nadarajah, N. 2003. Laboratory evidence of MTBE biodegradation in Borden aquifer material. J. Contam. Hydrol. 60:229–249.
Schlömann, M. 1994. Evolution of chlorocatechol catabolic pathways. Conclusions to be drawn from comparisons of lactone hydrolases. Biodegradation 5:301–321.
Spain, J. C. 1995. Biodegradation of nitroaromatic compounds. Annu. Rev. Microbiol. 49:523–555.
Steinbüchel, A., Hein, S. 2001. Biochemical and molecular basis of microbial synthesis of polyhydroxyalkanoates in microorganisms. Adv. Biochem. Eng. Biotechnol. 71:81–123.
Stolz, A. 2001. Basic and applied aspects in the microbial degradation of azo dyes. Appl. Microbiol. Biotechnol. 56:69–80.
Teufel, R., Mascaraque, V., Ismail, W., Voss, M., Perera, J., Eisenreich, W., Haehnel, W., Fuchs, G. 2010. Bacterial phenylalanine and phenylacetate catabolic pathway revealed. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 107:14390–14395.
Tokiwa, Y., Calabia, B. P. 2004. Degradation of microbial polyesters. Biotechnol Lett. 26:1181–1189.
Tokiwa, Y., Calabia, B. P. 2006. Biodegradability and biodegradation of poly(lactide). Appl. Microbiol. Biotechnol. 72:244–251.
Umweltbundesamt (2000): 1,3,5-Triazine im Grundwasser Deutschlands
van Agteren, M. H., Keuning, S., Janssen, D. B. 1998. Handbook on biodegradation and biological treatment of hazardous organic compounds. Kluwer Academic Publ., Dordrecht, The Netherlands.
van der Meer, J. R., Sentchilo, V. 2003. Genomic islands and the evolution of catabolic pathways in bacteria. Curr. Opin. Biotechnol. 14:248–254.
van der Meer, J. R., Ravatn, R., Sentchilo, V. 2001. The *clc* element of *Pseudomonas* sp. strain B13 and other mobile degradative elements employing phage-like integrases. Arch. Microbiol. 175:79–85.
van Hamme, J. D., Singh, A., Ward, O. P. 2003. Recent advances in petroleum microbiology. Microbiol. Molec. Biol. Rev. 67:503–549.
van Hylckama Vlieg, J. E., Poelarends, G. J., Mars, A. E., Janssen, D. B. 2000. Detoxification of reactive intermediates during microbial metabolism of halogenated compounds. Curr. Opin. Microbiol. 3:257–262.
Villemur, R., Lanthier, M., Beaudet, R., Lépine, F. 2006. The *Desulfitobacterium* genus. FEMS Microbiol Rev. 30:706–733.
Wackett, L. P., Hershberger, C. D. 2001. Biocatalysis and biodegradation. Microbial transformation of organic compounds. ASM Press, Washington, D. C.
Xu, J. L., Song, Y. U., Min, B. K., Steinberg, L., Logan, B. E. 2003. Microbial degradation of perchlorate: principles and applications. Environ. Eng. Sci. 20:405–422.
Zaar, A., Eisenreich, W., Bacher, A., Fuchs, G. 2001. A novel pathway of aerobic benzoate catabolism in the bacteria *Azoarcus evansii* and *Bacillus stearothermophilus*. J. Biol. Chem. 276:24997–25004.
Zaar, A., Gescher, J., Eisenreich, W., Bacher, A., Fuchs, G. 2004. New enzymes involved in aerobic benzoate metabolism in *Azoarcus evansii*. Mol. Microbiol. 54:223–238.
US-Daten Produktion: ► http://www.the-innovation-group.com/chemprofile.htm.
EU-Daten Verbrauch: ► http://ecb.jrc.it/existing-chemicals.

Der mikrobielle Stickstoffkreislauf

7.1 Stickstofffixierung – 307

7.2 Ammonifikation – 311

7.3 Nitrifikation – 311

7.4 ANAMMOX – 315

7.5 Nitratreduktion – 315

7.5.1 Denitrifikation – 315

7.5.2 Dissimilatorische Nitratreduktion zu Ammonium – 317

Literatur – 318

© Springer-Verlag GmbH Deutschland, ein Teil von Springer Nature 2020
W. Reineke und M. Schlömann, *Umweltmikrobiologie,* https://doi.org/10.1007/978-3-662-59655-5_7

Zahlreiche wichtige Redoxreaktionen von Stickstoff werden in der Natur fast ausschließlich von Mikroorganismen ausgeführt, weshalb die mikrobielle Beteiligung am Stickstoffkreislauf von großer Bedeutung ist. Stickstoff existiert in verschiedenen Oxidationsstufen, sie reichen von −3 im Ammonium bis zu +5 im Nitrat. Bei mikrobiellen Umsetzungen werden alle Oxidationsstufen durchlaufen. Einige Stickstoffverbindungen sind gasförmig und können leicht in die Atmosphäre entweichen (◘ Tab. 7.1).

Die ◘ Tab. 7.2 und die ◘ Abb. 7.1 fassen die für den Stickstoffkreislauf relevanten Stickstoffverbindungen und die sie

◘ Tab. 7.1 Oxidationszustände wichtiger Stickstoffverbindungen

Verbindung/Funktion/Prozess	Oxidationszustand	Vorliegende Form unter normal Bedingungen
Organisch-gebundenes N ($R–NH_2$)	−3	Fest, Ion in Lösung
Ammoniak (NH_3)	−3	Gas, festes Salz, Ion in Lösung
Hydrazin ($NH_2–NH_2$), N_2-Fixierung	−2	
Diimin (NH = NH), N_2-Fixierung	−1	
Hydroxylamin (NH_2OH), Ammonifikation	−1	
Molekularer Stickstoff (N_2)	0	Gas
Distickstoffmonoxid (N_2O), Denitrifikation	+1 (Durchschnitt pro N)	Gas
Stickstoffmonoxid (NO), Denitrifikation	+2	Gas
Nitrit (NO_2^-), Elektronenakzeptor	+3	Festes Salz, Ion in Lösung
Stickstoffdioxid (NO_2)	+4	Gas
Nitrat (NO_3^-), Elektronenakzeptor	+5	Festes Salz, Ion in Lösung

◘ Tab. 7.2 Prozesse im Stickstoffkreislauf

Prozess mit Funktion	Organismen
N_2-Fixierung ($N_2 \rightarrow NH_3$) – symbiontische – freilebende (aerob) – freilebende (anaerob)	*Bradyrhizobium, Frankia, Rhizobium* *Azotobacter, Cyanobacterium* *Clostridium*, Schwefelpurpurbakterien, Nicht-Schwefelpurpurbakterien, Grüne Schwefelbakterien
Ammonifikation (organisches $N \rightarrow NH_4^+$) Kohlenstoff- und Energiequelle	Viele Organismen
Nitrifikation ($NH_4^+ \rightarrow NO_3^-$) (Elektronendonor, Kohlenstoff über CO_2-Fixierung)	*Nitrosomonas, Nitrobacter, Nitrospira*
Denitrifikation ($NO_3^- \rightarrow N_2$) (Elektronenakzeptor, Nitratatmung, Energie und Kohlenstoff aus organischen Substraten)	*Bacillus, Paracoccus, Pseudomonas*
Dissimilatorische Nitratreduktion zum Ammonium (DNRA) ($NO_3^- \rightarrow NH_4^+$) (Fermentativ, NADH-Regeneration)	*Wolinella, Desulfovibrio, Enterobacteriaceae, Pseudomonas* und andere
Anaerobe Ammonium Oxidation (ANAMMOX) ($NH_4^+ + NO_2^- \rightarrow N_2$)	*Brocadia anammoxidans, Kuenenia stuttgartiensis*
Assimilatorische Nitratreduktion	Viele Organismen

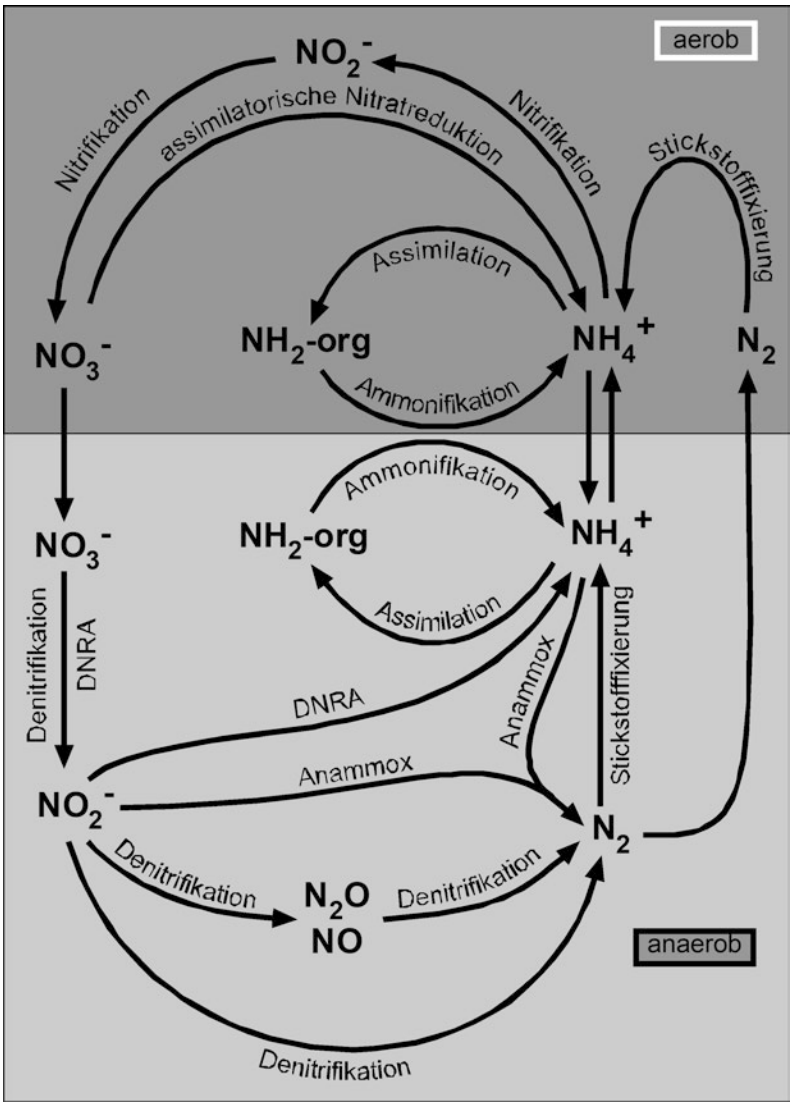


Abb. 7.1 Stickstoffkreislauf

erzeugenden Metabolismen, mit ihrer jeweiligen Funktion für die Mikroorganismen zusammen. Im Weiteren werden die einzelnen Prozesse besprochen.

7.1 Stickstofffixierung

Die biologische Fixierung des Luftstickstoffs ist von großer ökologischer Bedeutung, da mit ihm den terrestrischen und aquatischen Ökosystemen gebundener Stickstoff zugeführt wird. Alle Organismen sind von dem gebundenen Stickstoff abhängig. Der gebundene Stickstoff (Ammonium oder Nitrat) ist in vielen Ökosystemen ein limitierender Nährstoff.

Zur biologischen Stickstoffbindung sind nur Prokaryoten befähigt. Stickstoffbindende Bakterien kommen sowohl in Böden als auch in Gewässern und Sedimenten vor. Sowohl heterotrophe als auch autotrophe

Tab. 7.3 Vertreter der freilebenden stickstoffbindenden Bakterien und einige Fixierungsraten für terrestrische Systeme

Hauptgruppen	Ausgewählte Vertreter beziehungsweise symbiotische Systeme	Fixierungsrate (kg N · ha^{-1} · a^{-1})
Anaerobe Bakterien	*Clostridium pasteurianum* *Desulfotomaculum nigrificans* *Desulfovibrio vulgaris*	0,5
Fakultativ anaerobe Bakterien	*Klebsiella pneumonia* *Pantoea agglomerans*	
Aerobe Bakterien	*Azotobacter vinelandii* *Beijerinckia indica* *Gluconacetobacter diazotrophicus* *Hydrogenophaga pseudoflava* *Methylomonas methanica*	0,3 0,3
Phototrophe Anaerobier	*Allochromatium vinosum* *Chlorobium limicola* *Chloroflexus aurantiacus* *Heliobacterium chlorum* *Rhodospirillum rubrum*	
Cyanobakterien	*Anabaena* sp. *Nostoc* sp. *Synechococcus* sp.	10–30
Methanogene Archaea	*Methanobacterium formicicum* *Methanococcus vanniellii* *Methanothermus facilis*	
Halophile Archaea	*Halobacterium halobium*	

Bakterien haben diese Fähigkeit erworben. Eine Anzahl von Bakterien führt die Fixierung nur in Symbiose mit Pflanzen aus. Die Hauptgruppen stickstofffixierender Bakterien, frei- beziehungsweise in symbioselebende Arten, sind in den Tab. 7.3 und 7.4 zusammengestellt. Die auf die Bodenfläche bezogenen Fixierungsraten zeigen, dass die Stickstoffzufuhr durch symbiotische Systeme wesentlich größer als durch die freilebenden Arten ist. Die assoziative Symbiose, bei der die Bakterien mit den Pflanzenwurzeln eng assoziiert sind, nimmt hinsichtlich der Fixierungsraten eine Zwischenstellung ein. Die Raten unterliegen aber je nach Klimazone und Bestandsdichte sehr großen Unterschieden.

Tab. 7.4 Systeme der Stickstoffbindung zwischen Bakterien und Pflanzen

Art der Symbiose/Bakterien	Pflanze	Fixierungsrate (kg N · ha^{-1} · a^{-1})
Assoziative Symbiosen mit Gräsern		
Azospirillum lipoferum *Azorhizophilus paspali* *Azoarcus* sp.	*Digitaria decumbens* *Paspalum notatum* *Leptochloa fusca* (Kallargras)	20–50 19–50
Endo-Symbiosen mit Leguminosen		
Rhizobium leguminosarum bv. *viceae* *Rhizobium leguminosarum* bv. *trifolii* *Bradyrhizobium japonicum* *Azorhizobium caulinodans*	Erbse Klee Sojabohne Sesbania (trop. Baum)	100–200 100–200 50–200 100
Endo-Symbiosen von Actinomyceten mit Bäumen und Sträuchern		
Frankia alni	*Alnus* (Erle) *Casuaria* (Australischer Baum) *Eleagnus* (Ölweide) *Hippophae* (Sanddorn)	
Cyanobakterien-Symbiosen mit Cyanobakterien		
Anabaena azollae	*Azolla* (Wasserfarn)	80–250

Biochemie der Stickstofffixierung

Distickstoff (N_2) ist ein sehr stabiles Molekül, dessen Reduktion eine hohe Aktivierungsenergie erfordert. Die Energie der N-N-Bindung beträgt 930 kJ/mol. Die zur Stickstofffixierung befähigten Bakterien besitzen den Enzymkomplex der **Nitrogenase.** Das Enzym besteht aus zwei Proteinkomponenten, einer Reduktase, die Elektronen mit hoher Reduktionskraft liefert, und der eigentlichen Nitrogenase. Beide Proteine sind aus Untereinheiten aufgebaut. Sie besitzen mehrere Eisen-Schwefel-Proteine und in der Nitrogenase ist zusätzlich noch Molybdän enthalten (MoFe-Protein).

Die Bereitstellung der Reduktionskraft ist dem Fixierungsprozess vorgeschaltet. Bei der Elektronenübertragung spielt das Ferredoxin, ebenfalls ein Eisen-Schwefel-Protein, als Carrier eine maßgebliche Rolle. Die Elektronen werden zunächst auf die Nitrogenase-Reduktase übertragen. In einem ATP-abhängigen Prozess wird das Redoxpotenzial so weit gesenkt, dass durch den weiteren Elektronentransfer auf die Nitrogenase ein hochreduziertes Reaktionssystem entsteht. An diesem System, dem sogenannten Eisen-Molybdän-Cofaktor (FeMo-Co), erfolgt die N_2-Bindung und schrittweise Reduktion zu Ammonium. Die Reaktion ist sehr energieaufwendig, so werden zur Reduktion eines N_2 16 Moleküle ATP benötigt. Damit ist für die Reduktion von 1 mol N_2 etwa 1 mol Glucose notwendig. Die Gesamtreaktion lautet:

$$N_2 + 8H^+ + 8e^- + 16ATP \rightarrow$$

$$2NH_3 + H_2 + 16ADP + 16P_i$$

Die Reaktion zeigt, dass der Nitrogenase-Komplex nicht nur N_2 zu NH_3, sondern gleichzeitig auch Protonen zu H_2 reduziert. Es handelt sich um einen prozessimmanenten Teilschritt. Vielfach wird sogar noch mehr H_2 gebildet. Die vermehrte H_2-Bildung ist dann eine

Konkurrenzreaktion zur N_2-Reduktion und es können bis zu 50 % der Elektronen auf Protonen übertragen werden (◘ Abb. 7.2).

Die folgenden Regulationsmechanismen sind zur Aufrechterhaltung der Ökonomie des Zellstoffwechsels vorhanden:

- Der Nitrogenase-Komplex wird nur gebildet, wenn keine gebundene Stickstoffquelle vorliegt.
- Die Synthese wird durch **Ammonium reprimiert.**
- Bei Energiemangel, der mit einem hohen ADP-Spiegel verbunden ist, hemmt ADP die Nitrogenase-Aktivität.

Die Nitrogenase wird durch Sauerstoff irreversibel inaktiviert. Gleichzeitig ist jedoch für die Produktion von genügend ATP Sauerstoff als Endakzeptor der Atmungskette erforderlich. Die freilebenden Stickstofffixierer erreichen den **Schutz der Nitrogenase vor Sauerstoff** durch verschiedene Mechanismen:

- Für **Anaerobier** wie *Clostridium pasteurianum* und *Desulfovibrio*-Arten besteht dieses Problem nicht.
- Fakultative Anaerobier wie *Klebsiella pneumoniae* und Purpurbakterien binden N_2 nur unter **anaeroben Bedingungen.**
- Die aeroben *Azotobacter*- und *Beijerinckia*-Arten führen einen **Atmungsschutz** aus. Durch eine sehr intensive Atmung, die in einem hohen Substratverbrauch und einer hohen Atmungsrate zum Ausdruck kommt, wird Sauerstoff abgefangen.
- *Azotobacter* verfügt zusätzlich über einen **Konformationsschutz,** durch den die Nitrogenase bei Sauerstoffzutritt die Konformation so verändert, dass die empfindlichen Enzymbereiche geschützt sind. In diesem reversiblen Zustand ist sie nicht aktiv, wird jedoch auch nicht inaktiviert.
- Viele fädige Cyanobakterien besitzen **Heterocysten,** in denen die Stickstoffbindung erfolgt. Diese größeren dickwandigen Zellen enthalten neben der Nitrogenase und einer H_2-regenerierenden Hydrogenase nur das Photosystem I, das ATP bereitstellt. Das Photosystem II, durch das bei der Photolyse des Wassers Sauerstoff gebildet wird, ist zusammen mit den anderen Komponenten des oxygenen Photosynthese-Systems in den benachbarten vegetativen Zellen lokalisiert. Es liefert den Heterocysten Reduktionsäquivalente und Assimilate.
- Einzellige Cyanobakterien wie *Gloeocapsa* sp. erreichen den Sauerstoffschutz nicht durch räumliche, sondern durch **zeitliche Trennung.** Sie fixieren N_2 nachts, wenn aufgrund der nicht stattfindenden Photosynthese nur ein sehr geringer Sauerstoffpartialdruck in der Zelle vorliegt.

Symbiontische Systeme zeigen hohe Fixierungsraten. Dies liegt an der effektiven Versorgung der Bakterien mit organischen Substraten durch den Wirt. Bakterien (Rhizobien und andere) befinden sich als unregelmäßig geformte **Bacteroide** innerhalb der Cytoplasmamembran der Pflanzenzellen. Die meristematisch gewordenen Bakterienzellen bilden so die **Wurzelknöllchen.** Die Nitrogenase, die bis zu 10 % des löslichen Proteins ausmacht, wird von den Bacteroiden synthetisiert, während die Pflanze die Bacteroide mit Assimilaten (vor allem organische Säuren) versorgt. Die Bacteroide geben das gebildete Ammonium an das sie umgebende pflanzliche Cytoplasma ab, in welchem die Aminosäuresynthese erfolgt. Die Pflanze trägt nicht nur durch die Lieferung der organischen Kohlenstoffquellen zur Symbiose bei, sondern auch durch die Synthese des Leghämoglobins. Leghämoglobin ist eine dem Hämoglobin ähnliche Verbindung, die als Sauerstoff-Carrier fungiert. Sie sorgt für einen niedrigen Sauerstoffpartialdruck, der einerseits noch eine Atmung und damit ATP-Bildung ermöglicht, aber andererseits die Nitrogenase vor Sauerstoff schützt. Leghämoglobin ist ein Symbioseprodukt, so wird der Proteinanteil von der Pflanze, der Hämanteil vom Bacteroid gebildet.

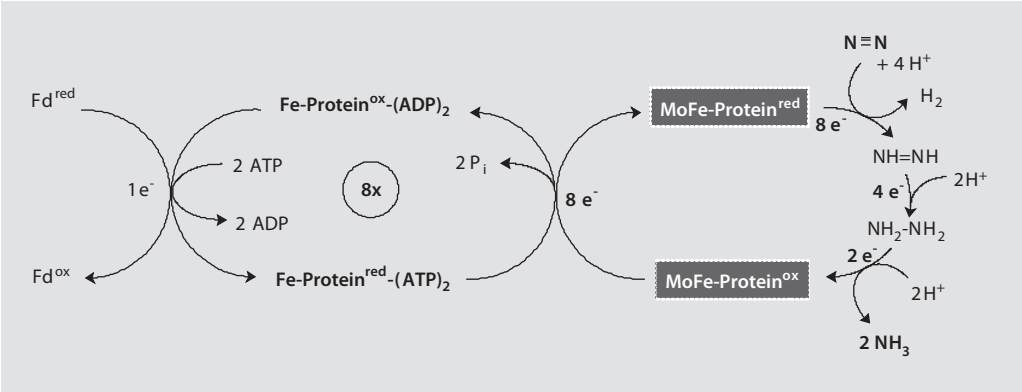


Abb. 7.2 Modell der Nitrogenase-Reaktion. Fd, Ferredoxin

7.2 Ammonifikation

Organisch gebundener Stickstoff wird beim Tod der Organismen und aus tierischen Exkrementen durch die Proteolyse, den Nukleinsäureabbau und die anschließende Ammonifikation als Ammonium freigesetzt.

Ammonium ist die Stickstoffverbindung, die beim aeroben und anaeroben Abbau von organischen Substanzen in Böden und Gewässern entsteht.

In Böden wird ein Großteil des durch aeroben Abbau freigesetzten Ammoniaks schnell wiederverwertet und zu Aminosäuren in Pflanzen und Mikroorganismen umgewandelt. Ein Teil der beim Protein- und Nukleinsäureabbau anfallenden Stickstoffverbindungen gehen in die Humusbildung ein (siehe ► Abschn. 4.4), Humus stellt einen Speicher an gebundenem Stickstoff dar, der beim Humusabbau wieder bioverfügbar wird.

Unter anoxischen Bedingungen ist Ammoniak stabil, und in dieser Form kommt Stickstoff in den meisten anoxischen Sedimenten hauptsächlich vor.

Ammonium liegt bei neutralem pH als NH_4^+ vor, schon unter schwach alkalischen Bedingungen kann es als flüchtiges Ammoniak in die Atmosphäre entweichen. Die Freisetzung erfolgt in besonders hohen Konzentrationen aus Anlagen der Massentierhaltung und in Gebieten mit dichten Tierpopulationen (zum Beispiel Rinderweiden). Global gesehen macht Ammoniak nur etwa 15 % des Stickstoffs aus, der in die Atmosphäre freigesetzt wird. Der Großteil des Restes gelangt in Form von N_2 oder N_2O (aus der Denitrifikation) in die Atmosphäre.

7.3 Nitrifikation

Die Nitrifikation, die Oxidation von NH_3 zu NO_3^-, ist in der Natur ein wichtiger Prozess und findet leicht in gut entwässerten Böden bei neutralem pH-Wert durch die Aktivität von nitrifizierenden Bakterien statt. Unter aeroben Bedingungen wird Ammonium auch in Gewässern durch die Nitrifikation über Nitrit zu Nitrat oxidiert.

Die nitrifizierenden Bakterien leben chemolithotroph, sie gewinnen ihre Energie durch die Oxidation des Ammoniums beziehungsweise Nitrits zu Nitrat.

An der Nitrifikation sind zwei aerobe Bakteriengruppen beteiligt, die folgende Gesamtreaktion durchführen:

$$NH_3 + 2O_2 \rightarrow NO_3^- + H_2O + H^+$$

Die ***Nitrosobacteria*** oxidieren Ammoniak zu Nitrit. Die Biochemie der Oxidation ist im Detail für *Nitrosomonas europae* untersucht worden.

Die Reaktion verläuft über Hydroxylamin und ein (NOH)-Intermediat und ergibt Nitrit als Endprodukt:

$$NH_3 \rightarrow NH_2OH \rightarrow (NOH) \rightarrow NO_2^-$$

Der erste Schritt wird von der Ammonium-Monooxygenase katalysiert. Das heißt der Sauerstoff im Hydroxylamin stammt aus molekularem Sauerstoff. Die Reaktion verbraucht Reduktionskraft:

$$NH_3 + 2e^- + 2H^+ + O_2 \rightarrow NH_2OH + H_2O$$

Der physiologische Donor scheint eine Verbindung der Atmungskette zu sein. Hydroxylamin-Dehydrogenase, ein periplasmatisches Enzym, welches das periplasmatische Cytochrom c reduziert, katalysiert die Reaktion:

$$NH_2OH + H_2O \rightarrow HNO_2 + 4H^+ + 4e^-$$

Da die Elektronen der Hydroxylaminoxidation wahrscheinlich auf dem Niveau der Ubichinone bereitgestellt werden, vermutet man, dass die reduzierten Ubichinone die Reduktionskraft für die Monooxygenase-Reaktion *in vivo* liefert.

Es fließen also zwei Elektronen in die Ammonium-Monooxygenase und die verbleibenden zwei in die Atmungskette:

$$^1/_2O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2O$$

Damit ist die Gesamtreaktion:

$$NH_3 + 1^1/_2O_2 \rightarrow HNO_2 + H_2O$$

Folglich muss die Zelle für die Oxidation vom Ammonium zum Hydroxylamin zwei energiereiche Elektronen einsetzen, die andererseits für die Energiebildung zur Verfügung ständen. Die Bereitstellung der Elektronen vom Hydroxylamin auf dem Niveau der Ubichinone macht zudem deutlich, dass ein energieabhängiger, rückläufiger Elektronentransport zur Erzeugung von NAD(P)H für die CO_2-Fixierung gebraucht wird (◘ Abb. 7.3). Nimmt man die niedrige Energieausbeute der Ammoniumoxidation und die Tatsache des Elektronentransportes als membrangebunden, so ist die Ausbildung ausgedehnter Membransysteme als Adaptation erklärlich, um die komplexen Reaktionen mit genügend hoher Rate ablaufen lassen zu können.

Die ***Nitrobacteria*** oxidieren Nitrit zum Nitrat. Die Oxidation durch *Nitrobacter*-Spezies verläuft entsprechend der folgenden Halbreaktionen:

$$NO_2^- + H_2O \rightarrow NO_3^- + 2H^+ + 2e^-$$
$$^1/_2O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2O$$

Die Nitrit-/Nitrat-Oxidoreduktase ist auf der Innenseite der Cytoplasmamembran lokalisiert. Eine Proton-motorische Kraft wird durch eine Protonen-pumpende Cytochrom-Oxidase aufgebaut. Natürlich muss *Nitrobacter* auch ein kompletes Elektronentransportsystem haben, um die Bildung von NAD(P)H durch rückläufigen Eletronentransport zu bewerkstelligen.

Das Endprodukt des ersten Prozesses ist also das Ausgangsprodukt des zweiten Prozesses.

Nitrifikanten sind langsam wachsende Bakterien, die aufgrund der geringen Energieausbeute einen hohen Stoffumsatz haben.

Nitrifizierende Bakterien sind weit verbreitet, sie bevorzugen einen neutralen bis alkalischen pH-Bereich.

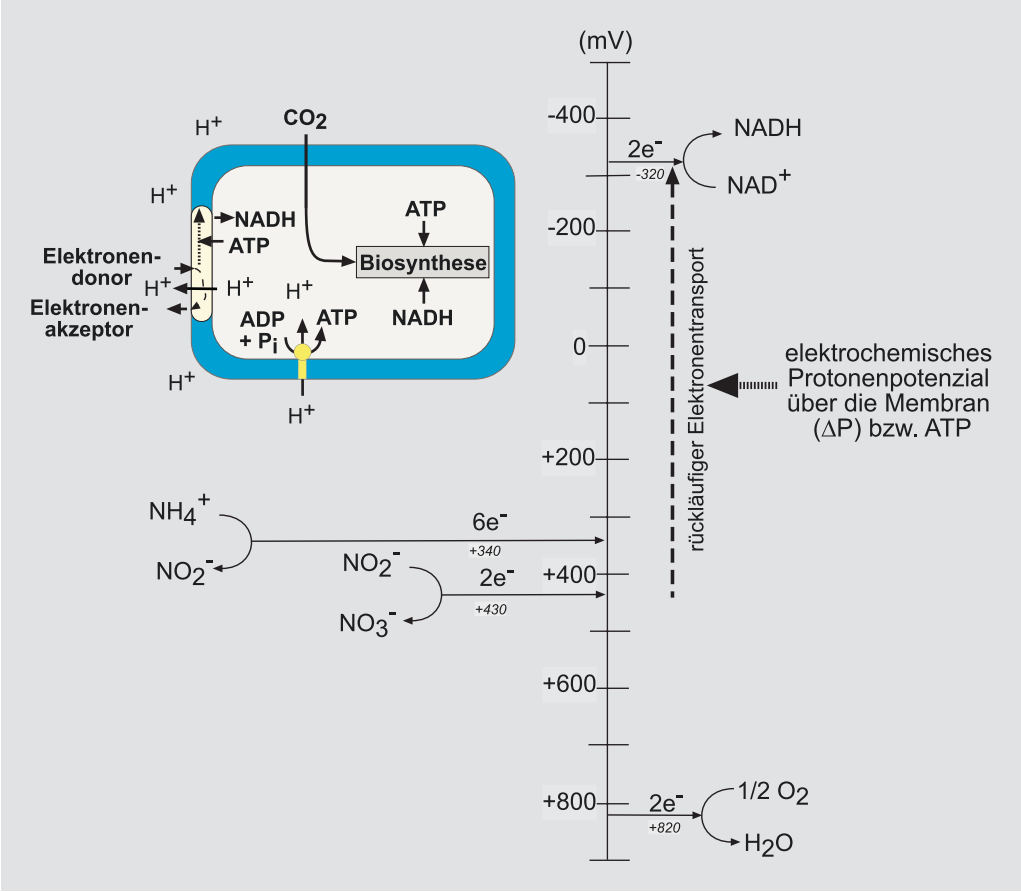


Abb. 7.3 Unterschiedliche Energieniveaus bei der Nitrifikation

Nitrifikation ohne Arbeitsteilung

Seit Jahrzehnten wurde angenommen, dass Ammoniak- und Nitrit-Oxidation, die **Nitrifikation** als konzertierte Aktivität von Ammoniak-oxidierenden Bakterien (AOB) oder Archaea (AOA) und von Nitrit-oxidierenden Bakterien (NOB) katalysiert werden. Erst kürzlich wurden komplette Ammoniak-Oxidierer („Comammox", complete ammonia oxidizer), die Ammoniak allein ohne Arbeitsteilung mit einem anderen Mikroorganismus zu Nitrat oxidieren, in der Bakteriengattung *Nitrospira* identifiziert, von der zuvor angenommen wurde, dass sie nur kanonische Nitrit-Oxidierer enthält. Es stellt sich die Frage nach ökologischen Nischen, in denen Comammox *Nitrospira* mit kanonischen Nitrifizieren erfolgreich konkurrieren. Eine Reinkultur eines comammoxen Bakteriums, *Nitrospira inopinata,* wurde jetzt isoliert und charakterisiert. Es konnte gezeigt werden, dass dieses Isolat an das Wachstum in oligotrophen und dynamischen Lebensräumen auf der Grundlage einer hohen Affinität für Ammoniak angepasst ist. Es besitzt eine niedrige maximale Rate der Ammoniak-Oxidation, aber hohe Wachstumsausbeute im Vergleich zu kanonischen Nitrifizierern. Im Vergleich zeigten vier aus Boden und heißen Quellen isolierte AOA folgende Nitrifikationskinetik: überraschend schlechte Substrataffinitäten und niedrigere Wachstums-ausbeuten. AOA sind

also im Gegensatz zu früheren Annahmen nicht notwendigerweise die am stärksten wettbewerbsfähigen Ammoniak-Oxidierer in stark oligotrophen Umgebungen. *Nitrospira inopinata* hat die höchste Substrataffinität aller analysierten Ammoniak-Oxidierer-Isolate mit Ausnahme des marinen AOA *Nitrosopumilus maritimus*. Die Ergebnisse deuten auf eine wichtige Rolle der Comammox-Organismen bei der Nitrifikation unter oligotrophen und dynamischen Bedingungen hin.
Nitrospira ist weit verbreitet in der Natur, aber für die Beurteilung der Verteilung und funktionellen Bedeutung von Comammox *Nitrospira* in Ökosystemen sind kultivierungsunabhängige Werkzeuge zur Unterscheidung von Comammox mit streng Nitrit-oxidierenden *Nitrospira* erforderlich.
Neue PCR-Primer-Sets wurden entwickelt, die speziell auf die *amoA*-Gene abzielen, die für die Untereinheit A der verschiedenen Ammoniak-Monooxygenase von Comammox *Nitrospira* kodieren. Das neue Primerset deckt bis zu 95 % der Comammox-AmoA-Clade A und 92 % der Clade-B-Sequenzen in einer Referenzdatenbank mit 326 Comammox-AmoA-Genen mit Sequenzinformation an den Primerbindungsstellen ab.
Die Anwendung der Primer auf 13 Proben aus technischen Systemen (Grundwasserbrunnen, Trinkwasseraufbereitungs- und Kläranlagen) und anderen Lebensräumen (Reis- und Waldböden, Reisrhizosphäre, Bracksee-Sediment und Süßwasser-Biofilm) entdeckte in allen Proben comammox *Nitrospira* und zeigte eine beträchtliche Vielfalt von Comammox in den meisten Lebensräumen.
Die quantitative PCR mit äquimolaren Primergemischen war hochempfindlich und spezifisch und ermöglichte die effiziente Quantifizierung von Clade A und Clade B comammox *amoA* Gen Kopienzahlen in Umweltproben.
Die relative Häufigkeit von Comammox *Nitrospira,* im Vergleich zu kanonischen Ammoniak-Oxidierern, war in verschiedenen Umgebungen sehr variabel.
(Daims et al., 2015; Kits et al., 2017; Martens-Habbena et al., 2009; Pjevac et al., 2017; van Kessel et al., 2015).

7

Umweltprobleme, die mit der Nitrifikation zusammenhängen, ergeben sich aus dem vermehrten Eintrag von Stickstoffverbindungen in die Biosphäre. Die natürliche Nitrifikation bewirkt durch die Salpetersäurebildung den Aufschluss von Mineralien, zum Beispiel die Freisetzung von Kalium, Calcium und Phosphat. Salpeterausblühungen in Ställen und Kellern sind vielfach Endprodukte nitrifizierender Bakterien.

Der zur Bodenbildung und zur Bodenfruchtbarkeit beitragende Prozess bewirkt jedoch auch die Korrosion von Bauwerken aus Sandstein und Zement. Einige Nitrifikanten besiedeln poröse Sandsteine bis zur Tiefe von mehreren Zentimetern. Diese endolithische Lebensweise wird durch Ammoniumemissionen möglich, die vor allem aus der Massentierhaltung von Schweinen und Geflügel stammen. Durch die Säurebildung kommt es so zur Zerstörung des Sandsteingefüges an historischen Bauwerken (siehe ► Kap. 13).

Bei der verbreiteten Überdüngung landwirtschaftlicher Flächen mit Ammoniumverbindungen, Harnstoff und Gülle kommt es zu einer starken Nitrifikation. Ammoniak ist kationisch und wird stark an negativ geladene Tonminerale und Humus absorbiert. Hingegen wird das gebildete Nitrat, obwohl es leicht von Pflanzen assimiliert wird, aufgrund seiner sehr hohen Wasserlöslichkeit in Grundwasserhorizonte ausgewaschen. Die Folgen der Auswaschung von Nitrit und Nitrat sind ein Verlust an Stickstoff für die Pflanzenernährung, daher ist die Nitrifikation in der landwirtschaftlichen Praxis nicht nutzbringend. Weiter führt eine bedenkliche Anreicherung von Nitrat im Grundwasser dazu, dass die Nutzung als Trinkwasser in Frage gestellt wird.

Massentierhaltung als Quelle für Ammonium trägt zu einem weiteren Umweltproblem bei, der Überdüngung der Wälder, die in den neuartigen Waldschäden zum Ausdruck kommt.

7.4 ANAMMOX

Zusätzlich zur aeroben Oxidation von Ammonium durch Nitrifizierer wurde kürzlich eine Oxidation in anaerobem Milieu gefunden. Die **Anaerobe Ammonium-Oxidation (ANAMMOX)** wird durch sehr langsam wachsende Organismen durchgeführt. Sie benötigt neben Ammonium als anorganischen Elektronendonor Nitrit als oxidierendes Agenz. Sie findet in Kläranlagen mit einer hohen Kohlenstofffracht statt. Man diskutiert diesen Prozess im Bereich des Überganges von oxischen zu anoxischen Ökosystemen, an denen Nitrit und Ammoniak in Abwesenheit von Sauerstoff auftreten.

Anaerobe Ammoniumoxidation ist die mikrobielle Oxidation von Ammonium mit Nitrit zu N_2 unter strikt anoxischen Bedingungen.

$$NH_4^+ + NO_2^- \rightarrow N_2 + 2H_2O$$

$$\Delta G^{0'} = -335\,\text{kJ/Ammonium}$$

Sie wird von Planctomyceten-ähnlichen Bakterien durchgeführt. Anammox ist nicht nur für den ozeanischen Stickstoffkreislauf bedeutend, sondern auch an der Stickstoffbeseitigung aus kommunalem und industriellem Abwasser substanziell beteiligt.

Der Prozess läuft in den verschiedensten Bereich der Umwelt ab, so in marinen Sedimenten, Eis auf See und anderen anaeroben Wassersäulen. Er soll für bis zu 50 % der globalen Entfernung von fixiertem Stickstoff aus den Ozeanen verantwortlich sein (◘ Abb. 7.4).

7.5 Nitratreduktion

Nitrat kann durch die **assimilatorische Nitratreduktion** zu Ammonium reduziert werden und so in organische Stickstoffverbindungen eingehen. Sie dient den Mikroorganismen und Pflanzen damit zum Aufbau von Aminosäuren und anderen N-haltigen Zellbausteinen.

Im Gegensatz dazu ist die Funktion der **dissimilatorischen Nitratreduktion** die Energiegewinnung. Man nennt sie auch **Nitratatmung,** da Nitrat unter anaeroben Bedingungen als Elektronenakzeptor für eine Form der Atmung dient.

Zwei Wege der Nitrat- und Nitritatmung sind bekannt: **Denitrifikation** und **Ammonifikation** (◘ Abb. 7.5).

7.5.1 Denitrifikation

Bei der **Denitrifikation** wird elementarer Stickstoff und in geringen Mengen auch N_2O gebildet. Dieser Prozess ist im globalen Rahmen der Hauptweg, auf dem gasförmiges N_2 biologisch erzeugt wird.

Die folgenden Reduktionsschritte sind an der Denitrifikation beteiligt:

$$NO_3^- + 2e^- + 2H^+ \rightarrow$$
$$NO_2^- + H_2O \text{ (Nitrat-Reduktase)}$$
$$NO_2^- + e^- + 2H^+ \rightarrow$$
$$NO + H_2O \text{ (Nitrit-Reduktase, NO-bildend)}$$
$$2NO + 2e^- + 2H^+ \rightarrow$$
$$N_2O + H_2O \text{ (Stickstoffoxid-Reduktase)}$$
$$N_2O + 2e^- + 2H^+ \rightarrow$$
$$N_2 + H_2O \text{ (Distickstoffoxid-Reduktase)}$$

Die Nitrat- und NO-Reduktase sind in der Cytoplasmamembran lokalisiert, während Nitrit- und N_2O-Reduktase periplasmatisch sind.

Beim Einsetzen der Anaerobiose wird zunächst bevorzugt N_2O gebildet, da das im Stoffwechselweg folgende Enzym, die N_2O-Reduktase, langsamer gebildet wird. Eine verstärkte N_2O-Bildung findet vor allem bei Überschuss an Nitrat und Mangel an Elektronendonoren statt.

Die denitrifizierenden Bakterien können auf diesem Wege organische Substrate in Abwesenheit von Luftsauerstoff vollständig

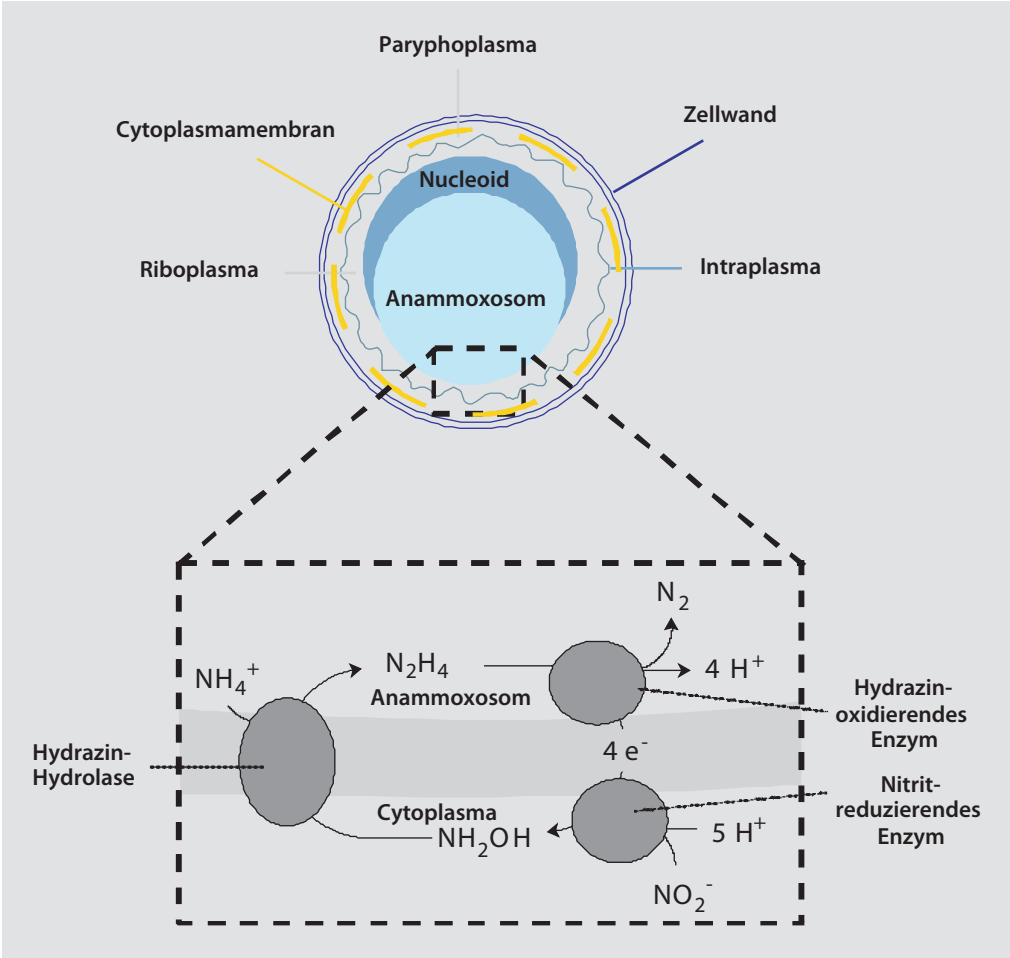


Abb. 7.4 Morphologie der Anammox-Zelle und vorgeschlagenes Modell des Anammox-Prozesses

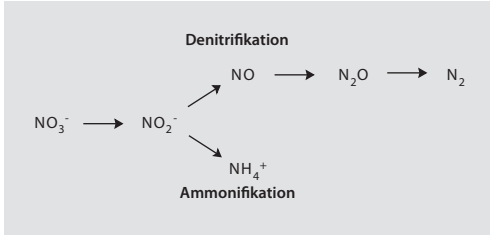


Abb. 7.5 Wege der Nitrat-/Nitritreduktion

abbauen, der dabei erzielte Energiegewinn entspricht annähernd dem der Atmung.

Die Fähigkeit zur Denitrifikation ist bei Boden- und Gewässerbakterien verbreitet, wichtige Vertreter sind Pseudomonaden, *Bacillus licheniformis, Paracoccus denitrificans.* Denitrifikanten sind **fakultativ anaerob,** bei Sauerstoffmangel werden die Enzyme zur schrittweisen Reduktion von Nitrat zu N_2 induziert. Im Boden tritt dieser Zustand bei Staunässe ein, wenn

Nitrat vorhanden ist. Dadurch kommt es zum **Stickstoffverlust des Bodens.**

Einige Bakterien, zum Beispiel *Escherichia coli,* führen eine Variante der Nitrat-Atmung durch. Sie reduzieren das Nitrat nur bis zur Stufe des Nitrits (Nitrat-/Nitritatmung).

Weil Mikroorganismen N_2 viel schlechter als Stickstoffquelle verwenden können, ist die Denitrifikation ein schädlicher Vorgang, weil er gebundenen Stickstoff aus der Umwelt entfernt.

Bei der Abwasseraufbereitung ist die Denitrifikation ein nützlicher Vorgang, da er Nitrat aus dem Wasser entfernt und so das Algenwachstum minimiert, wenn das Wasser in Seen und Flüsse eingelassen wird.

7.5.2 Dissimilatorische Nitratreduktion zu Ammonium

Ebenfalls von dem NO_3^--Pool ausgehend wird durch die **Dissimilatorische Nitratreduktion zu Ammonium (DNRA)** Nitrat direkt zu NH_4^+ reduziert.

Der erste Schritt in dieser Reaktion, die Reduktion von Nitrat zu Nitrit, ist der Energie-liefernde Schritt. Er ist identisch zu dem der Denitrifikation:

$$NO_3^- + 2e^- + 2H^+ \rightarrow NO_2^- + H_2O \text{ (Nitrat-Reduktase)}$$

Die weitere Reduktion von Nitrit zum Ammonium wird von einer NADH-abhängigen Reduktase katalysiert.

$$NO_2^- + 3NAD(P)H + 5H^+ \rightarrow NH_4^+ + 3NAD(P)^+ + 2H_2O$$
(Nitrit-Reduktase, Ammoniak-forming)

Dieser zweite Schritt liefert keine zusätzliche Energie, sondern er führt zu fixiertem Stickstoff und stellt durch die Reoxidation von NADH zum NAD^+ Reduktionsäquivalente wieder zur Verfügung. Diese Reduktionsäquivalente werden dann zum Beispiel für die Oxidation von Kohlenhydraten gebraucht.

In der Tat wurde beobachtet, dass unter kohlenstofflimitierenden Bedingungen Nitrit akkumuliert (Denitrifikation herrscht vor), während Ammonium das Hauptprodukt bei Vorhandensein großer Kohlenstoffmengen ist (DNRA herrscht vor).

Die Umsetzung erfolgt durch fakultativ oder obligat fermentierende Bakterien. Als Bedingungen für den Ablauf der DNRA müssen entsprechend der Denitrifikation, neben Sauerstoffmangel, ein hohes Angebot an organischem Kohlenstoff und verfügbarem NO_3^- sowie ein niedriges Redoxpotenzial gegeben sein. Die Bedeutung der DNRA in terrestrischen Ökosystemen wird unterschätzt. Diese These wird von Silver et al. (2001) bestätigt, die für tropische Wälder DNRA-Raten von bis zu 0,9 mg N/kg Bodentrockengewicht · Tag nachweisen konnten. Dieser Wert lag um den Faktor drei höher als der N-Umsatz über die Denitrifikation (bis 0,3 mg N/kg BTG · Tag).

Ein zweiter Umweltfaktor, der für DNRA selektiert, ist ein geringes Niveau an zur Verfügung stehendem Elektronenakzeptor. Es ist deshalb nicht verwunderlich, dass der Prozess hauptsächlich in gesättigter, kohlenstoffreicher Umgebung wie stillstehenden Wässern, Klärschlamm, einigen Sedimenten mit hohem Anteil an organischem Material sowie dem Wiederkäuermagen stattfindet.

Tab. 7.5 listet verschiedene Bakterien auf, die DNRA durchführen. Es fällt auf, dass die meisten Bakterien einen fermentativen und kaum einen oxidativen Metabolismus haben.

Tab. 7.5 Bakterien, die Dissimilatorische Nitrat- oder Nitritreduktion zum Ammonium (DNRA) nutzen

Verhalten zum Sauerstoff/Genus	Typische Habitate
Obligat Anaerobe	
Clostridium	Boden, Sedimente
Desulfovibrio	Sedimente
Selenomonas	Pansen
Veillonella	Darmtrakt
Wolinella	Pansen
Fakultativ Anaerobe	
Citrobacter	Boden, Abwasser
Enterobacter	Boden, Abwasser
Erwinia	Boden
Escherichia	Boden, Abwasser
Klebsiella	Boden, Abwasser
Photobacterium	Seewasser
Salmonella	Abwasser
Serratia	Darmtrakt
Vibrio	Sediment
Mikroaerophile	
Campylobacter	Mundhöhle
Aerobe	
Bacillus	Boden, Lebensmittel
Neisseria	Schleinhäute
Pseudomonas	Boden, Wasser

Testen Sie Ihr Wissen

Welche wichtige Funktion kommt den Denitrifizierern in der Natur im Stickstoffkreislauf zu?
Was würde geschehen, wenn es keine Denitrifikation gäbe?
Warum spielen Denitrifizierer bei der Abwasserbehandlung in Kläranlagen eine essentielle Rolle?
Weshalb ist die Denitrifikation in der Landwirtschaft unerwünscht?
Wie unterscheiden sich assimilatorische und dissimilatorische Nitratreduktion hinsichtlich ihrer Funktion?
Welche Gase können bei der Denitrifikation freigesetzt werden?
Welche Funktion haben die Nitrifizierer im Stickstoff-Kreislauf?
Welche Kohlenstoffquelle nutzen Nitrifizierer und wie überführen sie diese in Zellbestandteile?
Warum müssen Nitrifizierer einen rückläufigen Elektronentransport betreiben?
Sagen Sie etwas zur Wachstumsrate von Nitrifizierern.
Geben sie anhand der Oxidationszustände des Stickstoffs an, wieviele Elektronen bei der Oxidation von Ammonium zu Nitrat insgesamt freigesetzt werden.
Was besagt Chemolithotrophie?
Was versteht man unter ANAMMOX?
Wo liegt ein Problem bei der Stickstoffixierung, wenn Sie an den Verbrauch von viel ATP und die Sauerstoffempfindlichkeit der Nitrogenase denken? Welche Lösungen für diesen Widerspruch haben die Organismen gefunden?
Wer betreibt den „COMAMMOX" Prozess?

Literatur

Daims, H., Lebedeva, E. V., Pjevac, P., Han, P., Herbold, C., Albertsen, M., Jehmlich, N., Palatinszky, M., Vierheilig, J., Bulaev, A., Kirkegaard, R. H., von Bergen, M., Rattei, T., Bendinger, B., Nielsen, P. H., Wagner, M. 2015. Complete nitrification by *Nitrospira* bacteria. Nature 528:504–509.

Kits, K. D., Sedlacek, C. J., Lebedeva, E. V., Han, P., Bulaev, A., Pjevac, P., Daebeler, A., Romano, S., Albertsen, M., Stein, L. Y., Daims, H., Wagner, M. 2017. Kinetic analysis of a complete nitrifier reveals an oligotrophic lifestyle. Nature 549:269–272. ► https://doi.org/10.1038/nature23679.

Martens-Habbena, W., Berube, P. M., Urakawa, H., de la Torre, J. R., Stahl, D. A. 2009. Ammonia oxidation kinetics determine niche separation of nitrifying *Archaea* and *Bacteria*. Nature 461:976–979.

Pjevac, P., Schauberger, C., Poghosyan, L., Herbold, C. W., van Kessel, M. A. H. J., Daebeler, A., Steinberger, M., Jetten, M. S. M., Lücker, S., Wagner, M., Daims, H. 2017. *AmoA*-targeted polymerase chain reaction primers for the specific detection and quantification of comammox *Nitrospira* in the environment. Front Microbiol. 2017 Aug 4;8:1508. ► https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01508.

Silver, W. L., Herman, D. J., Firestone, M. K. 2001. Dissimilatory nitrate reduction to ammonium in upland tropical forest soils. Ecology 82:2410–2416.

van Kessel, M. A. H. J., Speth, D. R., Albertsen, M., Nielsen, P. H., Op den Camp, H. J., Kartal, B., Jetten, M. S., Lücker, S. 2015. Complete nitrification by a single microorganism. Nature 528:555–559.

Weiterführende Literatur

Dalsgaard, T., Thamdrup, B., Canfield, D. E. 2005. Anaerobic ammonium oxidation (anammox) in the marine environment. Res. Microbiol. 156:457–464.

Fritsche, W. 2002. Mikrobiologie. 3. Aufl., Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg.

Fuchs, G. (Hrsg.) 2006. Allgemeine Mikrobiologie. 8. Auflage. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.

Gottschalk, G. 1988. Bacterial metabolism. 2. ed., Springer, New York.

Jetten, M., Schmid, M., van de Pas-Schoonen, K., Sinninghe Damste, J., Strous, M. 2005. Anammox organisms: enrichment, cultivation, and environmental analysis. Methods Enzymol. 397:34–57.

Kuypers, M. M., Sliekers, A. O., Lavik, G., Schmid, M., Jorgensen, B. B., Kuenen, J. G., Sinninghe Damste, J. S., Strous, M., Jetten, M. S. 2003. Anaerobic ammonium oxidation by anammox bacteria in the Black Sea. Nature 422:608–611.

Lengeler, J. W., Drews, G., Schlegel, H. G. (Hrsg.) 1999. Biology of the prokaryotes. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.

Madigan, M. T., Martinko, J. M., Dunlap, P. V., Clark, D. P. 2009. Brock-Biology of Microorganisms. 12th International Edition. Pearson Benjamin Cummings, San Francisco, CA94111.

Maier, R. M., Pepper, I. L., Gerba, C. P. 2000. Environmental Microbiology. Academic Press, London.

Op den Camp, H. J., Kartal, B., Guven, D., van Niftrik, L. A., Haaijer, S. C., van der Star, W. R., van de Pas-Schoonen, K. T., Cabezas, A., Ying, Z., Schmid, M. C., Kuypers, M. M., van de Vossenberg, J., Harhangi, H. R., Picioreanu, C., van Loosdrecht, M. C., Kuenen, J. G., Strous, M., Jetten, M. S. 2006. Global impact and application of the anaerobic ammonium-oxidizing (anammox) bacteria. Biochem. Soc. Trans. 34:174–178.

Strous, M., Kuenen, J. G., Fuerst, J., Wagner, M., Jetten, M. S. M. 2002. The anammox case – A new experimental manifesto for microbiological eco-physiology. Ant. van Leeuwenhoek 81:693–702.

Kreisläufe von Schwefel, Eisen und Mangan

8.1 Schwefelkreislauf – 322
8.1.1 Sulfatreduktion – 322
8.1.2 Reduktion von Elementarschwefel – 326
8.1.3 Schwefeldisproportionierung – 326
8.1.4 Oxidation von Sulfid und Elementarschwefel – 326
8.1.5 Organische Schwefelverbindungen – 331

8.2 Der Eisenkreislauf – 333
8.2.1 Oxidation von zweiwertigem Eisen – 334
8.2.2 Reduktion von dreiwertigem Eisen – 341

8.3 Der Mangankreislauf – 341
8.3.1 Oxidation von zweiwertigem Mangan – 341
8.3.2 Reduktion von vierwertigem Mangan (Mn^{4+}): anaerobe Atmung – 342

Literatur – 342

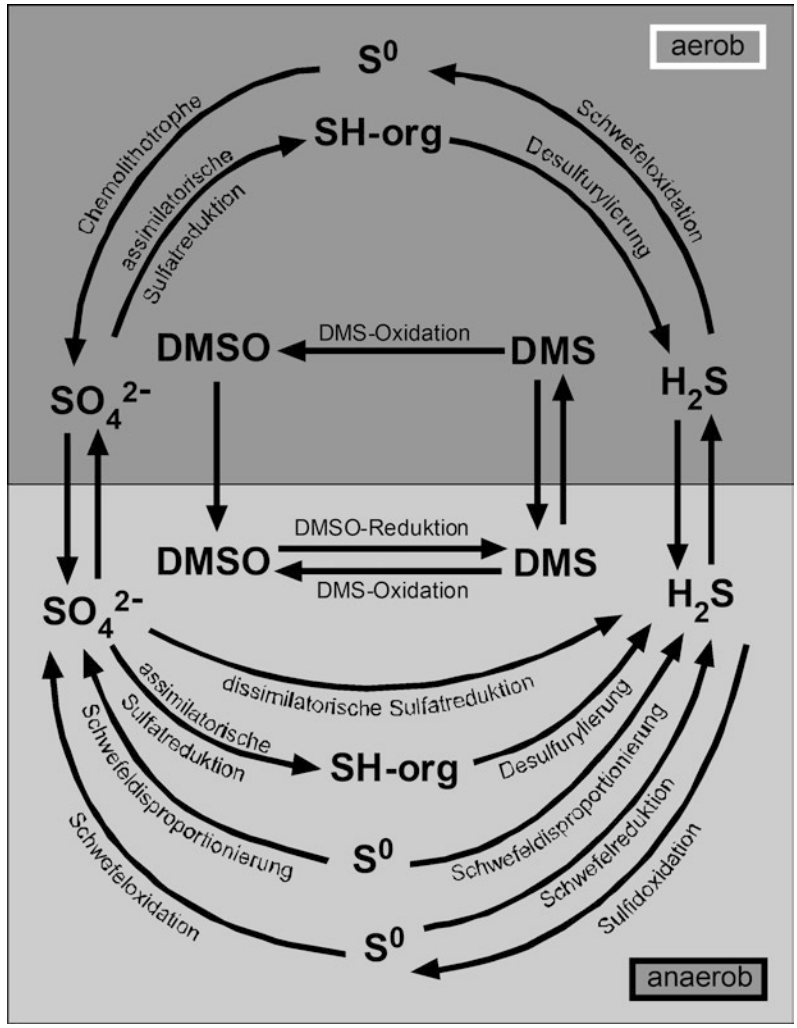
© Springer-Verlag GmbH Deutschland, ein Teil von Springer Nature 2020
W. Reineke und M. Schlömann, *Umweltmikrobiologie*, https://doi.org/10.1007/978-3-662-59655-5_8

8.1 Schwefelkreislauf

Umwandlungen von Schwefel sind aufgrund der verschiedenen Oxidationszustände des Schwefels und der Tatsache, dass einige Umwandlungen mit beträchtlicher Geschwindigkeit sowohl chemisch als auch biologisch ablaufen, noch komplexer als die von Stickstoff. Der Redoxkreislauf für Schwefel und die Beteiligung von Mikroorganismen an Schwefelumwandlungen sind in ◘ Abb. 8.1 dargestellt. Obwohl eine große Anzahl von Oxidationszuständen möglich ist, bilden nur die folgenden signifikante Mengen in der Natur: −2 (Sulfhydryl, R-SH, und Sulfid, HS^-), 0 (Elementarschwefel, S^0) sowie +6 (Sulfat, SO_4^{2-}) (◘ Tab. 8.1 und 8.2).

8.1.1 Sulfatreduktion

Ein häufiges flüchtiges Schwefelgas ist Schwefelwasserstoff (H_2S). Es wird durch bakterielle Reduktion von Sulfat gebildet



◘ **Abb. 8.1** Schwefelkreislauf

Tab. 8.1 Natürlich vorkommende Schwefelverbindungen und ihre Oxidationszustände

Oxidations-zustand	Gas	Aerosol	Wasser	Boden	Mineral	Biologisch
–2	H_2S, RSH, DMS, OCS		H_2S, HS^-, S^{2-}, RS^-	HS^-, S^{2-}	S^{2-}	Methionin, Cystein, Glutathion
–1					FeS_2	
0				S_8	S^0	
+2 (Durchschnitt pro S)			$S_2O_3^{2-}$			
+4	SO_2	HSO_3^-	HSO_3^-, SO_3^{2-}	SO_3^{2-}		
+6	SO_3	HSO_4^-, SO_4^{2-}	HSO_4^-, SO_4^{2-}	$CaSO_4$	$CaSO_4$	

DMS: Dimethylsulfid; OCS: Carbonylsulfid (in der Troposphäre)

Tab. 8.2 Prozesse im Schwefelkreislauf

Prozess mit Funktion	Organismen
Sulfatreduktion ($SO_4^{2-} \rightarrow H_2S$) Elektronenakzeptor bei anaerober Atmung	*Desulfobacter, Desulfovibrio*
Schwefelreduktion ($S^0 \rightarrow H_2S$) Elektronenakzeptor bei anaerober Atmung	*Desulfuromonas,* viele hyperthermophile Archaea
Sulfid-/Schwefeloxidation ($H_2S \rightarrow S^0 \rightarrow SO_4^{2-}$) – aerob: Schwefelchemolithotrophe, Elektronendonor – anaerob: Elektronendonor	*Beggiatoa, Paracoccus, Thiobacillus* Schwefelpurpurbakterien, Grüne Schwefelbakterien, einige Chemolithotrophe
Schwefeldisproportionierung ($S_2O_3^{2-} \rightarrow H_2S + SO_4^{2-}$)	*Desulfovibrio,* und andere
Reduktion organischer Schwefelverbindungen (DMSO → DMS) Elektronenakzeptor bei anaerober Atmung	*Campylobacter, Escherichia, Wolinella succinogenes*
Oxidation organischer Schwefelverbindungen ($CH_3SH \rightarrow CO_2 + H_2S$)	Phototrophe oder chemotrophe schwefeloxidierende Bakterien
Desulfurylierung (organischer-S → H_2S)	Viele Organismen

CH_3SH: Mercaptan; DMSO: Dimethylsulfoxid

Tab. 8.3 Pylogenetische Gruppen von Sulfat-Reduzierern

Gram-negative, mesophile *Deltaproteobacteria*
Desulfobacter postgatei
Desulfovibrio desulfuricans
Gram-positive Endosporenbildner
Desulfotomaculum acetoxidans
Desulfosporosinus orientis
Thermophile Bakterien
Thermodesulfobacterium commune
Thermodesulforhabdus norvegica
Thermophile Archaea
Archaeoglobus fulgidus
Archaeglobus veneficus

8

(Abb. 8.1) oder stammt aus geochemischen Quellen, etwa Sulfidquellen oder Vulkanen. Die Form, in der Sulfid in der Umwelt vorkommt, ist pH-abhängig: unterhalb von pH 7 herrscht H_2S vor, HS^- und S^{2-} kommen oberhalb von pH 7 vor.

Sulfatreduzierende Bakterien (Sulfat beziehungsweise Schwefel als Elektronenakzeptor, Sulfat-/Schwefelatmung) sind in der Natur weit verbreitet, allerdings sind ihre Aktivitäten in vielen anoxischen Biotopen wie Süßwasser und vielen Böden durch die dort geringen Konzentrationen an Sulfat beschränkt. Diese Beschränkung ist im Meer (~28 mM SO_4^{2-}) nicht vorhanden.

Sulfatreduzierende Bakterien sind eine große, phylogenetisch sehr heterogene Gruppe von anaeroben Bakterien. Viele von ihnen sind strikt anaerob; einige überleben jedoch eine Exposition gegenüber Sauerstoff, und wenige können Sauerstoff sogar nutzen.

Basierend auf Analysen der 16S rRNA-Gensequenz werden sulfatreduzierende Bakterien in vier phylogenetische Gruppen eingeteilt (siehe Tab. 8.3). Sulfatreduzierende Bakterien finden sich sowohl unter den Gram-negativen wie auch Gram-positiven Bakterien, und einige von ihnen gehören zu den Archaea. Sogar endosporenbildende Vertreter sind bekannt.

Wegen des Bedarfs an organischen Elektronendonoren (oder molekularem Wasserstoff, der ein Produkt der Gärung organischer Verbindungen ist) für den Betrieb der Sulfatreduktion wird nur dann Sulfid produziert, wenn signifikante Mengen an organischem Material vorhanden sind. In vielen Meeressedimenten ist die Rate der Sulfatreduktion durch Kohlenstoff limitiert und kann durch Zugabe von organischem Material stark erhöht werden. Dies ist für die Meeresverschmutzung von beträchtlicher Bedeutung, weil das Einleiten von Abwasser, Abwasserschlamm und Müll in das Meer zur deutlichen Zunahme an organischen Stoffen in den Sedimenten führen kann. Da HS^- für viele Organismen eine toxische Substanz ist, ist die Bildung von HS^- durch Sulfatreduktion potenziell schädlich. Ein häufiger Entgiftungsmechanismus für Sulfid in der Umwelt ist seine Verbindung mit Eisen, was zur Bildung von unlöslichem FeS führt. Die schwarze Farbe vieler Sedimente, in denen eine Sulfatreduktion stattfindet, geht auf die Akkumulation von FeS zurück.

Die Reaktionsfolge der **dissimilatorischen Sulfatreduktion (Sulfatatmung)** ist in Abb. 8.2 gezeigt.

Die Reduktion von SO_4^{2-} zu H_2S verläuft über mehrere Zwischenstufen. Sulfat, nachdem es in die Zelle transportiert ist, wird mit Hilfe von ATP aktiviert, es entsteht Adenosin-5′-phosphosulfat, ein Anhydrid. Dann wird aus APS durch APS-Reduktase Sulfit gebildet. Die weitere Reduktion durch die Sulfit-Reduktase erzeugt H_2S. Insgesamt werden durch die beiden Enzyme, die cytoplasmatische Enzyme sind, 8 Elektronen aus der Atmungskette übernommen. Der Prozess der dissimilatorischen Sulfatreduktion ist also Teil des Elektronentransportprozesses, der zur Bildung einer protonenmotorischen Kraft und dann der ATP-Synthese durch die ATPase führt.

Sulfatreduzierende Bakterien sind nicht nur phylogenetisch, sondern auch stoffwechselphysiologisch sehr heterogen. Man unterscheidet folgende Gruppen:

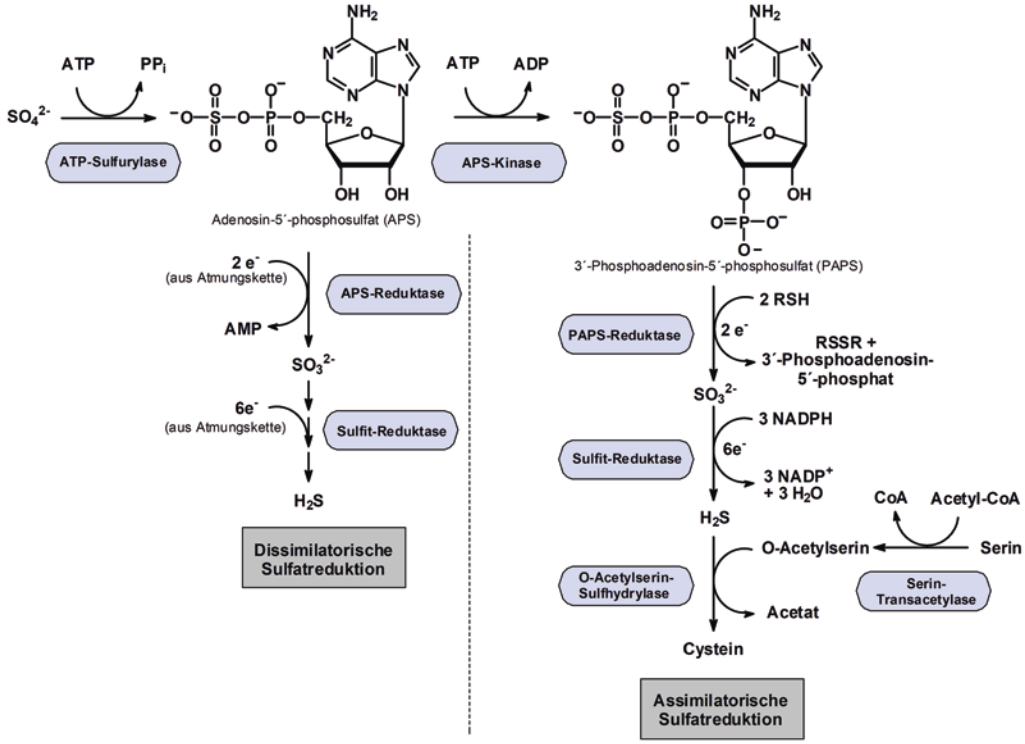


Abb. 8.2 Reaktionen der Sulfatreduktion. dissimilatorisch (links), assimilatorisch (rechts)

- **Vertreter einer Gruppe sind in der Lage, Acetat zu verwerten.** Es findet dabei eine vollständige Oxidation zu CO_2 und H_2 statt. Die Umwandlung erfolgt durch Enzyme, die vom reduktiven Acetyl-CoA Weg der CO_2-Fixierung bekannt sind. In solchen Bakterien ist damit auch die Voraussetzung gegeben, um Acetyl-CoA, welches aus dem Abbau langkettiger Fettsäuren durch β-Oxidation resultiert, zu CO_2 abbauen zu können. Vertreter der Gruppe sind *Desulfobacter, Desulfobacter postgatei, Desulfobacterium, Desulfococcus, Desulfonema* und *Desulfotomaculum acetoxidans.*
- **Vertreter einer anderen Gruppe können Acetat nicht oxidieren.** Die unvollständige Oxidation von Lactat, Propionat und primäre Alkohole wie zum Beispiel Ethanol führt zu Acetat und CO_2. Diese Bakterien nutzen fast immer auch molekularen Wasserstoff (H_2) als Elektronendonor, einige können sogar Benzoat nutzen. Wie erwähnt, ist Lactat ein verbreitetes Substrat der sulfatreduzierenden Bakterien. In *Desulfovibrio desulfuricans* wird Lactat durch eine Lactat-Dehydrogenase zu Pyruvat oxidiert. Aus diesem entsteht durch die Pyruvat:Ferredoxin-Oxidoreduktase CO_2 und Acetyl-CoA, welches dann durch die Phosphotransacetylase und Acetat-Kinase über Acetyl-Phosphat in Acetat umgewandelt wird. Beim letzten Schritt wird Energie durch Substratstufenphosphorylierung gewonnen. Insgesamt werden hierbei vier Reduktionsäquivalente pro Molekül Lactat frei; es ist also die Oxidation von zwei Molekülen Lactat erforderlich, um ein Molekül Sulfat zu Sulfid reduzieren zu können. Der Gruppe

gehören Vertreter der Gattungen *Desulfobulbus, Desulfomicrobium, Desulfotomaculum* und *Desulfovibrio* an.

- **Andere sulfatreduzierende Bakterien nutzen H_2 als fakultativ chemolithotrophe Arten.** Hierzu zählen zum Beispiel *Desulfovibrio desulfuricans* und *Desulfotomaculum orientis.*
- **Wenige Sulfatreduzierer können chemolithotroph wachsen, das heißt H_2 als einzige Energiequelle nutzen und CO_2 fixieren.** CO_2 wird über den reduktiven Acetyl-CoA-Weg oder den reduktiven Tricarbonsäure-Zyklus assimiliert. Zu den autotrophen Vertretern gehören *Desulfobacterium*-Arten, *Desulfobacter hydrogenophilus, Desulfonema limicola* und *Desulfotomaculum orientis.*

Ein weiterer Ausdruck der Stoffwechselmannigfaltigkeit der Sulfatreduzierer ist die Fähigkeit vieler Vertreter N_2 zu binden.

Durch die **assimilatorische Sulfatreduktion** wird Sulfat zur Synthese schwefelhaltiger Zellkomponenten, zum Beispiel von Methionin und Cystein genutzt. Mikroorganismen und Pflanzen führen diese assimilatorische Sulfatreduktion durch, Tiere sind auf organische Schwefelverbindungen angewiesen.

In der assimilatorischen Reduktion wird ein weiterer Phosphat-Rest an das APS gehängt, es entsteht 3′-Phosphoadenosin-5′-phosphosulfat. In diesem Intermediat wird dann der Sulfat-Rest reduziert und Sulfit gebildet. Es folgt die weitere Reduktion durch die Sulfit-Reduktase und Bildung von Cystein als erster Schwefel-haltiger Aminosäure.

8.1.2 Reduktion von Elementarschwefel

Die dissimilatorische Sulfatreduktion zu H_2S als eine Form der anaeroben Atmung ist ein wichtiger ökologischer Prozess, insbesondere unter hyperthermophilen Archaea. Obwohl auch sulfatreduzierende Bakterien die Reduktion von Schwefel durchführen können, erfolgt in der Natur der größte Teil der **S^0-Reduktion** wahrscheinlich durch phylogenetisch von ihnen verschiedene S^0-Reduzierer, die unfähig sind, SO_4^{2-} zu H_2S zu reduzieren. Allerdings sind die Habitate der S^0-Reduzierer im Allgemeinen auch die der Sulfatreduzierer, weshalb die beiden Gruppen von einem ökologischen Standpunkt her coexistieren.

8.1.3 Schwefeldisproportionierung

Gewisse sulfatreduzierende Bakterien können Schwefelverbindungen eines mittleren Oxidationszustandes verwenden und eine besondere Form des Energiestoffwechsels durchführen, die Disproportionierung. Der Prozess bezeichnet die Spaltung von zum Beispiel Thiosulfat ($S_2O_3^{2-}$) in eine stärker oxidierte (Sulfat) und eine stärker reduzierte Form (Schwefelwasserstoff) als die ursprüngliche Verbindung:

$$S_2O_3^{2-} + H_2O \rightarrow SO_4^{2-} + H_2S$$

$$\Delta G^{0'} = -22\,\text{kJ/Reaktion}$$

Das eine Schwefelatom von $S_2O_3^{2-}$ wird also höher oxidiert, während das andere weiter reduziert wird.

8.1.4 Oxidation von Sulfid und Elementarschwefel

Unter oxischen Bedingungen oxidiert Sulfid (HS^-) schnell und spontan bei neutralem pH-Wert. Schwefeloxidierende Bakterien sind ebenfalls in der Lage, die Oxidation von Sulfid zu katalysieren, aber aufgrund der schnellen Spontanreaktion findet die bakterielle Oxidation von Sulfid nur in Gebieten statt, wo aus anaeroben Bereichen aufsteigendes H_2S auf aus aeroben Bereichen absinkendes O_2 trifft (siehe auch ◘ Abb. 10.22 Streifenwatt).

In dem aeroben Epilimnion wird Schwefelwasserstoff beziehungsweise Schwefel durch **chemolithoautotrophe Schwefeloxidierer** in Sulfat überführt. *Thiobacillus*-Arten und die in nährstoffreichen Gewässern auftretenden, filamentös wachsenden *Beggiatoa*-Arten nutzen H_2S als Energiequelle. Die Energie dient unter anderem der CO_2-Assimilation.

Die Schwefelverbindungen, die von *Acidithiobacillus*-Arten in ihrem chemolithotrophen Stoffwechsel am meisten als Elektronendonoren verwendet werden, sind H_2S, S^0 und $S_2O_3^{2-}$ und die energieliefernden Reaktionen sind die folgenden:

$$H_2S + 2O_2 \rightarrow SO_4^{2-} + 2H^+$$
$$\Delta G^{0'} = -798\,\text{kJ/Reaktion}$$
$$2S^0 + 3O_2 + 2H_2O \rightarrow 2SO_4^{2-} + 4H^+$$
$$\Delta G^{0'} = -587\,\text{kJ/Reaktion}$$
$$S_2O_3^{2-} + H_2O + 2O_2 \rightarrow 2SO_4^{2-} + 2H^+$$
$$\Delta G^{0\prime} = -818\,\text{kJ/Reaktion}$$

Wenn Licht zur Verfügung steht, kann auch eine anaerobe Oxidation von H_2S stattfinden, die von den **phototrophen Schwefelbakterien** katalysiert wird. Aber dies geschieht nur in beschränkten Gebieten, meistens in Seen, wo ausreichend Licht in die anoxischen Zonen vordringen kann.

Anstelle der Oxidation von Wasser zu Sauerstoff benutzen diese Phototrophen also eine analoge Oxidation von Sulfid zu Schwefel.

$$2H_2S + CO_2 \rightarrow 2S^0 + (CH_2O) + H_2O$$

Die Schwefelpurpurbakterien benutzen H_2S oder $S_2O_3^{2-}$ als externen Elektronendonor, Schwefel bleibt zurück und wird in der Zelle als Schwefelgranula abgelagert.

Elementarschwefel, S^0, ist in den meisten Umgebungen in Anwesenheit von Sauerstoff chemisch stabil, wird aber leicht von schwefeloxidierenden Bakterien oxidiert. Obwohl eine Vielzahl schwefeloxidierender Bakterien bekannt ist, sind Vertreter der Gattung *Acidithiobacillus* am häufigsten an der Oxidation von Elementarschwefel beteiligt.

Elementarschwefel ist sehr unlöslich, und die Bakterien, die ihn oxidieren, heften sich fest an die Schwefelkristalle. Die Oxidation von Elementarschwefel führt zur Bildung von Sulfat- und Wasserstoffionen. Die Schwefeloxidation hat charakteristischerweise eine Senkung des pH zur Folge. Elementarschwefel wird gelegentlich alkalischen Böden zugefügt, um eine Senkung des pH-Wertes herbeizuführen, wobei man sich für die Durchführung des Ansäuerungsprozesses auf die allgegenwärtigen Thiobacillen verlässt.

Details zur mikrobiellen Schwefeloxidation

Die dissimilatorische Oxidation von reduzierten anorganischen Schwefelverbindungen und elementarem Schwefel zu Sulfat ist eine der Hauptreaktionen im globalen Schwefelkreislauf und beschränkt sich auf die Prokaryoten. Viele lithotrophe Mikroorganismen beziehen ihre Energie für Wachstum aus diesen Reaktionen.
Die schwefeloxidierenden lithotrophen Prokaryoten sind phylogenetisch divers und gehören zu den Archaea und Bakterien.

Innerhalb der Archaea ist die Schwefeloxidation auf die thermoacidophile Ordnung *Sulfolobales* beschränkt. Im Gegensatz dazu ist eine Vielzahl von lithotrophen, meist mesophilen Bakterienspezies bekannt wie *Acidithiobacillus, Aquaspirillum, Aquifex, Bacillus, Beggiatoa, Methylobacterium, Paracoccus, Pseudomonas, Starkeya, Thermithiobacillus, Thiobacillus* und *Xanthobacter*. Zusätzlich benutzen viele phototrophe Bakterien reduzierte Schwefelverbindungen als Elektronendonor für anoxygene Photosynthese. Sie beinhalten die Genera *Allochromatium, Chlorobium, Rhodobacter, Rhodopseudomonas, Rhodovulum* und *Thiocapsa,* die hauptsächlich mesophil sind.
Verschiedene Schwefelverbindungen wie Sulfid, elementarer Schwefel, Sulfit, Thiosulfat und Polythionate können als Substrate dienen. Die Organismen unterscheiden

sich in ihrer Fähigkeit, diese unterschiedlichen Schwefelverbindungen zu verwenden. Es werden sauerstoffabhängige und -unabhängige Wege der Schwefeloxidation beschrieben, die durch Enzymkomplexe in Bakterien und Archaea durchgeführt werden.

SCHWEFEL OXIDATIONSWEGE IN BAKTERIEN

Das SOX-System

Das am besten untersuchte System, wenn es um die Proteine und die beteiligten Reaktionen geht, ist die sauerstoffunabhängige SOX-Sequenz (**s**ulfur **ox**idizing pathway), die in mesophilen Bakterien bei Wachstum bei neutral pH benutzt wird, so im *Alphaproteobacterium Paracoccus pantotrophus.*
Thiosulfatoxidation zum Sulfat findet an den Untereinheiten des periplasmatischen thiosulfatoxidierenden Multienzymkomplexes (TOMES) statt. Die Oxidation zum Sulfat läuft ohne freie Intermediate ab. Jede Untereinheit besitzt ein einzelnes Cystein, dessen Thiol Disulfidbindungen bilden kann.
Die Untereinheit SoxAX scheint einleitend die Oxidation und den Transfer von Thiosulfat zum Substrat-Carrier-Protein SoxYZ durchzuführen, sodass sich SoxY-Thiocystein-S-sulfat bildet. Die Untereinheit SoxB hydrolysiert Sulfat vom Thiocystein-S-sulfat-Rest und erzeugt damit S-Thiocystein. Die Enzymuntereinheit SoxCD kann dann das äußere Schwefelatom oxidieren und es entsteht SoxY-Cystein-S-sulfat. Zum Schluss wird durch SoxB wieder Sulfat hydrolysiert und so der Kreis geschlossen, indem sich der Cysteinrest von SoxY zurückbildet. Die Sequenz ist in ◘ Abb. 8.3a zusammengefasst.
Die Reaktionsfolge der Sulfit-Oxidation ist kürzer, SoxCD wird nicht benötigt. Sulfit wird durch SoxAX an SoxY angehängt, sodass sich SoxY-Cystein-S-sulfat bildet, welches nachfolgend durch SoxB hydrolytisch Sulfat abspaltet.
Sulfid wird einleitend durch SoxXA oxidiert, ein S-Thiocystein-Rest von SoxY wird gebildet. Dieser wird weiter durch Oxidation und Hydrolyse umgesetzt.
Schwefel liegt wahrscheinlich als Polysulfid (S_n^{2-}) vor und wird an SoxY gebunden, um dann wie Hydrogensulfid nach Oxidation und Hydrolyse als Sulfat freigesetzt zu werden.
Eine Tetrathionat-Hydrolase hydrolysiert Tetrathionat zu Sulfat und Thioperoxymonosulfat ($S–S–SO_3^{2-}$). Der spontane Zerfall zum Schwefel und Thiosulfat liefert dann die Substrate für das Sox-System.
Die im Zuge der Oxidationen freigesetzten Elektronen werden auf Cytochrom *c* transferriert und gelangen dann zur terminalen Oxidase.
Die Proteinuntereinheiten SoxYZAB scheinen entscheidend für die Schwefeloxidation zu sein und in allen schwefeloxidierenden Bakterien vorzukommen. *Beta-* und *Gammaproteobacteria* und Chlorobien besitzen *sox*-Gencluster ohne *soxCD.* Die Beteiligung eines nur partiellen *sox*-Clusters bei der Schwefeloxidation ist damit deutlich.

Schwefeloxidation in phototrophen Bakterien

Chlorobiaceae sind anoxygene phototrophe Grüne Schwefelbakterien, die Hydrogensulfid zu Schwefelsäure oxidieren und zwischenzeitlich Schwefel globulär außerhalb der Zelle ablagern. Das Genom von *Chlorobium tepidum,* einem moderaten Thermophilen, besitzt einen Cluster von 13 Genen, von denen *soxFXYZAB* homolog zu den entsprechenden Genen von *P. pantotrophus* sind. Die *soxCD* Gene fehlen im *C. tepidum* Genom. Das inkomplette Sox-Enzymsystem funktioniert für die Thiosulfatoxidation und führt zur Freisetzung von Schwefel (oder Polysulfid) durch das Sox-System.
Das anoxygene phototrophe Purpurbakterium *Allochromatium vinosum* ist ein *Gammaproteobacterium.* Die *soxAXB* und *soxYZ* Gene wurden in ihm nachgewiesen. *A. vinosum* lagert übergangsweise Protein-umhüllte Schwefelgranula im Periplasma als ein obligates Intermediat während der Sulfid- und Thiosulfat-oxidation zu Sulfat ab. Der abgelagerte Schwefel liegt in Form von Schwefelketten, möglicherweise als Organylsulfane (RS_n-R oder R-S_n-H mit $n \geq 4$) vor.
Ein gemeinsames Charakteristikum von *C. tepidum* und *A. vinosum* ist die Bildung des globulären Schwefels, das Fehlen der *soxCD*-Gene des *sox*-Clusters und das Vorhandensein von *dsr* Genen. *dsr* Gencluster kodieren für eine dissimilatorische Sirohäm-Sulfit-Reduktase und andere Proteine. In *A. vinosum* sind sie an der Mobilisierung der intrazellulären Schwefelablagerung bei der anaeroben Schwefeloxidation beteiligt.

Der komplette *dsr* Gencluster von *A. vinosum* umfasst 15 Gene, *dsrABEFHCMKLJOPNRS*. Das allgegenwärtige Vorhandensein der *dsr* Gene in anoxygenen phototrophen Schwefelbakterien macht ihre Bedeutung bei der Schwefeloxidation deutlich.

Schwefeloxidation in meso-acidiphilen Bakterien

Die bekanntesten Bakterien, die die Oxidation von anorganischen Schwefelverbindungen unter sauren Bedingungen (pH 1–3) und bei erhöhter Temperatur (bis zu 45 °C) katalysieren, sind *Acidiphilium* und *Acidithiobacillus* spp.

Ein generelles Schema für die Oxidation von elementarem Schwefel in diesen Gram-negativen Spezies ist das folgende (◘ Abb. 8.4): Extrazellulärer elementarer Schwefel (S_8) wird durch Thiolgruppen spezieller Outer-Membran-Proteine mobilisiert und als Persulfid-Schwefel in den periplasmatischen Raum transportiert. Der Persulfid-Schwefel wird durch periplasmatische Schwefel-Dioxygenase (SOR) zu Sulfit und weiter durch Sulfit:Akzeptor Oxidoreduktase (SAOR) zum Sulfat oxidiert. Das letztere Enzym benutzt sehr wahrscheinlich Cytochrome als Elektronenakzeptoren. Nur zwei der sechs Elektronen, die in den Redoxreaktionen vom Schwefel zum Sulfat transferriert werden, gelangen in die Atmungskette und sind damit für die ATP-Synthese nutzbar.

Die glutathionabhängige Schwefel-Dioxygenase oxidiert ausschließlich den Sulfan-Schwefel von Monoorganylpolysulfanen (RS_nH, $n > 1$), besonders Persulfid ($n = 2$), aber nicht H_2S.

Freies Sulfid wird deshalb erst zum elementaren Schwefel oxidiert. Dies geschieht durch eine Dehydrogenase (SQR), die Chinone (Q) als Elektronenakzeptoren verwendet.

SCHWEFEL OXIDATIONSWEGE IN ARCHAEA

Mitglieder der *Sulfolobales* besiedeln terrestrische hydrothermale Ausbruchkanäle, Solfatare, aus denen H_2S-strömt, heiße Quellen und andere Habitate vulkanischen Ursprungs und sind gut an die extremen und lebensfeindlichen Wachstumsbedingungen angepasst. Anorganische Schwefelverbindungen und elementarer Schwefel gehören zu den Hauptenergiequellen in diesen Habitaten und werden durch Schwefel-abhängige chemolithoautotrophe Organismen genutzt, die die Grundlage der Nahrungsketten in diesen lichtunabhängigen Ökosystemen bilden.

Acidianus ambivalens, ein thermoacidophiles und chemolithoautotrophes Mitglied der *Sulfolobales,* innerhalb des Archaenreiches der *Crenarchaeota,* wurde als Modellorganismus für diese schwefelabhängigen hyperthermophilen Archaea untersucht.

A. ambivalens oxidiert bei aerobem Wachstum Schwefel zu Schwefelsäure für die Energiegewinnung. Der einleitende Schritt wird von dem löslichen Cytoplasmaenzym, der Schwefel-Oxygenase-Reduktase (SOR) katalysiert, welches das einzige schwefeloxidierende Enzym der Archaea zu sein scheint. Der Schwefel muss vom Medium in das Cytoplasma durch die Cytoplasmamembran transportiert werden. Die *A. ambivalens* SOR ist nur mit Luft, aber nicht unter H_2- oder N_2-Atmosphäre aktiv, was zeigt, dass es sich in der Tat um eine Oxygenase handelt.

Die SOR katalysiert die sauerstoffabhängige Bildung von Sulfit, Thiosulfat und Hydrogensulfid aus elementarem Schwefel. Da keine Energie während dieses Schrittes gebildet wird, ist die Funktion der SOR sehr wahrscheinlich in der Erzeugung von löslichen Schwefelspezies aus dem mehr oder weniger unlöslichen Substrat des Elementarschwefels zu sehen.

Die Produkte der SOR-Reaktion sind Substrate für die membrangebundenen Enzyme wie Thiosulfat:Chinon Oxidoreduktase (TQO) und eine Sulfit:Akzeptor Oxidoreduktase (SAOR), bei welchen die Substratoxidation an die Energiegewinnung gekoppelt ist.

Das Verständnis zum Mechanismus der Schwefeloxidation in dem thermoacidophilen Archaeon *A. ambivalens* hat mit der Entdeckung der TQO-Aktivität und seinen Genen, sowie der Identifizierung in *A. ferrooxidans* große Fortschritte gemacht. Die TQO katalysiert die Bildung von Tetrathionat aus zwei Molekülen Thiosulfat, wobei die Elektronen in den Chinon-Pool der Cytoplasmamembran geleitet werden. Der weitere Weg des Tetrathionats ist nicht bekannt (◘ Abb. 8.5).

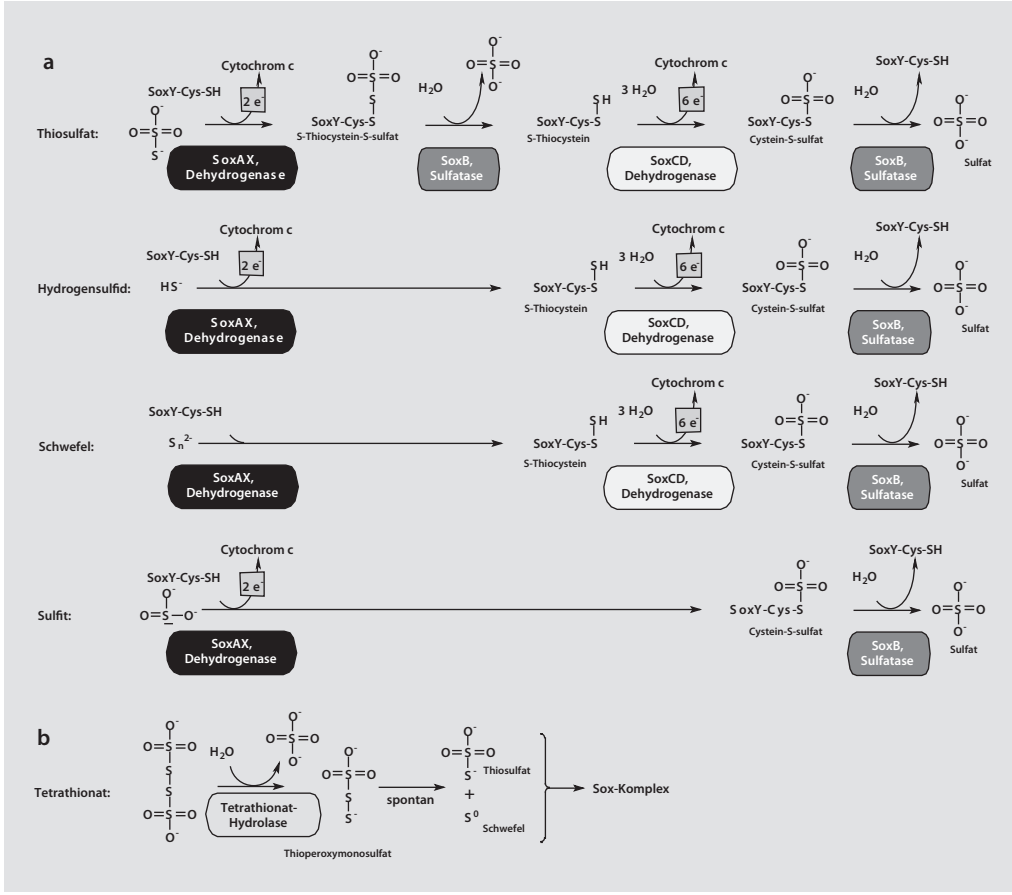


Abb. 8.3 Vorschlag zur Schwefeloxidation in *Paracoccus pantotrophus*. (Nach Friedrich et al., 2001). **a** Reaktionsfolgen des Sox-Systems. **b** Bildung der Sox-Substrate aus Tetrathionat. Die in den Reaktionen freigesetzten Protonen sind nicht eingezeichnet

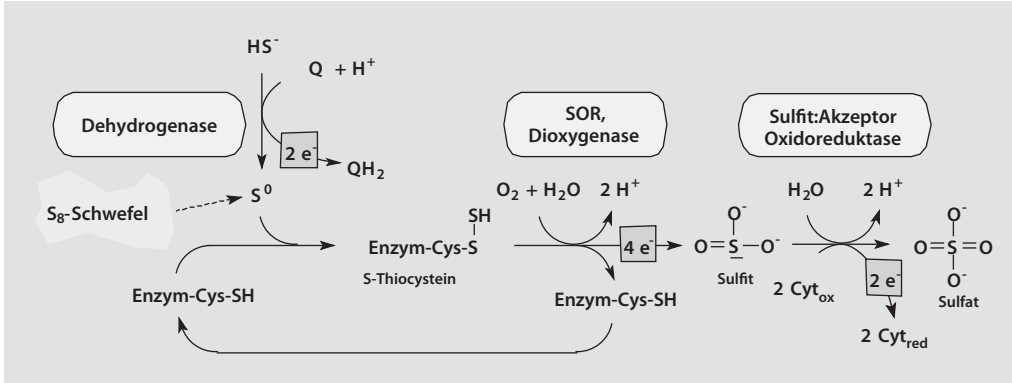


Abb. 8.4 Sauerstoffabhängige Schwefeloxidation in *Acidithiobacillus* sp. (Nach Rohwerder und Sand, 2003)

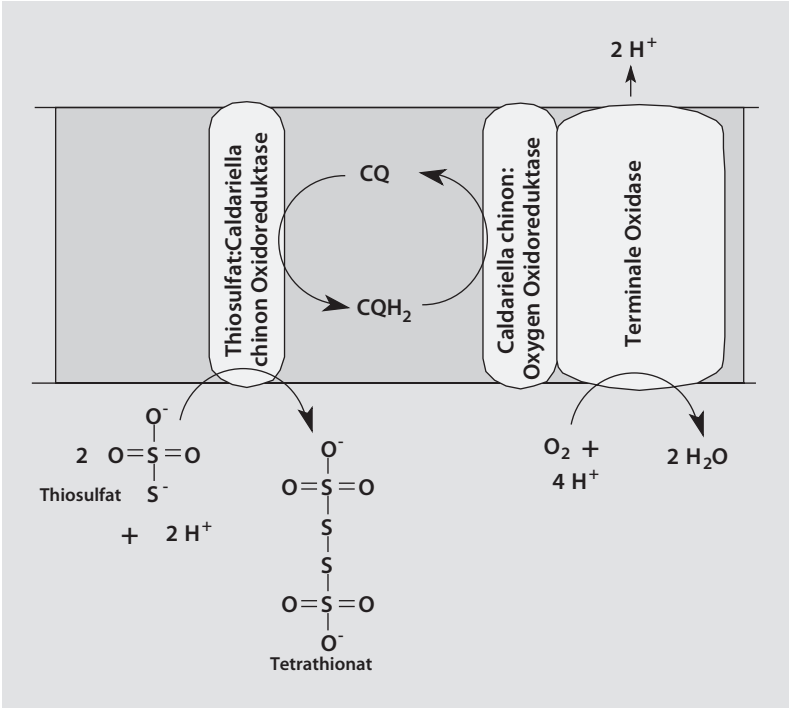


Abb. 8.5 Thiosulfat:Chinon Oxidoreduktase in *Acidianus ambivalens.* (Nach Müller et al., 2004)

8.1.5 Organische Schwefelverbindungen

Der Abbau schwefelhaltiger organischer Substanz erfolgt aerob zu Sulfat, anaerob zu H_2S. So ist der anaerobe Proteinabbau eine Quelle des in Gewässersedimenten auftretenden H_2S. Etwa 5–10 % des H_2S kommen aus dieser Quelle, 90–95 % aus der dissimilatorischen Sulfatreduktion.

Zusätzlich zu den anorganischen Schwefelformen synthetisieren Lebewesen auch eine enorme Vielfalt von organischen Schwefelverbindungen, die ebenfalls in den biogeochemischen Schwefelkreislauf eintreten. Viele dieser übelriechenden Verbindungen sind sehr flüchtig und können daher in die Atmosphäre eindringen.

Die in der Natur am häufigsten vorkommende organische Schwefelverbindung ist das Dimethylsulfid (DSM). Es wird hauptsächlich in marinen Umgebungen als Abbauprodukt von Dimethylsulfoniumpropionat (DMSP) produziert.

Die primären Quellen für DMSP in marinen Oberflächenwassern sind Micro-und Macro-Algen, obwohl auch einige halophytische Pflanzen DMSP bilden.

DMSP wird vom Phytoplankton produziert, wobei es verschiedene Funktionen erfüllt. Am besten bekannt ist die osmotische Eigenschaft das Zellvolumen zu regulieren. In einigen Organismen hat es auch die Funktion als ein Antioxidans, Abwehrmittel gegen Räuber und Kälteschutzmittel.

Im Einklang mit der Funktion als organischer Osmolyt akkumuliert DMSP zu sehr hohen und osmotisch bedeutenden Konzentrationen in marinem Phytoplankton bis zu einer Größenordnung von 0,1 bis 1 M.

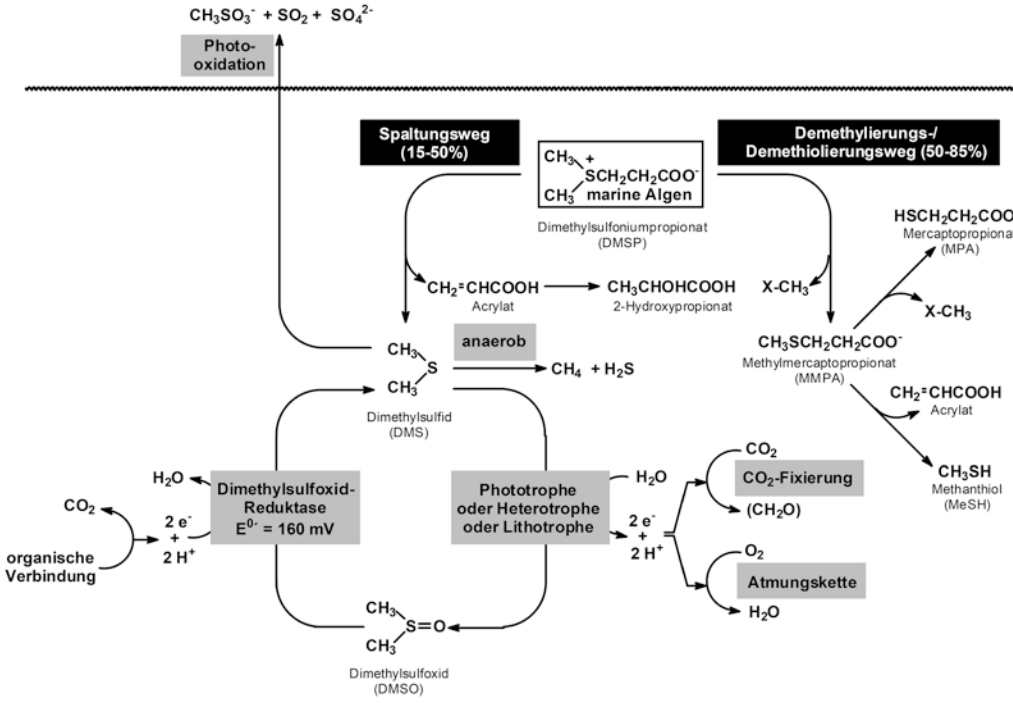
DMSP wird aus dem Phytoplankton durch zellulare Lyse aufgrund von Zooplanktonbeweidung, Seneszenz und viraler Infektion freigesetzt.

Die Bedeutung von DMSP liegt nicht nur in seiner Nutzbarkeit als Quelle von reduziertem Schwefel und Kohlenstoff für marine Mikroorganismen, sondern besonders darin, dass DMSP die Vorstufe des klimarelevanten Gases Dimethylsulfid ist.

Es gibt zwei Hauptabbauwege für DMSP (◘ Abb. 8.6):

a) Der **Spaltungsweg** durch eine DMSP-Lyase führt zu DMS und Acrylat und wird durch eukaryotische Algen und viele Bakterien durchgeführt.
b) Der **Demethylierungs/Demethiolierungsweg,** welcher nur in Bakterien gefunden worden ist, führt zu Bildung von 3-Methylmercaptopropionat (MMPA) und einer Methylverbindung. MMPA kann entweder durch den „doppelten Demethylierungsweg" zu 3-Mercaptopropionat (MPA) und eine Methylverbindung abgebaut werden oder durch Demethiolierung, welche zu Methanthiol (MeSH) und Acrylat führt. MeSH kann weiter zu Sulfid und Sulfat metabolisiert werden oder es kann als Vorstufe bei der Synthese der schwefel-enthaltenden Aminosäure Methionin dienen, um damit den Kreislauf zu schließen, denn Methionin ist die Vorstufe bei der Bildung von DMSP (◘ Abb. 8.6).

Diese beiden unterschiedlichen Wege des Abbaus von DMSP haben fundamental verschiedene biogeochemische Konsequenzen. Der Spaltungsweg führt zur Freisetzung von



◘ **Abb. 8.6** Möglichkeiten des Abbaus beziehungsweise Umbaus von Dimethylsulfoniumpropionat, Dimethylsulfid und Dimethylsulfoxid. X-CH_3: unbekannter Metabolit mit einer terminalen Methylgruppe. Es ist wahrscheinlich, dass einige Metabolite im Abbau von Dimethylsulfoniumpropionat als CoA-Ester vorliegen (Reisch et al., 2011)

DMS, welches die Bildung von wolken-bildenden Kernen bewirkt und damit dem Prozess der globalen Erwärmung entgegenwirkt. Der Demethylierungs/Demethiolierungsweg führt zur Aufnahme der Kohlenstoff- und Schwefelbestandteile des DSMPs in die mikrobiellen Zellen und erhöht damit die Verweilzeit in der Biomasse.

Roseobacter-Stämme gehörten zu den ersten aeroben Bakterienisolaten, die mit DMSP wachsen können. Sie sind die einzigen bekannten Bakterien, die beide Wege, den Spaltungs- und den Demethylierungs/Demethiolierungsweg, besitzen, manchmals in ein und demselben Organismus. Sie besitzen eine positive chemotaktische Antwort auf DMSP-Abbauprodukte. Folglich sind *Roseobacter*-Stämme optimal an Algenblüte angepasst, wo DMSP lokal in großen und variierenden Mengen freigesetzt wird. *Roseobacter*-Stämme sind auch an den Transformationen von DMS, Methanthiol (CH_3SH), Methansulfonat ($CH_3SO_3^-$) und Dimethylsulfoxid (DMSO) beteiligt.

Das Dimethylsulfid in der Atmosphäre stammt zu 95 % aus der Spaltung von Dimethylsulfoniumpropionat und wird hauptsächlich über dem Ozean gebildet.

In die Atmosphäre freigesetztes Dimethylsulfid macht eine photochemische Oxidation zu Methansulfonat, SO_2 und SO_4^{2-} durch.

In anoxischen Biotopen produziertes Dimethylsulfid wird mikrobiell als Substrat für die Methanogenese verwendet, wobei CH_4 und H_2S entstehen. Es dient ferner als Elektronendonor für die photosynthetische CO_2-Fixierung in phototrophen Purpurbakterien, DMSO wird so gebildet. Weiter ist es Elektronendonor im Energiestoffwechsel gewisser Chemoorganotropher und Chemolithotropher, wobei ebenfalls DMSO produziert wird.

Viele Bakterien, darunter *Campylobacter, Escherichia, Wolinella succinogenes,* sind in der Lage, mit Pyruvat als Elektronendonor und DMSO als Elektronenakzeptor bei der Energieerzeugung für die anaerobe Atmung zu nutzen. Ähnliches gilt auch für viele Purpurbakterien bei denen DMSO auch diese Funktion übernehmen kann. Es entsteht wiederum Dimethylsulfid. DMS hat einen strengen, stechenden Geruch, und die bakterielle Reduktion von DMSO zu DMS wird durch den charakteristischen Geruch des DMS angezeigt.

DMSO ist ein häufiges Naturprodukt und kommt sowohl im Meerwasser- als auch in Süßwasserumgebungen vor.

Viele andere organische Schwefelverbindungen sind am Schwefelkreislauf beteiligt, einschließlich Methanthiol, Dimethyldisulfid ($H_3CS–SCH_3$) und Kohlendisulfid (CS_2), dennoch sind in globaler Hinsicht die Produktion und der Verbrauch von Dimethylsulfid quantitativ am wichtigsten.

8.2 Der Eisenkreislauf

Eisen ist eines der häufigsten Elemente der Erdkruste und tritt in einer Vielfalt von Mineralen auf, so zum Beispiel in Oxiden/Hydroxiden (wie Hämatit α-Fe_2O_3, Magnetit Fe_3O_4, Goethit α-FeOOH), Carbonaten (wie Siderit $FeCO_3$) oder Sulfiden (wie Pyrit FeS_2). Eisen kommt in der Natur hauptsächlich in zwei Oxidationszuständen vor, zweiwertig (Fe^{2+}) und dreiwertig (Fe^{3+}). Fe^0 ist dagegen in der Regel das Produkt menschlicher Aktivität und entsteht durch das Verhütten von zwei- oder dreiwertigen Eisenerzen zu Gusseisen. Die Umwandlung zwischen den verschiedenen Formen des Eisens ist sowohl biochemisch als auch geologisch und ökologisch von großer Bedeutung.

Entscheidend für das Umweltverhalten des Eisens ist der Zusammenhang zwischen Oxidationszustand, Löslichkeit und pH wie er in ◘ Abb. 8.7 zum Ausdruck kommt. Bei pH 1–2 existieren zwei- und dreiwertiges Eisen in Wasser als gelöste Ionen, das heißt als Fe^{2+} und Fe^{3+}. Das Reduktionspotenzial des Redoxpaares Fe^{3+}/Fe^{2+} liegt bei pH-Werten unterhalb von 2,5 bei +770 mV. Zu höheren pH-Werten hin fällt Fe^{3+} zunehmend in Form von unlöslichen Hydroxiden ($Fe(OH)_3$

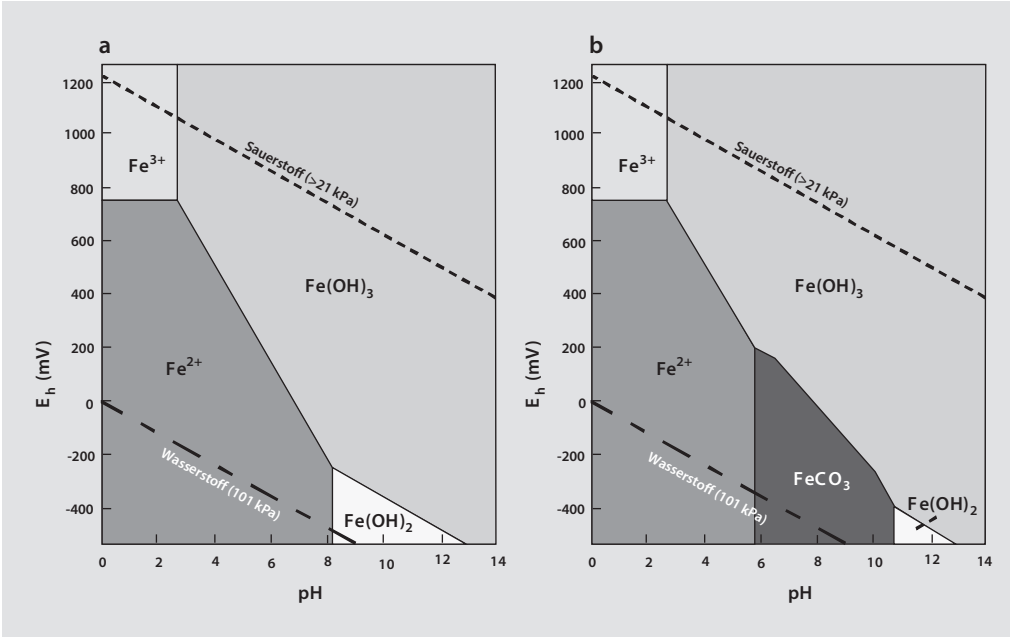


Abb. 8.7 Eisenspezies in Abhängigkeit vom pH-Wert und dem vorherrschenden Redoxpotenzial bei 25 °C. (Nach Widdel et al., 1993). **a** ohne anorganischen Kohlenstoff, **b** in Gegenwart von anorganischem Kohlenstoff Gestrichelte Linien: (oben) Potenzial des Redoxpaares O_2/H_2O bei Atmosphärenkonzentration von Sauerstoff in Abhängigkeit vom pH-Wert. (unten) Potenzial des Redoxpaares H^+/H_2

oder FeOOH) aus, freies Fe^{2+} dominiert gegenüber freiem Fe^{3+}, die Neigung zur Reduktion sinkt und das Reduktionspotenzial liegt bei pH 7 im negativen Bereich zum Beispiel bei $E^{0'} = -236$ mV für das $Fe(OH)_3/Fe^{2+}$-Paar oder $E^{0'} = -274$ mV für das α-FeOOH/Fe^{2+}-Paar. In Gegenwart höherer Carbonatkonzentrationen ist auch wenig freies Fe^{2+} vorhanden, sodass an vielen Standorten bei pH 7 eher das Paar $Fe(OH)_3 + HCO_3^-/FeCO_3$ mit einem $E^{0'}$ von ca +100 mV relevant ist. Es ist aufgrund der Vielfalt von Formen des Eisens nicht überraschend, dass die Eisenreduktion und -oxidation bei saurem und neutralem pH durch verschiedene Organismen durchgeführt werden, die mit grundsätzlich verschiedenen chemischen Spezies als Redoxsubstraten arbeiten.

8.2.1 Oxidation von zweiwertigem Eisen

Eine Oxidation von zweiwertigem Eisen kann durch sehr unterschiedliche physiologische Gruppen von Mikroorganismen bewirkt werden. Nach der Bedeutung des Fe^{2+} für den Stoffwechsel, nach pH-Präferenz und Erforderlichkeit von Sauerstoff zur Energiegewinnung sollen 5 Gruppen unterschieden werden.

Zu den bekanntesten Fe^{2+}-Oxidierern zählen die aeroben, **organoheterotrophen** Bakterien mit Präferenz für neutrale pH-Werte wie *Sphaerotilus natans.* Diese fädigen, scheidenbildenden *Betaproteobacteria,* lagern Eisenoxide in der Scheide ab, lieben eutrophe Standorte und können in Kläranlagen zu Blähschlamm-Problemen beitragen (vgl. ► Kap. 14)

Im Unterschied zu diesen Bakterien nutzen andere das zweiwertige Eisen als Elektronendonor für den Energiestoffwechsel, sie sind also chemolithotroph (vgl. ▶ Kap. 3). Zunächst erwähnt seien die ebenfalls schon lange bekannten **aeroben, neutrophilen, chemolithothrophen** Eisenoxidierer wie *Gallionella ferruginea* oder *Leptothrix ochracea*. Sie nutzen die bei neutralem pH sehr hohe Potenzialdifferenz zwischen dem Fe^{3+}/Fe^{2+}-Paar (siehe oben) und dem O_2/H_2O-Paar für die Energiegewinnung. Allerdings ist diese Potenzialdifferenz so groß, dass das Fe^{2+} in Gegenwart von höheren Sauerstoffkonzentrationen schon rein chemisch sehr schnell zu dreiwertigem Eisen oxidiert und damit für die Bakterien nicht mehr als Elektronendonor zur Verfügung steht. Deshalb kommen diese Organismen speziell an Standorten vor, wo gebildetes Fe^{2+} gerade erst mit Sauerstoff in Kontakt kommt beziehungsweise wo geringe Sauerstoffkonzentrationen, gegebenenfalls sogar mikroaerobe Bedingungen, vorherrschen. Gewässer oder Drainagerohre in Mooren, eisenhaltige Grundwasser oder feuchte Böden sind solche Habitate. Die von den aeroben, neutrophilen Bakterien ausgeführte Reaktion lässt sich wie folgt zusammenfassen:

$$4Fe^{2+} + O_2 + 10H_2O \rightarrow 4Fe(OH)_3 + 8H^+$$

Fe^{2+} im Ozean

Ozeane werden generell als sauerstoffhaltig betrachtet. Fast überall fehlt hingegen Fe^{2+}. Bedeutende Ausnahmen zu den ozeanischen Bereichen ohne Fe^{2+} stellen hydrothermale Ausbruchkanäle dar, entweder an Seebergen oder an Stellen der Ausbreitung der Erdkruste. Dort kommen anoxische, mit Fe^{2+} beladene Flüssigkeiten in Kontakt mit kaltem, sauerstoffhaltigem Ozeanwasser.
Es ist geschätzt worden, dass der gegenwärtige Fluss von Fe^{2+} aus hydrothermalen Ausbruchkanälen ungefähr 3×10^{11} Mol/Jahr ausmacht (Emerson et al., 2007; Holland, 2006).

Damit das Produkt, ein unlösliches Eisenhydroxid, nicht im Cytoplasma akkumuliert, muss die Oxidation an der Außenseite der Zellmembran erfolgen (siehe unten). Die neutrophilen Eisenoxidierer akkumulieren Eisenhydroxide oder -oxide beispielsweise in Scheiden wie *L. ochracea* oder helicalen Stielen wie *G. ferruginea*.

Von erheblicher Bedeutung sind auch die **aeroben, acidophilen, chemolithotrophen** Mikroorganismen und die von ihnen bewirkte Eisenoxidation bei niedrigem pH. Zum einen ist Fe^{2+} bei einem pH-Wert unterhalb 4 gegenüber Sauerstoff stabil und damit für die Mikroorganismen verfügbar. Zum zweiten führt dort, wo Pyrit (FeS_2) oder andere sulfidische Eisenverbindungen enthaltende Gesteine einer Oxidation ausgesetzt sind, die Laugung dieser Minerale zu einem niedrigen pH und zur Bildung hoher Konzentrationen an gelöstem Fe^{2+}. Besonders häufig wurden von solchen Standorten *Acidithiobacillus ferrooxidans* (ein *Gammaproteobacterium*, früher *Thiobacillus ferrooxidans* genannt) und *Leptospirillum ferrooxidans* aus dem *Nitrospira*-Phylum isoliert. Mittlerweile ist jedoch klar, dass die Fähigkeit zur Fe^{2+}-Oxidation im Sauren auch in anderen Phyla vorkommt, wie bespielsweise unter den *Firmicutes* bei *Sulfobacillus* spp. und unter den *Actinobacteria* bei *Acidimicrobium ferroxidans* und *Ferrimicrobium acidophilum*. Auch unter den *Archaea* gibt es eine Reihe acidophiler Spezies mit der Fähigkeit zur Fe^{2+}-Oxidation, so unter anderem *Sulfolobus metallicus* und *Ferroplasma* spp. Die Mehrzahl dieser acidophilen Mikroorganismen wächst mit Fe^{2+} als Elektronendonor autotroph, manche sind auch zu heterotrophem oder mixotrophem Wachstum befähigt.

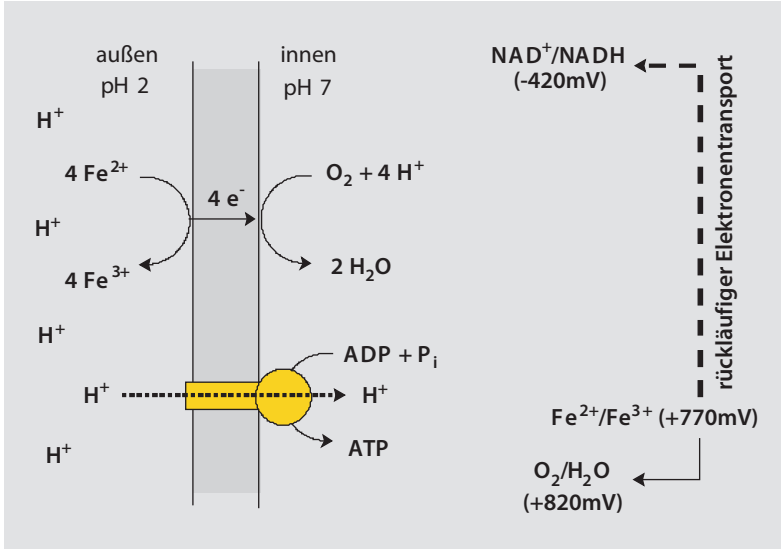
Da das Fe^{3+} unter sauren Bedingungen im Prinzip löslich ist, lässt sich die Reaktion durch folgende Reaktionsgleichung beschreiben:

$$4Fe^{2+} + O_2 + 4H^+ \rightarrow 4Fe^{3+} + 2H_2O$$

Allerdings wird das Fe^{3+} unter den an Laugungsstandorten gegebenen pH- und Konzentrationsbedingungen dann doch oft präzipitiert, zunächst meist als metastabiler Schwertmannit ($Fe_8O_8(OH)_6SO_4$), der bei schwach saurem pH in Goethit (α-FeOOH) übergeht und bei niedrigerem pH in Gegenwart monovalenter Kationen in das Eisenhydroxysulfat-Mineral Jarosit (zum Beispiel $KFe_3(SO_4)_2(OH)_6$).

Aufgrund des sehr positiven Reduktionspotenzials von +770 mV kommt für die Fe^{2+}-Oxidation bei niedrigem pH praktisch nur Sauerstoff als Elektronenakzeptor in Frage. Wie gelingt es diesen acidophilen, chemolithotrophen Organismen überhaupt durch Oxidation von Fe^{2+} bei extrem niedrigem pH Energie in Form von ATP zu gewinnen? Während ihr Cytoplasma einen etwa neutralen pH-Wert von 6–7 aufweist, liegt der pH-Wert des Außenmediums zum Beispiel bei 2. Diese pH-Differenz über die Membran stellt einen natürlichen Protonengradienten dar, der über die ATP-Synthase (siehe ► Abschn. 3.1.1) zur ATP-Bildung genutzt werden kann. Um den pH-Wert des Cytoplasmas trotz Einstrom der Protonen neutral zu halten, erfolgt die Oxidation des Fe^{2+} an der Außenseite und die Reduktion des O_2 an der Innenseite der Membran (◘ Abb. 8.8). Da die an der Innenseite ablaufende Reaktion Protonen verbraucht, wird der natürliche Protonengradient so lange aufrecht erhalten, wie Fe^{2+} vorhanden ist und Elektronen liefert. Der Protonengradient der in einem sauren Medium lebenden Bakterien wird also durch die Eisenoxidation erreicht, die im Zellinneren zu einem Protonenverbrauch durch Bildung von Wasser führt.

Da das Reduktionspotenzial des Fe^{3+}/Fe^{2+}-Paares bei pH 2 sehr positiv ist, ist die Potenzialdifferenz der Eisenoxidation und damit die Energieausbeute sehr niedrig (~30 kJ/mol). Zudem muss ein großer Teil der gewonnenen Energie für den rückläufigen Elektronentransport investiert werden, um NADH für die CO_2-Assimilation bereit zu stellen. Folglich müssen diese Bakterien große Mengen an Eisen oxidieren, um wachsen zu können. Es wurde abgeschätzt, dass der autotrophe acidophile *Acidithiobacillus ferrooxidans* ungefähr 71 Mole von Fe^{2+} oxdieren muss, um ein Mol CO_2 fixieren zu können



◘ **Abb. 8.8** Eisenoxidation: Elektronen- und Protonenfluss

(Hedrich et al., 2011). So kann selbst eine kleine Zahl an Zellen für die Oxidation einer großen Menge Eisen verantwortlich sein.

Bei neutralem pH erlaubt das niedrige Reduktionspotenzial des $Fe(OH)_3/Fe^{2+}$-Paares von $E^{0'} = -236$ mV auch eine Oxidation des Fe^{2+} durch **anaerobe, neutrophile, denitrifizierende** Mikroorganismen. So sind die Reduktionspotenziale aller Redoxpaare des Nitrat-Reduktionsweges bei pH 7,0 ($E^{0'}$-Werte: NO_3^-/NO_2^-, +430 mV; NO_2^-/NO, +350 mV; NO/N_2O, +1180 mV; N_2O/N_2, +1350 mV) viel positiver als die der Redoxpaare von zwei- und dreiwertigem Eisen. Sie sind damit günstige Elektronenakzeptoren für die Fe^{2+}-Oxidation durch Denitrifikation nach folgender Reaktionsgleichung:

$$10Fe^{2+} + 2NO_3^- + 24H_2O \rightarrow 10Fe(OH)_3 + N_2 + 18H^+$$

Dieser Stoffwechseltyp ist zwar erst seit etwa 20 Jahren bekannt, scheint aber weit verbreitet zu sein. Er wurde in neuen Isolaten aus den Gruppen der *Beta-* und *Gammaproteobacteria* ebenso gefunden wie in schon länger bekannten denitrifizierenden Bakterien und im thermophilen Archaeon *Ferroglobus placidus*. Insofern ist dieser Typ der Eisenoxidation vermutlich an anoxischen Standorten von erheblicher Bedeutung. Interessanterweise scheinen einige der denitrifizierenden Eisenoxidierer organische Verbindungen als Kohlenstoffquelle zu benötigen, also über einen chemolithoheterotrophen Stoffwechsel zu verfügen.

Schließlich wird Fe^{2+} auch von bestimmten **anaeroben, phototrophen** Bakterien, Purpurbakterien wie Stämmen der Gattungen *Rhodomicrobium* oder *Rhodovulum* und Grünen Schwefelbakterien der Art *Chlorobium ferrooxidans,* unter anoxischen Bedingungen oxidiert. Es wird in diesem Fall jedoch nicht als Elektronendonor im Energiestoffwechsel verwendet, sondern dient als Elektronendonor für die autotrophe CO_2-Reduktion nach folgender Reaktionsgleichung:

$$4Fe^{2+} + HCO_3^- + 10H_2O \rightarrow 4Fe(OH)_3 + (CH_2O) + 7H^+$$

Es wird angenommen, dass anoxygene, phototrophe Mikroorganismen zur Entstehung der sogenannten gebänderten Eisenerze *(banded iron formations)* geführt haben (siehe ▶ Kap. 4, alternative Hypothese der BIFs). Diese stellen die wichtigsten Eisenerzvorräte dar und sind zum Teil schon vor 2,7–3,8 Mrd. Jahren entstanden, als noch kein gasförmiger Sauerstoff, oder dieser nur in sehr geringer Konzentration, auf der Erde vorhanden war.

8.2.1.1 Oxidative Laugung von Pyrit und anderen Sulfiden bei niedrigem pH-Wert

Eine der häufigsten Erscheinungsformen von Eisen in der Natur ist **Pyrit,** FeS_2. Pyrit hat eine höchst unlösliche, kristalline Struktur und wird aus der Reaktion von Schwefel mit Eisen(II)sulfid (FeS) gebildet. Er kommt sehr häufig in Stein- und Braunkohle sowie in vielen Erzen vor. Die bakterielle Oxidation von Pyrit ist von entscheidender Bedeutung bei der Entwicklung von sauren Bedingungen und entsprechenden Umweltbelastungen im Zusammenhang mit Bergbau. Zusätzlich spielt die Oxidation von Sulfiden durch Bakterien auch als Produktionsprozess der **mikrobiellen Erzlaugung** eine wichtige Rolle (siehe Box).

Der **Angriff** auf den Pyrit erfolgt vorwiegend **oxidativ durch hydratisiertes Fe^{3+}.** Dem Pyrit werden Elektronen entzogen, wobei schließlich auch der Schwefelanteil oxidiert und als **Thiosulfat** ($S_2O_3^{2-}$) freigesetzt wird.

$$FeS_2 + 6Fe^{3+} + 3H_2O \rightarrow S_2O_3^{2-} + 7Fe^{2+} + 6H^+$$

Das Thiosulfat kann weiter reagieren zu anderen teiloxidierten Schwefelverbindungen wie Tetrathionat ($^-O_3S–S–S–SO_3^-$), Trithionat ($^-O_3S–S–SO_3^-$) oder elementarem Schwefel und letztlich zu Sulfat. In der Anfangsphase einer Pyritlaugung bei noch neutralem pH sind die Schwefelverbindungen relativ stabil,

akkumulieren zum Teil und werden letztlich von neutrophilen oder moderat acidophilen Thiobacilli zu Sulfat oxidiert. Wenn der pH schon niedrig ist, kann die Oxidation zu Sulfat rein chemisch oder unter Beteiligung acidophiler Bakterien wie *Acidithiobacillus thiooxidans* oder *A. ferrooxidans* erfolgen. Diese Reaktionen der Thiosulfatoxidation lassen sich je nach Elektronenakzeptor in folgenden Reaktionsgleichungen zusammenfassen:

$$S_2O_3^{2-} + 8Fe^{3+} + 5H_2O \rightarrow 2SO_4^{2-} + 8Fe^{2+} + 10H^+$$

$$S_2O_3^{2-} + 2O_2 + H_2O \rightarrow 2SO_4^{2-} + 2H^+$$

Zusammen mit dem Angriff auf den Pyrit ergeben sich folgende Reaktiongleichungen für die Pyritoxidation:

$$FeS_2 + 14Fe^{3+} + 8H_2O \rightarrow 15Fe^{2+} + 2SO_4^{2-} + 16H^+$$

$$FeS_2 + 6Fe^{3+} + 2O_2 + 4H_2O \rightarrow 7Fe^{2+} + 2SO_4^{2-} + 8H^+$$

Das den Pyrit angreifende Fe^{3+} wird bei der Reaktion zu Fe^{2+} reduziert. Insofern ist der Fortgang der Reaktion davon abhängig, dass das Fe^{2+} wieder zu Fe^{3+} oxidiert wird. Wie oben bereits diskutiert, kann dies bei relativ hohen, zum Beispiel neutralen pH-Werten rein chemisch erfolgen. Bei laufender Laugung und sauren pH-Werten sind für die Fe^{2+}-Oxidation aerobe acidophile Fe^{2+}-Oxidierer wie zum Beispiel *Acidithiobacillus ferrooxidans, Leptospirillum ferrooxidans* und andere verantwortlich. Es ergibt sich ein Eisenzyklus, wie er in ◘ Abb. 8.9a dargestellt ist.

Unter Berücksichtigung des Sauerstoffverbrauches für die Fe^{2+}-Reoxidation führen die verschiedenen für die Pyritoxidation angegebenen Reaktionsgleichungen zu demselben Ergebnis:

$$FeS_2 + 3^1/_2\, 2O_2 + H_2O \rightarrow Fe^{2+} + 2SO_4^{2-} + 2H^+$$

Es sei betont, dass sich diese Gleichung als Summe der oben dargestellten Reihe von Einzelreaktionen ergibt. Die Gleichung soll nicht ausdrücken, dass molekularer Sauerstoff als Reagenz den Pyrit angreift. Vielmehr dient er Eisen- und schwefelverbindungenoxidierenden Mikroorganismen als Elektronenakzeptor. Die Sauerstoffatome des Sulfats scheinen in der Regel dem Wasser zu entstammen.

A. ferrooxidans kann Pyrit bei mäßig positivem Potenzial relativ schnell angreifen und wurde unter anderem deshalb häufig an Standorten mit Sulfidoxidation gefunden. *L. ferrooxidans* verträgt jedoch noch niedrigere pH-Werte (Wachstum noch bei pH 1,2), höhere Fe^{3+}- und niedrigere Fe^{2+}-Konzentrationen sowie positivere Potenziale als *A. ferrooxidans,* und insofern ist das *Leptospirillum* dem *Acidithiobacillus* in kommerziellen Laugungsanlagen oft überlegen.

Der geschilderte mikrobielle Angriff auf den Pyrit beruht insofern auf einem indirekten Mechanismus, als die Bakterien das Sulfid nicht unmittelbar mit ihrer Membran oder Enzymen angreifen, sondern indem sie Fe^{3+} zur Verfügung stellen. Andererseits lagern sich die laugenden Organismen doch in Form eines Biofilms an den Pyrit an und schaffen mit ihren „Extrazellulären Polymeren Substanzen" (EPS) einen Reaktionsraum mit geeigneten Fe^{3+}-Konzentrationen (◘ Abb. 8.9a). Da der EPS-vermittelte Kontakt zum Sulfid die Laugung beschleunigt, spricht man auch von **„Kontaktlaugung".** Mittlerweile wurde berichtet, dass Pyrit von *A. ferrooxidans* zusätzlich zum beschriebenen Mechanismus auch über Carrier-Moleküle mit aus dem Cystein stammenden SH-Gruppen angegriffen werden kann. Aus dem entstehenden Polysulfid wird Schwefel in kolloidaler Form freigesetzt und in der EPS-Schicht möglicherweise als Energievorrat gespeichert.

Manche anderen sulfidischen Minerale wie Sphalerit (ZnS), Chalkopyrit ($CuFeS_2$), Galenit (PbS), Realgar (As_4S_4) oder Auripigment (As_4S_6) sind nicht so stabil wie Pyrit und können außer durch Fe^{3+} bereits durch Protonen effektiv angegriffen werden, wobei

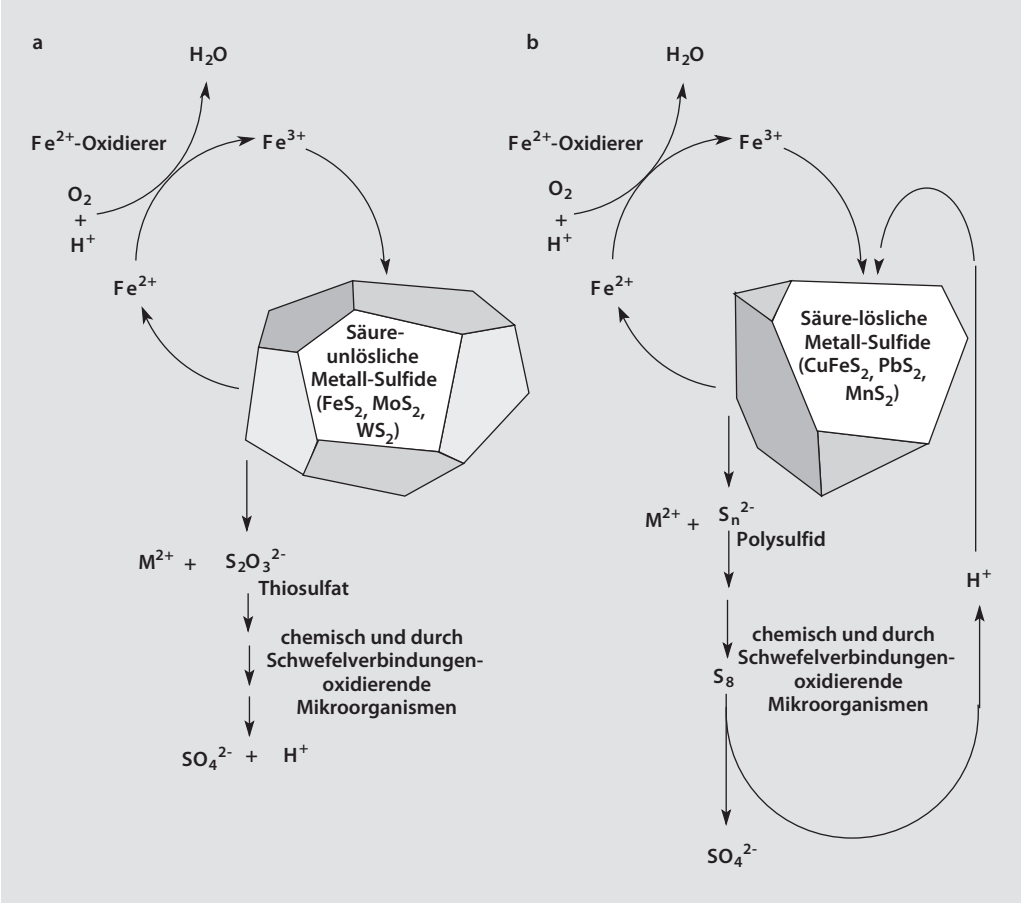


Abb. 8.9 **a**Thiosulfat-, **b** Polysulfid-Mechanismus der Sulfid-Laugung. (Nach Rohwerder et al., 2003). Bioleaching von Metallsulfiden, bedeutet, dass es die Funktion der Bakterien ist, Schwefelsäure biologisch zu bilden, um Protonen für den hydrolytischen Angriff bereitzustellen, und/oder die Eisenionen in der oxidierten Form (Eisen(III)-Ionen) für den oxidativen Angriff zu halten

formal zunächst H_2S entsteht. In Gegenwart von Fe^{3+} oxidiert dieses zu **Polysulfiden** und weiter zu elementarem Schwefel (S_8) (Abb. 8.9b). Der elementare Schwefel kann durch schwefeloxidierende Bakterien wie *A. ferrooxidans* und *A. thiooxidans* zu Schwefelsäure oxidiert werden und damit neue Protonen für die Auflösung der Sulfide liefern. Da die Polysulfide die charakteristischen schwefelhaltigen Intermediate dieses Typs von Laugung darstellen, spricht man hier vom Polysulfidmechanismus.

Die bakterielle Oxidation von Sulfidmineralien ist der wichtigste Faktor beim Entstehen der sauren Wässer, einem häufigen Umweltproblem in Gebieten mit Kohle- oder Erzbergbau. Durch die Vermischung von saurem Wasser aus dem Bergbau mit natürlichen Gewässern in Flüssen oder Seen werden auch diese zum Teil schwerwiegend in ihrer Qualität beeinträchtigt. So führen schon die aus dem Abbau von Pyrit resultierenden hohen Frachten von Sulfat und zweiwertigem Eisen sowie die niedrigen pH-Werte zu Problemen

für die in den Gewässern lebenden Organismen, aber auch hinsichtlich der weiteren Nutzung als Kühl- oder sogar Trinkwasser. Hinzu kommt, dass die gebildete Säure andere Mineralien angreift, die mit der Kohle und dem Pyrit in Verbindung stehen. So können, wie erläutert, andere Sulfide gelöst und aus diesen zum Beispiel Zink, Blei oder Arsen freigesetzt werden. Aber auch Aluminiumionen sind bei niedrigem pH-Wert löslich und können aus den in der Natur häufigen Aluminium-haltigen Mineralen herausgelöst werden. Da in Minenwasser oft hohe Konzentrationen an Al^{3+} wie an Schwermetallen oder Metalloiden vorhanden sind, kann dieses für aquatische Lebewesen erhebliche Toxizität aufweisen.

Ein Teil der genannten Umweltprobleme beruht darauf, dass die Pyritoxidation oft unvollständig abläuft und nur zu zweiwertigem Eisen führt. Die vollständige Oxidation des Eisens erlaubt unter sauren Bedingungen wie oben erwähnt die Ausfällung des Eisenhydroxysulfats Jarosit (zum Beispiel $KFe_3(SO_4)_2(OH)_6$), wodurch die Eisen- und Sulfatbelastung gesenkt werden kann. Allerdings wird aufgrund der ebenfalls gebundenen Hydroxidionen die Ansäuerung eher verstärkt.

Mikrobielle Erzlaugung zur Metallgewinnung: Wege zum Reichtum?

8

Die mikrobielle Laugung von Metallsulfiden findet nicht nur als unerwünschter, zu Umweltproblemen führender Prozess in Bergbauregionen statt, sondern wird in großem Umfang auch zur Gewinnung von Metallen eingesetzt. Hierbei steht vor allem das **Kupfer** im Vordergrund. Mikrobielle Laugung von Kupfersulfiden wird im Grunde seit Jahrhunderten genutzt, allerdings ohne die Grundlagen zunächst zu verstehen. Inzwischen gibt es eine Reihe von Anlagen, die mehr als 10.000 t Erz pro Tag, zum Teil sogar über 20.000 t Erz pro Tag verarbeiten. In den größten Anlagen wird Chalkosin (Cu_2S)-haltiges Erz verwendet. Es wird mit Säure oder mit Fe^{3+}-Ionen durch folgende Reaktionen gelaugt:

$$2Cu_2S + 4H^+ + O_2 \rightarrow 2CuS + 2Cu^{2+} + 2H_2O$$

$$Cu_2S + 4Fe^{3+} \rightarrow 2Cu^{2+} + 4Fe^{2+} + S$$

Intermediär entstehender Covellin (CuS) wird ebenfalls durch Fe^{3+} oxidiert:

$$CuS + 2Fe^{3+} \rightarrow Cu^{2+} + 2Fe^{2+} + S$$

Technisch realisiert wird die Kupferlaugung in der Regel in belüfteten Mieten mit zerkleinertem Erz, über denen die Laugungslösung verrieselt wird. Das metallische Kupfer wird durch das sogenannte „Solvent extraction-electrowinning (SXEW)" gewonnen. Die bei der Laugung erzeugte Cu^{2+}-haltige Lösung wird durch einen Lösemittel-extraktions-Kreislauf geleitet, bei dem die Metallionen in Lösung organischen Lösemittel wie Terpentin oder anderen Petrochemikalien ausgesetzt werden, wobei sie an das Lösemittel durch Chelierung binden. Dem Lösemittel wird dann das Metallion durch Änderung des pHs in einem zweiten Säurekreislauf entzogen. Das Metall in diesem zweiten Kreislauf wird in eine Elektrische Zelle gepumpt und durch Elektrolyse an der Anode abgeschieden.

Das wichtigste Kupfererz, Chalkopyrit ($CuFeS_2$), wird durch die gängigen Mietenverfahren nicht zufriedenstellend gelaugt. Hier gibt es Anlagen mit Rührkessel-Reaktoren und es laufen Untersuchungen zur Nutzung thermophiler Mikroorganismen. Von erheblicher kommerzieller Bedeutung ist mittlerweile auch die Nutzung der mikrobiellen Laugung bei der Gewinnung von **Gold.** In den Lagerstätten ist dieses Edelmetall häufig von Sulfiden wie Pyrit (FeS_2) oder Arsenopyrit (FeAsS) eingeschlossen. Die Laugungsprozesse werden dazu genutzt, das Gold für die dann folgende, konventionelle Cyanidlaugung leichter zugänglich zu machen und die Ausbeute zu erhöhen. Üblich sind große belüftete Rührkessel-Reaktoren, aber auch Mieten-Verfahren.

8.2.2 Reduktion von dreiwertigem Eisen

Dreiwertiges Eisen ist eines der am häufigsten vorkommenden Metalle im Boden und in Gesteinen. Es ist ein Elektronenakzeptor für eine breite Vielfalt von sowohl chemoorganoals auch chemolithotropher Bakterien, und da Fe^{3+} in der Natur weit verbreitet vorkommt, ist seine Reduktion eine Hauptform der anaeroben Atmung. Die Reduktion von dreiwertigem Eisen ist häufig in feuchten Böden, Sümpfen und anoxischen Sedimenten von Seen anzutreffen und führt zur Produktion von zweiwertigem Eisen, einer löslicheren Eisenform. Die bakterielle Eisenreduktion kann somit zur Solubilisierung von Eisen führen, ein wichtiger geochemischer Prozess.

Die Energetik der Fe^{3+}-Reduktion wurde mit dem gramnegativen Bakterium *Shewanella putrefaciens* untersucht, bei dem Fe^{3+}-abhängiges anaerobes Wachstum mit verschiedenen organischen Elektronendonoren stattfindet. Andere wichtige Fe^{3+}-Reduzierer gehören zur Familie *Geobacteraceae* innerhalb der *Deltaproteobacteria* wie *Geobacter, Geospirillum* und *Geovibrio. Geobacter metallireducens* als Modell für die Untersuchung der Physiologie der Fe^{3+}-Reduktion kann Acetat mit Fe^{3+} als Akzeptor wie folgt oxidieren:

$$\text{Acetat}^- + 8Fe^{3+} + 2H_2O \rightarrow 2CO_2 + 8Fe^{2+} + 7H^+$$

$$\Delta G^{0'} = -815\,\text{kJ/mol Acetat}$$

Das heißt während der dissimilatorischen Oxidation von 1 mol Acetat mit Fe^{3+} könnten theoretisch 11 mol ATP erzeugt werden. Da $Fe(OH)_3$ jedoch ein extrem niedriges Löslichkeitsprodukt ($[Fe^{3+}][OH^-]^3 = 10^{-39}$) hat, ist die Konzentration des Fe^{3+}-Ions bei pH 7 bei 10^{-18}. Erst unterhalb pH 4 erreicht die Konzentration von Fe^{3+} den Mikromolarbereich. Folglich ist die freie Energie der Reaktion ($\Delta G^{0'} = -34$ kJ/mol Acetat) nicht einmal ausreichend, um die Synthese von 1 ATP zu erlauben. Da die natürlich vorkommenden Fe^{3+}-Mineralien im Boden (siehe vorne) sogar noch niedrigere Löslichkeitsprodukte haben, ist bisher nichts bekannt über die genaue Menge an Energie, die während der Reaktion konserviert werden kann.

Geobacter kann auch H_2 oder andere organische Elektronendonoren verwenden.

Aber auch Archaea können Energie aus der Fe^{3+}-Reduktion gewinnen, so der hyperthermophile Fe^{3+}-Reduzierer *Ferroglobus placidus,* mit Acetat als Donor.

Dreiwertiges Eisen kann Komplexe mit verschiedenen organischen Verbindungen bilden, damit löslich und besser für eisen(III) reduzierende Bakterien zugänglich werden.

8.3 Der Mangankreislauf

Das Metall Mangan weist mehrere Oxidationszustände auf, von denen Mn^{4+} und Mn^{2+} die stabilsten und biologisch wichtigsten sind. Beide Formen unterscheiden sich beträchtlich bezüglich ihre Löslichkeit, während Mn^{2+} löslich ist, liegt die oxidierte Form, Braunstein, als unlöslicher Feststoff in Wasser vor. Mn^{2+} ist unter aeroben Bedingungen bei pH-Werten unterhalb 5,5 stabil, in Abwesenheit von Sauerstoff auch bei höheren pH-Werten.

8.3.1 Oxidation von zweiwertigem Mangan

Manganoxidierende Bakterien können unter einer Vielzahl von Genera gefunden werden, wie *Arthrobacter, Bacillus, Leptothrix* und *Streptomyces.* Die Gibbssche freie Energie der Oxidation von Mn^{2+} zu MnO_2 ist negativ.

$$2Mn^{2+} + O_2 + 2H_2O \rightarrow 2MnO_2 + 4H^+$$

$$\Delta G^{0'} = -29{,}3\,\text{kJ/mol}$$

Aufgrund der Unlöslichkeit des Braunsteins ist seine Größe hoch. Man findet das Produkt in hydrothermalen Ausbruchkanälen, Sümpfen und es ist ein bedeutender Teil der dunkelgefärbten Oberflächenschicht von Felsen, die der Verwitterung ausgesetzt sind.

8.3.2 Reduktion von vierwertigem Mangan (Mn^{4+}): anaerobe Atmung

Die anaerobe Reduktion von Mn^{4+} zu Mn^{2+} wird von verschiedenen, meistens chemoorganotrophen Mikroorganismen wie *Shewanella* (fakultativ Anaerober) und *Geobacter* (Anaerober) ausgeführt. Bei *Shewanella putrefaciens* findet anaerobes Wachstum auf Acetat mit Mn^{4+} als Elektronenakzeptor statt. Das Redoxpotenzial des Mn^{4+}/Mn^{2+}-Paares ist äußerst hoch; somit sollten mehrere Verbindungen in der Lage sein, Elektronen für die Mn^{4+}-Reduktion abzugeben.

$$MnO_2 + 4H^+ + 2e^- \rightarrow Mn^{2+} + 2H_2O$$
$$E^{0'} = +615\,mV$$

Die Bakterien, die oxidierte Metallionen wie Fe^{3+} oder Mn^{4+} als terminale Elektronenakzeptoren nutzen, müssen wegen der Unlöslichkeit der Salze beziehungsweise Metalloxide diese außerhalb der Zelle belassen. Sie müssen also Reduktionsäquivalente aus dem Cytoplasma auf die extrazellulären Elektronenakzeptoren weiterleiten. Es ist bisher unklar, wie der Elektronentransfer funktioniert und der Prozess an eine Protonenausschleusung gekoppelt ist. Bei einigen eisenreduzierenden Bakterien sind kürzlich spezielle pilusähnliche Oberflächenstrukturen entdeckt worden, die als mögliche Elektronenleiter von der Zelle zum Eisenmineral in Frage kommen (siehe ► Abschn. 18.5). Es können aber auch lösliche und diffusible Redoxmediatoren wie Thiole oder Phenole beziehungsweise Chinone am Prozess beteiligt sein. Deren oxidierte Form könnte durch membranständige Reduktase reduziert werden, zum Mineral diffundiert, es chemisch reduzieren, um dann als oxidierte Form den Kreislauf erneut zu beginnen.

Manganreduktion scheint von geringer Bedeutung in Süßwasser zu sein, aber eine wichtige Rolle dort zu spielen, wo Mangan akkumuliert wird, wie zum Beispiel marinen Sedimenten der Ostsee oder dem oben erwähnten Felsmaterial.

Testen Sie Ihr Wissen

- Wo kommen sulfatreduzierende Bakterien in der Natur vor?
- Nennen Sie Standorte, an denen Sie die Aktivität von sulfatreduzierenden Bakterien riechen beziehungsweise mit dem bloßen Auge sehen können.
- Zeichnen Sie den Schwefelkreislauf.
- Auch aerobe Organismen müssen Sulfat reduzieren. Wie unterscheiden sich die dort ablaufenden Vorgänge von denen in sulfatreduzierenden Bakterien.
- Benennen Sie die Oxidationsstufen des Schwefels bei der Reduktion von Sulfat zum Sulfid.
- Welche Organismen produzieren Sulfat aus Schwefelwasserstoff? Welcher Elektronenakzeptor fungiert bei diesen Mikroorganismen?
- Welche Form (zwei- oder dreiwertig) hat Eisen in dem Mineral $Fe(OH)_3$? FeS?
- Wie wird $Fe(OH)_3$ gebildet?
- Fragen zum Vorkommen von Eisenionen bei pH 2 und bei neutral!
- Ist H_2S ein Substrat oder Produkt der sulfatreduzierenden Bakterien? Was ist es bei den chemolithotrophen Bakterien?
- Warum führt die bakterielle Oxidation von Schwefel zu einem pH-Abfall?
- Welcher organische Schwefel ist am verbreitesten in der Natur?
- Wie kann CuS unter anoxischen Bedingungen oxidiert werden?
- Warum ist es wichtig, die leaching Flüssigkeit beim Kupferleaching sauer zu halten?

Literatur

Emerson, D., Rentz, J. A., Lilburn, T. G., Davis, R. E., Aldrich, H., Chan, C., Moyer, C. L. 2007. A novel lineage of proteobacteria involved in formation of

marine Fe-oxidizing microbial mat communities. PLoS One.2(7):e667.

Friedrich, C. G., Rother, D., Bardischewsky, F., Quentmeier, A., Fischer, J. 2001. Oxidation of reduced inorganic sulfur compounds by bacteria: emergence of a common mechanism? Appl. Environ. Microbiol. 67:2873–2882.

Hedrich, S., Schlömann, M., Johnson, D. B. 2011. The iron-oxidizing proteobacteria. Microbiology 157:1551–1564.

Holland, H. D. 2006. The oxygenation of the atmosphere and oceans. Phil. Trans. R. Soc. B. 361:903–915.

Müller, F. H., Bandeiras, T. M., Urich, T., Teixeira, M., Gomes, C. M., Kletzin, A. 2004. Coupling of the pathway of sulphur oxidation to dioxygen reduction: characterization of a novel membrane-bound thiosulphate:quinone oxidoreductase. Mol. Microbiol. 53:1147–1160.

Reisch, C. R., Moran M. A., and Whitman, W. B. 2011. Bacterial catabolism of dimethylsulfoniopropionate (DMSP). Frontiers in Microbiology 2: Article 172.

Rohwerder, T., Gehrke, T., Kinzler, K., Sand, W. 2003. Bioleaching review part A: progress in bioleaching: fundamentals and mechanisms of bacterial metal sulfide oxidation. Appl. Microbiol. Biotechnol. 63:239–248.

Rohwerder, T., Sand, W. 2003. The sulfane sulfur of persulfides is the actual substrate of the sulfur-oxidizing enzymes from *Acidithiobacillus* and *Acidiphilium* spp. Microbiology 149:1699–1710.

Widdel, F., Schnell, S., Heisinger, S., Ehrenreich, A., Assmus, B., Schink, B. 1993. Ferrous iron oxidation by anoxic phototrophic bacteria. Nature 362:834–836.

Weiterführende Literatur

Friedrich, C. G., Bardischewsky, F., Rother, D., Quentmeier, A., Fischer, J. 2005. Prokaryotic sulfur oxidation. Curr. Opin. Microbiol. 8:253–259.

Kletzin, A., Urich, T., Müller, F., Bandeiras, T. M., Gomes, C. M. 2004. Dissimilatory oxidation and reduction of elemental sulfur in thermophilic archaea. J. Bioenerg. Biomembr. 36:77–91.

Lengeler, J. W., Drews, G., Schlegel, H. G. (Hrsg.). 1999. Biology of the prokaryotes. Thieme, Stuttgart.

Lovley, D. R. (Hrsg.) 2000. Environmental Microbe-Metal Interactions. ASM Press, Washington, D. C.

Lovley, D. R., Holmes, D. E., Nevin, K. P. 2004. Dissimilatory Fe(III) and Mn(IV) reduction. Adv. Microbial Physiol. 49:219–286.

Lovley, D. R. 2004. Potential role of dissimilatory iron reduction in the early evolution of microbial respiration. *In:* Origins, evolution and biodiversity of microbial life. J. Seckbach (ed.) Kluwer, The Netherlands.

Madigan, M. T., Martinko, J. M., Dunlap, P. V., Clark, D. P. 2009. Brock-Biology of Microorganisms. 12th International Edition. Pearson Benjamin Cummings, San Francisco, CA94111.

Olson, G. J., Brierley, J. A., Brierley, C. L. 2003. Bioleaching review part B: progress in bioleaching: applications of microbial processes by the minerals industries. Appl. Microbiol. Biotechnol. 63:249–257.

Schippers, A., Sand, W. 1999. Bacterial leaching of metal sulfides proceeds by two indirect mechanisms via thiosulfate or via polysulfides and sulfur. Appl. Environ. Microbiol. 65:319–321.

Straub, K. L., Benz, M., Schink, B. 2001. Iron metabolism in anoxic environments at near neutral pH. FEMS Microbiol. Ecol. 34:181–186.

Wagner-Döbler, I., Biebl, H. 2006. Environmental biology of the marine *Roseobacter* lineage. Annu. Rev. Microbiol. 60:255–280.

Yoch, D. C. 2002. Dimethylsulfoniopropionate: Its sources, role in the marine food web, and biological degradation to dimethylsulfide. Appl. Environ. Microbiol. 68:5804–5815.

Schwermetalle und andere toxische anorganische Ionen

9.1 Toxizität – 346

9.2 Umweltqualitätsnormen – 347

9.3 Natürliche und anthropogene Vorkommen – 347

9.4 Resistenz von Mikroorganismen – 350

9.5 Quecksilber – 353

9.6 Arsen – 356

9.6.1 Arsenitoxidation – 357

9.6.2 Arsenatreduktion – 357

9.6.3 Arsenatmethylierung – 357

9.7 Selen – 357

9.8 Uran – 360

Literatur – 361

© Springer-Verlag GmbH Deutschland, ein Teil von Springer Nature 2020
W. Reineke und M. Schlömann, *Umweltmikrobiologie,* https://doi.org/10.1007/978-3-662-59655-5_9

9.1 Toxizität

Mit der Bezeichnung **Schwermetalle** wird willkürlich eine Gruppe von Metallen zusammengefasst, wobei eine eindeutige, wissenschaftlich akzeptierte Definition fehlt. Die Dichte von >5 g/cm^3 oder die Toxizität werden in der Öffentlichkeit oft mit dem Begriff Schwermetall in Zusammenhang gebracht. In Listen von Schwermetallen werden oft auch Halbmetalle wie zum Beispiel Arsen und Thallium mit eingeschlossen.

Die Verwendung des Begriffs im Sinne von Toxizität ist äußerst problematisch, da viele der damit bezeichneten Elemente wie Eisen, Chrom, Kobalt, Kupfer, Mangan, Molybdän, Nickel, Vanadium, Zink und Zinn für den Stoffwechsel von Menschen, Tieren, Pflanzen und Mikroorganismen essenziell sind. Andere Elemente wie Blei, Cadmium, Gold, Quecksilber, Silber, Strontium und Thallium besitzen hingegen keine physiologische Bedeutung.

Im Hinblick auf Belastungen von Trinkwasser und Böden kommt den Schwermetallen eine besondere Bedeutung zu, da einige bereits in geringen Konzentrationen toxisch wirken. In höheren Konzentrationen sind aber auch essenzielle Metalle wie Kobalt, Kupfer, Nickel und Zink toxisch und nicht nur nicht-essenzielle wie Blei, Cadmium und Quecksilber. Beide Gruppen können bei erhöhten Konzentrationen Wachstumshemmungen bei Mikroorganismen und Stoffwechselstörungen beim Menschen verursachen.

Die folgenden Mechanismen bestimmen die Toxizität von Schwermetallen:

1. Inaktivierung von Enzymen. Dabei sind die zweiwertigen Übergangsmetalle besonders wirksam. Sie reagieren leicht mit den Amino- und Sulfhydrylgruppen der Proteine; Schwermetallkationen, besonders solche mit hoher Ordnungszahl wie Ag^+, Cd^{2+} und Hg^{2+}, tendieren zur Bindung an SH-Gruppen. Die minimale Hemmkonzentration dieser Metallionen ist eine Funktion der Komplexdissoziationskonstante des jeweiligen Sulfides. Durch die Bindung an SH-Gruppen können die Metalle die Aktivität von empfindlichen Enzymen inhibieren.
2. Metallkationen wechselwirken mit physiologischen Kationen und behindern damit deren Funktion in Metallo-Enzymen:
   - Cd^{2+} und Hg^{2+} mit Zn^{2+}
   - Cd^{2+} mit Ca^{2+}
   - Ni^{2+} und Co^{2+} mit Fe^{2+}
   - Zn^{2+} mit Mg^{2+}
3. Metalle können auch die Durchlässigkeit von Zellmembranen verändern und damit den Stofftransport beeinflussen.
4. Metalle können Erbgut verändern und krebserregend wirken.

Umweltschäden durch Schwermetalle mit gravierenden Wirkungen auf den Menschen sind bekannt geworden:

1. Cadmiumhaltige Abwässer wurden in Japan auf Reisfelder geleitet. Die **Itai-Itai-Krankheit** war die Folge.
2. Quecksilberhaltige Abwässer flossen in die Bucht von **Minamata,** sodass aufgrund einer Anreicherung die sehr toxischen Methylquecksilberverbindungen in Fischen auftraten. Nach heutigen Schätzungen wurden etwa 17.000 Anwohner dieser Bucht durch die Quecksilberverbindungen mehr oder weniger schwer geschädigt, etwa 3000 dürften an der Vergiftung gestorben sein.
3. Tausende von Menschen im **Irak** hatten Getreide konsumiert, das mit quecksilberhaltigen Fungiziden behandelt worden war. Mindestens 450 Menschen starben daran. Schädigung von Hirnzellen mit ausgedehnten Zerstörungen in vielen Regionen des Gehirns und Rückenmarks waren die Folgen der Vergiftung.
4. Am **Amazonas** gelangte illegal Quecksilber beim Goldwaschen in das Flusswasser und die Nahrung. Auch bei den Indianern wurde die Minamata-Krankheit nachgewiesen.

5. Eine Untersuchung auf den Philippinen zeigte, dass über 70 % der Arbeiter in Goldminen oder anderen mineralienbearbeitenden Gebieten Anzeichen von Quecksilber-Intoxikation aufwiesen (in Selin 2011).

Viele Umweltfaktoren beeinflussen die **Bioverfügbarkeit** von Metallen in Ökosystemen und damit die Toxizität. Für die Bioverfügbarkeit von Schwermetallen sind die freien Metall-Ionen entscheidend. Die chemische Form und die Mobilität von Schwermetallen werden durch den pH-Wert und das Redoxpotenzial (Eh-Wert) stark beeinflusst. Auch die Wasserhärte hat eine große Auswirkung, mit einer höheren Toxizität in weichem Wasser. Hingegen ändert die Salinität kaum die Toxizität. Aufgrund der Komplexierung erniedrigen Huminstoffe im Wasser und Sulfidbildung im Sediment stark die Konzentrationen der toxischen Ionen. Insgesamt zeigt die Temperatur nur einen geringen Einfluss, wenngleich oft bei Temperaturzunahme höhere Bioakkumulation/Toxizität zu beobachten ist.

9.2 Umweltqualitätsnormen

Die Vergiftungsfälle haben dazu geführt, dass Schwermetalle in Gewässern, Sedimenten und Fischen analysiert werden. Qualitätsziele für Fließgewässer sowie Grenzwerte für Abwassereinleitungen wurden festgelegt. In westlichen Industrieländern hat deshalb die Schwermetallproblematik abgenommen, doch sind weiterhin bedeutende Altlasten in Böden und Gewässern vorhanden. Die Problematik der Metallbelastung von Ökosystemen hat sich zunehmend in die Schwellen- und Entwicklungsländer verschoben.

Einen Überblick über die Qualitätsstandards in Gewässern, die von LAWA (Working Group of the Federal States on Water Issues), ICPE (International Commission for the Protection of the Elbe) und ICPR (International Commission for the Protection of the Rhine) erarbeitet worden sind, zeigt ◘ Tab. 9.1.

Aufgrund toxikologischer/ökotoxikologischer Untersuchungen wurden abgestufte Vorsorgewerte in Abhängigkeit von der Bodenart nach der Bundes-Bodenschutz- und Altlastenverordnung festgelegt (◘ Tab. 9.2).

Damit wurde dem unterschiedlichen Sorptionsvermögen der Böden Rechnung getragen. Unterhalb der Vorsorgewerte ist nach heutigem Kenntnisstand die Besorgnis einer schädlichen Bodenveränderung auszuschließen.

9.3 Natürliche und anthropogene Vorkommen

Schwermetalle sind natürliche Bestandteile von Mineralen (◘ Tab. 9.3). Blei, Cadmium, Chrom, Kobalt, Nickel, Thallium und Zink liegen in isomorphen Positionen der Hauptelemente Silizium und Aluminium als Spurenbestandteil vor. Schwermetallgehalte von Gesteinen liegen normalerweise im mg/kg-Bereich. Erheblich höhere Gehalte weisen ultrabasische Erguss- und Serpentingesteine auf. Erze (Arsenkies, Bleiglanz, Zinkblende) bestehen bis zu 100 % aus Schwermetallen (zum Beispiel gediegenes Kupfer und Quecksilber). Durch Verwitterung von Gesteinen und Erzen gelangen Schwermetalle natürlich in Böden. Weitere Schwermetallquellen sind kontinentale Staubimmissionen sowie Ausgasungen aus dem Meerwasser und Vulkanen.

Die aus den genannten natürlichen Quellen stammenden Frachten sind verglichen mit denen aus anthropogenen Quellen meist unbedeutend. Anthropogene Quellen von Schwermetallen sind Emissionen aus Industrie- und Verbrennungsanlagen und Kraftfahrzeugen (◘ Tab. 9.4). Ferner trägt die Verwertung metallhaltiger Abfälle, Abwasserverrieselung, Verwendung von Düngern und Pestiziden zum Eintrag von Schwermetallen in Böden bei.

Tab. 9.1 Qualitätsstandards an Schwermetallen für Gewässer[a]

Vorschrift nach (Einheit)[b]	Schutzgut	Arsen	Blei	Cadmium	Chrom	Kupfer	Nickel	Quecksilber	Zink
LAWA (mg/kg)	Aquatische Gemeinschaften		100	1,2	320	80	120	0,8	400
	Suspendierte Partikel und Sedimente		100	1,5	100	60	50	1	200
LAWA (µg/l)	Trinkwasser Versorgung		50	1	50	20	50	0,5	500
	Fischerei		5	1	–	–	–	0,1	–
	Berieselung von Ackerland		50	5	50	50	50	1	1000
ICPE (mg/kg)	Aquatische Gemeinschaften	40	100	1,2	320	80	120	0,8	400
	Suspendierte Partikel und Sedimente	30	100	1,5	150	80	60	0,8	200
ICPR (mg/kg)			100	1	100	50	50	0,5	200

[a]► http://www.umweltbundesamt.de/wasser-e/themen/oberflaechengewaesser/ow_s2_2.htm
[b]Suspendierte Partikel und Sedimente (in mg/kg) und Wasserphase (in µg/L)

Tab. 9.2 Vorsorgewerte für Schwermetalle im Boden[a]

	Ton	Lehm/Schluff	Sand
Stoff	**(mg/kg Trockenmasse)**		
Blei	100	70	40
Cadmium	1,5	1	0,4
Chrom	100	60	30
Kupfer	60	40	20
Nickel	70	50	15
Quecksilber	1	0,5	0,1
Zink	200	150	60

[a]► http://www.umweltbundesamt.de/boden-und-altlasten/boden/bodenschutz/vorsorge.htm

Der Eintrag anthropogener Schwermetalle in Böden erfolgt über punktuelle und diffuse Quellen. Industriebetriebe und Schornsteine von Großfeuerungsanlagen (Kraft- und Zementwerke, Müllverbrennungsanlagen) stellen punktförmige Quellen dar. Die höchsten Metallanreicherungen befinden sich in unmittelbarer Umgebung der Emittenten aufgrund des Eintrages über die atmosphärische Deposition. Schwermetalle werden partikelgebunden sowie dampf- und gasförmig transportiert. Flüchtige Elemente wie Arsen und Quecksilber verdampfen bei relativ niedrigen Temperaturen und kondensieren hoch angereichert in kleinen Partikeln und Aerosolen.

Schwermetallbelastungen von Böden im unmittelbaren Einflussbereich von Straßen (bis 10 m neben Hauptverkehrsstraßen)

Tab. 9.3 Vorkommen von Schwermetallen auf der Erde geordnet nach Konzentration in der Erdkruste

Metall	Durchschnitts-konzentration gefunden in der Erdkruste (ppm)	Gestein mit der höchsten Konzentration	Quellen
Chrom	100		Kommt nicht frei in der Natur vor. Chromeisenerz (Chromit) [Fe, $Mg(CrO_4)$] ist das wichtigste Mineral
Nickel	80	Lavagestein	Hauptsächlich vorkommend in Eisennickelkies (Pentlandit) [$(Ni, Fe)_9S_8$] und Garnierit-Erzen
Zink	75	Schiefertongestein	Gefunden in den Mineralien Zinkblende (Sphalerit)[ZnS], Galmei, Franklinit, Smithsonit [$ZnCO_3$], Willemit und Zinkit [ZnO]
Kupfer	50	Basalt	Reines Kupfer kommt selten in der Natur vor. Normalerweise findet man Kupfer in Mineralien wie Azurit, Malachit und Buntkupferkies (Bornit) und in Sulfiden wie in Chalkopyrit [$CuFeS_2$], Covellin [CuS], Chalkosin [Cu_2S] oder Oxiden wie Cuprit [Cu_2O]
Blei	14	Granit	Häufig gefunden in Erzen wie Bleiglanz (Galenit). Aber auch in Bleiapatit (Pyromorphit), Antimonbleiblende (Boulangerit) und Zerussit Erzen
Arsen	1,8		Gefunden in Arsenopyrit. Hauptsächlich gebildet als Nebenprodukt bei der Veredlung einiger Sulfiderze
Thallium	0,6		Gefunden in Eisenpyriten, Crookesit [$Cu_7(Tl, Ag)Se_4$], Hutchinsonit [$(Tl, Pb)_2As_5S_9$] und Lorandit [$TlAsS_2$]
Cadmium	0,11	Schiefertongestein	Erhalten als Nebenprodukt der Zinkveredelung
Quecksilber	0,05	Sandstein	Das meiste Quecksilber stammt aus Erzen wie Zinnober oder Quecksilbersulfid

Tab. 9.4 Anthropogene Quellen für Schwermetalle

Anthropogene Quellen		Hauptsächlich emittierte Schwermetalle
Metallverarbeitende Industrien	Kupfer- und Nickelherstellung	Arsen
	Nichteisenmetall verarbeitende Betriebe	Blei und Cadmium
	Leder-, Stahl-, Baustoff-, Farbenherstellung, Korrosionsschutz	Chrom
Kraftwerke und Großfeuerungsanlagen		Blei und Cadmium
Zementwerke		Thallium
Kraftfahrzeugverkehr	Bis zur Einführung des bleifreien Benzins	Blei
	Reifenabrieb, Verbrennungsrückstände der Kraftstoffe und verzinkte Karosserien	Cadmium, Zink (ein Viertel der atmosphärischen Emission)
Abwasserverrieselung auf Rieselfeldern		Blei, Cadmium, Chrom, Kupfer und Zink
Klärschlämme, Bioabfälle und Baggerschlämme		Alle
Wirtschaftsdünger (Gülle, Mist, Geflügelkot)		Kupfer und Zink
Mineraldünger		Cadmium und Chrom
Pestizide und Holzschutzmittel	Der Einsatz von Metallverbindungen im Pflanzenschutz ist (mit Ausnahme von Kupfer) in Deutschland seit langem verboten. Hohe Kupfergehalte weisen insbesondere Böden im Hopfen- und Weinbau auf	Arsen, Kupfer und Quecksilber

sind Folge des Kraftfahrzeugverkehrs durch Reifenabrieb und Verbrennungsrückstände.

9.4 Resistenz von Mikroorganismen

Schwermetalle sind weder mikrobiell noch chemisch abbaubar. Abb. 9.1 zeigt deutlich den großen Unterschied bei der Toxizität von Schwermetallen gegenüber Bakterien am Beispiel von *Escherichia coli.* Quecksilber ist das Metall, das schon bei geringer Konzentration giftig wirkt.

Mikroorganismen haben verschiedene Mechanismen entwickelt, um sich vor toxischen Schwermetallkonzentrationen zu schützen. Tatsächlich haben alle Bakterien Gene für die Resistenzen gegen toxische Metallionen wie Ag^{+}, AsO_2^{-}, AsO_4^{3-}, Cd^{2+}, Co^{2+}, CrO_4^{2-}, Cu^{2+}, Hg^{2+}, Ni^{2+}, Pb^{2+}, TeO_3^{2-}, Tl^{+} und Zn^{2+}.

Grob eingeteilt kann die Anpassung von Mikrooganismen an die Gegenwart von Schwermetallionen auf zwei Wegen erfolgen:

1. Sie können aufgrund von inhärenten Eigenschaften überleben, welche mit ihrer Zellwandstruktur, extrazellulären Polymersubstanzen (EPS), und

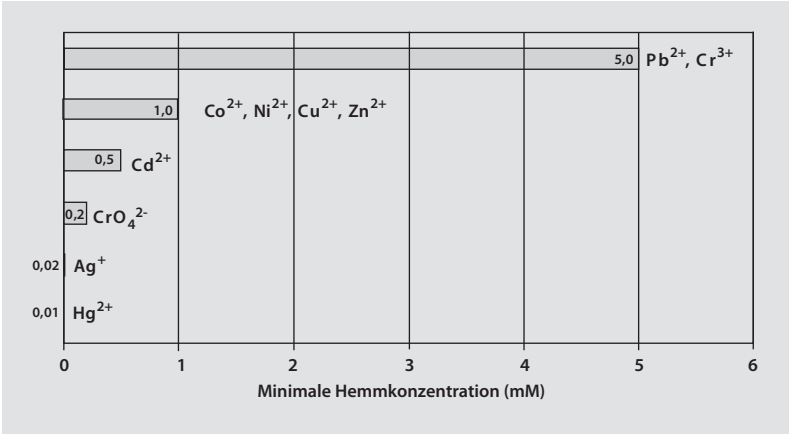


Abb. 9.1 Minimale Hemmkonzentration von Schwermetallen gegenüber *Escherichia coli* (Werte aus Nies 1999)

Binden/Präzipitieren von Metallen innerhalb oder außerhalb der Zelle einhergehen.

2. Alternativ entwickeln sie spezifische Mechanismen der Entgiftung, wenn sie mit den Metallen konfrontiert werden. Diese letzt-genannten Mechnismen beinhalten **aktive Efflux Mechanismen** wie auch **Reduktion/Oxidation, Alkylation/Dealkylation** und **intrazelluläre Kompartmentierung/Sequestration** [Produktion von Metallothioneinen (kleine Cystein-reiche Proteine mit einem Molekulargewicht 6000–10.000, die keine aromatischen Aminosäuren besitzen) und Phytochelatine (metallbindende Peptide mit einer Struktur $(\gamma\text{-Glu-Cys})_n$-Gly, mit n = 3 bis 8)].

Die beiden Typen von Mechanismen (Abb. 9.2) überlappen häufig, da extrazelluläre Präzipitation und Kristallisation aufgrund des anfänglichen Metall-Efflux die physiko-chemische Umgebung der Zellen ändert.

Mikrobielle Anpassungen an Schwermetallstress muss als dynamischer Prozess gesehen werden, der **generelle Zellantworten** wie zum Beispiel die Bildung von Schleimen in Biofilmen, **spezifische Resistenzmechanismen** und Änderungen der chemischen Form der Metalle und **Toxizität** beinhaltet, welche sowohl durch die Mikroorganismen als auch Umweltkomponenten beinflusst werden.

Die größte Gruppe der Resistenzsysteme funktioniert mittels energieabhängigem Efflux der toxischen Ionen. Zahlenmäßig weniger Resistenzmechanismen beinhalten enzymatische Transformationen (Oxidation, Reduktion, Methylierung und Demethylierung) oder metallbindende Proteine (wie Metallothionein SmtA, Chaperon CopZ und periplasmatisches Silber-Bindeprotein SilE). Einige der Efflux-Resistenzsysteme sind ATPasen und andere wiederum chemiosmotische Ionen/Proton-Austauscher.

Diese Resistenzdeterminanten sind auf der Erde seit Milliarden von Jahren. Sie haben sich also nicht erst aufgrund der anthropogenen Freisetzung von Schwermetallen entwickelt. Dies konnte am Beispiel der Arsenresistenz gezeigt werden: die DNA- und Aminosäuresequenzen und auch die Strukturen der Gene und Proteine, die an der Arsenresistenz beteiligt sind, weisen auf eine urzeitliche Herkunft hin (Lebrun et al., 2003).

Arsenresistenz- und Metabolismussysteme treten in drei Formen auf. Am häufigsten wurde das ***ars*** Operon gefunden, das in den meisten Bakterien auf dem Genom oder vielen Plasmiden kodiert ist. ***arr*** Gene

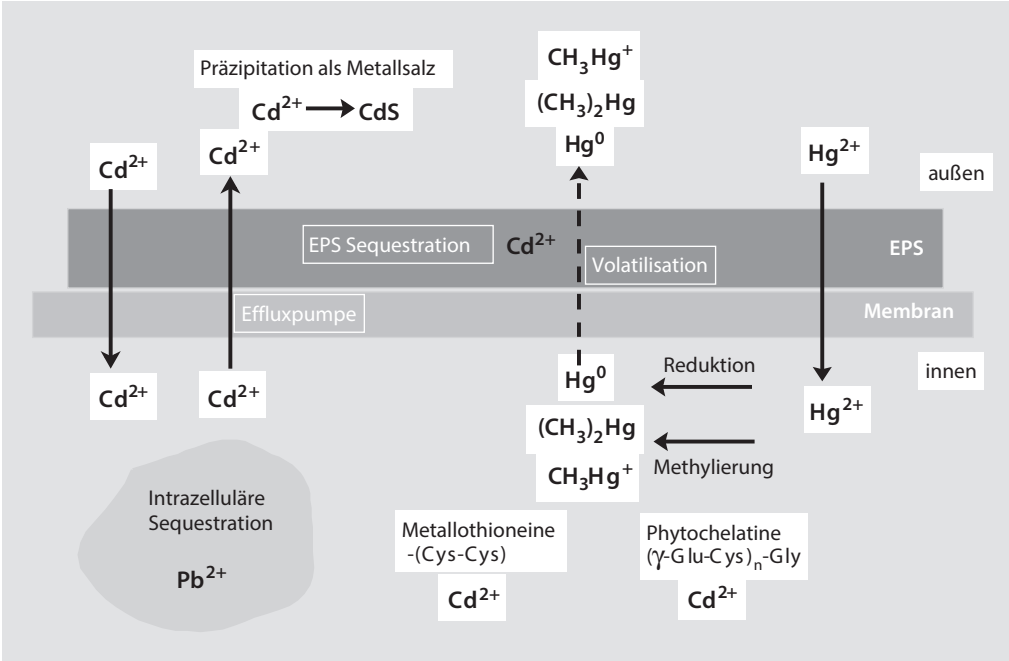


Abb. 9.2 Schematische Darstellung der Mechanismen der Schwermetallresistenz von Mikroorganismen

für die periplasmatische Arsenat-Reduktase, welche in der anaeroben Atmung als ein terminaler Elektronenakzeptor fungiert, wurden erst kürzlich entdeckt. Dann gibt es noch ***aso*** Gene für die periplasmatische Arsenit-Oxidase, welche als ein Elektronendonor bei der aeroben Resistenz des Arsenits arbeitet.

Cd^{2+}-Effluxpumpen der Bakterien sind entweder P-Typ ATPasen der inneren Membran oder bestehen aus drei Polypeptiden (RND, Resistance-Nodulation-Cell Division Superfamily) einem chemiosmotischen Komplex, der aus einer Pumpe der inneren Membran, einem das periplasmaüberbrückenden Protein und einem Kanal in der Außenmembran zusammengesetzt ist. Zusätzlich zu dem am besten untersuchten Drei-Polypeptid chemiosmotischen System, **Czc** (Cd^{2+}, Zn^{2+}, and Co^{2+}), sind andere für den Efflux von Ag^+, Cu^+, Ni^{2+} und Zn^{2+} bekannt.

Resistenz gegenüber anorganischem Quecksilber, Hg^{2+}, und Organoquecksilber, wie CH_3Hg^+ und Phenylquecksilber beinhalten eine Reihe von metallbindenden und membrantransportierenden Proteinen wie auch Quecksilber-Reduktase und Organoquecksilber-Lyase, welche generell die mehr toxischen in die weniger toxischen Formen umwandeln.

Wenn die Entgiftung eines Schwermetalls durch Reduktion erfolgen soll, so sollte das Redoxpotenzial zwischen dem des Wasserstoff/Proton- und dem des Sauerstoff/Wasser-Paares liegen, welches der physiologische Bereich für die meisten aeroben Mikroorganismen ist. Folglich können Hg^{2+}, Chromat, Arsenat und Cu^{2+} durch Zellen reduziert werden, aber nicht Zn^{2+}, Cd^{2+}, Co^{2+} und Ni^{2+} (Tab. 9.6).

Ferner sollte ein Schwermetall, das reduziert worden ist, aus der Zelle hinaus diffundieren oder es würde wieder selbst reoxidieren. Die meisten Reduktionsprodukte sind recht unlöslich (Cr^{3+}) oder sogar toxischer ($H_2AsO_3^-$) als die Ausgangsverbindung. Wenn also eine Zelle die Reduktion als Entgiftungsmechanismus nutzen will, so muss ein Efflux-System für den Export des reduzierten

Tab. 9.5 Hauptmechanismen der Schwermetallresistenz in Bakterien

Gencod	Toxische Ionen	Mechanismus
arr	AsO_4^{3-}	Respiratorische Arsenat-Reduktase
ars	AsO_4^{3-}, $As(OH)_3$ AsO_2^-	Reduktion von Arsenat (Arsenat-Reduktase) mit folgendem ATPase-vermitteltem Efflux von Arsenit
aso	$As(OH)_3$	Arsenit-Oxidase und Transport
cad	Cd^{2+}	P-typ ATPase-vermittelter Efflux von Kationen
chr	CrO_4^{2-}	Chromat Efflux Permease
cop	Cu^{2+}, Cu^+	Kupferresistenz und Transport, Sequestrierung von Cu^{2+} außerhalb der Cytoplasmamembran
czc	Cd^{2+}, Zn^{2+}, Co^{2+}	Kation/Proton Antiporter chemiosmotischer Efflux (CBA[a] Efflux Permease)
cnr	Co^{2+}, Ni^{2+}	Kation/Proton Antiporter chemiosmotischer Efflux (CBA Efflux Permease)
mer	Hg^{2+} und Organoquecksilber	Quecksilber-Reduktase: Reduktion von Hg^{2+} zu Hg^0 durch *merRTPBAD* oder von Organoquecksilber durch *merRTPBAD* und Transport
ncc	Ni^{2+}, Co^{2+}, Cd^{2+}	CBA Efflux Permease
nre	Ni^{2+}	CBA Efflux Permease
pbr	Pb^{2+}	Bleiresistenz und Efflux
pco	Cu^{2+}, Cu^+	Kupferresistenz und Efflux
sil	Ag^+	Silberresistenz und Bindung
tel, teh, kil	TeO_3^{2-}	Telluritresistenz

[a]Die Bezeichnung CBA wurde für eine Ordnung von Genen auf dem Chromosom gewählt, um sie von ABC ATPase Systemen zu unterscheiden

Produktes vorhanden sein. Einzig im Falle von Quecksilber passen die Eigenschaften „Reduzierbarkeit“ und ein „hoher Dampfdruck des metallischen Reduktionsproduktes“ zusammen. Quecksilber wird deshalb durch Reduktion von Hg^{2+} zu Hg^0 entgiftet, und zwar durch diffusible Ausschleusung des Hg^0.

Welche Möglichkeit ist für nicht-reduzierbare Schwermetalle vorhanden oder findet statt, wenn eine Reduktion nicht wünschenswert ist? Eine Komplexierung ist ein effizienter Weg, wenn Zellen niedrigen Konzentrationen von Schwermetallen ausgesetzt sind. Aerobe Zellen können zum Beispiel Cd^{2+} durch Bildung von CdS entgiften, dazu muss der eine hohe Energie benötigende Sulfat-Reduktionsprozess mit PAPS (Phosphoadenosin-5′-phosphosulfat) ablaufen. Schwermetallmetabolismus ist generell Transportmetabolismus.

9.5 Quecksilber

Quecksilber ist in der Erdrinde ein relativ seltenes Element, das erst durch anthropogene Einflüsse verstärkt in die Umwelt gelangt. Durch natürliche Verwitterung und Verflüchtigung sowie durch den Vulkanismus kommen jährlich etwa $50–100 \cdot 10^3$ t Quecksilber in die Umwelt. Man schätzt, dass sich dieser Wert durch zivilisatorische Prozesse

Tab. 9.6 Vergleich der Redoxpotenziale zur Abschätzung der mikrobiellen Reduzierbarkeit von Schwermetallen

Redox-Paar		Anzahl Elektronen	$E^{0'}$ (mV)
Oxidierte Form	**Reduzierte Form**		
$2H^+$	H_2	2	−420
O_2	$2H_2O$	4	+820
Hg^{2+}	Hg^0	2	+440
CrO_4^{2-}	Cr^{3+}	3	+929
SeO_4^{2-} [Selenat]	SeO_3^{2-} [Selenit]	2	+475
$HAsO_4^{2-}$ und $H_2AsO_4^-$; As(V) [Arsenat]	H_3AsO_3 und $H_2AsO_3^-$; As(III) [Arsenit]	2	+139
Cu^{2+}	Cu^+	1	−262
Zn^{2+}	Zn	2	−1180
Cd^{2+}	Cd	2	−820
Co^{2+}	Co	2	−700
Ni^{2+}	Ni	2	−650

9

Tab. 9.7 Quecksilberverbrauch in der EU[a]

Verwendung	Geschätzte Mengen 2007 (t)
Chloralkali Elektrolyse	160–190
Batterien	7–25
Zahnmedizin Amalgam	90–110
Mess- und Kontrollanlagen	7–17
Schalter und Elektrische Kontrolle	0–1
Lampen	11–15
Chemikalien	28–59
Andere Verwendung	15–114
Gesamt	**320–530**

[a] ► http://ec.europa.eu/environment/chemicals/mercury/index.htm

etwa verfünffacht hat. anthropogenbedingte Quellen sind der Bergbau und die Verhüttung von sulfidischen Erzen sowie industrielle Prozesse (Elektrolyse in der Chloralkali-Industrie) und Produkte (Lampen, Amalgame in der Zahnmedizin) (Tab. 9.7). Abgesehen von den bewussten Verwendungen gibt es auch die ungewollte Freisetzung von Quecksilber in die Luft durch Kohle- und Erdölverbrennung.

Emissionen des flüchtigen Quecksilbers haben dazu geführt, dass es in Böden von Industrieballungsgebieten in einer Konzentration von 0,1–1 mg/kg vorliegt. Durch Einleitung industrieller und kommunaler Abwässer kommt es zu beträchtlichen Kontaminationen von Flusssedimenten und Meeresbuchten. Im Hafenschlick der Elbe und des Rheins wurden Werte von 10–100 mg/kg nachgewiesen. In der Minamata-Bucht in Japan belief sich die Konzentration auf 2000 mg/kg.

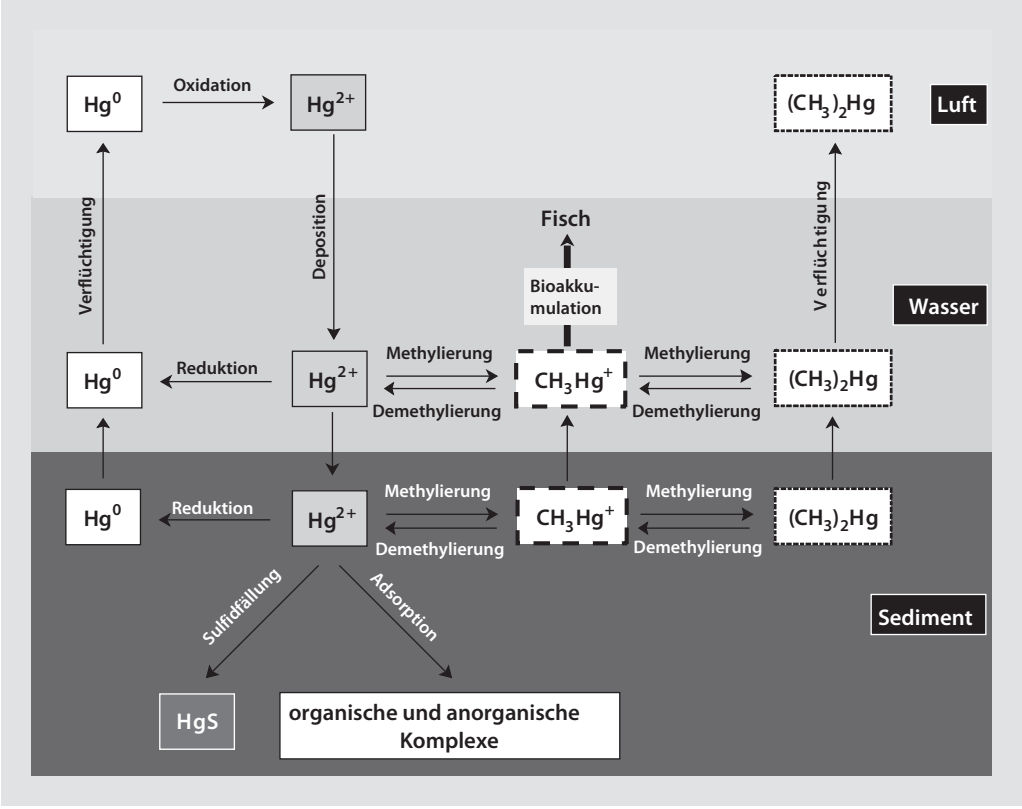


Abb. 9.3 Quecksilberkreislauf. Die mikrobiellen Reaktionen dienen zur Entgiftung, für höhere Organismen führen sie zu toxischen Metaboliten

Quecksilber wird, wie auch andere Metalle, nicht abgebaut, sondern oxidiert oder reduziert und zu organischen Verbindungen umgesetzt.

Die verschiedenen Quecksilberverbindungen gehen in einen biogeochemischen Kreislauf ein, an dessen Umsetzungen Mikroorganismen maßgeblich beteiligt sind (Abb. 9.3).

In der Atmosphäre tritt Quecksilber als relativ ungiftiges Metall auf, das durch photochemische Prozesse zu Hg^{2+} oxidiert wird. In dieser Form gelangt es in Böden und Gewässer zurück. Das Quecksilberkation (Hg^{2+}) führt zu Vergiftungen, da es mit den SH-Gruppen von Proteinen reagiert. Mikroorganismen haben verschiedene **Resistenzmechanismen** gegen Quecksilber entwickelt. Ein Mechanismus ist die Reduktion zu metallischem Quecksilber. Viele Mikroorganismen besitzen eine Quecksilber-Reduktase (MerCA-Protein, verwandt mit Glutathion-Reduktase), die die folgende Reaktion katalysiert:

$$Hg^{2+} + NADPH \rightarrow Hg^0 + NADP^+ + H^+$$

Das flüchtige metallische Quecksilber entweicht aus dem wässrigen Milieu und durchläuft die oben beschriebenen Reaktionsschritte.

Die **Methylierung** zu Methyl- und Dimethylquecksilber ist eine weitere bakterielle Detoxifikationsreaktion. Die Übertragung

der Methylgruppe erfolgt durch Vitamin B_{12} (Cobalamin):

$$Hg^{2+} + CH_3 - B_{12} \rightarrow CH_3 - Hg^+ + B_{12}{}^+$$
$$CH_3 - Hg^+ + CH_3 - B_{12} \rightarrow$$
$$(CH_3)_2 - Hg + B_{12}{}^+$$

Vor allem das Dimethylquecksilber ist sehr flüchtig.

Der bakterielle Entgiftungsprozess führt zu Produkten, die für höhere Organismen etwa 100-mal toxischer als Hg^{2+} sind. Als lipophile Verbindungen werden sie gut aufgenommen und in aquatischen Nahrungsketten um mehrere Zehnerpotenzen akkumuliert. In Fischen wurden so 100 mg Hg/kg Körpergewicht nachgewiesen.

Für den Quecksilberkreislauf sind zwei weitere bakterielle Reaktionen von Bedeutung, die **Demethylierung** der Methylquecksilberverbindungen zu Hg^0 und die **Fällung** als HgS, die durch die H_2S-Bildung der Sulfatreduzierer bewirkt wird. Quecksilbersulfid ist unter anaeroben Bedingungen sehr unlöslich. Werden aber HgS-enthaltende Schlämme und Sedimente oder Klärschlamm aeroben Bedingungen ausgesetzt, indem sie auf die Bodenoberfläche aufgebracht werden, so findet eine erneute **Mobilisierung** statt. Eine irreversible Eliminierung des Quecksilbers ist also aufgrund der skizzierten Kreislaufprozesse schwer möglich.

9.6 Arsen

Arsen (As) ist mit etwa 1,8 ppm nur das 20 häufigste Element in der Erdkruste. Arsen ist hochgiftig und gelangt in vielen Regionen der Erde durch die geologischen Verhältnisse oder Bergbauaktivitäten ins Trinkwasser. Vor allem in Südostasien, wo in den letzten Jahrzehnten tiefere Grundwasservorkommen erschlossen werden mussten, sind mehr als 100 Mio. Menschen gefährdet. Eine chronische Arsenvergiftung führt zu schweren Hautschäden und Funktionsstörungen von Niere und Leber bis hin zu Krebs. In Südostasien ist die Arsenbelastung lokal so unterschiedlich, dass jeder einzelne Brunnen getestet werden müsste. Tausende von Fällen von Arsenvergiftung aufgrund von kontaminiertem Trinkwasser werden jedes Jahr in Bangladesh diagnostiziert.

Ein bezüglich interessanter Mikroorganismen in der letzten Zeit in der Öffentlichkeit diskutiertes Beispiel ist der Mono Lake im Osten Kaliforniens. Er ist kein besonders gemütliches Gewässer mit einem pH-Wert von 10, einer Salzkonzentration, die 3-mal höher liegt als die im Ozean, und einem hohen Gehalt an Arsen von 200 μmol/L.

Arsen wird auch gezielt verwendet: in der Metallurgie, bei der Holzkonservierung, in Farben, in der Medizin, in der Schädlingsbekämpfung und als Futterzusatz bei Geflügel, wo es das Wachstum beschleunigt. Obwohl diese anthropogenen Quellen auch zu einigen Fällen an Arsenkontamination beigetragen haben, sind Vulkanausbrüche, Flüchtigkeit bei niedriger Temperatur und natürliche Verwitterung von arsenhaltigen Mineralien die größten Quellen in der Umwelt.

Arsen kann in der Form von Arsenwasserstoff, Arsenozucker oder anderen arsenenthaltenden Organika wie Arsenobetain existieren, doch sind die häufigsten in natürlichen Wässern vorkommenden Spezies Arsenat [$HAsO_4{}^{2-}$ und $H_2AsO_4{}^-$; As(V)] und Arsenit [H_3AsO_3 und $H_2AsO_3{}^-$; As(III)]. Diese beiden Oxyanionen wandeln sich leicht in einander um. Ihre verschiedenen chemischen Eigenschaften bestimmen, ob sie sich in fester Form niederschlagen oder in der Wasserphase mobil sind. Die vorherrschende Form von anorganischem Arsen in der wässrigen, aeroben Umwelt ist Arsenat, während Arsenit stärker in anoxischer Umwelt verbreitet ist. Arsenat ist fest an die Oberfläche von etlichen weit verbreiteten Mineralien adsorbiert. Arsenit adsorbiert weniger fest und an wenigere Mineralien, was es zum stärker mobilen Oxyanion macht.

Arsenat ist ein Analog zu Phosphat und hemmt damit die oxidative Phosphorylierung. As(III) ist aufgrund seiner hohen Affinität

zu Sulfhydrylgruppen in Proteinen und der damit verbundenen Inaktivierung sehr viel toxischer als As(V).

Der mikrobielle Metabolismus, der die Umwandlung von Arsen zwischen As(V) und As(III) bewirkt, bestimmt maßgeblich, welche As-Spezies in der Umwelt vorzufinden ist. Da beide As(III) und As(V) an $Fe(OH)_3$ adsorbieren, ist der Verbleib von Arsen in der Umwelt oft an den von Eisen gekoppelt. In Sedimenten, die nicht von Eisen dominiert sind, ist As(III) generell mobiler als As(V).

Mikroorganismen, die die Umwandlungen von Arsen zwischen As(III) und As(V) durchführen, sind divers in ihrer Phylogenie und gesamten Physiologie. Mikroorganismen, die Arsen zur Energieproduktion benutzen, fallen in zwei Klassen, die **chemolithoautotrophen As(III)-Oxidierer** und die **heterotrophen As(V)-Reduzierer.**

9.6.1 Arsenitoxidation

Chemolithoautotrophe gewinnen Energie durch die Kopplung der Oxidation von As(III) an die Reduktion von Sauerstoff oder Nitrat (◘ Abb. 9.4). Mitglieder der *Alphaproteobacteria (Rhizobium),* auch *Pseudomonas arsenitoxidans* und ein *Hydrogenophaga* sp. betreiben den Metabolismus mit Sauerstoff mit folgender Reaktionsgleichung:

$$2H_2AsO_3^- + O_2 \rightarrow 2HAsO_4^{2-} + 2H^+$$
$$\Delta G^{0'} = -131{,}4 \text{ kJ/mol}$$

Ectothiorhodospira führt mit As(III) als Elektronendonor eine Nitratatmung durch:

$$H_2AsO_3^- + NO_3^- \rightarrow HAsO_4^{2-} + NO_2^- + H^+$$
$$\Delta G^{0'} = -56{,}5 \text{ kJ/mol}$$

Nicht alle As(III)-oxidierenden Bakterien wie zum Beispiel *Alcaligenes faecalis,* erhalten Energie aus der As(III)-Oxidation. Diese As(III)-oxidierenden Heterotrophen verwenden wahrscheinlich As(III) nicht als Elektronendonor für die Atmung, sondern die As(III)-Oxidation ist eher zufällig oder eine Form der Entgiftung für diese Stämme.

9.6.2 Arsenatreduktion

Eine verschiedenartige Gruppe von heterotrophen Bakterien kann As(V) als terminaler Elektronenakzeptor für die Atmung verwenden (◘ Abb. 9.4). Diese Organismen schließen Mitglieder der *Gamma-, Delta-, Epsilonproteobacteria,* gram-positive Bakterien, thermophile Eubacteria und *Crenarchaeota* ein. Die meisten As(V)-atmenden Stämme koppeln die Oxidation von Lactat zu Acetat an die As(V)-Reduktion zu As(III). Einige Isolate können Acetat zu CO_2 mineralisieren und/oder H_2 als Elektronendonor nutzen. Die meisten bekannten As(V)-Atmer sind obligate Anaerobe, wenige sind auch fakultativ Aerobe.

9.6.3 Arsenatmethylierung

Auch für **Arsen** wurde **mikrobielle Methylierung** nachgewiesen. Ob auch diese Reaktion der Entgiftung dient, ist unklar. Die methylierten Verbindungen sind in der Regel flüchtiger. Für höhere Organismen und den Menschen sind Dimethyl- und Trimethylarsin stets giftiger.

9.7 Selen

Die toxischen Auswirkungen von Selen auf biologische Systeme sind konzentrationsabhängig und variieren von Organismus zu Organismus. Selen ist andererseits ein essenzielles Element für Prokaryoten und auch Eukaryoten und wird deshalb leicht assimiliert. Selenmangel wird im Zusammenhang mit der reduzierten Aktivität von selenhaltigen Enzymen wie Glutathion-Peroxidase gesehen. Selen wird in Selenocystein-enthaltenden Selenoproteinen, selenhaltigen t-RNAs wie auch Selenoenzymen gefunden (Heider

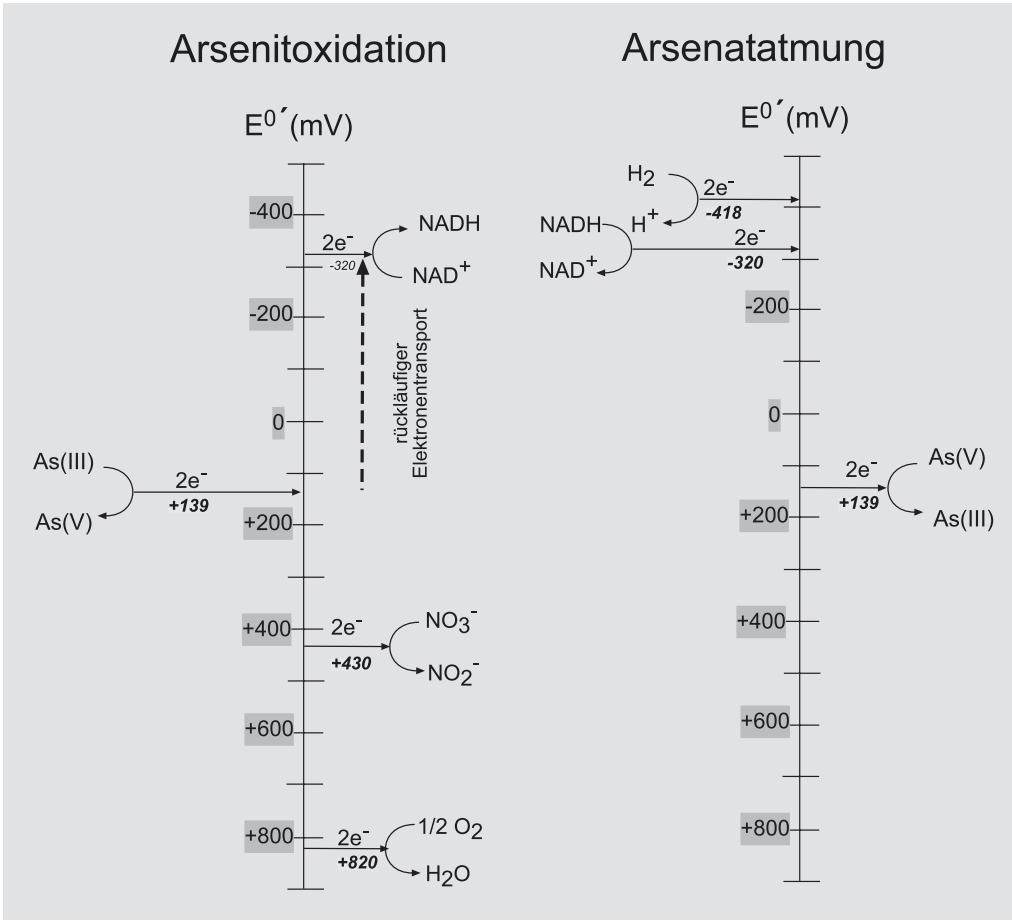


Abb. 9.4 Funktion von Arsenspezies als Elektronendonor beziehungsweise -akzeptor

und Böck, 1994). Um einem Mangel vorzubeugen, setzt man oft dem Kuhfutter Selen zu. Dies wiederum kann eine weitere anthropogene Quelle von Selen in der Umwelt sein.

Die löslichen Oxyanionen Selenat [Se(VI) SeO_4^{2-}] und Selenit [Se(IV) SeO_3^{-}] sind die primären Formen von Selen in der oxischen Umwelt. Sie verschwinden in der oxischen/anoxischen Übergangszone und werden ersetzt durch elementares Selen [Se^0], welches die dominante Spezies in anoxischen Sedimenten ist. Die Reduktion von Se(VI) und Se(IV) zu unlöslichem Se^0 findet in Gegenwart von hohen Konzentrationen von Sulfat (>300 mM) statt, wie es in heißen Solequellen im San Joaquin Valley (California, USA) beobachtet wird. Die Umwandlung von Selen in der Natur findet hauptsächlich durch biologische Prozesse statt. Se(VI) unterliegt keiner schnellen chemischen Reduktion unter physiologischen Bedingungen von pH und Temperatur. Deshalb ist es unwahrscheinlich, dass die abiotische Reduktion von Selenat in der natürlichen Umwelt eine Rolle spielt.

Auch Selenverbindungen können als Elektronenakzeptoren für die anaerobe Atmung fungieren (SeO_4^{2-}/SeO_3^{-}, $E^{0'}$-Wert: +475 mV). Obwohl sie normalerweise nicht in großen Mengen in natürlichen Systemen vorkommen, finden sich Selenverbindungen

gelegentlich als Schadstoffe und können das anaerobe Wachstum verschiedener Bakterien unterstützen.

Die Reduktion von SeO_4^{2-} zu SeO_3^{-} und schließlich zu Se^0 ist eine wichtige Methode zur Selenentfernung aus dem Wasser und wird als Säuberungsmethode selenverseuchter Böden (biologische Sanierung) eingesetzt. Die meisten Bakterien, die in der Lage sind, Selenverbindungen zu reduzieren, können auch andere Elektronenakzeptoren verwenden, wie Fe^{3+}, Mn^{4+} und organische Verbindungen, und weisen in den meisten Fällen einen fakultativ aeroben Stoffwechsel auf.

Auch für Selen wurde mikrobielle Methylierung nachgewiesen. So bilden sowohl Bakterien (zum Beispiel *Flavobacterium* – und *Pseudomonas*-Spezies) als auch Pilze (zum Beispiel *Aspergillus-*, *Cephalosporium-*, *Fusarium*-Spezies) Dimethylselenid.

Verfahren zur Eliminierung von Schwermetallen aus der Umwelt

Der zentrale Unterschied zu den in ► Kap. 6 diskutierten organischen Schadstoffen ist festzuhalten: Bei toxischen Schwermetallen oder Metalloiden ist aufgrund ihres Elementcharakters ein Verbrennen oder ein **mikrobieller Abbau** zu unproblematischen Verbindungen grundsätzlich **nicht möglich.** Von Bedeutung sind dagegen die Aspekte der Überführung in weniger toxische Bindungsformen oder Oxidationszustände und insbesondere der Mobilisierung beziehungsweise Immobilisierung. Grundsätzlich spielen unterschiedliche **Prinzipien der Wechselwirkung** im Hinblick auf mikrobiologische Verfahren zur Reinigung kontaminierter Böden oder Wässer eine mögliche Rolle, die hier nach zugrunde liegendem Mechanismus wie auch bewirktem Effekt unterteilt sind. Für die **Eliminierung** von Metallen aus der Umwelt sind drei Mechanismen von besonderer Bedeutung:

- Biotransformation,
- Biosorption und Bioakkumulation
- Sulfidausfällung.

Biotransformationen umfassen Reduktionen und Oxidationen sowie die Bildung metallorganischer Verbindungen. Sie erfordern stoffwechselaktive Zellen. Eine Reihe von Bakterien können in **arsenhaltigem Abwasser** Arsenit [As(III)] zu Arsenat [As(V)] oxidieren. Arsenat kann dann mit Fe(III)-Salzen wirksamer als Arsenit aus Abwässern gefällt werden.

Chrom gelangt als sechswertige Verbindung aus der Leder- und Metallindustrie in das Abwasser. Das toxische Chromat (CrO_4^{2-}) und Dichromat ($C_2O_7^{2-}$) wird durch Bakterien (zum Beispiel *Alcaligenes-*, *Enterobacter-,* und *Pseudomonas*-Arten) zu dem weniger giftigen dreiwertigen Chrom reduziert. Die Reaktion erfolgt an der Zelloberfläche, es entstehen schwer lösliche Chromhydroxide, die ausfallen.

Biovolatilisierung bedeutet für die Umwelt die Verlagerung von einem Medium in die Gasphase. Mechanismus der Hg^{2+}-Resistenz umfasst als entscheidenden Schritt die Reduktion des Metallions zum flüchtigen Hg^0 und ist zur Entwicklung eines Reinigungsverfahrens, eine **reduktive Biovolatilisierung,** ausgenutzt worden. Weiter sei die Methylierung von Metallen erwähnt. Arsen, Selen und Quecksilber können durch verschiedene Pilze und Bakterien methyliert und damit verflüchtigt werden, ein Vorgang, den man **alkylierende Biovolatilisierung** nennen könnte. Methylierungen erfüllen wohl für die Mikroorganismen Entgiftungsfunktionen, für die Umwelt bedeuten sie aber die Verlagerung von einem Medium in die Gasphase, die zudem noch mit der Bildung von noch giftigeren Verbindungen für Mensch und Tier verbunden ist.

Bioakkumulation Das in der Filmindustrie anfallende **Silber** kann durch silberresistente Bakterienstämme (*Pseudomonas maltophila,* Coryneforme Bakterien) bis zu Konzentrationen von 200 mg Silber/g Zelltrockensubstanz akkumuliert werden.

Auch für **Cadmium** wurde durch resistente *Klebsiella-*, *Pseudomonas-* und

Staphylococcus-Stämme eine Cadmiumanreicherung nachgewiesen. Neben Cadmium wurde bei Bakterien die Bindung von Kupfer und Zink an **Metallothioneine** beobachtet. Metallothioneine sind niedermolekulare Cystein-reiche Polypeptide, an deren SH-Gruppen Schwermetalle gebunden werden.
Biosorptionen sind im Gegensatz zu Bioakkumulationen nicht an lebende stoffwechselaktive Zellen gebunden. Bei der **Biosorption** werden die Schwermetalle an verschiedenen Exopolymeren der Zelloberfläche mit negativer Ladung adsorbiert. Hierauf basierende Verfahren können zur Entfernung von Metallen aus dem Wasser verwendet werden, was zum Beispiel an UO_2^{2+}-kontaminierten Wässern untersucht wird. Mit Zellen von *Bacillus* wurden Präparate hergestellt, die Cd, Cr, Cu, Hg, Ni und Zn nicht-selektiv bis zu 10 % des Trockengewichtes sorbieren. Die Sorption erfolgt aus hochverdünnten Lösungen. Die akkumulierten Schwermetalle können mit Säuren abgelöst (stripping) und die Biomasse durch Alkalibehandlung reaktiviert werden.
Schwermetallsulfidausfällungen Aufgrund der H_2S-Bildung durch sulfatreduzierende Bakterien können Cadmium, Kupfer und Zink als CdS, CuS oder ZnS gefällt werden. Für die Abwasserreinigung wird dieser Prozess in Pflanzenkläranlagen und in anaeroben Biogasreaktoren genutzt. Neuerdings wird versucht, mit Schwermetallen belastete Böden durch den kombinierten Einsatz von metalllaugenden Schwefeloxidierern und fällenden Sulfatreduzierern zu reinigen. Dabei wird im oberen aeroben Bodenbereich eine sulfidenthaltende Lösung aufgebracht, die zur Entwicklung von *Acidithiobacillus* führt. Durch die Schwefelsäurebildung gehen Schwermetalle in Lösung, die in tieferen anaeroben Bodenschichten als Sulfide ausgefällt werden. Voraussetzung ist, dass im anaeroben Bereich organische Nährstoffe für die Sulfatreduzierer eingebracht werden. Ein Teil des anaerob gebildeten H_2S wird zur Sulfidversorgung des Oberbodens rezykliert. Eine Metalleliminierung der oberen Bodenschichten wurde auf diesem Wege erreicht.

9.8 Uran

Uran (U) ist eine gewöhnliche Grundwasserkontamination an Orten, an denen in der Zeit des Kalten Krieges Nuclearversuche durchgeführt worden sind und das Waffenmaterial hergestellt worden ist. Aufgrund der Verbreitung und möglichen Toxizität sind Sanierungsstrategien von Interesse, das U(VI) zu stabilisieren und das Risiko eines Transportes aus den kontaminierten Bereichen heraus zu minimieren.

Die Sanierung urankontaminierter Gelände kann durch Änderung des Oxidationszustandes vom löslichen U(VI) in das weniger lösliche U(IV) mittels biologischer reduktiver Metallausfällung durchgeführt werden, um so den Transport aus den kontaminierten Bereichen heraus einzuschränken. Reduktion von U(VI) wird durch eine große Anzahl verschiedener Mikroorganismen erleichtert wie Sulfat- (SRB) und Fe(III)-reduzierende (FeRB) Bakterien wie auch andere Mikroorganismen wie *Clostridium* sp. und *Deinococcus radiodurans.*

Hintergrund

Deinococcus radiodurans zeigt eine außergewöhnliche Resistenz gegenüber ionisierender Strahlung und Austrocknung. Relativ zu den meisten anderen Organismen hat *Deinococcus* einen um viele Größenordnungen höhere Überlebensrate. Eine Belastung von 5 kGy ionisierender Strahlung führt bei jedem Bakterium zu einer Fragmentierung des Genoms zu Hunderten von Bruchstücken. *Deinococcus* ist hiervon keine Ausnahme. Aber *Deinococcus* scheint mit dieser Katastrophe locker umzugehen. In einem Zeitraum von 3–4 h werden überlappende Fragmente zu einem kompletten Chromosom zusammengefügt, sodass normales Wachstum der Zellen erfolgen kann. Es gibt keine messbare Letalität. Versuche auf der molekularen Basis die phoenix-ähnliche Eigenschaft zu erklären, führte zu einer Vielzahl von Hypothesen. Beachtenswert unter ihnen sind Vorschläge die verdichtete Erscheinungsform des *Deinococcus*-Genoms oder die ungewöhnliche Leistung, die Oxidation von Proteinen zu vermeiden, als Schlüssel zur Strahlungsresistenz anzusehen. Gleichgültig welche physiologische oder metabolische Adaptation *Deinococcus* hilft, das Überleben zu fördern, lässt sich eine extreme Genom-Wiederherstellung kaum ohne Zuhilfenahme von DNA-Reparatur vorstellen.

Testen Sie Ihr Wissen

Welche Quecksilberformen sind für Lebewesen am giftigsten?

Wie wird Quecksilber von Bakterien entgiftet? Wie kommt es in Bakterien zur Resistenz gegen anorganische und organische Quecksilberverbindungen?

Nennen Sie mindestens drei unterschiedliche Mechanismen, die zur Resistenz von Bakterien gegen Schwermetalle oder Metalloide führen können!

Wozu können Mikroorganismen Arsenat, wozu Arsenit nutzen?

Vergleichen Sie die Mechanismen der Entfernung von organischen Verbindungen und Schwermetallen aus Umweltmedien. Was unterscheidet die Reinigung von Böden oder Wässern bei Verunreinigungen mit anorganischen Schadstoffen von der bei Verunreinigungen mit organischen Schadstoffen?

Vergleichen Sie die „natürlichen" und anthropogenen Quellen für Arsenkontamination.

Welche Verfahren sind für die Eliminierung von Schwermetallen aus der Umwelt möglich?

Nennen Sie Beispiele für die Möglichkeit der Immobilisierung von Metallen und Metalloiden unter oxidierenden Bedingungen. Durch welche mikrobiell verursachten Mechanismen können anorganische Schadstoffe unter reduzierenden Bedingungen immobilisiert werden?

Können Bakterien Cd^{2+} und Ni^{2+} mittels Reduktion entgiften?

Nennen Sie drei unterschiedliche Ionen anorganischer Schadstoffe, die zur Energiegewinnung mittels Elektronentransport-Phosphorylierung dienen können.

Literatur

Heider, J., Böck, A. 1994. Selenium metabolism in microorganisms. Adv. Microbiol. Physiol. 35:71–109.

Lebrun, E., Brugna, M., Baymann, F., Muller, D., Lievremont, D., Lett, M. C., Nitschke, W. 2003. Arsenite oxidase, an ancient bioenergetic enzyme. Mol. Biol. Evol. 20:686–693.

Nies, D. H. 1999. Microbial heavy-metal resistance. Appl. Microbiol. Biotechnol. 51:730–750.

Selin, N. E. 2011. Science and strategies to reduce mercury risks: a critical review. J. Environ. Monit. 13:2389–2399.

Weiterführende Literatur

Babich, H., Stotzky, G. 1980. Environmental factors that influence the toxicity of heavy metal and gaseous pollutants to microorganisms. Crit. Rev. Microbiol. 8:99–145.

Cox, M. M., Keck, J. L., Battista, J. R. 2010. Rising from the Ashes: DNA repair in *Deinococcus radiodurans*. PLoS Genet. January; 6(1): e1000815.

Croal, L. R., Gralnick, J. A., Malasarn, D., Newman, D. K. 2004. The genetics of geochemistry. Annu. Rev. Genet. 38:175–202.

Diels, L., Dong, Q., van der Lelie, D., Baeyens, W., Mergeay, M. 1995. The *czc* operon of *Alcaligenes eutrophus* CH34: from resistance mechanism to the removal of heavy metals. J. Industrial Microbiol. 14:142–153.

Duxbury, T. 1986. Ecological aspects of heavy metal responses in microorganisms. Adv. Microb. Ecol. 8:185–235.

Francis, A. J., Dodge, C. J., Lu, F., Halada, G. P., Clayton, C. R. 1994. XPS and XANES studies of uranium reduction by *Clostridium* sp. Environ. Sci. Technol. 28:636–639.

Fredrickson, J. K., Kostandarithes, H. M., Li, S. W., Plymale, A. E., Daly, M. J. 2000. Reduction of Fe(III) Cr(VI), and Te(VII) by *Deinococcus radiodurans* R1. Appl. Environ. Microbiol. 66:2006–2011.

Gadd, G. M. 1992. Metals and microorganisms: a problem of definition. FEMS Microbiol. Lett. 100:197–204.

Gu, B., Wu, W., Ginder-Vogel, M. A., Yan, H., Fields, M. W., Zhou, J., Fendorf, S., Criddle, C. S., Jardine, P. M. 2005. Bioreduction of uranium in a contaminated soil column. Environ. Sci. Technol. 39:4841–4847.

Lovley, D. R. 1995. Bioremediation of organic and metal contaminants with dissimilatory metal reduction. J. Industrial Microbiol. 14:85–93.

Lovley, D. R., Phillips, E. J. P. 1992. Reduction of uranium by *Desulfovibrio desulfuricans*. Appl. Environ. Microbiol. 58:850–856.

Lovley, D. R., Phillips, E. J. P. 1994. Reduction of chromate by *Desulfovibrio vulgaris* and its *c*3 cytochrome. Appl. Environ. Microbiol. 60:726–728.

Lovley, D. R., Phillips, E. J. P., Groby, Y. A., Landa, E. R. 1991. Microbial reduction of uranium. Nature 350:413–416.

Oremland, R. S., Stolz, J. F. 2003. The ecology of arsenic. Science 300:939–944.

Schwarzenbach, R. P., Egli, T., Hofstetter, T. B., von Gunten, U., Wehrli, B. 2010. Global water pollution and human health. Annu. Rev. Environ. Resour. 35:109–136.

Selin, N. E. 2009. Global biogeochemical cycling of mercury: a review. Annu. Rev. Environ. Resour. 34:43–63.

Silver, S., Phung, L. T. 2005. A bacterial view of the periodic table: genes and proteins for toxic inorganic ions. J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 32:587–605.

Stolz, J. F., Oremland, R. S. 1999. Bacterial respiration of arsenic and selenium. FEMS Microbiol. Rev. 23:615–627.

Tebo, B. M., Obraztsova, A. Y. 1998. Sulfate-reducing bacterium grows with Cr(VI), U(VI), Mn(IV), and Fe(III) as electron acceptors. FEMS Microbiol. Lett. 162:193–198.

Van Nostrand, J. D., Wu, W.-M., Wu, L., Deng, Y., Carley, J., Carroll, S., He, Z., Gu, B., Luo, J., Criddle C. S., Watson, D. B., Jardine, P. M., Marsh, T. L., Tiedje, J. M., Hazen, T. C., Zhou, J. 2009. GeoChip analysis of functional communities. Environ. Microbiol. 11:2611–2626.

Wild, A. 1993. Soils and the Environment: An Introduction, Cambridge University Press, Cambridge.

Wood, J. M. 1974. Biological cycles for toxic elements in environment. Science 183:1049–1052.

Wu, Q., Sanford, R. A., Löffler, F. E. 2006b. Uranium(VI) reduction by *Anaeromyxobacter dehalogenans* strain 2CP-C. Appl. Environ. Microbiol. 72:3608–3614.

Wu, W. M., Carley, J., Fienen, M., Mehlhorn, T., Lowe, K., Nyman J., Luo, J., Gentile, M. E., Rajan, R., Wagner, D., Hickey, R. F., Gu, B., Watson, D., Cirpka, O. A., Kitanidis, P. K., Jardine, P. M., Criddle, C. S. 2006. Pilot-scale *in situ* bioremediation of uranium in a highly contaminated aquifer 1: conditioning of a treatment zone. Environ. Sci. Technol. 40:3978–3985.

Wu, W. M., Carley, J., Gentry, T., Ginder-Vogel, M. A., Fienen, M., Mehlhorn, T., Yan, H., Caroll, S., Pace, M. N., Nyman, J., Luo, J., Gentile, M. E., Fields, M. W., Hickey, R. F., Gu, B., Watson, D., Cirpka, O. A., Zhou, J., Fendorf, S., Kitanidis, P. K., Jardine, P. M., Criddle, C. S. 2006. Pilot-scale in situ bioremediation of uranium in a highly contaminated aquifer. 2: U(VI) reduction and geochemical control of U(VI) bioavailability. Environ. Sci. Technol 40:3986–3995.

Wu, W. M., Carley, J., Luo, J., Ginder-Vogel, M. A., Cardenas, E., Leigh, M. B., Hwang, C., Kelly, S. D., Ruan, C., Wu, L., Van Nostrand, J., Gentry, T., Lowe, K., Mehlhorn, T., Carroll, S., Luo, W., Fields, M. W., Gu, B., Watson, D., Kemner, K. M., Marsh, T., Tiedje, J., Zhou, J., Fendorf, S., Kitanidis, P. K., Jardine, P. M., Criddle, C. S. 2007. In situ bioreduction of uranium (VI) to submicromolar levels and reoxidation by dissolved oxygen. Environ. Sci. Technol. 41:5716–5723.

Wuertz, S., Mergeay, M. 1997. The impact of heavy metals on soil microbial communities and their activities. In: Modern soil microbiology. J.D. van Elsas, J.T.Trevors, E.M.H. Wellington (eds.), Marcel Dekker, Inc. New York, p. 606–642.

CRC Handbook of Chemistry and Physics, Weast RC (ed.) 1984. Metal Ions in Biological Systems: Mercury and its effects on environment and biology. Volume 34. Editors A. Sigel and H. Sigel. Marcel Dekker Inc., New York, New York. 1997.

► http://www.ec.gc.ca/MERCURY/EH/EN/eh-mb.cfm?SELECT=EH.

► http://www.umweltbundesamt.de/wasser-e/themen/oberflaechengewaesser/ow_s2_2.htm *Water, Drinking Water, and Water Protection. Overview of quality standards of the EC, the international river basin communities, and LAWA.*

► http://www.umweltbundesamt.de/boden-und-altlasten/boden/bodenschutz/vorsorge.htm *Schwermetalle im Boden.*

► http://EnvironmentalChemistry.com/yogi/periodic *Kenneth Barbalace. Periodic Table of Elements. EnvironmentalChemistry.com. 1995–2011. Accessed online: 3/9/2011.*

► http://ec.europa.eu/environment/chemicals/mercury/index.htm *Quecksilber.*

Mikroorganismen an unterschiedlichen Standorten: Lebensbedingungen und Anpassungsstrategien

10.1 Mikrobielle Konkurrenz und Kooperation – 370
10.1.1 Wachstumsraten und Nährstoffkonzentrationen – 370
10.1.2 Adaptation – 374
10.1.3 Mischsubstrate – 382
10.1.4 Grenzkonzentrationen – 383
10.1.5 Mikrobielle Kooperation – 384

10.2 Anheftung an Oberflächen und Biofilme – 385
10.2.1 Oberflächen – 385
10.2.2 Biofilme – 385

10.3 Boden als mikrobielles Habitat – 388

10.4 Aquatische Biotope – 395
10.4.1 Süßwasser Umgebung – 395
10.4.2 Marine Umgebungen – 399

Literatur – 413

© Springer-Verlag GmbH Deutschland, ein Teil von Springer Nature 2020
W. Reineke und M. Schlömann, *Umweltmikrobiologie,* https://doi.org/10.1007/978-3-662-59655-5_10

Die natürlichen Habitate von Mikroorganismen sind außerordentlich vielfältig. Jedes Biotop erlaubt das Wachstum von Mikroorganismen, selbst wenn extreme physikalische oder chemische Bedingungen vorherrschen. Die Lebensbereiche umfassen zum Beispiel das freie Wasser der Ozeane oder von Seen. Andere Organismen leben hingegen auf oder in festen Matrices wie in Sedimenten oder im Boden. Mikroorganismen besiedeln zudem die Oberfläche höherer Organismen und leben in einigen Fällen sogar innerhalb von Pflanzen und Tieren. Hohe Populationsdichten werden in solchen Habitaten erreicht.

Das Wachstum von Mikroorganismen in der Natur hängt von den **Wachstumsbedingungen** und den vorhandenen **Ressourcen (Nährstoffen)** ab. Unterschiede in den physiko-chemischen Bedingungen (Temperatur, pH-Wert, Wasser, Licht, Sauerstoff) und in der Art und Menge verschiedener Ressourcen eines Biotops definieren die Nische für einen bestimmten Mikroorganismus. Auf der Erde existieren zahllose Nischen, die für die große metabolische Vielfalt der heutigen Mikroorganismen verantwortlich sind.

Physiko-chemische Randbedingungen für Überleben beziehungsweise optimales Wachstum

In ihrer Gesamtheit decken die Mikroorganismen einen erstaunlich breiten Bereich an physiko-chemischen Bedingungen ab, während einzelne Arten immer sehr eingeschränkt sind (siehe ◘ Tab. 10.1).

Wachstum von Mikroorganismen ist über einen weiten Temperaturbereich möglich. *Polaromonas* wächst noch bei 0 °C, während *Pyrodictium* als Beispiel für Wachstum im anderen Extrem von 121 °C bekannt ist. Für die einzelne Art hängt der Temperaturbereich optimalen Wachstums mit ihrem Lebensraum zusammen. Um diesen Bereich zu charakterisieren, spricht man von psychrophilen, mesophilen, thermophilen, hyperthermophilen oder extrem hyperthermophilen Organismen, je nachdem ob sie an niedrige, mittlere, hohe oder sogar sehr hohe Wachstumstemperaturen angepasst sind (◘ Abb. 10.1b). Die Besiedelung von hydrothermalen Tiefseequellen durch Prokaryoten im Bereich von 125 bis zu etwa 140 °C ist dokumentiert. Eine Obergrenze des Überlebens von etwa 150 °C wird angenommen.

Auch vom **Druck** kann es abhängen, ob ein Organismus in einem Lebensraum wachsen kann. Dies ist besonders offensichtlich bei barophilen Organismen der Tiefsee. Tiefseemikroorganismen müssen in der Lage sein, dem enormen hydrostatischen Druck standzuhalten, der in großen Tiefen herrscht. Der Druck nimmt alle 10 m um 1 atm zu. Somit muss ein Mikroorganismus, der in einer Tiefe von 5000 m wächst, in der Lage sein, einem Druck von 500 atm standzuhalten. Manche Organismen tolerieren hohen Druck, sie sind **barotolerant**, andere brauchen den hohen Druck, sie sind **barophil** (◘ Abb. 10.2). Die Verteilung von barotoleranten und barophilen Bakterien ist eine Funktion der Tiefe. Organismen, die aus Tiefen von bis zu etwa 3000 m isoliert wurden sind barotolerant. Barotolerante Isolate wachsen nicht bei einem Druck über 500 atm. Im Gegensatz dazu sind Kulturen, die aus größeren Tiefen, 4000–6000 m, stammen barophil. Sie wachsen optimal bei einem Druck von etwa 400 atm. Proben aus noch größerer Wassertiefe (10.000 m) fördern extrem (obligat) Barophile zutage. Sie wachsen am schnellsten bei einem Druck von 700–800 atm und fast genauso gut bei 1035 atm, dem Druck im natürlichen Habitat. Sie wachsen nicht bei Druck unter 400 atm.

Bei den chemischen Randbedingungen spielt der **pH-Wert** des Lebensraumes eine besondere Rolle. Während viele der bekannten Organismen bevorzugt im neutralen Bereich wachsen (neutrophile Mikroorganismen), wachsen die acidophilen Mikroorganismen bevorzugt oder ausschließlich bei niedrigen bis sehr niedrigen pH-Werten (bis pH 0), während alkaliphile Mikroorganismen an höhere pH-Werte angepasst sind. Der pH-Wert von Lebensräumen wird häufig stark von mikrobieller Aktivität beeinflusst. Dies spiegelt

sich auch darin wider, dass säurebildende Organismen meist mehr oder weniger acidophil sind.
Auch hohe **Salzgehalte** eines Lebensraumes können über das verfügbare Wasser das Wachstum von Mikroorganismen begrenzen. Bei Organismen, die relativ hohe Salzkonzentrationen tolerieren, spricht man von halotoleranten Mikroorganismen. Wenn sie bei erhöhten Salzkonzentrationen überhaupt erst wachsen, wie zum Beispiel manche Archaea, die erst bei Salzkonzentrationen über 0,2 M wachsen (zum Beispiel *Halobacterium*), spricht man von halophilen Mikroorganismen (siehe ► Abschn. 10.1.2.1).

Tab. 10.1 Mikrobielle Antwort auf Umwelteinflüsse

Einflussfaktoren mit ihren Mikroorganismen	Beschreibung/Definition des Verhaltens	Repräsentative Mikroorganismen
Wasseraktivität		
Osmotolerante	Ist in der Lage über einen weiten Bereich and Wasseraktivität oder osmotischer Konzentration zu wachsen	*Staphylococcus aureus*
Halophile	Benötigt höhere Konzentrationen an NaCl, gewöhnlich über 0,2 M zum Wachstum	*Halobacterium salinarum*
pH		
Acidophile	Wachstumsoptimum zwischen pH 0 und 5,5	*Sulfolobus, Picrophilus oshimae*
Neutrophile	Wachstumsoptimum zwischen pH 5,5 und 8,0	*Escherichia, Euglena*
Alkalophile	Wachstumsoptimum zwischen pH 8,0 und 11,5	*Bacillus alcalophilus, Natrobacterium gregoryi*
Temperatur		
Psychrophile	Wächst gut bei 0 °C and hat eine optimale Wachstumstemperatur bei 15 °C oder tiefer	*Bacillus psychrophilus, Polaromonas vacuolata*
Psychrotrophe	Kann bei 0–7 °C wachsen; hat ein Optimum der Wachstumstemperatur zwischen 20 und 30 °C und ein Maximum um 35 °C	*Listeria monocytogenes, Pseudomonas fluorescens*
Mesophile	Hat ein Optimum um 20–45 °C	*Escherichia coli*
Thermophile	Kann bei 55 °C oder höher wachsen; Optimum oft zwischen 55 und 65 °C	*Bacillus stearothermophilus, Thermus aquaticus*
Hyperthermophile	Hat ein Optimum zwischen 80 und sogar 113 °C	*Sulfolobus, Pyrococcus, Pyrodictium, Pyrolobus fumarii*
Sauerstoffkonzentration		
obligat Aerobe	Ist gänzlich auf atmospärische O_2-Konzentration für Wachstum angewiesen	*Micrococcus luteus, Pseudomonas*
fakultativ Anaerobe	Braucht keinen O_2 zum Wachstum, wächst aber besser in Gegenwart von O_2	*Escherichia, Enterococcus*
aerotolerante Anaerobe	Wächst gleich gut in Gegenwart und Abwesenheit von O_2	*Streptococcus pyogenes*
obligat Anaerobe	Toleriert keinen O_2 und stirbt in Gegenwart	*Clostridium*

(Fortsetzung)

Tab. 10.1 (Fortsetzung)

Einflussfaktoren mit ihren Mikroorganismen	Beschreibung/Definition des Verhaltens	Repräsentative Mikroorganismen
Mikroaerophile	Benötigt O_2-Konzentrationen unter 2–10 % für das Wachstum und wird durch atmosphären Konzentration (20 %) zerstört	*Campylobacter*
Druck		
Barophile	Wächst sehr viel schneller bei hohem hydrostatischen Druck	*Photobacterium profundum, Methanococcus jannaschii*

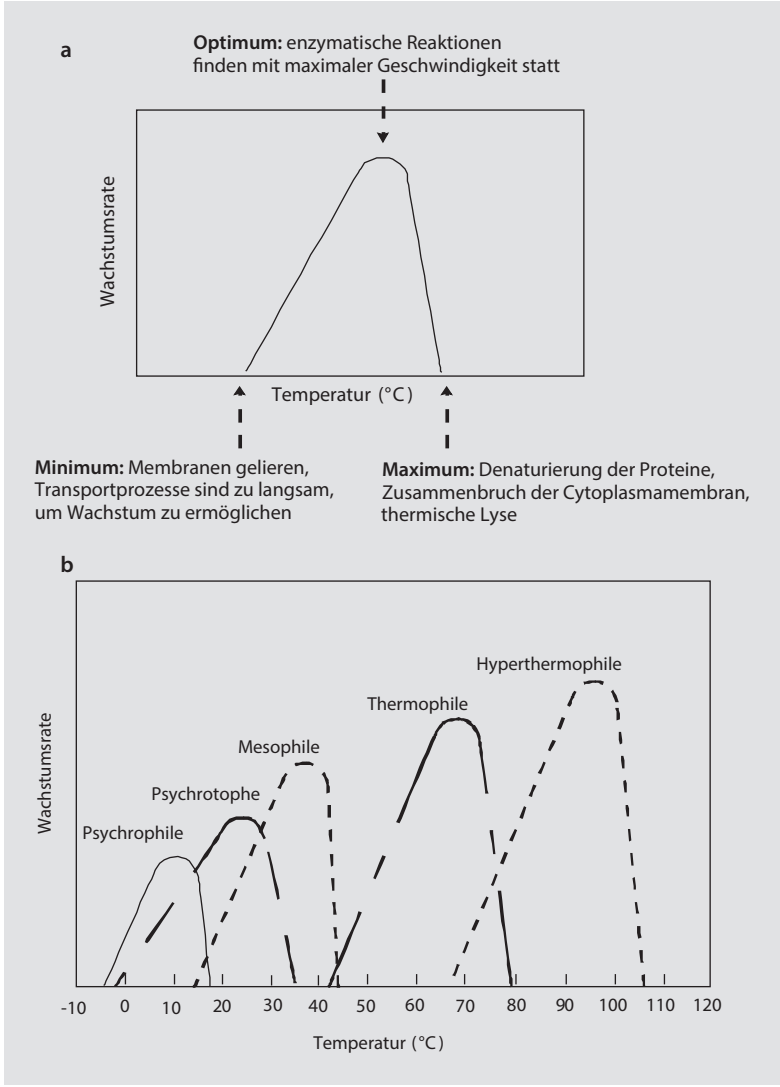


Abb. 10.1 **a** Einfluss der Temperatur auf den Stoffwechsel. **b** Temperaturbereiche des Wachstums verschiedener Organismen

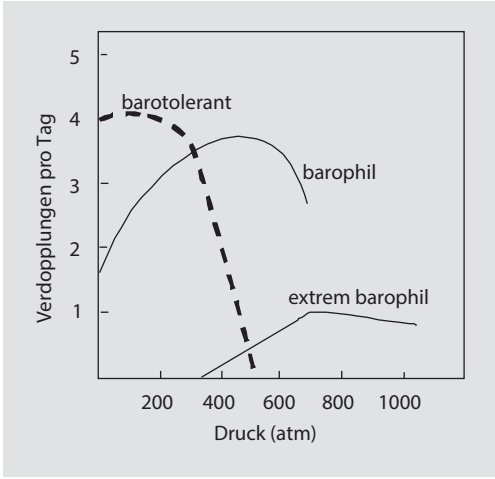


Abb. 10.2 Abhängigkeit der Wachstumsgeschwindigkeit vom Druck bei barotoleranten, barophilen und extrem barophilen Bakterien

Die geringe Größe der Mikroorganismen erlaubt Habitate auf kleinstem Raum. Es können innerhalb weniger Millimeter **physikalische** und **chemische Gradienten** in Habitaten existieren, die die Mikroorganismen stark beeinflussen. Dies lässt sich anhand der Verteilung von Sauerstoff in einem Bodenpartikel verdeutlichen. Bodenpartikel sind in Bezug auf ihren Sauerstoffgehalt nicht homogen. Die äußeren Zonen eines kleinen Bodenpartikels können vollkommen aerob sein, während im Zentrum vollständig anaerobe Bedingungen herrschen können (◘ Abb. 10.3). Dies zeigt, dass innerhalb sehr kleiner räumlicher Dimensionen unterschiedliche Nischen existieren können. Es erklärt, wie in einem solchen Bodenpartikel verschiedene physiologische Typen von Mikroorganismen coexistieren können. Anaerobe Mikroorganismen können in der Mitte des dargestellten Bodenpartikels aktiv sein, Mikroaerophile weiter außen. Obligat aerobe Mikroorganismen können ihren Stoffwechsel in den äußeren 2 bis 3 mm des Partikels betreiben, während fakultativ anaerobe Bakterien im ganzen Partikel verteilt sein können. Ähnliches findet man in Biofilmen, die später angesprochen werden.

Die physiko-chemischen Bedingungen in der Mikrowelt können sich zudem auch schnell ändern. So kann sich ein deutlicherer Sauerstoffgradient aufgrund der mikrobiellen Atmung im Bodenpartikel oder nach Zunahme des Bodenwassergehalts in der Mikrowelt ergeben. Die Mikroumgebungen sind also **heterogen** und können sich **sehr schnell ändern.**

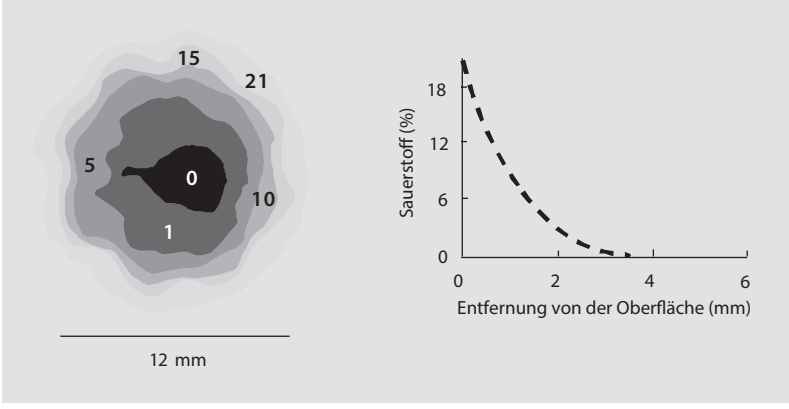


Abb. 10.3 Bodenpartikel und Sauerstoffkonzentration

10.1 Mikrobielle Konkurrenz und Kooperation

Nährstoffe treten oft in unterschiedlichen Mengen in ein Ökosystem ein. Eine große Ansammlung von Nährstoffen – zum Beispiel Laub oder ein Kadaver – kann von einer Periode starken Nährstoffmangels gefolgt sein. Das heißt Mikroorganismen führen in der Natur eine „Gelage- oder Hunger"-Existenz. Viele Mikroorganismen haben biochemische Systeme entwickelt, die Speicherpolymere als Reservestoffe produzieren, um überschüssige Nährstoffe, die unter günstigen Wachstumsbedingungen vorhanden sind, für die Verwendung in Zeiten der Nährstoffknappheit zu speichern. In der Natur sind ausgedehnte Perioden exponentiellen Wachstums von Mikroorganismen jedoch selten. Das Wachstum findet häufiger in Schüben statt, die eng an das Vorhandensein von Nährstoffen gekoppelt sind. Weil die physiko-chemischen Bedingungen in der Natur selten zur gleichen Zeit alle optimal sind, liegen die Wachstumsraten von Mikroorganismen draußen im Allgemeinen weit unter den maximalen Wachstumsraten, die im Labor ermittelt werden. Schätzungen der Wachstumsrate von Bodenbakterien haben ergeben, dass sie in der Natur mit weniger als einem Prozent der maximalen im Labor gemessenen Rate wachsen. Diese niedrigen Wachstumsraten spiegeln die Tatsache wider, dass

- Nährstoffe häufig in geringer Menge vorhanden sind,
- die Verteilung von Nährstoffen im mikrobiellen Habitat nicht gleichmäßig ist und
- Mikroorganismen gewöhnlich in natürlicher Umgebung in Konkurrenz zu anderen Mikroorganismen stehen.

Der Wettbewerb von Mikroorganismen um vorhandene Ressourcen kann sehr intensiv sein. Die folgenden Punkte sind von Bedeutung:

- Aufgrund der langsamen Hydrolyse von partikulärem organischem Material wird das Wachstum von heterotrophen Mikroorganismen in den meisten Ökosystemen durch die Verfügbarkeit von Kohlenstoff- und Energiesubstraten kontrolliert.
- In der Natur wachsen die Mikroorganismen großenteils mit Gemischen von Substraten, sodass das Wachstum nicht durch ein einziges, sondern zwei oder mehrere Substrate gleichzeitig kontrolliert wird.
- Die kinetischen Eigenschaften einer Zelle können sich durch Adaptation ändern.

10.1.1 Wachstumsraten und Nährstoffkonzentrationen

Wachstum oder Abbauphänomene lassen sich zum Großteil zufriedenstellend mit den vier folgenden Parametern beschreiben, den beiden **kinetischen Parametern**, 1) die **maximale, spezifische Wachstumsrate** (μ_{max}, h^{-1}) und 2) die **Affinitätskonstante** (K_s, µg/Liter), wie sie im Monod Wachstumsmodell benutzt wird und die Substratkonzentration bei $\mu = 0{,}5\ \mu_{max}$ bezeichnet, sowie 3) den **Stöchiometrieparameter,** Ausbeutekoeffizient ($Y_{X/s}$, g Zellen pro g umgesetztem Substrat), der die Effizienz der Umwandlung des Wachstumssubstrat in Zellmaterial beschreibt, und 4) eine **Grenzsubstratkonzentration** (s_{min}, µg/Liter), bei der das Bakterienwachstum gleich Null ist, also die für den Erhaltungsstoffwechsel notwendige Substratkonzentration.

Mikrobielles Wachstum

Natürliche Lebensräume von Bakterien können durch starke Schwankungen der Nährstoffversorgung oder auch durch große Konstanz gekennzeichnet sein.
Im Labor werden die beiden Idealtypen der Nährstoffversorgung durch zwei verschiedene Kultivierungsformen von Mikroorganismen realisiert:

- Wird ein Nährmedium in einem geschlossenen Gefäß mit Bakterien angeimpft, so können sich die Bakterien so lange entwickeln, bis irgendein Nährstoff begrenzend wird oder sich irgendein hemmendes Stoffwechselprodukt anhäuft (◘ Abb. 10.4). Die Konzentration von Nährstoffen nimmt hierbei im Verlauf der Kultivierung ab, und man spricht von **statischer Kultur** oder batch-Kultur, wobei „begrenzte Kultur" vielleicht ein treffenderer Ausdruck wäre.
- Wird einer Bakterienkultur dagegen ständig frisches Nährmedium zugeführt und entsprechend Kulturflüssigkeit abgeführt, stellen sich konstante Bedingungen ein, bei denen die Bakterienkultur ständig weiter wächst (◘ Abb. 10.5). Diese Kultivierungsform bezeichnet man als **kontinuierliche Kultur.**

Daten zum Chemostat: Bakterium mit den Parametern: $\mu_{max} = 1\ h^{-1}$, $Y_{X/S} = 0{,}5$ g Zellen pro g umgesetztes Substrat, $K_s = 0{,}2$ g/L; Substratkonzentration im Zulauf: 10 g/L; D_m: Verdünnugsrate mit maximaler Produktivität. Die Stabilität des Fließgleichgewichtes im Chemostaten beruht auf der Begrenzung der Wachstumsrate durch ein Substrat. Stellt man eine über längere Zeit konstante Zuflussgeschwindigkeit ein, so regelt sich das System von selbst.
Zur Charakterisierung mikrobiellen Wachstums oder ökologischer Strategien benötigt man Kenngrößen, die sich am einfachsten unter der Annahme der Bedingungen einer statischen Kultur ableiten lassen:
Nimmt man zunächst an, dass ein Nährmedium mit einer gewissen Zahl N_0 entsprechend angepasster Bakterien beimpft wird und dass diese sich anfangs ungehindert und gleichzeitig teilen, dann wird sich ihre Zahl mit jedem Teilungszyklus verdoppeln. Die Bakterienzahl N nach n synchron ablaufenden Teilungszyklen wäre dann:

$$N = N_0 \times 2^n$$

Die Zeit, die zwischen zwei aufeinander folgenden Teilungen vergeht, bezeichnet man als Generationszeit g, ihren Kehrwert als Teilungsrate ν.
Tatsächlich teilen sich die Bakterien einer Kultur jedoch nicht gleichzeitig und ihre Zahl N wie auch insbesondere ihre Masse X werden in einer statischen Kultur anfangs kontinuierlich und exponentiell steigen. Die Zunahme der Bakterienmasse pro Zeiteinheit dX/dt hängt in dieser Phase von der schon vorhandenen Masse sowie von einem Faktor μ ab, den man als **Wachstumsrate** bezeichnet:

$$dX/dt = X \times \mu$$

Durch Umstellung und Integration zwischen den Zeitpunkten t_0 und t erhält man hieraus:

$$\ln(X/X_0) = \mu(t - t_0) \quad \text{oder}$$

$$X = X_0 \times e^{\mu \times (t - t_0)}$$

Betrachtet man die Verdopplungszeit t_d, also die Zeit die vergeht bis $X = 2\ X_0$, so gilt:

$$\ln 2 = \mu \times t_d \quad \text{oder} \quad \mu = \ln 2/t_d$$

Die Phase exponentiellen Wachstums ist in einer statischen Kultur jedoch sehr begrenzt. Irgendwann wird die knapp werdende Konzentration eines Nährstoffes oder die Akkumulation hemmender Stoffwechselprodukte das weitere Wachstum begrenzen. Die Bakterienmasse nähert sich an die maximale **Kapazität** K des Systems an. Die Zunahme der Bakterienmasse pro Zeiteinheit dX/dt lässt sich unter Berücksichtigung der Kapazität des Systems deshalb statt mit obiger Gleichung korrekter wie folgt beschreiben:

$$dX/dt = X \times \mu \times (K - X)/K$$

(nach Lengeler et al., 1999)

Der zusätzliche Term ist ungefähr gleich 1, solange die Bakterienmasse X im Vergleich zur Kapazität K klein ist. Mit Annäherung von X an K geht der Term gegen 0, und das Wachstum kommt letztlich zum Erliegen.

Beispiel: Gedanken zu Kapazitätsgrenzen
Wie lange dauert es, bis eine Zelle der folgenden Mikroorganismenart so weit herangewachsen ist, dass die gebildeten Zellen die gesamte Oberfläche der Erde inklusive der Ozeane

(510 Mio km^2) mit einer einen Meter dicken Schicht bedecken (ohne Lücken zwischen den Zellen; keine Änderung der Dichte)?

Angenommen:

1. Der Mikroorganismus habe ein Volumen von 1,6 μm^3 (Stäbchen von 2 μm Länge und 1μm Durchmesser).
2. Der Mikroorganismus teilt sich alle 20 min (wie *Escherichia coli* unter optimalen Bedingungen).
3. Das System habe eine unbegrenzte Kapazität, das heißt Nährstoffe werden nicht knapp.

Es würde theoretisch nur etwa 36 h dauern.

Das Beispiel zeigt, dass Kapazitätsgrenzen und insbesondere Nährstofflimitationen bei exponentiellem Wachstum sehr schnell wirksam werden und das Wachstum deutlich verlangsamen oder sogar stoppen können.

In zahlreichen Fällen beobachtet man, dass Mikroorganismen bei hohen Substratkonzentrationen in der exponentiellen Phase schneller wachsen als bei niedrigen. Die Wachstumsrate μ ist also keine Konstante, sondern nähert sich mit steigender Substratkonzentration einem Maximalwert μ_{max} an (◘ Abb. 10.6), wobei die bei einer bestimmten Substratkonzentration erreichte Wachstumsrate entscheidend von der Affinität des Mikroorganismus zum Substrat abhängt. Aufgrund der formalen Ähnlichkeit zu der in der Enzymkinetik beschriebenen Michaelis-Menten-Gleichung wurde die **Monod-Gleichung** wie folgt formuliert:

$$\mu = \mu_{max} \times [S]/(K_S + [S])$$

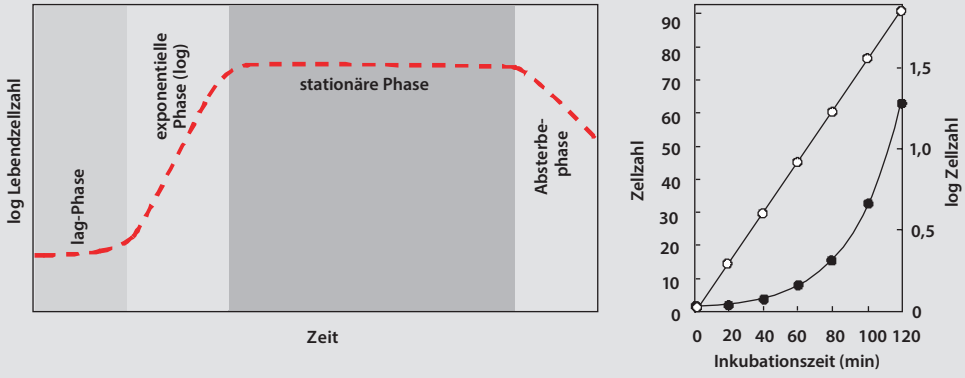
[S] - Substratkonzentration;
μ_{max} - maximale Wachstumsrate;
K_S - Substrataffinitätskonstante)

10

In einem Ökosystem können schnell und langsam wachsende Arten neben- und miteinander leben. Im einfachsten Fall hängt das Ergebnis eines Wettstreits zwischen verschiedenen Mikroorganismen von den Raten der Nährstoffaufnahme, inhärenten Stoffwechselraten und letztendlich den Wachstumsraten ab. Die Wachstumsrate ist eines der zentralen Selektionskriterien.

In ◘ Abb. 10.7 sind Substratsättigungskurven für zwei verschiedene Typen von Mikroorganismen zum Vergleich dargestellt. Der Organismus I hat eine hohe Substrataffinität, das heißt einen niedrigen K_s-Wert und eine niedrige maximale, spezifische Wachstumsrate. Organismus II hat einen hohen K_s und einen hohen μ_{max}.

Bei einer hohen Substratzufuhr wird Organismus II viel schneller als Organismus I wachsen und er wird damit wahrscheinlich Organismus I überwachsen. Bei niedriger Zufuhr unterhalb des Schnittpunktes der



◘ **Abb. 10.4** Illustration von statischer Kultur und Phasen einer Wachstumskurve

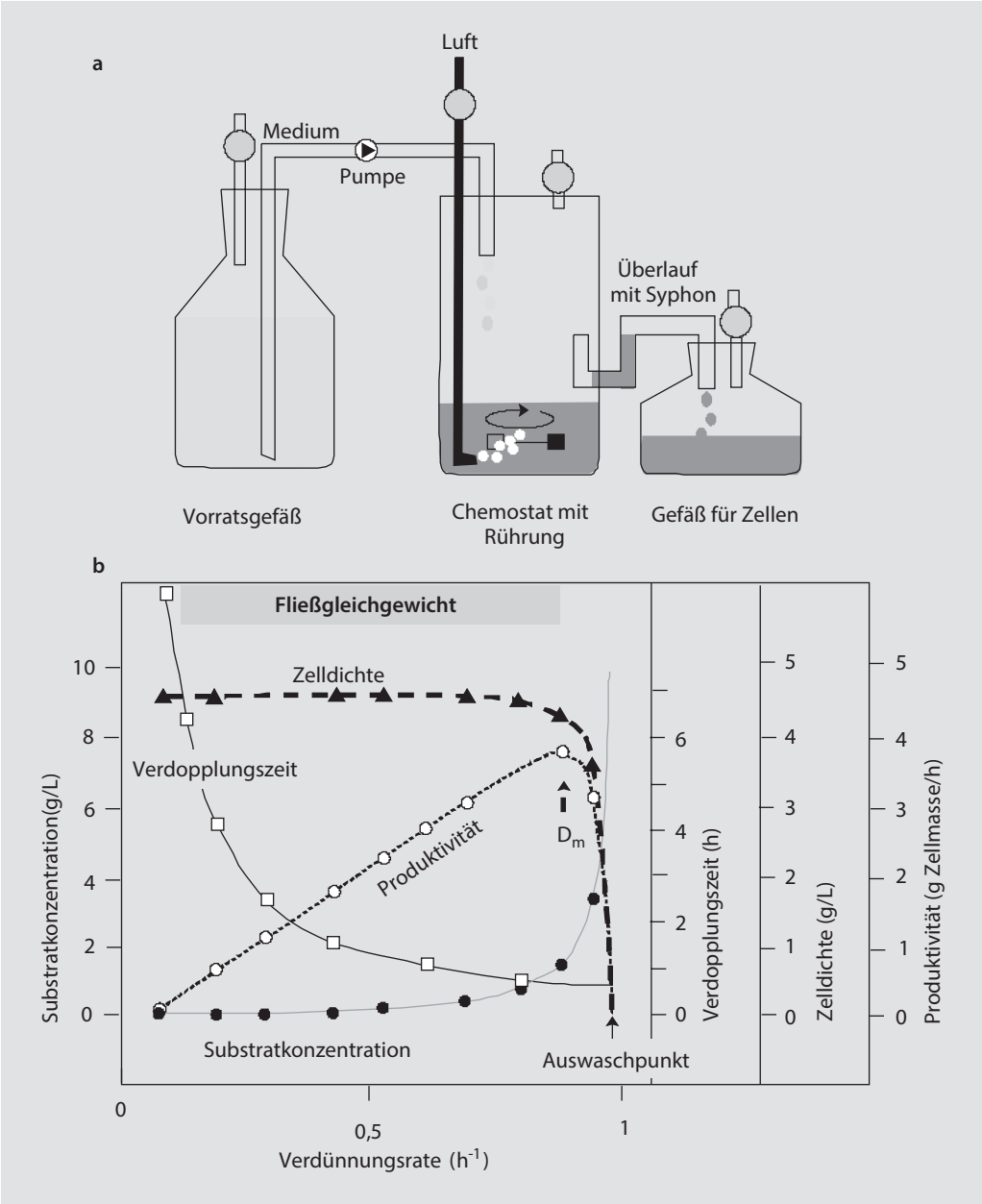


Abb. 10.5 Illustration von Kontikultur und Substratkonzentration im Chemostaten

beiden Sättigungskurven hat Organismus I eine höhere Wachstumsrate als Organismus II und wird ihn wegen dieses Substrates aus dem Felde schlagen. Organismus I ist besser an niedrigen, aber stetigen Substratzufluss angepasst, während Organismus II vorzugsweise den plötzlichen Substratstoß als Vorteil hat. Offensichtlich repräsentiert Organismus I den **autochthonen** Typus eines Mikroorganismus, der langsam aber stetig wächst und einen geringen aber ständigen Substratzufluss ausnutzt. Organismus II repräsentiert den **zymogenen**

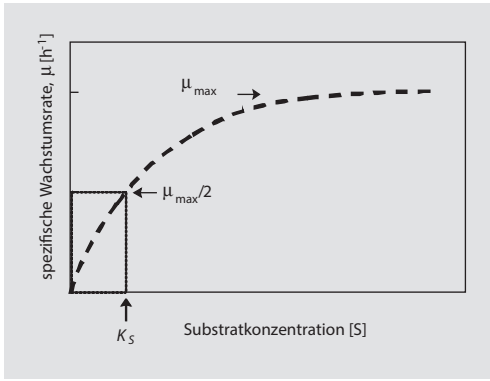


Abb. 10.6 Monod-Kinetik mit K_S

Typus, der zeitweise schnell wächst, aber nicht in der Lage ist, sich bei niedrigem Substratzufluss zu behaupten.

Mikroorganismen, die an die im Ökosystem vorherrschenden Bedingungen angepasst sind, werden nach Winogradsky (1925) als **autochthon** bezeichnet. Heute wird der Begriff **„autochthon"** vielfach in einem umfassenderen Sinne für die standorteigene Mikroflora angewandt (engl. **indigenous** – eingeborene).

In der allgemeinen Ökologie spricht man von Vertretern mit **r-** und **K-Strategie**. Das Symbol **r** geht auf Rate zurück und kennzeichnet Arten mit hoher Wachstumsrate, die aber leicht aus einem Ökosystem verloren gehen, dies in Abhängigkeit von den Wechseln im System **(r-Strategie). K** bedeutet Kapazität für vielfältige Stoffwechselleistungen, die den Organismen ohne schnelle Vermehrung eine Existenz unter stetiger und optimaler Nutzung aller Ressourcen des Systems ermöglichen **(K-Strategie).**

10.1.2 Adaptation

Um in der Natur zu überleben und erfolgreich zu konkurrieren, sind die meisten Mikroorganismen in der Lage, sich den Umweltherausforderungen durch Anpassen ihrer zellulären Beschaffenheit bezüglich Struktur und metabolischer Funktion zu stellen. Unabhängig davon, ob die adaptiven Änderungen auf der phänotypischen Ebene, der genotypischen Ebene oder beiden ablaufen, ist es klar, dass sie Wachstum und/oder die kinetischen Abbaueigenschaften beeinflussen, die die Zelle besitzt.

Während ihrer Lebenszyklen stoßen viele heterotrophe Mikroorganismen auf Habitate,

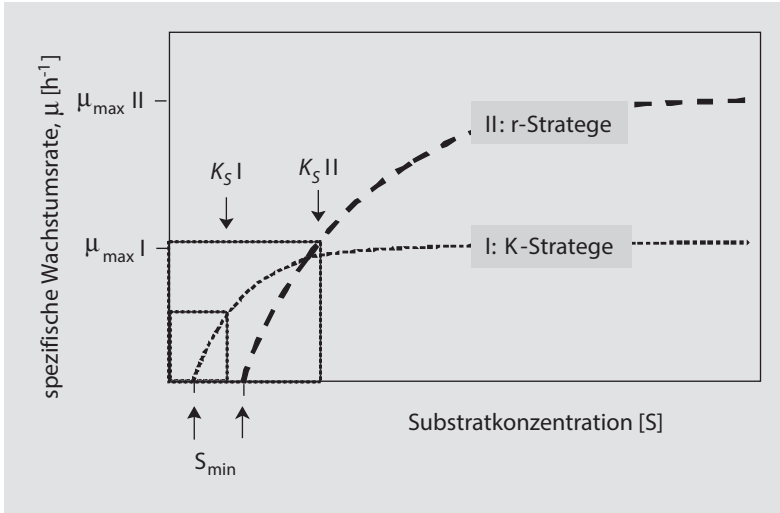


Abb. 10.7 Mikrobielle Anpassungsstrategien an die Substratkonzentration

die sich deutlich bezüglich Spektrum und Konzentration der verfügbaren Nährstoffe unterscheiden. Ein Beispiel sei aufgeführt: wenn *Escherichia coli* sein primäres Habitat verlässt, den nährstoffreichen **(copiotrophen)** anaeroben Darm der warmblütigen Tiere und des Menschen mit dem reichlichen Zufluss von kohlenstoffhaltigen Verbindungen, so muss es sich an ein nährstoffarmes **(oligotrophes)** sekundäres Habitat (Wasser, Boden oder Sediment) adaptieren. Dort befinden sich die Konzentrationen an Nährstoffen typischerweise im niedrigen Micromolar- oder sogar Nanomolar-Bereich und die Verfügbarkeit der Kohlenstoff- und Energiequelle limitiert das Wachstum der heterotrophen Mikroorganismen.

Mikroorganismen können sich an das Wachstum bei unterschiedlichen, extrazellulären Substratkonzentrationen adaptieren, indem sie ihre kinetischen Eigenschaften (in Monod-Begriffen: μ_{max} und K_s) beträchtlich anpassen. Die folgenden Strategien sind für sowohl gram-negative als auch gram-positive Mikroorganismen beschrieben worden:

- Ein Einzel-Aufnahmensystem wird benutzt, welches verschiedene kinetische Eigenschaften bezüglich Konzentration für sein Substrat besitzt (sogenannte multiphasische Kinetik).
- Die Mikroorganismen schalten um zwischen zwei oder mehr Transportsystemen mit verschiedener Affinität. Dies wurde für verschiedene Zucker oder für Glycerin und Ammoniak beobachtet. Solche Änderungen können die Modifikation von Komponenten der äußeren Membran beinhalten.
- Andere, weniger gut definierte Änderungen werden genutzt, wie die Variation der katabolen und/oder anabolen Leistung, zum Beispiel um den Zell-internen Energieverbrauch zu minimieren.
- Eine andere Strategie ist die Vergrößerung der Zelloberfläche bei Mangel.

Diese Arten der Adaptation unterscheiden sich beträchtlich bezüglich der Zeitdauer, die für die Änderung benötigt wird.

- Ein multiphasisches System reagiert unverzüglich.
- Das Umschalten zwischen verschiedenen Transportsystemen kann relativ schnell ablaufen, das heißt innerhalb von wenigen Minuten bis Stunden.
- Eine Adaptation auf der Populationsebene (Evolution und Anreicherung konkurrenzfähiger Stämme) wird den langfristigen Änderungen zugerechnet.

Es wurde festgestellt, dass der Prozess der Adaptation reproduzierbar ist und schneller bei niedrigen als bei hohen Wachstumsraten abläuft.

Es zeigte sich weiter, dass eine Affinitätskonstante *(K_s)* für Glucose von wenigen Milligramm pro Liter bei Wachstum unter Batch-Bedingungen auf 30 µg/L unter steady-state Bedingungen im Chemostaten abfällt.

Während des Wachstums bei niedriger Glucosekonzentration wird die Glucose hauptsächlich durch das hoch-affine Galactose-Bindeprotein/Maltose-System und nicht durch das Glucosephosphotransferase-System in die Zelle transportiert, welches früher als das einzige relevante Glucosetransport-System in *Escherichia coli* unter diesen Bedingungen angesehen wurde.

Im Gegensatz zu der repremierenden Rolle, die Glucose ausübt, wenn es bei Millimolar-Konzentrationen vorkommt, ist eine Expression von Transportsystemen für andere Zucker in Zellen beobachtet worden, die bei einem Niveau von nano- bis micromolar an Glucose wachsen. Dies führt zu einer Erweiterung des Nutzungspotenzials des Bakteriums für andere Substrate.

Dies alles macht deutlich, dass die Einordnung von Bakterien nach den Nährstoffkonzentrationen als typisch **Oligotrophe** oder **Copio(eu)trophe** willkürlich ist. In ähnliche Richtung weist auch eine lange bekannte Beobachtung, dass die Fähigkeit der Nutzung von Nährstoffen durch einen Mikroorganismus bei hoher oder niedriger Konzentration von der untersuchten Substanz abhängig ist. Auch dies macht Oligotrophie und Copiotrophie zu undeutlichen Konzepten.

10.1.2.1 Anpassung an die Gegenwart hoher Salzkonzentration

Alle Organismen benötigen Wasser. Die Verfügbarkeit von freiem Wasser ist ein wichtiger Faktor, der das Wachstum von Mikroorganismen in der Natur beeinflusst. Im Allgemeinen wird das Vorhandensein von Wasser mit Begriffen wie Wasseraktivität, a_w, ausgedrückt. Der a_w-Wert ist das Verhältnis des Dampfdruckes einer Lösung zu dem reinen Wassers. Die Werte schwanken folglich zwischen 0 und 1,0.

Wasser diffundiert durch den Prozess der Osmose aus einer Region hoher Wasserkonzentration zu einer Region hoher Konzentration gelöster Stoffe. In den meisten Fällen hat das Cytoplasma einer Zelle eine höhere Konzentration gelöster Stoffe als die Umgebung, sodass das Wasser dazu neigt, in die Zelle hinein zu diffundieren. Wenn sich eine Zelle allerdings in einer Umgebung geringer Wasseraktivität befindet, dann hat das Wasser die Tendenz, aus der Zelle heraus zu fließen. Dies kann zu ernsthaften Problemen führen, wenn die Zelle keine Möglichkeit zur Gegenreaktion hat.

In der Natur sind vor allem in Habitaten mit hohen Salzkonzentrationen osmotische Einflüsse von Interesse. Salzionen tragen in wässriger Lösung eine mehr oder weniger große Hydrathülle. Bei erhöhter Salzkonzentration konkurrieren Proteine und Nukleinsäuren, die zur Aufrechterhaltung ihrer Struktur ebenfalls auf eine ausreichende Hydrathülle angewiesen sind, mit solchen Ionen um das Wasser. Das Problem erhöhter Salzkonzentrationen ist also in erster Linie eine Konkurrenz um das freie Wasser (◘ Abb. 10.8).

Die Wasseraktivitäten in landwirtschaftlich genutzten Böden schwanken im Allgemeinen zwischen 0,9 und 1,0. Typische Bodenbakterien können sich an solche regelmäßigen Wechsel der Wasseraktivität anpassen.

Meerwasser enthält ungefähr 3 % NaCl sowie kleine Mengen vieler anderer Mineralien und Elemente. Die Wasseraktivität von 0,98 stellt noch keine große physiologische Herausforderung dar.

Die Vielfalt der Eigenschaften von salzhaltigen und hypersalzigen Habitaten spiegelt sich wieder in der großen Mannigfaltigkeit von Mikroorganismen, die an das Leben unter diesen besonderen Bedingungen adaptiert sind:

1. **Extrem Halophile** sind generell als Organismen definiert, die optimal in Medien wachsen, die eine Konzentration von 150–300 g/L (2,5–5,2 M) NaCl aufweisen.
2. **Moderat Halophile** sind solche, die optimal in Medien wachsen, die eine Konzentration von 30–150 g/L (0,5–2,5 M) NaCl aufweisen.
3. Einige nicht-halophile Mikroorganism können hohe Salzkonzentrationen tolerieren und sie werden als **halotolerante Organismen** oder
4. **extrem halotolerante Organismen** bezeichnet.

Halophile und **hoch halotolerante** Spezies wurden in jeder der drei Domänen des Lebens entdeckt: Archaea, Bacteria und Eukarya. Innerhalb der **Bacteria** kennen wir Halophile in den Phyla *Actinobacteria, Bacteroidetes, Cyanobacteria, Firmicutes, Proteobacteria* und *Spirochaetes.* Innerhalb der **Archaea** wurden die besonders salzbenötigenden Mikroorganismen in der Klasse der *Halobacteria* gefunden.

Wenn ein Organismus in einem Medium mit niedriger Wasseraktivität wächst, kann er Wasser nur aus seiner Umgebung erhalten, indem er die innere Konzentration gelöster Stoffe erhöht. Zwei grundlegend verschiedene Strategien wurden identifiziert, die es den halophilen Mikroorganismen ermöglichen,

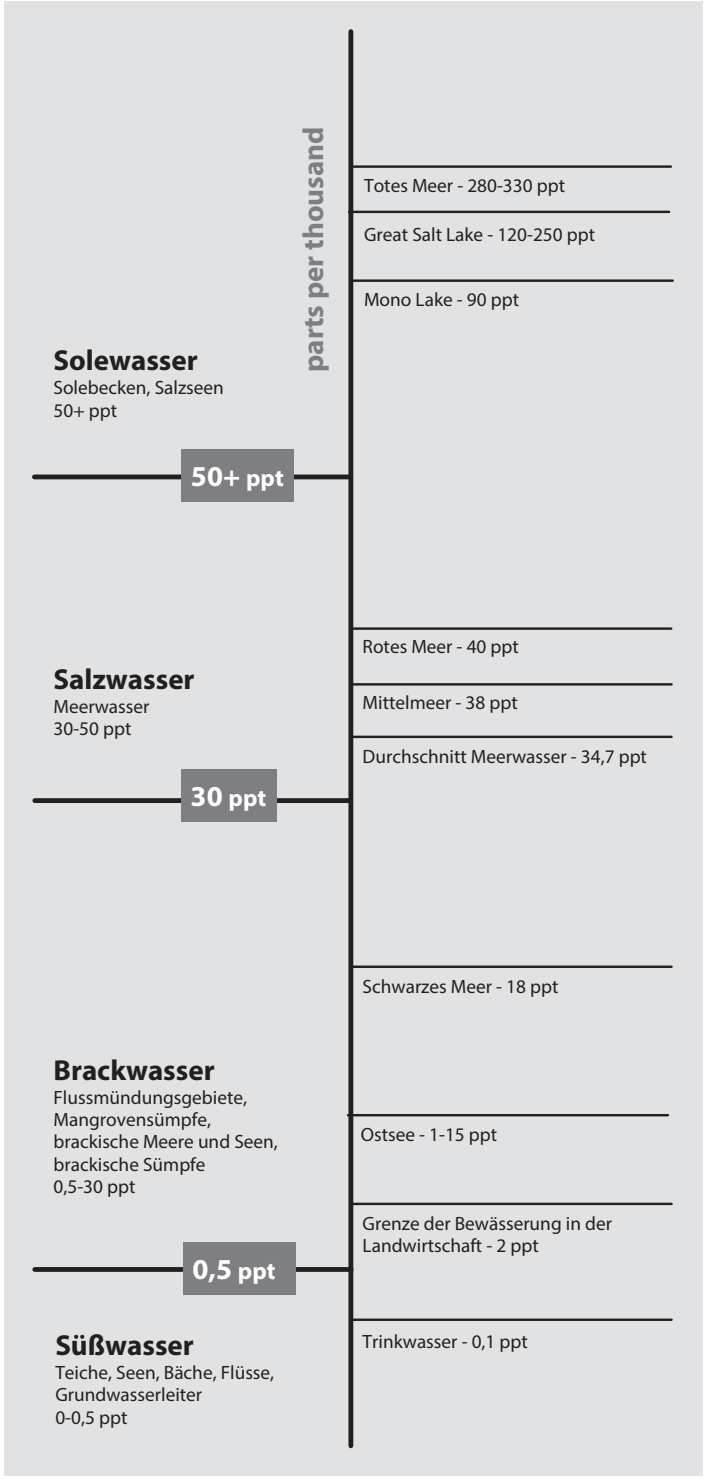


Abb. 10.8 Die heute verwendete Practical Salinity Scale (PSS-78) beruht auf der Proportionalität von Salzgehalt und elektrolytischer Leitfähigkeit von Seewasserproben bezogen auf eine Standard-KCl-Lösung und ist dimensionslos. Häufig findet man jedoch zur Angabe der Salinität ein PSU, welches für *Practical Salinity Unit* steht. Eine Salinität von 35 entspricht nicht exakt 35 g von Salz pro Liter Lösung

ihr Cytoplasma osmotisch dem des Mediums anzugleichen und mit der multimolaren Salinität ihrer Umwelt fertig zu werden.

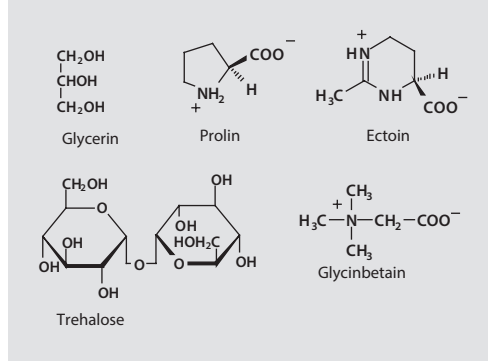
Die am häufigsten gefundene Form der osmotischen Adaptation ist die Biosynthese von organischen osmotischen gelösten Substanzen (‚compatible solutes') oder deren Akkumulation aus dem Medium. Intrazelluläre Salzkonzentrationen werden dabei auf einem Niveau gehalten, das weit unterhalb des außerhalb der Zelle befindlichen Mediums liegt. Keine weitreichende Anpassung der intrazellularen Maschinerie ist notwendig, um den Zellen ein Funktionieren in Umgebungen mit hoher Osmolarität zu erlauben.

Die intrazellulare Konzentrationen der gelösten Substanzen, welche nicht auf enzymatische Aktivität störend einwirken, können schnell angepasst werden, sodass diese Mikroorganismen, die die **‚organische-Substanzen-in Strategie'** nutzen, sich häufig an einen erstaunlich weiten Bereich der Salzkonzentrationen angepasst haben. Diese **‚salt-out' Methode** erlaubt es, dem internen Mechanismus der Zelle in ihrem Normalzustand zu bleiben, aber sie benötigt einen hohen Energieaufwand, um die organischen Moleküle zu produzieren.

Alle eukaryotischen Spezies, die meisten halophilen Bakterien, aber auch die halophilen methanogenen Archaea nutzen solche organischen, gelösten Substanzen (Osmolyte), um den osmotischen Druck auszubalancieren. Eine Vielfalt von solchen gelösten Substanzen ist bekannt:

1. Hefen und andere Eukaryoten wie halophile Grünalgen akkumulieren Glycerin im Zellinneren.
2. Halotolerante *Staphylococcus* benutzen Prolin als kompatiblen gelösten Stoff.
3. Besonders bei den halophilen Bakterien und den Cyanobakterien ist das Glycinbetain der weit verbreitete kompatible gelöste Stoff. Er ist ein zwitterionisches Derivat des Glycerins, in dem die Wasserstoffe der Aminogruppe durch Methylgruppen ersetzt sind. Dies lässt eine ständige positive Ladung auf dem N-Atom, wodurch die Löslichkeit erhöht wird.
4. Einige extrem halophile Bakterien bilden Ectoin, eine zyklische zwitterionische Verbindung, die aus Aspartatsemialdehyd gebildet wird.
5. Eine Vielzahl von Glykosiden und Dimethylsufoniumpropionat werden von Meeresalgen gebildet, aber nur sehr selten häufen sie sich auch nur in geringen Mengen an (◘ Abb. 10.9).

Die zweite, **‚hoch-Salz-in Strategie'** beinhaltet die Akkumulation von molaren Konzentrationen von KCl im Cytoplasma. Natriumionen werden im Tausch gegen Protonen oder Kaliumionen, deren Hydrathüllen kleiner sind als die der Natriumionen, aus der Zelle herausgepumpt. Diese **‚salt-in' Methode** ist energetisch effizienter, braucht aber die Adaptation der intrazellularen enzymatischen



◘ **Abb. 10.9** Strukturen einiger gut löslicher kompatibler Stoffe, die häufig bei halophilen und halotoleranten Mikroorganismen vorkommen

Maschinerie, da Proteine ihre richtige Konformation und Aktivität bei nahezu-gesättigten Salzkonzentrationen aufrechterhalten müssen. Das Proteom solcher Organismen ist hoch azid. Generell brauchen solche halophilen Proteine Salz für ihre strukturelle Stabilität und Aktivität, sodass die Mikroorganismen, die diese Art der osmotischen Adaptation nutzen, hohe Salzkonzentrationen brauchen und nur eine begrenzte Fähigkeit besitzen, mit Medien mit niedriger Salzkonzentration zurecht zu kommen.

Die ‚salt-in' Strategie wurde bisher in wenigen Gruppen von Prokaryoten gefunden: der aeroben extrem halophilen Archaea der Familie *Halobacteriaceae,* der rote, aerobe *Salinibacter (Bacteroidetes),* der kürzlich aus Salinengärten isoliert worden ist, und einer phylogenetisch zusammenhängenden Gruppe von obligat anaeroben Bakterien der Ordnung *Halanaerobiales,* die an den Zweig der Gram-Positiven mit niedrigem G + C, den *Firmicutes,* angegliedert ist.

Die Adaptation von Proteinen an extreme Salinität ist mit einem allgemeinen Anstieg der Menge an aziden Aminosäuren verbunden, welcher gleichzeit eine Verminderung an basischen Aminosäuren bedeutet. Dieser Trend wurde anhand des Genoms der hyperhalophilen **salt-in** Archaea wie *Halobacterium* NRC-1 nachgewiesen. In **salt-out** Halophilen haben die Proteine hingegen nur einen Überschuss an sauren Aminosäuren, die zum hypersalinen Medium exponiert sind.

Die Proteine der *Halanaerobiales,* welche in Gegenwart von hohen intrazellularen KCl-Konzentrationen aktiv sind, weisen nicht die typische azide Signatur der ‚halophilen' Proteine der Archaea der Ordnung *Halobacteriales* oder des extrem halophilen Bakteriums *Salinibacter* auf.

Dass Extrembiotope häufig artenarm, dafür aber extrem individuenreich sind, lässt sich eindrucksvoll an folgenden Beispielen dokumentieren. Die Salzkonzentration erreicht ca. 12 % im größeren Teil des Great Salt Lake in Utah, USA. Eine Massenentwicklung der rotpigmentierten Grünalge *Dunaliella salina* ist zu beobachten, die durch den Salinenkrebs *Artemia salina* abgeweidet wird. Vertreter der Gattungen *Halomonas, Marinomona*s, *Pseudomonas* und andere dominieren unter den mikrobiellen Konsumenten. Die Salzkonzentration erreicht im Nordarm des Sees mit ca. 25 % die Sättigungsgrenze. Eukaryoten sind hier nicht zu finden. Auch hier zeigt das Wasser eine rötliche Färbung aufgrund von extrem halophilen aeroben Archaea der Gattungen *Halobacterium, Haloferax* und *Halomona*s, die an diesem Standort praktisch keiner Abweidung unterliegen.

Das Wasser des gegenwärtigen Toten Meeres enthält 348 g/l Salze (2 M Mg^{2+}, 0,5 M Ca^{2+}, 1,5 M Na^{+}, 0,2 M K^{+}, 6,5 M Cl^{-}, 0,1 M Br^{-}) und stellt damit eine besonders ungastliche Umwelt von extremer Hypersalinität da. Der pH-Wert liegt bei etwa 6,0. Entgegen des Namens ist das Tote Meer biologisch nicht tot. Das Leben beschränkt sich jedoch weitgehend auf verschiedene Extremophile. Nach regnerischen Wintern wurde die Wasseroberfläche so verdünnt, dass es die Entwicklung von mikrobieller Blüte auslöste. Eine Rotfärbung des Toten Meeres wurde so in den Jahren 1980 und 1992 durch die einzellige Grünalge *Dunaliella* und rote Archaea hervorgerufen.

Lake Vida, Leben in einer Sole unter Antarktis-Eis

Der Lake Vida im Osten der Antarktis ist von einer rund 20 m dicken Eisschicht bedeckt und befindet sich auf mehreren hundert Meter starkem Permafrostboden. Die permanente Eisschicht kapselt ein extremes Ökosystem von niedriger Temperatur und einem hohen Salzgehalt (−13 °C; Salinität, 200) ab. Dieses aphotische Ökosystem (kein Licht) ist anoxisch und besteht aus einer NaCl-dominierten leicht sauren (pH 6,2) Sole. Es war bei Eiskernbohrungen aufgefallen, dass sich in den Bohrlöchern eine gelbliche Sole sammelte, die bei Kontakt mit der Luft eine braun-rote Verfärbung annahm. Geochemische und mikrobiologische Analysen zeigten, dass das Wasser neben großen Salzmengen sehr viel gelöstes hochgesättigtes Lachgas (N_2O, ~ 60 μmol/L) sowie andere Stickstoffverbindungen wie Ammoniak (NH_4^+, ~ 3,8 mmol/L), Nitrit (NO_2^-, ~ 25 μmol/L) und Nitrat (NO_3^-, ~ 1 mmol/L) sowie hohe Konzentrationen an Sulfat ~ 60 mmol/L enthält. Auch molekularer Wasserstoff (H_2, 10,5 μmol/L) ist in hohen Konzentrationen vorhanden. Ebenfalls stark vertreten sind gelöste reduzierte Metalle, vor allem Eisen (Fe^{2+}, 256 μmol/L), und sowohl anorganische (CO_2, 8,9 mmol/L) als auch organische Kohlenstoffverbindungen.

Die Geochemie der Sole deutet an, dass abiotische Sole-Gesteins-Reaktionen in diesem System auftreten und dass reichhaltige Quellen von gelösten Elektronenakzeptoren es verhindern, dass sich Sulfatreduktion und Methanogenese als energetisch vorteilhaft zeigen. Die große Menge an gelösten und gasförmigen Stickstoffverbindungen, Fe^{2+} und H_2 deuten an, dass Serpentinisierungs-ähnliche Reaktionen in der Sole des Lake Vida vorkommen (Verwitterung von Olivin, einem wichtigen Bestandteil von Basalten). In der Sole des Lake Vida ist der Gehalt an H_2 so hoch, dass er sowohl durch abiotische als auch biogene Produktion entstanden sein kann. Das H_2 könnte schließlich leicht nutzbare Energie bereitstehen, um Depurinations- und Racemisierungs-Prozesse in diesem rauen Ökosystem ablaufen zu lassen. Das mikrobielle Leben in der Sole des Lake Vida ist einigermaßen vielschichtig, erhält zelluläre rRNA und sichert die Fähigkeit der Synthese von Proteinen auf einem sehr niedrigen Niveau.

Mikroskopie zeigte nach Anfärben mit Fluoreszenzfarbstoffen für Nukleinsäuren (DAPI and SYBRGold; Hinweis auf ► Abschn. 11.1), dass Partikel in der Größe von aquatischen Bakterien (>0,2–1 μm Durchmesser) in einer Menge von $0{,}1–0{,}6 \times 10^6$/mL sowie solche von < 0,2 μm Durchmesser mit $50–60 \times 10^6$/mL vorhanden sind.

Mittels Nachweis von small subunit rRNA Genen (SSU rRNA) wurde in der Sole beobachtet, dass phylogenetisch vielfältige und metabolisch aktive *Bacteria* die mikrobielle Gemeinschaft dominieren:

Acht bakterielle Phyla (% der SSU rRNA Genbibliothek)

- *Proteobacteria* (*Gamma* 39 %, *Epsilon* 16 %)
- *Lentisphaera* (15 %)
- *Firmicutes* (11 %)
- *Bacteroidetes* (9 %)
- *Spirochaeta* (7 %)
- *Verrucomicrobia*
- Candidate Division TM7*
- *Actinobacteria*

Murray et al., 2012; *Rheims et al., 1996

10

10.1.2.2 Anpassung an die Gegenwart von Lösungsmitteln

Lösemittel wie Toluol sind normalerweise toxisch für Mikroorganismen. Es wird ein Zusammenhang zwischen der Toxizität eines Lösemittels und seinem $\log P_{ow}$-Wert gesehen. So sind Lösemittel mit $\log P_{ow}$-Werten im Bereich 1,5 und 3 extrem toxisch für Mikroorganismen.

Generell reagieren Bakterien auf einen solchen Stress durch Bildung von Biofilmen.

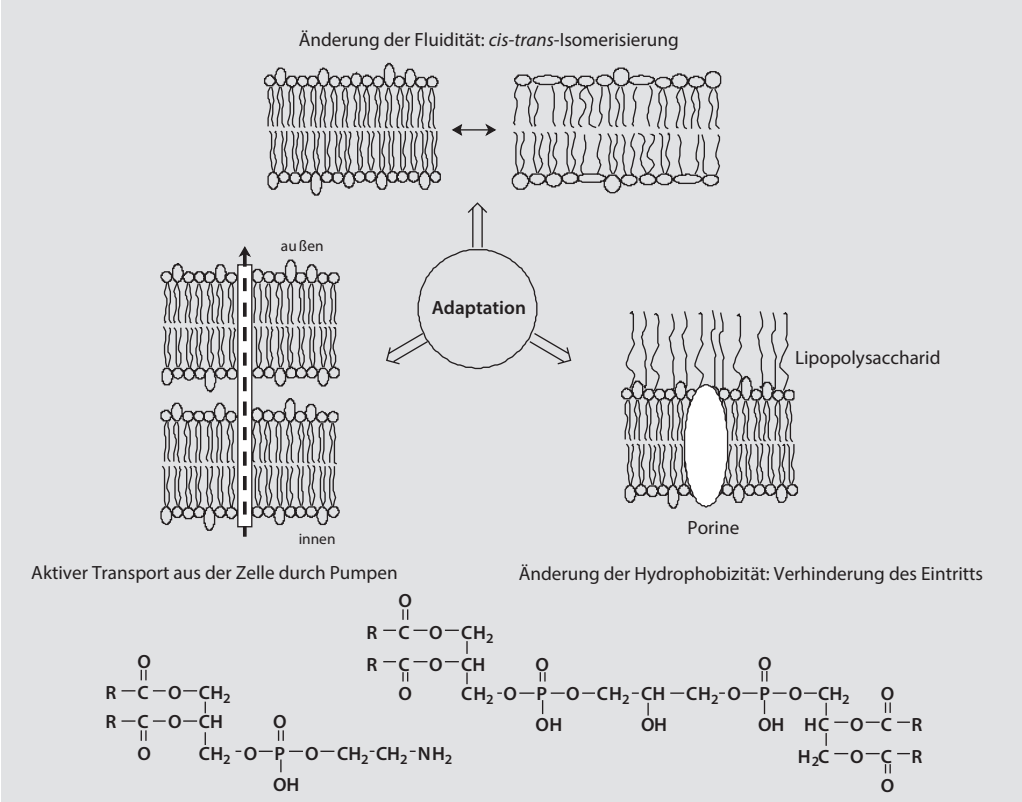
Die vielen Beobachtungen zu toxischen Effekten von aromatischen und aliphatischen Kohlenwasserstoffen können größtenteils mit der Interaktion der Verbindungen mit der Membran und den Membranbestandteilen erklärt werden. Als Ergebnis der Akkumulation der Lösemittel in der Membran verliert diese die Integrität. Die Permeabilität für

Protonen, Ionen, Metaboliten, Lipiden und Proteinen steigt an. Dieses Phänomen führt zum Kollaps des Zellmembran-Potenzials und der Hemmung von Funktionen der Membranproteine. Diese negativen Effekte auf die strukturellen und funktionellen Eigenschaften von Membranen können generell keiner spezifisch reaktiven Gruppe in einem Molekül zugeordnet werden.

Man hat Pseudomonaden isoliert, die Toleranz gegenüber Lösemitteln besitzen, und so zum Beispiel im Zwei-Phase-System Toluol-Wasser wachsen können. Beispiele für solche Lösemittel und ihre $\log P_{ow}$-Werte, die von „neuen" Organismen toleriert werden, sind Toluol (2,5), Octanol (2,8), Styrol (3,0), Xylol (3,0), Cyclohexan (3,2) und Hexan (3,5). Die verschiedenen Mechanismen, die für die Resistenz in lösemitteltoleranten Bakterien verantwortlich sind, zielen auf die Neuanpassung der Membranfluidität nach der Lösemittelexposition beziehungsweise den Aufbau einer physiko-chemischen Barriere gegen die Interkalation der Kohlenwasserstoffe in die Membran.

Die folgenden Prozesse der Lösemitteltoleranz sind beobachtet worden (◘ Abb. 10.10):

- Die Isomerisierung der ungesättigten Fettsäuren der Membran von *cis*-zu *trans*-Isomeren (führt zu einer größeren Ordnung/Rigidität der Membran).
- Die Erniedrigung des Anteils von ungesättigten Fettsäuren in der Membran.



◘ **Abb. 10.10** Schematische Darstellung der Mechanismen der Adaptation an die Gegenwart von Lösemitteln. unten: Strukturen der Phospholipide

- Die Adaptation in den Phospholipid-Köpfen (Abnahme des Anteils an Phosphatidylethanolamin in den Köpfen und Anstieg des Cardiolipin-Anteils).
- Die Etablierung einer geringeren Oberflächenhydrophobizität, die zu einer Vermeidung der Akkumulation der organischen Lösemittelmoleküle in der Membran führt (Änderung der Kohlenhydrat-Ketten im Lipopolysaccharid).
- Die Etablierung und Induktion effektiver Prozesse zur Ausschleusung von Lösemitteln aus dem Cytoplasma oder den Membranen. Die Extrudierung der Lösemittel wird hauptsächlich durch energieabhängige Efflux-Systeme durchgeführt. Ein Efflux-Prozess benötigt ein cytoplasmatisches Membranexportsystem, welches als energieabhängige Ausschleuspumpe fungiert, und ein Protein der äußeren Membran, welches das Periplasma aufweitet und einen fortlaufenden Kanal bildet, sodass die toxische Verbindung durch die Zellmembranen eliminiert werden kann. Zusätzlich erleichtert ein verankertes Lipoprotein die Bildung des Kanals.

Eine Adaptation durch Modifikation der Membran wird auch am Beispiel von psychrophilen Bakterien deutlich. Vergleicht man die Zellmembran von psychrophilen und mesophilen Bakterien, so fällt auf, dass die Zellmembranen von psychrophilen Bakterien einen höheren Anteil an ungesättigten Fettsäuren besitzen und damit die Semifluidität bei Kälte aufrechterhalten.

10.1.3 Mischsubstrate

Im Gegensatz zum Labor verläuft Wachstum in Ökosystemen unter komplexeren Bedingungen, denn Bakterien werden mit Gemischen von Verbindungen, die eine bestimmte Funktion als Nährstoff erfüllen, konfrontiert.

In mehr oder weniger allen Ökosystemen ist die Verfügbarkeit von Kohlenstoff- und Energiequellen stark eingeengt und Kohlenstoff ist verfügbar in der Form von unzähligen, verschiedenen Verbindungen, wobei alle bei einer Konzentration von wenigen Mikrogramm pro Liter oder weniger vorliegen. Diese Verbindungen stammen hauptsächlich aus der Hydrolyse von partikulärer, organischer Masse oder sind Ausscheidungsprodukte von höheren Organismen. Jüngst sind xenobiotische Chemikalien aufgrund des steigenden Gebrauches hinzugekommen.

Heterotrophe Mikroorganismen beschränken sich deshalb nicht auf die Verwertung einer einzelnen Kohlenstoffquelle, sondern nutzen simultan viele der in der Umwelt vorhandenen Verbindungen. Dies triff sogar auf Gemische von solchen Kohlenstoffquellen zu, die normalerweise unter der Bedingung hoher Konzentration ein diauxisches Wachstum hervorrufen (das Wachstumverhalten wird als „mixed-substrate growth“ bezeichnet). Das heißt zusätzlich zu einer verbesserten Substrataffinität ist das Potenzial zu berücksichtigen, dass verschiedene Substrate simultan genutzt werden können, wenn man die mikrobielle Konkurrenz bei niedriger Umweltkonzentration betrachten will.

Die Wachstumsrate während der Kultivierung mit zwei oder drei Zuckern wird nicht auf die gleiche Weise kontrolliert wie durch die individuellen Konzentrationen der Zucker. Sie wird entweder durch die Gesamt-Zuckerkonzentration oder einen Summenparameter wie gesamter Disolved Organic Carbon (DOC) (verfügbar für die Zelle) in dem Kulturmedium kontrolliert.

In allen Ökosystemen, auch sogar den oligotrophen, ist die Konzentration von nicht-charakterisierem und zugänglichen DOC hoch genug, um bakterielles Wachstum zu gewährleisten. Da man annimmt, dass gleichzeitige Verwertung von DOC zusammen mit Schadstoffen stattfindet, ist zu bedenken, dass dies die Rate und das Ausmass des Abbaus der Kontaminanten beeinflusst.

Für die meisten Schadstoffe, die biologisch abgebaut werden, ist es noch unsicher, ob ihr Abbau in der Umwelt aufgrund der

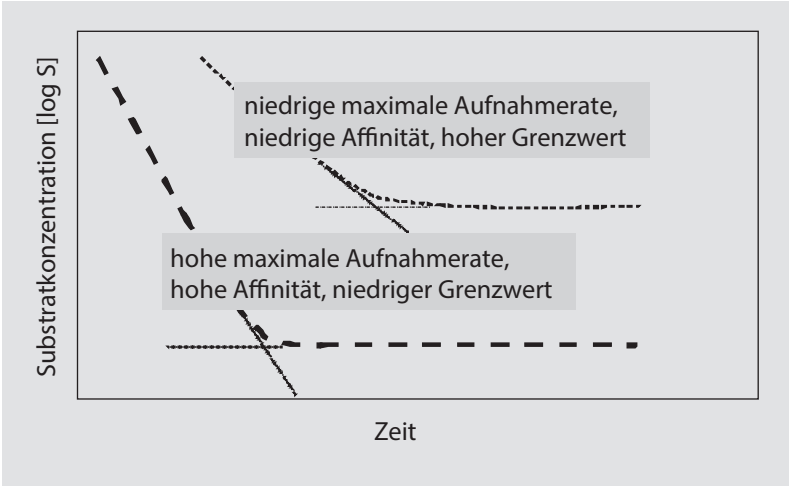
Anreicherung von kompetenten Zellen oder aufgrund von Induktion der relevanten Enzyme in potenten Abbauern der bodenständigen Population erfolgt. Diese Frage ist von hoher praktischer Bedeutung, da die Zeitskala, mit der beide Variablen sich ändern, sehr unterschiedlich ist. Während die Änderungen einer Population aufgrund von Anreicherung von schadstoffabbauenden Stämmen gewöhnlich Tage bis Wochen (oder sogar länger) erfordert, findet die Induktion der Abbauenzyme innerhalb von Minuten oder Stunden statt.

Generalisten konkurrieren nicht erfolgreich gegen **Spezialisten** in ihrem entsprechenden Feld, behaupten sich aber im Wettbewerb durch die Nutzung der Vielfalt von Substraten. Anders ausgedrückt, Stämme, die vielseitig bezüglich ihrer Nährstoffe sind, überwachsen die Spezialisten unter der Bedingung des Wachstums mit Mischsubstraten.

10.1.4 Grenzkonzentrationen

Eine mögliche Existenz eines Grenzwertes wurde postuliert, da relativ konstante Niveaus von gelöstem organischen Kohlenstoff in den Ozeanen vorhanden sind. Dieser Kohlenstoff, wahrscheinlich aufgrund der niedrigen Konzentration, steht nicht zur Verfügung für mikrobielle Vermehrung und folglich dem Abbau (Jannasch, 1967). Das Niveau des gelösten organischen Kohlenstoffes liegt im Bereich von 1 mg/L im Ozean und gewöhnlich niedriger als 5 mg/L in oligotrophen Süßwassern. Verbleibende Konzentrationen in der Wasserphase (das heißt die Konzentrationen die nach dem Initialabbau übrig bleiben) wurden sowohl für Fremdstoffe wie auch für natürliche Substrate beobachtet.

- In methanogenen Systemen kann die beobachtete Grenzkonzentration anhand der Limitierung der freien Gibbsschen Energie der Reaktion erklärt werden (siehe BOX Syntrophie).
- Aerobe Abbaureaktionen sind gewöhnlich genügend exergonisch und deshalb sind andere Erklärungen für die beobachteten Grenzkonzentrationen notwendig.
- Grenzkonzentrationen sollen auf Einschränkungen der Diffusionskinetiken beruhen oder dem Energieinhalt des Erhaltungsstoffwechsels entsprechen.
- Grenzkonzentrationen sollen der minimalen Konzentration von Enzyminduktion entsprechen.
- Grenzkonzentrationen sollen auf Außenfaktoren wie der Anwesenheit von anderen Substraten beruhen (◘ Abb. 10.11).



◘ **Abb. 10.11** Kinetik der Substrataufnahme durch mikrobielle Gemeinschaften

10.1.5 Mikrobielle Kooperation

Statt um denselben Nährstoff zu konkurrieren, arbeiten einige Mikroorganismen zusammen, um so eine bestimmte Umwandlung durchzuführen, die keiner von ihnen allein ausführen könnte. Diese Art der mikrobiellen Interaktion, **Syntrophie** genannt, ist für den Erfolg gewisser anaerober Bakterien im Wettbewerb entscheidend, wie in Abschnitt zum Methan (► Abschn. 4.5.1) erläutert wurde. Syntrophische Beziehungen erfordern im Allgemeinen, dass die zwei oder mehr an dem Prozess beteiligten Mikroorganismen die gleiche Mikrowelt teilen. Das Stoffwechselprodukt des einen Mikroorganismus muss für den anderen leicht erreichbar sein.

Metabolische Kooperation findet sich außerdem in den Aktivitäten von Mikroorganismengruppen, die einen **komplementären Stoffwechsel** ausführen. Zum Beispiel haben wir in ► Abschn. 7.3 metabolische Umwandlungen erläutert, die zwei getrennte Gruppen von Mikroorganismen betrafen, wie zum Beispiel die der **nitrosifizierenden** und der **nitrifizierenden** Bakterien. Beide oxidieren NH_3 gemeinsam zu NO_3^-, obwohl keine Gruppe in der Lage ist, dies allein zu bewerkstelligen. Oder man betrachte die Aktivitäten sulfatreduzierender und sulfidoxidierender Bakterien: In diesem Beispiel stellt das Produkt des einen Mikroorganismus (H_2S aus der Reduktion von SO_4^{2-}) das Substrat für den anderen dar ($H_2S + O_2 \rightarrow S° + H_2O$ oder $H_2S + 2\ O_2 \rightarrow H_2SO_4$). Solche Arten von kooperativen Interaktionen kommen häufig in mikrobiellen Habitaten vor.

10

Syntrophie

Syntrophie ist wesentlich a) für den globalen Kohlenstoffkreislauf von natürlichen Polymeren wie Polysacchariden, Proteinen, Nukleinsäuren und Lipiden zu CO_2 und CH_4, b) für die Abfallzersetzung und c) für die Biobrennstoffbildung. Syntrophische mikrobielle Prozesse sind ubiquitär in natürlichen und menschgemachten Habitaten, die frei von Sauerstoff und/oder anderen externen Elektronakzeptoren sind, die für die Oxidation von reduzierten organischen Verbindungen gebraucht werden. Syntrophie ist eine fest-verbundene mutualistische Wechselbeziehung und beinhaltet generell zwei sich ergänzende mikrobielle Zelltypen, deren kombinierter Metabolismus Reaktionen ermöglicht, die weder durch den einen noch den anderen Organismus möglich sind. Diese metabolisch verschiedenen Mikroorganismen sind fest durch die Notwendigkeit miteinander verbunden, die ausgetauschten Metabolite bei sehr niedriger Konzentration zu halten.

Ein klassisches Beispiel für eine syntrophische Beziehung ist „Methanobacillus omelianskii". Es zeigte sich erst nach etwa 30 Jahren, dass diese Kultur aus zwei mikrobiellen Partnern in enger metabolischer Gemeinschaft besteht. Der „S organism" fermentiert Ethanol zu Acetat und H_2, während *Methanobacterium bryantii* Stamm M.o.H. den produzierten H_2 verwendet, um CO_2 zu reduzieren. Bei der Fermentation von Ethanol

$$\text{Ethanol} + H_2O \rightarrow \text{Acetat}^- + H^+ + 2\ H_2$$

beträgt $\Delta G^{0'}$ bei 1 atm H_2 +9,68 kJ. Hingegen bei 10^{-4} atm H_2 ergibt sich ein $\Delta G'$-Wert von −36,03 kJ. Durch die Anwesenheit des H_2-verbrauchenden Stammes wird also die Ethanolfermentation exergon.

Zu den ersten Beispielen von Syntrophie zählte die Gemeinschaft von phototrophen Grünen Schwefelbakterien (zum Beispiel *Chlorobium*) und chemolithotrophen, schwefelreduzierenden Bakterien (zum Beispiel *Desulfuromonas*), die Schwefelverbindungen wie elementaren Schwefel und Sulfid zwischen den Partnern austauschen. Durch die Aktivität beider Partner werden die Schwefelverbindungen bei einer nicht-hemmenden Konzentration gehalten, welches der Co-Kultur erlaubt zu gedeihen.

Weiter wurden fest gekoppelte, syntrophische Gemeinschaften zwischen fermentativen Bakterien und methanogenen Archaea entdeckt, die einen Austausch von Wasserstoff oder Formiat zwischen den Partnern beinhalten. Die

fermentativen syntrophen Bakterien bilden Wasserstoff und Formiat aus ihrem Wachstumssubstrat (zum Beispiel Propionat, Butyrat und Benzoat). Der Abbau von Butyrat zu Acetat und H_2 bei pH 7, 1 atm H_2 (101 kPa) und 1 M Acetat und Butyrat ist aber thermodynamisch ungünstig.

$$\text{Butyrat}^- + 2\,H_2O \rightarrow$$
$$2\,\text{Acetat}^- + H^+ + 2\,H_2 \quad \Delta G^{0'}$$
$$= +48,6\ \text{kJ/mol Butyrat}$$

Da aber die Wasserstoff- und Formiatkonzentration durch die Methanogenen oder andere Wasserstoff-/Formiatnutzer niedrig gehalten wird, ist der Abbau von Butyrat thermodynamisch günstig. Bei einem Partialdruck von1 Pa H_2 und einer Konzentration von jeweils 0,1 mM für Butyrat und Acetat ergibt sich ein $\Delta G'$-Wert von −39,2 kJ pro Mol Butyrat. Transfer von Kohlenstoff-, Stickstoff- und anderen Verbindungen ist ein weiteres Beispiel für eine Form von Syntrophie. Mikrobielle Konsortien sind in der Lage, anaerobe Methanoxidation in Kombination mit Sulfatreduktion durchzuführen. ANME Archaea führen dabei den Methanoxidationsprozess durch, der ohne den immer ablaufenden Entzug von Elektronen durch die sulfatreduzierende Aktivität der beteiligten Bakterien nicht ablaufen würde. Bis heute kennt man die Transferverbindung nicht. Syntropher Metabolismus benötigt also sehr engen physikalischen Kontakt und eine metabolische Synchronization der syntrophen Partner. Generell arbeitet Syntrophie nahe am thermodynamischen Gleichgewicht, wobei beide Partner sich die begrenzte Energie teilen müssen, die aus der Gesamtreaktion hervorgeht. Die thermodynamische Einschränkung der anaeroben Syntrophie ist wahrscheinlich auch ein Grund, warum es schwierig ist, solche Mikroorganismen zu kultivieren, da Anreicherungen Konsortien zerstören.
Knittel & Boetius, 2009; McInerney, et al., 2009, 2011; Morris et al., 2013; Schink, 2002; Schink & Stams, 2006; Sieber et al., 2012; Stams & Plugge, 2009.

10.2 Anheftung an Oberflächen und Biofilme

10.2.1 Oberflächen

Oberflächen sind als mikrobielle Habitate von großer Bedeutung. In der Umwelt gibt es praktisch keine Grenzfläche, die nicht von Mikroorganismen besiedelt ist oder besiedelt werden kann. In einer Oberfläche können Nährstoffkonzentrationen zum Teil viel höher sein als in der Lösung. Dies kann die Rate des mikrobiellen Stoffwechsels stark beeinflussen. An Oberflächen ist die Zahl und Aktivität von Mikroorganismen aufgrund von Absorptionseffekten meistens viel höher als im freien Wasser. Eine Oberfläche kann auch selbst ein Nährstoff sein, zum Beispiel ein Partikel aus organischer Materie, wo angeheftete Mikroorganismen organische oder anorganische Nährstoffe direkt von der Oberfläche abbauen.

10.2.2 Biofilme

Die weitaus überwiegende Zahl an Mikroorganismen lebt in der Natur in Form von Biofilmen. Die Voraussetzungen für die Entstehung von Biofilmen sind praktisch ubiquitär. Biofilme finden sich deshalb weit verbreitet in der Natur und in/auf technischen Systemen.

Biofilme bestehen aus einer dünnen Schleimschicht, in der Mikroorganismen (zum Beispiel Bakterien, Algen, Pilze, Protozoen) eingebettet sind. Sie bilden sich überwiegend in wässrigen Systemen, entweder auf der Wasseroberfläche oder auf einer Grenzfläche zu einer festen Phase: zwischen Gas- und Flüssigphasen (zum Beispiel freier Wasserspiegel), Flüssig- und Festphasen (zum Beispiel Kies an der Gewässersohle) oder auch zwischen verschiedenen Flüssigphasen (zum Beispiel Öltröpfchen im Wasser). Die

Grenzfläche, auf der sich der Biofilm bildet, nennt man **Substratum.** Ein Biofilm enthält außer den Mikroorganismen hauptsächlich Wasser. Von den durch Mikroorganismen ausgeschiedenen **extrazellulären polymeren Substanzen** (EPS) bilden in Verbindung mit dem Wasser Gele, sodass eine Matrix entsteht, in der die Nährstoffe und andere Substanzen gelöst sind. Oft werden von der Matrix auch anorganische Partikel oder Gasbläschen eingeschlossen. Die EPS bestehen aus Biopolymeren, die als Gele dem Biofilm eine stabile Form geben. Dabei handelt es sich um ein weites Spektrum von Polysacchariden, Proteinen, Lipiden und Nukleinsäuren. In Biofilmen leben verschiedene Mikroorganismen gemeinsam.

Im Abstand von wenigen hundert Mikrometern können im Biofilm aerobe und anaerobe Zonen vorkommen, was das Leben von aeroben und anaeroben Mikroorganismen eng nebeneinander zulässt. Im Inneren von Biofilmen werden gelöste Stoffe überwiegend durch Diffusion transportiert. Konvektive Stofftransportvorgänge treten allenfalls in Kavernen und Gängen auf, wenn diese vom Wasser durchströmt werden. Im Bereich der Oberfläche des Biofilms können konvektive Mischungsvorgänge zusätzlich durch Bewegung der in die Strömung hineinragenden Auswüchse ausgelöst werden.

Die Entstehung und Ausbildung eines Biofilms kann in drei Phasen unterteilt werden (◘ Abb. 10.12): die **Induktions-**, die **Akkumulations-** und die **Existenzphase**. Die Biofilmbildung auf festen Oberflächen beginnt meist mit einer **Induktionsphase,** andere Biofilme bilden sich oft auch ohne diese. In der Induktionsphase lagert sich an einer mit Wasser benetzten Oberfläche eine dünne, zähflüssige Schicht aus organischen Substanzen an. Dadurch können die Mikroorganismen sich besser an der Oberfläche anheften. Diese Biopolymere entstammen der Schleimhülle, die sich um Bakterienzellen bildet, sich gelegentlich ganz oder teilweise ablöst und beim Kontakt mit Grenzflächen adsorptiv gebunden wird. Die organische Schicht wird dann in der **Akkumulationsphase** von Keimen besiedelt, welche die organischen Substanzen als Nährstoffe nutzen. Die Verständigung der Mikroorganismen läuft über ein interzelluläres Kommunikationssystem, welches als „Quorum Sensing" bezeichnet wird. Dadurch finden sich die einzelnen Organismen in großer Zahl zusammen. Mikrokolonien werden gebildet. Infolge der Vermehrung der Zellen, die sich an einer Oberfläche angelagert haben, kommt es zu einer Ausbreitung der Organismen. Die Grenzfläche wird in Form eines Films (Biofilm) erst flächig besiedelt. Gleichzeitig oder später wachsen die Biofilme mehrschichtig auf und bilden schließlich dreidimensionale Strukturen. Von der **Existenzphase** spricht man, wenn sich ein Gleichgewicht zwischen Zuwachs und Abbau des Biofilms eingestellt hat. Die Tiefenausdehnung des Biofilms ist begrenzt, da sich regelmäßig ganze Teile des Biofilms ablösen (Häutung, engl. *sloughing*).

Quorum sensing
Die Fähigkeit von Bakterien, miteinander zu kommunizieren, wird als **Quorum sensing** bezeichnet. Sie erlaubt es den Zellen einer Suspension, die Zelldichte einer Population zu messen und darauf zu reagieren. Quorum sensing koordiniert also das Verhalten der Bakterien einer Art auf engem Raum. Bakterien, die das Quorum sensing nutzen, produzieren und sekretieren Signalmoleküle wie zum Beispiel *N*-Acyl-Homoserin-Lactone, die als Autoinduktoren beziehungsweise als Pheromone wirken. Wenn deren Konzentration einen Schwellenwert überschreitet, setzt über einen spezifischen Rezeptor die Autoinduktion ein und es werden verschiedene Gene aktiviert.

Die Lebensvorgänge der Bakterien im Biofilm unterscheiden sich deutlich von denen in freier Suspension. Bewegliche Bakterien trennen sich von ihren Flagellen und es werden andere EPS im Biofilm gebildet.

Biofilme erlauben es scheinbar lebensfeindliche Biotope zu bewohnen. Die Matrix bietet mechanische Stabilität und erlaubt es

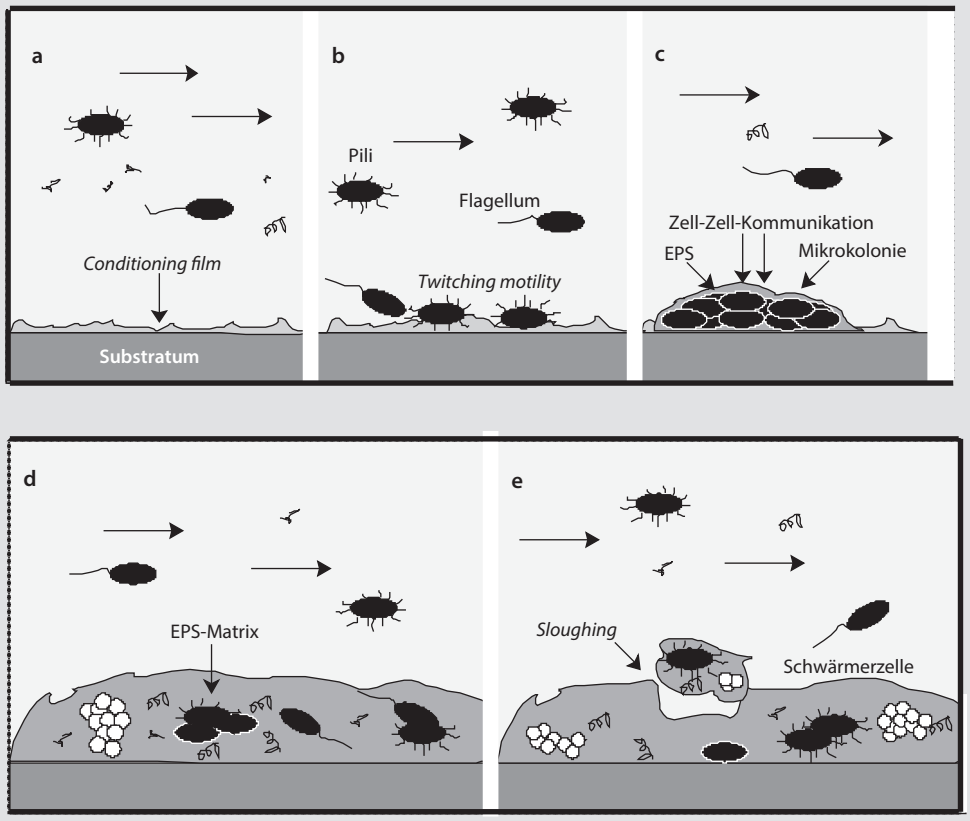


Abb. 10.12 Entwicklung und Ausbreitung eines Biofims in einem Wassersystem. **a** *Conditioning film*, **b** reversible und irreversible Adhäsion, **c** EPS-Produktion und Bildung von Mikrokolonien, **d** reifer Biofilm, **e** Ablösung einzelner Bestandteile: Biofilmfetzen und aktive Ablösung von Einzelorganismen durch Abbau von Matrixpolymeren

den Organismen, langfristige, synergistische Wechselwirkungen aufzubauen. Der Biofilm bietet dem einzelnen Mikroorganismus einen ausgezeichneten Schutz und ermöglicht ihm, sich auf veränderte Umweltbedingungen einzustellen: So steigt die Toleranz gegenüber extremen pH-Schwankungen, Schadstoffen oder Antibiotika sowie Nahrungsmangel.

Übersicht

Vorkommen von Biofilmen. Biofilme kommen überall vor – in allen Böden und Sedimenten, auf Gestein, auf Pflanzen und Tieren, auch auf und in uns selbst. Auch extreme, lebensfeindliche Umgebungen wie im Eis von Gletschern, in schwefelhaltigen, heißen Quellen, in Flugbenzin und in Öltanks, selbst stark verstrahlte Bereiche werden mittels Biofilmen besiedelt. Biofilme besiedeln Gestein, sogar Felsen in der Wüste, sie bilden mikrobielle Matten in Feuchtgebieten.

Biofilme als Störung und Sicherheitsrisiko. Fast überall, wo Biofilme auftauchen, können sie unerwünschte

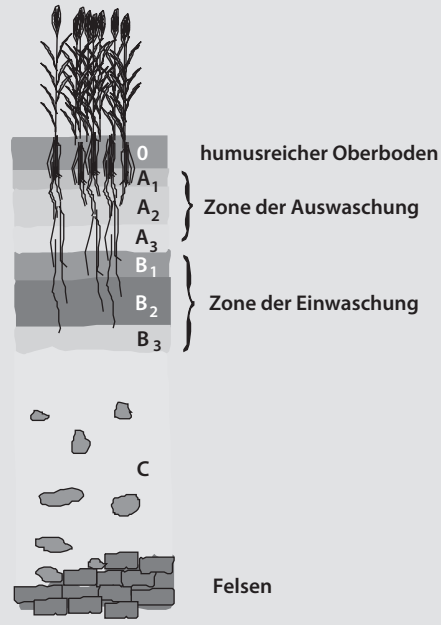
oder sogar schädliche Wirkungen haben. Biofilme haben so erhebliche Bedeutung für die Humanmedizin und die Wirtschaft. Im menschlichen Körper sind Bakterienzellen in einem Biofilm für das Immunsystem unerreichbar. Dies erschwert die Verwendung künstlicher Oberflächen, wie medizinischer Implantate oder Katheter, da sie als Orte für die Entwicklung von Biofilmen dienen können, die pathogene Mikroorganismen enthalten. Biofilme sind auch in der Mundhygiene von Bedeutung. Zahnbelag, ein typischer Biofilm, enthält säureproduzierende Bakterien, die für Karies verantwortlich sind. In technischen Anlagen können Biofilme den Fluss von Wasser oder Erdöl durch Pipelines verlangsamen, und Membranen von Wasseraufbereitungsanlagen verstopfen (Biofouling). Sie können die Korrosion von Röhren beschleunigen und die Zersetzung von Gegenständen initiieren, die sich unter Wasser befinden, wie Bohrinseln, Boote und Küstenanlagen (Biokorrosion) (Hinweis auf ► Kap. 13)

10.3 Boden als mikrobielles Habitat

Viele Schlüsselprozesse im Boden, die das Funktionieren des Ökosystems beeinflussen, finden in der Nähe von Pflanzen statt.

Am Prozess der Bodenentwicklung sind komplexe Interaktionen zwischen dem Ausgangsmaterial (Gestein, Sand, Gletschergeschiebe und so weiter), der Topographie, dem Klima und den Lebewesen beteiligt. Böden können in zwei große Gruppen eingeteilt werden – **Mineralböden** und **organische Böden** – in Abhängigkeit davon, ob sie ursprünglich aus der Verwitterung von Gestein und anderen anorganischen Stoffen stammen oder aus der Sedimentation in Sümpfen und Mooren.

Boden entsteht durch Verwitterungsprozesse und mikrobielle Aktivitäten, an denen vor allem Flechten, Cyanobakterien und chemoautotrophe Bakterien beteiligt sind. Bodenbildung ist also eine Kombination von physikalischen, chemischen und biologischen Prozessen. Aufgrund von Bewegung von Stoffen nach unten kommt es mit der Zeit zur Bildung von Schichten, und es entsteht ein typisches **Bodenprofil** (◘ Abb. 10.13). Es hat folgenden Grundaufbau: Die aus noch nicht abgebauten Pflanzenmaterialien (Streu) bestehende Schicht wird als O-Horizont bezeichnet. Darunter liegt der A-Horizont des Oberbodens (etwa 1–30 cm tief), der reich an Organismen und organischer Substanz ist. Er ist der landwirtschaftlich genutzte Horizont, die Bodenkrume. Der anschließende B-Horizont ist der Unterboden, in den gelöste Mineralstoffe und organische Säuren eingewaschen werden. Er ist arm an organischer Substanz und heller gefärbt.



◘ **Abb. 10.13** Bodenprofil/horizonte (schematisch), Höhe ungefähr 150 cm

In sauren Böden kühlfeuchter Zonen lösen Huminsäuren Eisenverbindungen aus dieser Schicht (Bleicherde oder Podsole). Im unteren Bereich dieses Horizontes kommt es zur Ausfällung rostfarbener Eisen-Humus-Verbindungen, die zu Verfestigungen führen können (Ortstein). Der untere C-Horizont besteht aus Gesteinsmaterial des Untergrundes und eingewaschenen Stoffen. Die Lebenszone des Bodens ist der O- und A-Horizont, in denen je nach Nährstoffangebot eine mehr oder weniger aktive Organismentätigkeit herrscht. Es ist der Bereich der Rhizosphäreneffekte. Die Entwicklungsrate eines typischen Bodenprofils ist normalerweise ein sehr langsamer Prozess, der sich über Hunderte von Jahren erstreckt.

Die massenmäßige Zusammensetzung der Bodenmatrix nach Korngrößen wird als Körnung oder Textur bezeichnet. Bodentextur ist ein wichtiger deskriptiver Aspekt eines mikrobiellen Habitates, da sie in Teilen die Interaktion der angesiedelten Mikroorganismen beschreibt. Die relativen Anteile der drei Hauptfraktionen (Ton, Schluff und Sand) beschreibt die Bodenart, die am einfachsten in Form von Dreiecksdiagrammen, den Körnungsdiagrammen, dargestellt werden kann (◘ Abb. 10.14).

Der Boden stellt ein komplexes System aus abiotischen und biotischen Komponenten dar. Abiotische Komponenten sind anorganische und unbelebte organische Bestandteile, Wasser und Luft. Im Boden existiert eine intensive, gegenseitige Durchdringung der drei Phasen Bodenmatrix (feste Phase), Bodenlösung (flüssige Phase) und Bodenluft (gasförmige Phase). Das Bodenvolumen macht etwa 50 % Matrix und 50 % Porenvolumen aus, das mit Bodenlösung (20–50 %) und Bodenluft (0–30 %) erfüllt ist. Die Bodenmatrix wird in einen mineralischen Anteil (90–98 %) und einen organischen Anteil (2–10 %) gegliedert.

Zwischen den mineralischen Partikeln eines porösen Mediums befindet sich ein **Porenraum.** Die Poren erlauben die Bewegung von Luft, Wasser, Chemikalien und Mikroorganismen.

Die Porengröße stellt ein Kontinuum dar, das konventionell in drei Bereiche eingeteilt wird (◘ Abb. 10.15). Die Grenzen zwischen den Porengrößenbereichen (Grob-, Mittel- und Feinporen) sind an charakteristische Kennwerte des Wasserhaushalts angelehnt. Aus der Einteilung ergibt sich, dass das Wasser in den **Feinporen** in der Regel nicht pflanzenverfügbar ist. In den **Mittelporen** ist es dagegen pflanzenverfügbar. Die **Grobporen** sind in terrestrischen Böden in der Regel wasserfrei, ihr Anteil ist daher für das Ausmaß der Belüftung des Bodens ausschlaggebend. Dies gilt besonders für Poren > 50 μm Durchmesser, die auch als **weite Grobporen** bezeichnet werden.

Die Porengröße ist für Wurzelwachstum und mikrobielle Aktivität wichtig, denn Wurzelhaare (Durchmesser > 10 μm) vermögen nur in Grobporen einzudringen, während Pilzmyzele (Durchmesser ca. 3–6 μm) und Bakterien (Durchmesser 0,2–1 μm) auch noch in Mittelporen leben können. Die Feinporen sind für Mikroorganismen jedoch nicht zugänglich.

Die Größe von Tonpartikeln entspricht in etwa der einer Bakterienzelle. Ton beeinflusst den Durchschnitt der Porengröße. Obwohl die durchschnittliche Porengröße im Tonboden geringer ist als in einem Sandboden, gibt es vielmehr Poren dort. Folglich ist der gesamte Porenraum in einem fein-strukturierten Tonboden größer als in grobkörnigem Sandboden. Da aber kleine Poren Wasser nicht so schnell transportieren wie große, wird ein fein-strukturiertes Medium die Bewegung von Luft, Wasser, Chemikalien und Mikroorganismen generell verlangsamen.

Der Anteil an Grobporen ist in der Regel umso größer, je grobkörniger, das heißt je sand- oder kiesreicher die Böden sind (◘ Abb. 10.16). Der Anteil an Feinporen ist dagegen umso größer, je feinkörniger die Böden sind. In Sandböden dominiert der Anteil der Grobporen mit 30 %, während er mit steigendem Tongehalt sinkt. Bei tonigen Böden beträgt er manchmal nur 2–3 %.

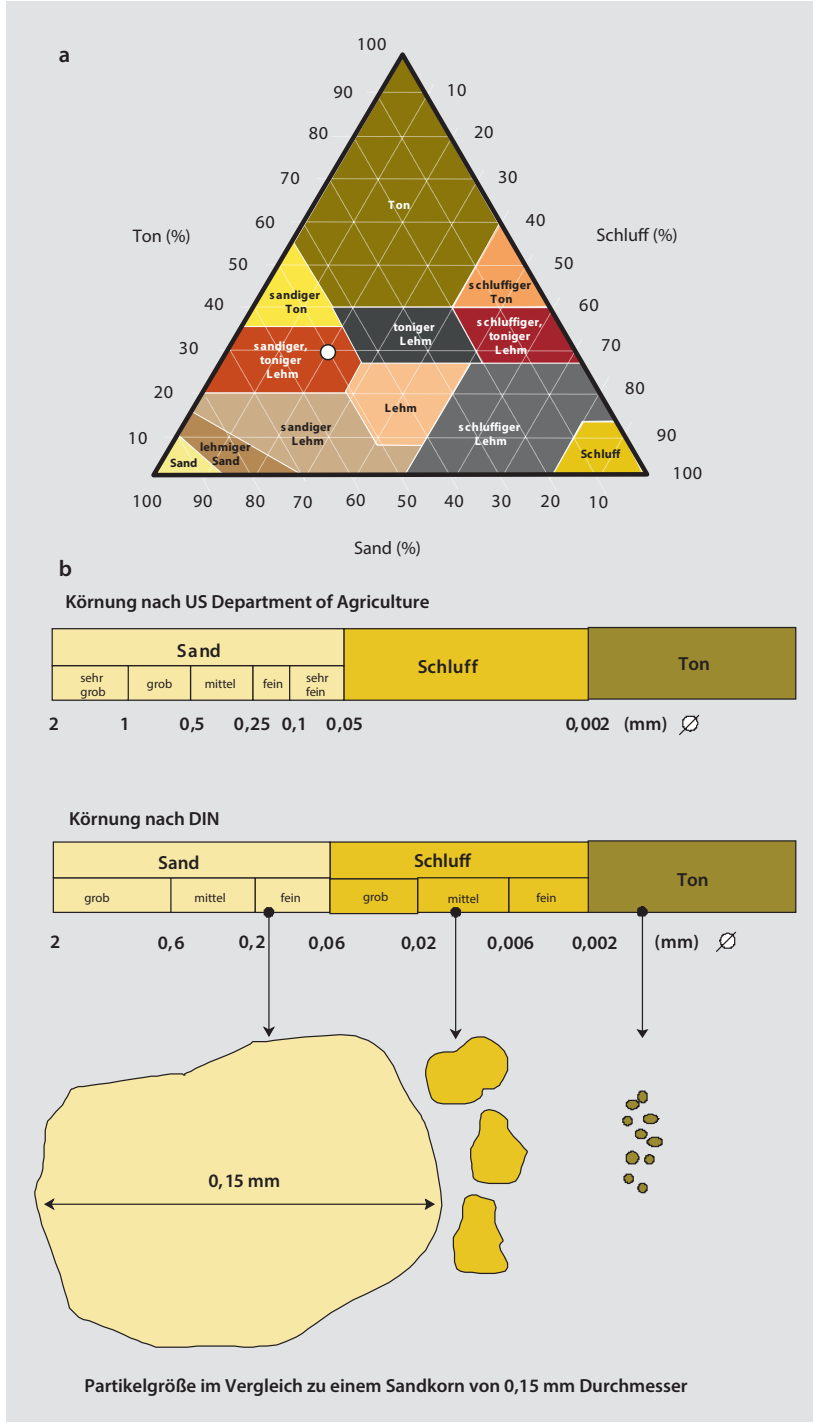


Abb. 10.14 **a** Körnungsdreieck zur Darstellung der Bodenart eines Feinbodens nach der US-Soil Taxonomy. Der Punkt o entspricht Anteilen von 50 % Sand, 20 % Schluff und 30 % Ton. **b** Klassifizierung von Bodenpartikeln nach Größe nach der US- und DIN-Nomenklatur

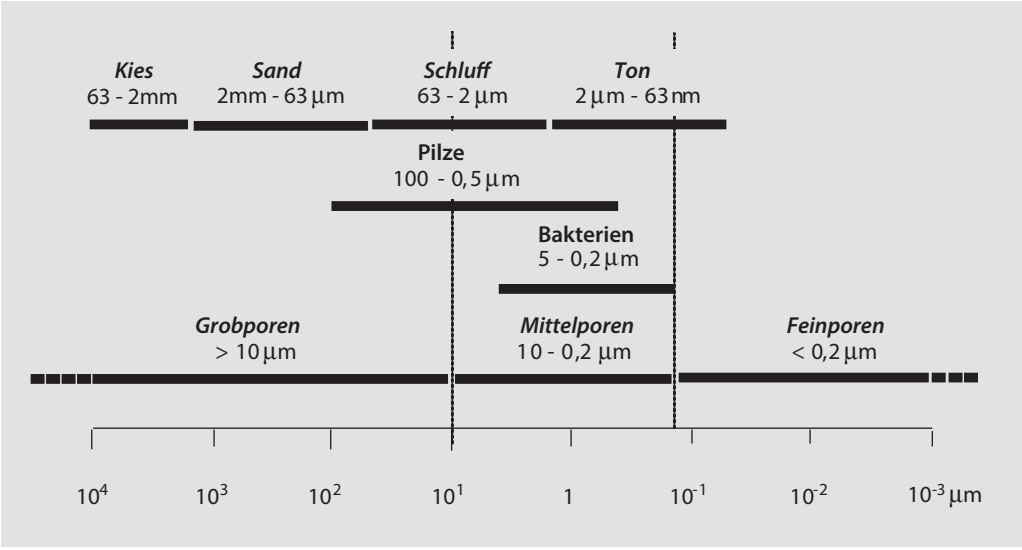


Abb. 10.15 Größenvergleich von Partikeln, Mikroorganismen und Bodenporen (Verändert nach Schachtschabel & Hartge, 1958; Matthess & Pekdeger, 1981; Matthess et al., 1988)

Es besteht zwischen dem Anteil der Feinporen und dem Tongehalt eine enge Beziehung, die sich, wenn auch weniger stark ausgeprägt, im Porenvolumen widerspiegelt.

Der Anteil der Mittelporen erreicht bei den Schluffböden (Lössböden) mit 15 % ein Maximum.

Als **Anmoor** oder *anmoorige Böden* werden Mineralböden bezeichnet, die einen sehr hohen Anteil an unzersetzter organischer Masse (über sieben Volumenprozent Rohhumus) besitzen. Anmoorige Böden sind im Wesentlichen durch die Verwitterung von Gestein entstanden. Anmoor ist kein Moor (Moore werden aus Pflanzenmaterial (Torfmoosen) gebildet). Der beigemengte Rohhumus ist dem Torf echter Moore in der Struktur sehr ähnlich, daher der Name.

Einer der Hauptfaktoren, der die mikrobielle Aktivität im Boden beeinflusst, ist die Verfügbarkeit von **Wasser.** Wasser ist eine hochvariable Bodenkomponente, da sein Vorhandensein von der Zusammensetzung des Bodens, Regen, Entwässerung und Pflanzenbewuchs abhängt. Wasser wird auf zweierlei Weise im Boden gehalten, durch Adsorption an Oberflächen oder als freies Wasser, das sich in dünnen Schichten oder Filmen zwischen Bodenpartikeln befindet. Das im Boden vorhandene Wasser enthält verschiedene darin gelöste Stoffe, und die gesamte Mischung wird als **Bodenlösung** bezeichnet. In Sandböden beträgt der Anteil des pflanzenverfügbaren Wassers am total gespeicherten Wasser 20–30 %, derjenige des nicht verfügbaren Wassers 10–20 % und derjenige des Gravitationswassers 60–70 %, während in Tonböden etwa 50–70 % nicht verfügbar, 20–40 % verfügbar und nur 5–15 % Gravitationswasser sind.

In gut entwässerte Böden dringt **Luft** leicht ein, und die Sauerstoffkonzentration kann hoch sein. In vollgesogenen Böden ist jedoch der im Wasser gelöste Sauerstoff der einzig vorhandene, und er wird schnell von Mikroorganismen verbraucht. Solche Böden werden schnell anoxisch und weisen tiefgreifende Veränderungen ihrer biologischen Eigenschaften auf.

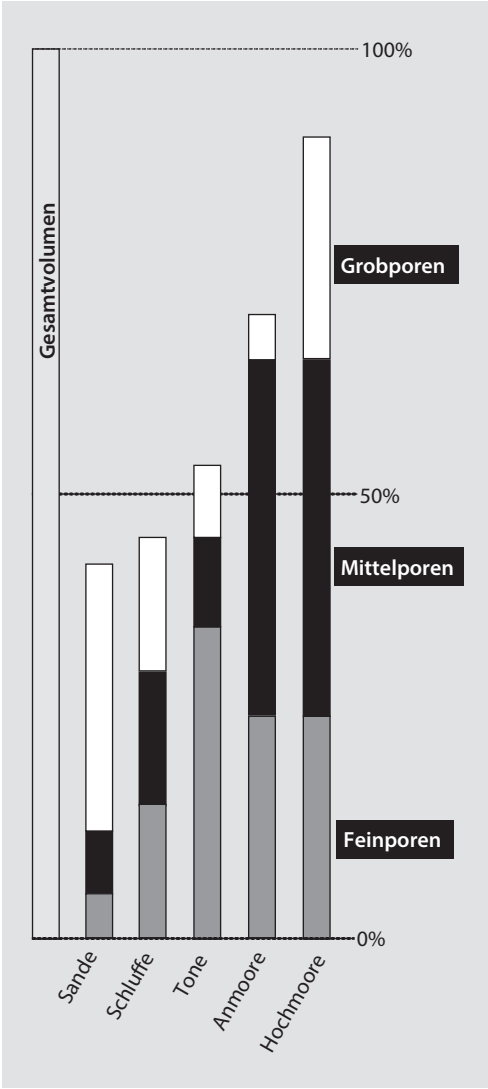


Abb. 10.16 Anteil der Porengrößenbereiche am Gesamtvolumen von Mineralböden (C-Gehalt bis 2 %) und organischen Böden (Verändert nach Blume et al., 2010)

Die **Nährstoffsituation** eines Bodens ist der andere bedeutende Faktor, der die mikrobielle Aktivität beeinflusst. Die größte mikrobielle Aktivität findet in den an organischen Stoffen reichen Oberflächenschichten statt, besonders in und um die Rhizosphäre. Die Anzahl und Aktivität von Bodenmikroorganismen hängt vor allem vom Gleichgewicht der vorhandenen Nährstoffe ab. In einigen Böden ist nicht Kohlenstoff der limitierende Nährstoff, sondern die mikrobielle Produktivität wird vom Vorhandensein anorganischer Nährstoffe wie Phosphor und Stickstoff beschränkt.

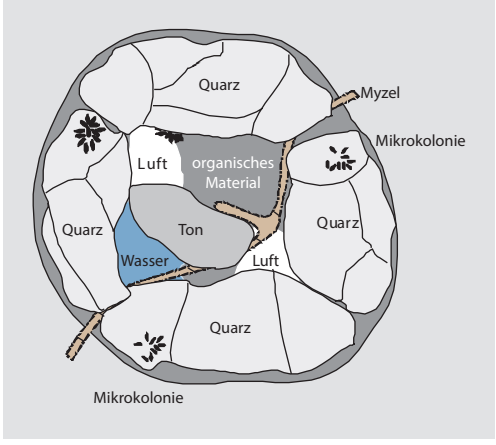
Wenn man Bodenpartikel als Habitate von Mikroorganismen beschreiben will, so ist es wichtig, auf die jeweilige unterschiedlich geladene Oberfläche hinzuweisen. Ein Beispiel: Tonmineralien besitzen auf ihren Schichtoberflächen eine permanente negative Ladung, welche durch austauschbare Kationen abgesättigt ist. Auch diese Kationaustauschkapazität ist von der Größe und damit der Oberfläche abhängig. Kleine Teile haben pro Masse eine größere Oberfläche als große. Durch die unterschiedliche Oberfläche bei den verschiedenen Tonpartikeln resultiert sehr deutlich eine Beeinflussung, wie viele und welche Typen von Mikroorganismen ein bestimmtes Bodenhabitat besiedeln.

Zu den biotischen Komponenten des Bodens gehören die Pflanzenwurzeln, Bodentiere, Algen, Pilze und Bakterien. Volumenmäßig setzt sich Wiesenboden zu etwa 45 % aus anorganischen und zu 5 % aus organischen Substanzen zusammen. Der verbleibende Anteil sind Hohlräume, die etwa je zur Hälfte mit Luft und Wasser gefüllt sind. Die organische Substanz besteht zu 85 % aus Humus, zu 10 % aus Wurzeln, zu 3–4 % aus Mikroorganismen und zu 1–2 % aus Bodentieren. Die Zusammensetzung unterliegt je nach Bodenart, Klimazone, Jahreszeit und Umweltbedingungen sehr großen Schwankungen.

Ein Waldboden unserer Breiten mit einem Laubfall von etwa 1000–2000 kg Trockensubstanz pro ha enthält größenordnungsmäßig (in Trockensubstanz): 40 kg Bakterien, 400 kg Pilzmyzel, 5 kg Insekten und 10 kg Regenwürmer. Anschaulicher sind die Keimzahlen für 1 g lufttrockenen Ackerboden: 10^8 bis 10^9 Bakterien und 10–100 m Myzel. Keimzahlen und Gewichte sagen jedoch noch nichts über die Aktivität aus. Die

Mikroorganismen unterliegen einem Umsatz, sie wachsen und dienen anderen Organismen als Nährstoff. Die im Boden auftretenden Generationszeiten sind wesentlich länger als im Labor, sie gehen in die Größenordnung von Tagen. Nährstofflimitation herrscht unter natürlichen Bedingungen vor. Im Labor eingesetzte Nährlösungen haben einen Kohlenhydratgehalt um 10 g/L, in der Natur liegt die Konzentration jedoch um 10 mg/L.

Der Boden ist ein heterogenes Medium. In der Nähe der Wurzeln oder abgestorbener organischer Substanz tritt eine höhere Substratkonzentration auf. Tonminerale haben sorptive Eigenschaften, sie binden Nährstoffe und wirken als Ionenaustauscher. Bakterien leben bevorzugt in kapillaren Poren, zum überwiegenden Teil durch Schleime an Oberflächen gebunden (◘ Abb. 10.17). Die Schleimbildung und die Verflechtung der Bodenpartikel durch Myzelien führen zu einer Krümelstruktur (Lebendverbauung), die für die Bodenbelüftung sowie Wasserführung und damit für die Bodenfruchtbarkeit von großer Bedeutung ist. Insgesamt besteht der Boden aus einer Vielzahl verschiedener Mikrohabitate.



◘ **Abb. 10.17** Schematische Darstellung eines Bodenaggregates, das aus organischen und mineralischen Komponenten besteht. Nur sehr wenige Mikroorganismen kommen frei in der Bodenlösung vor, die meisten haften als Mikrokolonien an den Bodenpartikeln

Auch die Tiefenschichten des Bodens, die sich mehrere hundert Meter unter die Oberfläche erstrecken, sind von einer Vielzahl von Mikroorganismen, hauptsächlich Bakterien, besiedelt. In Proben aus 300 m Tiefe fand man eine große Diversität an Bakterien, einschließlich anaerober, wie sulfatreduzierender Bakterien, Methanogene und Acetogene, sowie zahlreiche aerobe und fakultativ anaerobe Bakterien. Die Mikroorganismen in den Tiefenschichten haben vermutlich Zugang zu Nährstoffen, weil Grundwasser durch ihre Habitate fließt. Messungen ihrer Aktivität deuten an, dass die Stoffwechselraten der Bakterien in ihren natürlichen Habitaten relativ niedrig sind. Im Vergleich zu Mikroorganismen in den oberen Bodenschichten könnte daher die biogeochemische Bedeutung der Mikroorganismen in den Tiefenschichten minimal sein. Es gibt jedoch Hinweise darauf, dass die Stoffwechselaktivitäten dieser unterirdischen Mikroorganismen über lange Zeiträume hinweg für die Mineralisierung organischer Verbindungen und die Freisetzung von Produkten ins Grundwasser verantwortlich sein könnten.

Fortschritte seit den späten 1990 bei der Analyse von mikrobiellen Gemeinschaften basierend auf der DNA-Extraktion und der Analyse der 16S rRNA Gene im Gegensatz zur Kultivierung haben erkennen lassen, dass es bakterielle Phyla gibt, die wachstumsfähig sind, aber schwierig zu kultivieren. Die Informationen in der ◘ Tab. 10.2 sind aus der Arbeit von Janssen (2006) extrahiert. Sie zeigen die am stärksten verbreiteten bakteriellen Phyla in 21 Bodenproben, die mittels Gemeinschaft-DNA Analyse statt kulturbedingten Techniken untersucht wurden.

Archaea sind in den Böden auch nachgewiesen worden, obwohl ihre Menge generell niedrig ist.

Tab. 10.2 Typische Zusammensetzung von bakteriellen Bodengemeinschaften (Verändert nach Janssen, 2006)

Bakterielles Phylum	Subphylum	Anteil an der gesamten Bodenpopulation (%)[a]	Einschätzung der relativen Leichtig- oder Schwierigkeit einer Isolierung und Kultivierung[d]
Proteobacteria	*Alpha* *Beta* *Gamma* *Delta* *Epsilon*	**39**[b] 10–77[c]	leicht
Acidobacteria	Subdivision 1–7	**20** 5–46	schwierig
Actinobacteria	*Acidimicrobidae* *Actinobacteridae* *Rubrobacteridae*	**13** 0–34	leicht
Verrucomicrobia	*Verrucomicrobiae* *Spartobacteria* Subdivision 3 + 4	**7** 0–21	schwierig
Bacteriodetes	*Flavobacteria* *Sphingobacteria*	**5** 0–18	leicht
Chloroflexi		**3** 0–16	schwierig
Planctomycetes		**2** 0–8	schwierig
Gemmatimonadetes		**2** 0–4	schwierig
Firmicutes	*Bacilli* *Clostridia*	**2** 0–8	leicht
Andere		**5**	
Unbekannte		**2**	

[a]Basierend auf der Analyse von 2920 Klonen aus 21 verschiedenen Bodenproben. Mitglieder der 9 Phyla machen im Mittel 93 % der Bodenbibliotheken aus
[b]Mittelwert; [c] Wertebereich
[d]Diejenigen Phyla, die als „leicht" bezeichnet sind, haben Mitglieder, die aus Umweltproben mit R2A-Agar innerhalb eines relativ kurzen Zeitraumes (wenige Tage bis 2 Wochen) isoliert werden können. Diejenigen Phyla, die als „schwierig" bezeichnet sind, benötigen spezielle Medien, gewöhnlich mit sehr geringen Mengen an organischem Kohlenstoff und es dauert häufig Wochen oder Monate bis zum Wachstum. In vielen Fällen sind nur sehr wenige Mitglieder der schwierigen Phyla als Kultur isoliert worden

10.4 Aquatische Biotope

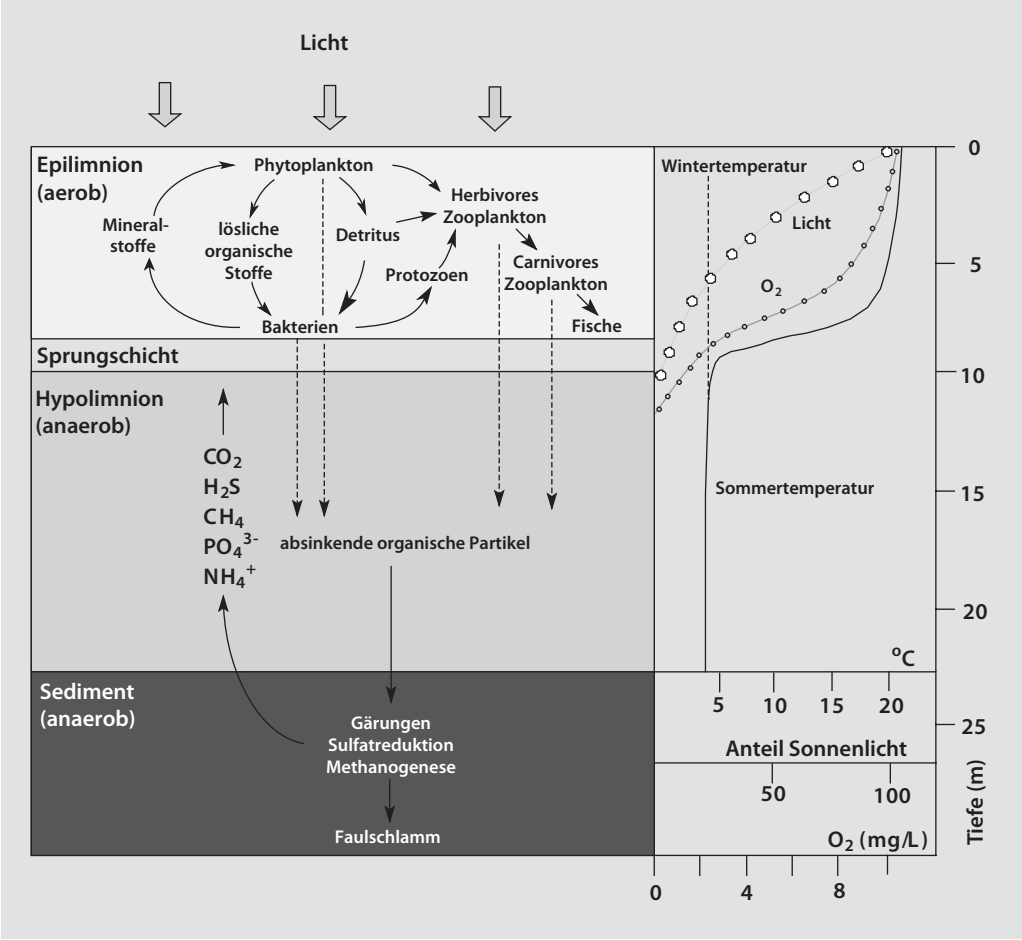
Aufgrund ihrer beträchtlichen Unterschiede in den physikalischen und chemischen Eigenschaften (Ozeane, Salzsümpfe: Salzwasser; Flussmündungen: Brackwasser; Seen, Teiche, Flüsse: Süßwasser) weisen aquatische Biotope eine diverse Zusammensetzung ihrer mikrobiellen Arten auf.

10.4.1 Süßwasser Umgebung

10.4.1.1 Das freie Wasser

Seen sind Ökosysteme, an denen sich die Organisation von Habitaten gut verdeutlichen lässt. Die meisten Seen in den gemäßigten Klimazonen weisen im Sommer eine Schichtung auf (◘ Abb. 10.18).

Die Schichtung (Stratifikation) geht auf die Eigenschaft des Wassers zurück, bei +4 °C die größte Dichte zu besitzen. Kühleres und wärmeres Wasser ist leichter und hat daher gegenüber Wasser von +4 °C einen Auftrieb. Im Frühjahr kommt es nach dem Schmelzen der Eisdecke durch den Wind zu einer Durchmischung des Wassers (Frühjahrszirkulation). Die Temperatur liegt im gesamten Wasserkörper bei +4 °C. Durch die Sonneneinwirkung erwärmt sich die Oberschicht, das **Epilimnion.** Sie schwimmt aufgrund der geringeren Dichte



◘ **Abb. 10.18** Der See als geschichtetes Ökosystem während der Sommerzeit mit Nahrungsnetz sowie Profilen von Temperatur, Sauerstoff und Licht

auf den kälteren Wasserschichten. In der unter dem Epilimnion liegenden Schicht geht die Wassertemperatur sprunghaft zurück (**Sprungschicht** oder **Metalimnion**). Die anschließende Tiefenschicht, das **Hypolimnion,** hat eine Temperatur um 4 °C, da kein Wärmetransport durch die Sprungschicht in die Tiefe erfolgt. Über den Sommer ergibt sich so eine stabile Schichtung (Sommerstagnation). Im Spätherbst und Frühwinter werden die Oberflächenschichten kälter und daher dichter als die Tiefenschichten, die Wassermassen werden durch den Wind wieder umgewälzt. Im Winter bildet sich eine Eisdecke und damit eine erneute Schichtung aus.

Der aufgezeigte jährliche Zyklus hat Einfluss auf die Verteilung von Sauerstoff und Nährstoffen im See. Sauerstoff ist in Wasser nur begrenzt löslich (8,9 g/L bei 24 °C, 12,8 g/L bei 5 °C). In einer großen Wassermasse geht sein Austausch mit der Atmosphäre nur langsam vonstatten. Eine bedeutende photosynthetische Sauerstoffproduktion findet nur in den Oberflächenschichten eines Sees statt, wo Licht zur Verfügung steht. Eine typische Reduktion des Gehaltes bis zur Sprungschicht resultiert.

In Seen und anderen Gewässern reichern sich durch Zuflüsse anorganische Nährstoffe an, die eine zunehmende Produktion organischer Substanz durch die Photosynthese ermöglichen. Nährstoffarme oder **oligotrophe** Gewässer gehen dadurch allmählich in nährstoffreiche oder **eutrophe** Gewässer über. Die **Eutrophierung** ist ein natürlich ablaufender Alterungsprozess von Gewässern, der durch anthropogene Einflüsse wie Abwässer und Düngerabschwemmung beschleunigt wird.

In den Gewässern findet ein Auf- und Abbau organischer Substanz statt. Am Anfang der Nahrungskette stehen als Primärproduzenten Algen, höhere Pflanzen und Cyanobakterien. Phototrophe Mikroorganismen spielen als Primärproduzenten eine beachtliche Rolle. Letztendlich ist die biologische Aktivität eines aquatischen Ökosystems von der Rate der Primärproduktion durch phototrophe Mikroorganismen abhängig. Bei Stickstoffmangel aber ausreichendem Phosphatangebot kommt es zur Massenentwicklung von Cyanobakterien, da viele Arten zur N_2-Bindung befähigt sind. Die im Wasser schwebenden Mikroalgen und Cyanobakterien werden als Phytoplankton bezeichnet.

Cyanotoxine als Trinkwasserproblem

Cyanobakterien sind von großer Bedeutung in marinen, limnischen und terrestrischen Lebensräumen. Cyanobakterien verursachen aufgrund ihres meist unangenehmen Geruches (Geosmin und 2-Methylisoborneol) und der unerwünschten Färbung des Oberflächenwassers Probleme im Trinkwasser. Zudem stellen von ihnen produzierte toxische Sekundärmetabolite, Cyanotoxine, ein Risiko für die Gesundheit der Menschen dar, die mit belastetem Trinkwasser versorgt werden. Die Toxine, die bei Lyse der Bakterien freigesetzt werden, sind bezüglich chemischer Struktur sehr unterschiedlich und umfassen unter anderem Alkaloide wie Cylindrospermopsin, welches von *Cylindrospermopsis raciborskii* gebildet wird, und Cyclopeptide wie Microcystine (MC) und Nodularine, die von *Microcystis aeruginosa* und *Nodularia* sp. synthetisiert werden. Einige Cyanotoxine zeigen toxische Wirkung zum Beispiel eine Proteinsynthese hemmende Aktivität oder starke Hemmung einer Proteinphosphatase, aber auch tumorfördernde Aktivität wurde festgestellt. Cylindrospermopsin ist als Neurotoxin bekannt. Alle Cyanotoxine sind wasserlöslich und haben negative Einflüsse auf verschiedene Organsysteme des Menschen. Um das Risiko für die Menschen zu minimieren, ist eine geeignete Aufbereitung des Trinkwassers nötig (◘ Abb. 10.19).

Abbau von Toxinen der Cyanobakterien

Wenn die Cyanobakterien nicht durch Flokkulation, durch Rückwaschen von Schnellfiltern oder durch Wechseln des Filtermaterials entfernt worden sind, so verbleiben die Zellen und die Toxine im Trinkwasser und müssen in nicht-toxische

Verbindungen abgebaut werden. Die Toxine selbst können weder durch Flokkulation noch durch Sandfiltration entfernt werden. Aktivkohle hat die Fähigkeit die Toxine zu binden, aber die Adsorptionskapazität ist begrenzt. Die Hydrophilie/Adsorptionstendenz von Microcystinen ist variabel, kann aber über den Kow-Wert abgeschätzt werden. Cylindrospermopsin ist sehr wasserlöslich und adsorbiert deshalb unbefriedigend an Aktivkohle oder kann schlecht durch andere Filtrationsschritte und Flokkulation entfernt werden. Oxidationsschritte (Ozonierung und nachfolgende Filtration) oder bakterieller Abbau sind während der Trinkwasseraufbereitung notwendig, um die Cyclopeptide zu entfernen. Ein solcher „Biofilm" existiert auf Aktivkohle- und langsamen Sandfiltern.
Sind die Microcystine erst einmal in den Wasserkörper freigesetzt worden, so können sie über Wochen persistieren, bevor sie durch Bakterien des Genus *Sphingomonas* abgebaut werden. MC-abbauende Bakterien sind verbreitet in Oberflächenwassern, unabhängig davon, ob eine Kontamination durch Cyanobakterien oder Microcystine im Wasser schon vorgelegen hat. Siebzehn Stämme von gram-negativen Bakterien mit der Eigenschaft des MC-Abbaus wurden beschrieben. *Sphingomonas* sp. ist nicht der einzige Bakteriengenus der für den Abbau von Microcystinen verantwortlich ist. Mindestens drei hydrolytische Enzyme sind am Abbau von MC-LR durch *Sphingomonas* sp. beteiligt: die Metalloprotease Microcystinase katalysiert die Ringöffnung an der Adda-Arginine Peptidbindung, eine mögliche Serinpeptidase schneidet das lineare Peptid, sodass ein Tetrapeptid gebildet wird, und eine mögliche Metallopeptidase zerlegt das Tetrapeptid in kleinere Peptide und Aminosäuren (◘ Abb. 10.20).
Microcystin abbauende Bakterien können MC-LR, MC-YR und MC-RR (L: Leucin; R: Arginin, Y: Tyrosin) als alleinige Kohlenstoff- und Energiequelle verwerten. Die alkalische Protease von *Pseudomonas aeruginosa* ist ein weiteres Beispiel, wie ein Bakterium die Peptidbindungen von Microcystinen spalten kann.

Eine Besonderheit aquatischer Nahrungsketten, die ein vernetztes System mit kurzgeschlossenen Kreisläufen darstellen, ist das Phänomen der **„Microbial Loop"** (mikrobielle Schleife). Heterotrophe Bakterien der freien Wasserzone nutzen die vom Phytoplankton ausgeschiedenen beziehungsweise durch Autolyse gebildeten organischen Stoffe, die vor allem als lösliche organische Stoffe anfallen. Zu diesen im See gebildeten autochthonen Substanzen kommen die Zuflüsse mit allochthonen Stoffen. Die Gesamtheit der gelösten Stoffe (DOM = dissolved organic matter) liegt bei oligotrophen Gewässern um 0,5–3 mg C/L, bei eutrophen Gewässern um 10 bis 20 mg C/L. Die in oligotrophen Gewässern vorliegenden geringen Substratkonzentrationen um 1 mg C/L werden durch Bakterien verwertet, die an geringe Substratkonzentrationen adaptiert sind. Zu diesen **oligotrophen** oder **oligocarbophilen** Bakterien gehören *Hyphomicrobium*-, *Nevskia*- und *Vibrio*-Arten. Der Konzentrationsbereich um 10 mg C/L wird durch Vertreter der Gattungen *Chromobacterium, Flavobacterium* und *Pseudomonas* verwertet.

Anders als die Eukaryoten, die auf partikuläre Nahrung angewiesen sind, nehmen die Bakterien die gelösten organischen Verbindungen auf. Damit haben die Prokaryoten eine spezifische und ganz andere Funktion als die höheren Organismen in der Nahrungskette. So wird gelöster, den höheren Organismen nicht zugänglicher organischer Kohlenstoff teils zu CO_2 oxidiert und teils wieder in partikuläre Substanz, die bakterielle Zellmasse überführt. Die Bakterien dienen Protozoen und anderen Kleinstlebewesen des Zooplanktons als Nahrung, sodass durch die bakterielle Aktivität die gelöste organische Substanz wieder in die Nahrungskette zurückgeführt wird. Die Bakterien stehen also nicht als Destruenten am Ende einer Nahrungskette, sondern sind zwischen

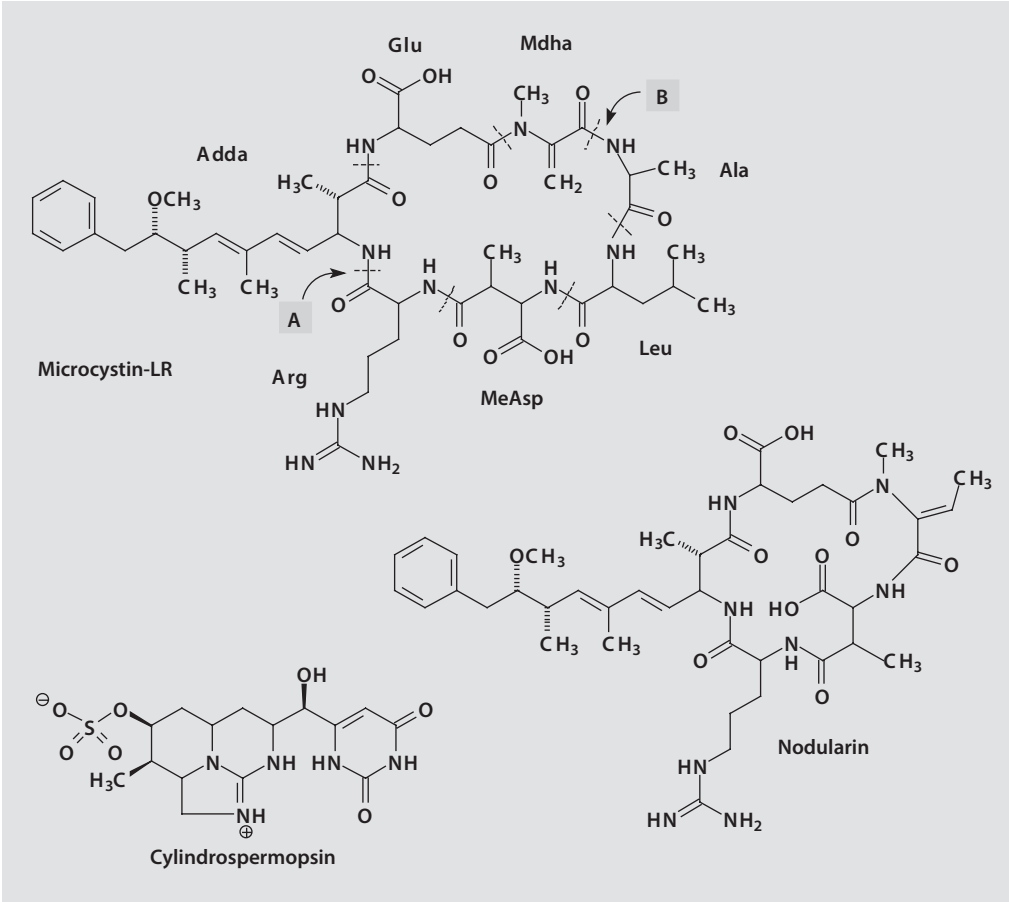


Abb. 10.19 Strukturen von Microcystin, Nodularin und Cylindrospermopsin. Adda: (2S,3S,8S,9S)-3-Amino-9-methoxy-2,6,8-trimethyl-10-phenyldeca-4,6-dienoat. D-MeAsp: D-*erythro*-β-Methylaspartat. Mdha: *N*-Methyldehydroalanin. Microcystin-LR (L: *L*-Leucin; R: *L*-Arginin). Die beiden Großbuchstaben bezeichnen die zwei variablen Aminosäuren in den Microcystin-Kongeneren. Die initialen Angriffsorte für Abbau (A und B) sind gezeigt. Adda ist spezifisch für Microcystin und erlaubt einen eindeutigen Nachweis mittels ELISA

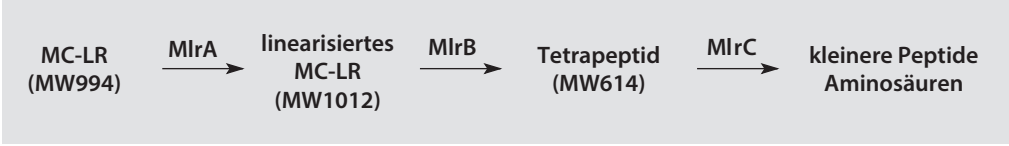


Abb. 10.20 MC-LR-Abbauweg durch *Sphingomonas* sp. (Bourne *et al.*, 2001). MlrA-C: Microcystinasen A-C

den Primärproduzenten und Konsumenten eingeordnet. Etwa 50 % der bei der Primärproduktion gebildeten organischen Stoffe können durch die bakterielle Schleife verlaufen. Bakterien sind auch wesentlich am Abbau des partikulären Detritus beteiligt.

Phytoplankton und Detritus sind die Nahrungsquelle für herbivore Konsumenten, zum Beispiel Rotatorien und Daphnien. Diese dienen dem carnivoren Zooplankton als Nahrung. Weitere Glieder der Nahrungskette sind Insektenlarven, Würmer und Fische.

Organische Stoffe, die nicht in den Oberflächenschichten verbraucht werden, sinken in die Tiefe und werden von fakultativ anaeroben Mikroorganismen abgebaut, die den im Wasser gelösten Sauerstoff verwenden. In Seen werden die tiefen Schichten anaerob, sobald der Sauerstoff verbraucht ist, hier können streng aerobe Organismen nicht wachsen. Die unteren Schichten sind in ihrer Artenzusammensetzung auf anaerobe Bakterien und ein paar Arten mikroaerophiler Tiere beschränkt. Dort findet der Übergang vom Atmungs- zum Gärungsstoffwechsel statt, mit bedeutenden Konsequenzen für Kreisläufe des Kohlenstoffs und anderer Nährstoffe.

10.4.1.2 Das Sediment

Die tote partikuläre Substanz aus dem Phyto- und Zooplankton (Detritus) sinkt langsam nach unten und wird im Sediment teilweise mineralisiert. Weiterhin werden in das Sediment unlösliche organische Partikel aus Zuflüssen und dem Laubfall eingeschwemmt. Wesentliche Komponenten des Sediments sind Pflanzenbiomasse und Reste von Zooplankton und Insekten. Durch die aeroben Abbauprozesse der oberen Gewässerschichten wird der Sauerstoff in den Sommermonaten weitgehend verbraucht und diffundiert nicht nach. Die Sedimente tieferer Gewässer sind deshalb in der Regel anoxisch. Wesentliche anaerobe Abbauprozesse sind die Methanogenese und die Sulfatreduktion. Der Anteil der beiden Prozesse ist vom Sulfatgehalt abhängig. Da in Süßwasserseen der Sulfatgehalt gering ist, verläuft der anaerobe Abbau zum größten Teil über die Methanogenese. An dieser methanogenen Nahrungskette (siehe ► Abschn. 4.5.1) sind Polysaccharide abbauende und gärende Bakterien sowie die acetogenen und methanogenen Bakterien beteiligt. Das Endprodukt Methan steigt auf und ist ein Substrat für die aeroben methylotrophen Bakterien des Epilimnions und der Sprungschicht (◘ Abb. 10.21).

10.4.2 Marine Umgebungen

10.4.2.1 Küstengebiete und Gezeitenzonen

Die Küstengebiete der Ozeane sind normalerweise nährstoffreich und ermöglichen daher dichtere Populationen von Phytoplankton. Diese wiederum unterstützen höherstehende Bakterien und Wassertiere. Meeresbuchten und -arme, die hohe Konzentrationen an Nährstoffen aus dem Abwasser und aus Industrieabfällen erhalten, können sehr hohe Bakterien- und Phytoplanktonpopulationen aufweisen. Die starke Verschmutzung führt dazu, dass durch den O_2-Verbrauch der heterotrophen Bakterien flache Meeresgewässer anoxisch werden. Die Produktion von H_2S durch sulfatreduzierende Bakterien bewirkt, dass das Meerwasser für marine höhere Organismen toxisch wird.

Die Gezeitenzonen sind marine Bereiche, in denen es zur Ausbildung von geschichteten Bakteriengesellschaften, den **Mikrobenmatten** kommt, die auf festem Untergrund wie dem Meeressediment wachsen. Charakteristisch für Matten ist, dass sie dem Sonnenlicht ausgesetzt sind und damit Existenzbedingungen für phototrophe Mikroorganismen bieten. Mikrobielle Matten enthalten Cyanobakterien, Purpurbakterien, Grüne Schwefelbakterien, farblose schwefeloxidierende und sulfatreduzierende Bakterien. Sie bilden vertikal geschichtete Gemeinschaften, die als Farbstreifen sichtbar werden können (Farbstreifenwatt). Mikrobielle Matten haben nur wenige Millimeter Schichtdicke. Die typischen Organismengruppen und die Schichtfolge sind in ◘ Abb. 10.22 dargestellt.

In der oberen Schicht, die aus Sand oder angeschwemmten Algen bestehen kann, befinden sich häufig Kieselalgen (Diatomeen). Es folgt eine grüne Schicht aus verschiedenen Cyanobakterien-Arten. Darunter liegt häufig eine Schicht von farblosen schwefeloxidierenden Bakterien wie *Beggiatoa*. Es

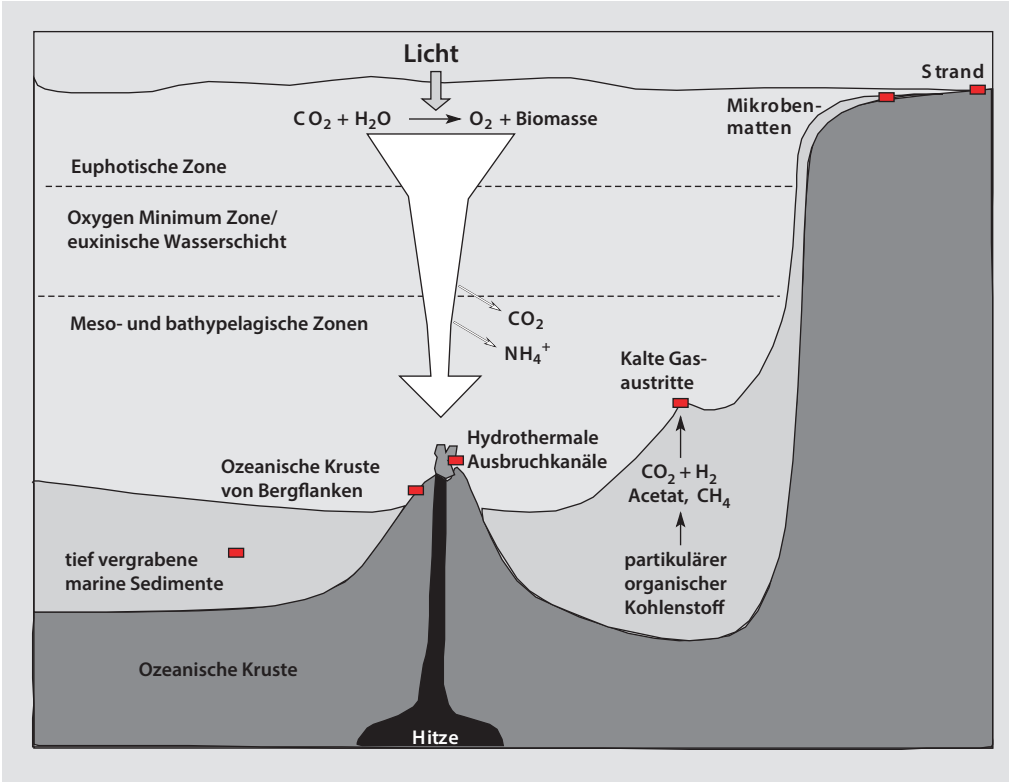


Abb. 10.21 Schematische Darstellung der Bereiche im Ozean, die auf mikrobielle Aktivität untersucht worden sind. Rechtecke markieren Bereiche, die im Text besprochen werden

folgen eine oder mehrere rote Schichten von Purpurbakterien und dann eine der Grünen Schwefelbakterien. Darunter liegt eine nach unten sehr ausgedehnte schwarze Schicht, in der die sulfatreduzierenden Bakterien leben. Die Schwarzfärbung geht auf Eisensulfid zurück, das durch H_2S ausgefällt wurde. Der H_2S-Geruch ist typisch für dieses Habitat. Das Farbstreifenwatt ist eine spezielle Form des Sulphuretums, worunter man bakterielle Lebensräume versteht, in denen durch die Sulfatreduktion H_2S gebildet wird. Diese für viele Organismen toxische Verbindung wird von schwefeloxidierenden Bakterien sowie den phototrophen Purpurbakterien und Grünen Schwefelbakterien als Energiequelle beziehungsweise Elektronendonor genutzt.

Die Bakterienmatte des Farbstreifenwatts ist ein Lebensraum mit hoher Primärproduktion und hohen Umsatzraten der Stoffkreisläufe. Durch die **Syntrophie,** das Zusammenwirken der Bakteriengesellschaft, sind eine sehr hohe Bakteriendichte und Stoffwechselaktivität der Matte möglich.

Die beiden Gruppen der Primärproduzenten, Cyanobakterien und Purpurbakterien, sind Schwachlichtorganismen. Die Sandschicht mit den Diatomeen absorbiert einen Teil des Lichtes. Die Cyanobakterien absorbieren aufgrund der Ausstattung mit den Photosynthesepigmenten Chlorophyll a und den Phycobilinen vor allem Licht im Bereich von 400–700 nm, während für die darunter liegende Schicht der Purpurbakterien aufgrund der Absorption des Bakteriochlorophylls um 850 nm Strahlungsenergie aufgenommen wird, die von den darüber lebenden Organismen nicht absorbiert wurde (Abb. 10.23).

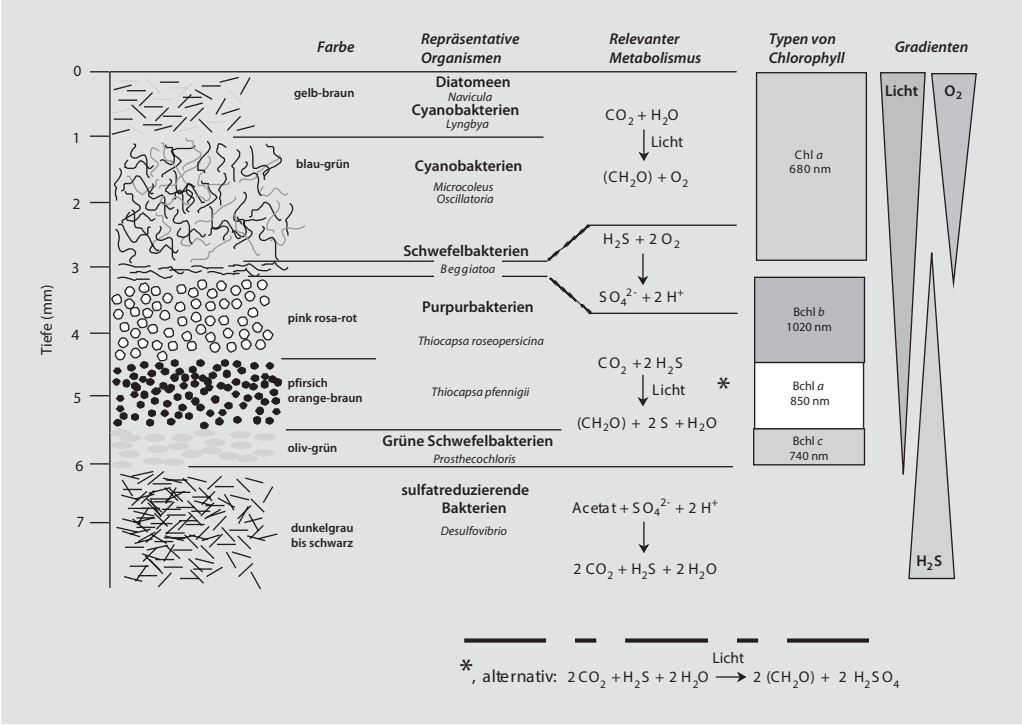


Abb. 10.22 Schematischer Aufbau einer Bakterienmatte mit beteiligten Mikroorganismen, ihren jeweiligen Metabolismen sowie ihren Photopigmenten

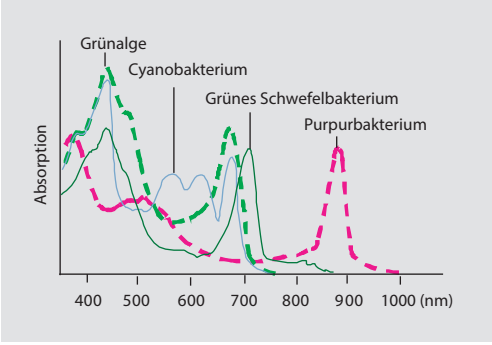


Abb. 10.23 Absorptionskurven von Algen, Cyanobakterien, Purpurbakterien und Grünen Schwefelbakterien. Aufgrund ihrer unterschiedlichen Ausstattungen an photosynthetischen Pigmenten können sie unterschiedliche Spektralanteile nutzen, die von den jeweils darüber lebenden Organismen nicht absorbiert worden sind

Die Produkte der Photosynthese stellen nach Umwandlung durch Gärungsprozesse die Substrate für die sulfatreduzierenden Bakterien dar. Diese obligaten Anaerobier nutzen Sulfat, das als Endprodukt der Schwefeloxidation von *Beggiatoa* und der anoxygenen Photosynthese der Purpurbakterien anfällt, als Elektronenakzeptor. Das Endprodukt des sulfidogenen Stoffwechsels, H_2S, steigt in der Mikrobenmatte nach oben und wird von den Purpurbakterien und den schwefeloxidierenden Bakterien als Substrat aufgenommen und dadurch abgefangen. Durch dieses Interaktionsgefüge kommt es zu Substratgradienten.

Ein deutlicher Tag-Nacht-Wechsel tritt auf. Am Tage gelangt durch die Photosynthese der Cyanobakterien Sauerstoff in tiefere Schichten. Mittags ist nämlich *Oscillatoria* der dominante Organismus. Durch die Fähigkeit zur N_2-Bindung leisten die Cyanobakterien einen weiteren Beitrag zur Produktivität des Systems. Des Nachts wird kein Sauerstoff gebildet, er wird aber schnell durch *Beggiatoa* verbraucht. Der Schwefelwasserstoff gelangt

näher an die Oberfläche, da die phototrophen Bakterien ihn nicht verbrauchen. Gleichzeitig hat *Beggiatoa* so eine höhere Konzentration als Energiequelle zur Verfügung solange eine genügend hohe Konzentration des Endakzeptors Sauerstoff vorliegt.

Das Farbstreifenwatt ist ein sehr gutes Beispiel, um sich Selektionsvorgänge deutlich zu machen. Die verschiedenen Bakterien reichern sich dort an, wo sie ihren Anforderungen gemäße Bedingungen finden. Es liegt ein Gradient an verschiedenen Nährstoff- und Energiequellen vor, in den die Bakterien sich als Schicht einnischen. Durch die sich ausbildenden Gradienten um Nährstoffe, H_2S, Sauerstoff und Licht kommt es zur schichtweisen Entwicklung von verschiedenen phototrophen Grünen Schwefelbakterien, Purpurbakterien und Cyanobakterien sowie schwefeloxidierenden Bakterien.

Biogeochemische Prozesse und Redoxzonen am Strand der Insel Spiekeroog

Mit einem interdisziplinären Ansatz wurden Schlüsselprozesse in Strandanlagen auf der Insel Spiekeroog, südliche Nordsee, untersucht. Die räumlichen Schwankungen der unterirdischen Verweilzeiten des Porenwassers, des Salzgehaltes, der organischen Stoffe (OM) und die Redoxkonditionen sowie deren Auswirkungen auf die Nährstoffkreisläufe sowie auf die mikrobiellen Gemeinschaftsmuster und das Wachstum des Mikrophytobenthos wurden analysiert. Sediment- und Porenwasserproben wurden von den Dünen bis zur Niedrigwasserlinie mit Sedimenttiefen bis zu 5 m unterhalb der Sedimentoberfläche aufgenommen (◘ Abb. 10.24). Zusammenfassend lässt sich sagen, dass der Strand aus drei Zonen besteht:

1. die Süßwasser-dominierte, oxische Zone, die sich hinter einer Backshore-Berme befindet und nur unregelmäßig überflutet wird und die eine begrenzte OM-Verfügbarkeit aufweist,
2. die Seewasser-beeinflusste, oxische bis suboxische USP-Zone, wo Porenwasserumwälzung zu regelmäßigen Sauerstoff-, Nährstoff- und OM-Verfügbarkeitsveränderungen führen kann, und
3. die Seewasser-beeinflusste, hauptsächlich anoxische Zone in den Kamm-Sedimenten. Beck et al., 2017.

10.4.2.2 Das Pelagial

Im Meer wird mit Pelagial die festlandsferne Hochsee, das heißt das offene Meer bezeichnet. Es ist der uferferne Freiwasserbereich oberhalb der Bodenzone.

In den offenen Ozeanen ist die Primärproduktion eher gering, da anorganische Nährstoffe, insbesondere Stickstoff und Eisen, das Wachstum des Phytoplanktons limitieren. Eine Folge der relativ geringen Primärproduktion in den Ozeanen ist eine relativ geringe heterotrophe mikrobielle Aktivität. Dies stellt wiederum sicher, dass sogar in großer Tiefe das meiste Ozeanwasser oxisch ist.

10.4.2.2.1 Epipelagische Zone/ Euphotische Zone

Sichtbares Licht dringt nicht weiter als ungefähr 300 m tief in das Wasser der offenen Ozeane ein. Diese obere Region wird als die **euphotische Zone** bezeichnet, wo Sonnenlicht genug Energie für die Photosynthese bereitstellt. Die hauptsächliche Primärproduktion im offenen Ozean findet in dieser **epipelagischen Zone** statt.

Unterhalb dieser Zone, bis zu einer Tiefe von ungefähr 1000 m, findet aufgrund der Aktivität von Tieren und chemoorganotrophen Mikroorganismen immer noch eine

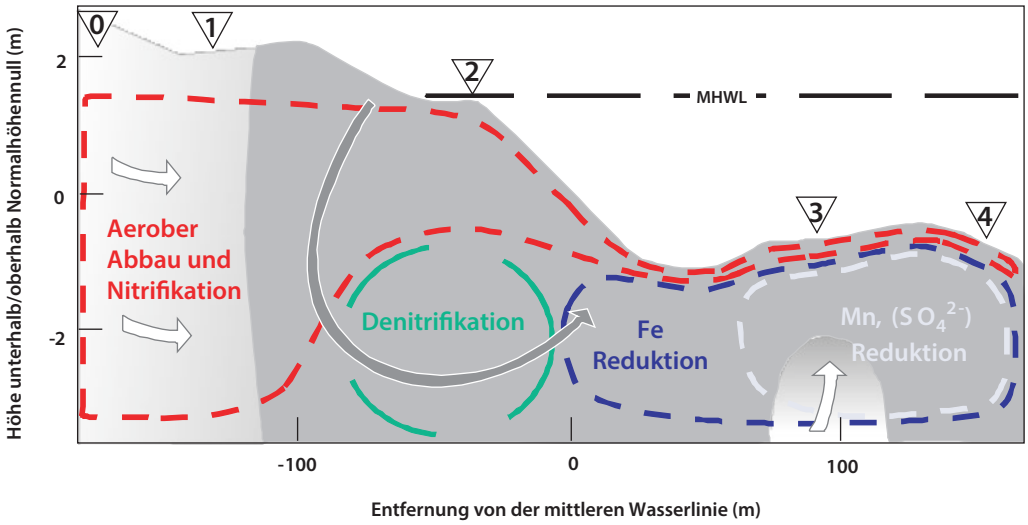


Abb. 10.24 Biogeochemische Prozesse und Redoxzonen am Strand untersucht auf der Insel Spiekeroog. An den Standorten 0 und 1, die nur unregelmäßig von Meerwasser geflutet werden, zum Beispiel bei Sturmfluten oder außergewöhnlichen Hochwasserniveaus, dominieren die oxischen Bedingungen und der aerobe Abbau organischer Stoffe. Der Standort 2, der sich in der Nähe des mittleren Hochwasser-Levels (MHWL) befindet, weist oxische bis suboxische Bedingungen auf. Drei biogeochemische Zonen sind zu unterscheiden: aerober Abbau, Nitrifikation und Denitrifikation. Im Gegensatz dazu erstreckt sich die Oxidsedimentschicht an den Standorte 3 und 4 nur auf wenige Zentimeter, während darunter Anzeichen für anoxische Zustände und die Reduktion von partikulärem Mn/Fe und SO_4^{2-} gefunden werden. Die Farbskala gibt den Farbverlauf von frischem Grundwasser (weiß) bis zu Salzwasser (grau) an. Die Pfeile zeigen die wichtigsten Strömungswege des Grundwassers sowie die obere Salzwasserfahne (USP, dunkelgrauer Pfeil) und den terrestrischen Süßwassereintritt der Süßwasserlinse der Insel und der Süßwasserentladungsröhre (weiße Pfeile)

beträchtliche biologische Aktivität statt. Wasser in über 1000 m Tiefe ist vergleichsweise biologisch inaktiv.

Folglich unterscheidet sich die Biologie der euphotischen Zone beträchtlich von der des Wassers der dunklen Tiefsee, der **meso-** und **bathypelagischen Zonen.**

Cyanobakterien stellen einen wichtigen Anteil der Primärproduzenten dar. Sie führen oxygene Photosynthese durch und benutzen den Calvin-Benson-Bassham-Zyklus für die Kohlenstofffixierung. Zusätzlich zu den chlorophyll-nutzenden Organismen (phototrophe Eukaryoten und Cyanobakterien) sind **aerobe anoxygene photosynthetische Bakterien**, die Bacteriochlorophyll-*a* besitzen, ubiquitär in der euphotischen Zone vorhanden. Anfänglich dachte man, dass die Mitglieder des Genus *Erythrobacter* die Haupttypen der letzt-genannten Bakterien im Ozean sind. Es zeigte sich jedoch, dass Mitglieder der *Roseobacter*-Gruppe *(Alphaproteobacteria)* und auch *Gammaproteobacteria* wichtigere Mitglieder dieses mikrobiellen Stoffwechseltyps sind.

Traditionell werden **aerobe anoxygene photosynthetische Bakterien** als Heterotrophe angesehen, die ihre Energiebedürfnisse aus Licht ergänzen, was sie ungewöhnlich effizient im oligotrophen Milieu macht. Verschiedene Publikationen zeigen aber, dass die Organismen in großer Menge auch in eutrophen wie auch oligotrophen Milieu vorkommen. Es wird vermutet, dass die Nährstoffkonzentrationen, die Anheftung an Partikel oder die Lichtintensität das Vorkommen der aeroben anoxygenen photosynthetischen Bakterien beeinflusst. Heute weiß man, dass zumindest einige Stämme die Eigenschaft haben, autotroph zu wachsen, oder einen mixotrophen Kohlenstoffmetabolismus besitzen (Tab. 10.3).

Tab. 10.3 Mikrobieller Stoffwechsel in der euphotischen Zone

Stoffwechsel	Elektronendonor	Elektronenakzeptor	Gruppen	Kohlenstoff-Fixierungsweg
Oxygene Photosynthese	H_2O	$NADP^+$	*Cyanobacteria, Algae*	Calvin-Benson-Bassham-Zyklus
Aerobe anoxygene Photosynthese	H_2S oder H_2O	O_2, $NADP^+$	*Roseobacter, Gammaproteobacteria*	3-Hydroxypropionat/4-Hydroxybutyrat-Zyklus

10.4.2.2.2 Die Tiefsee

Organismen, welche die Tiefsee besiedeln, werden generell mit drei wichtigen Umweltextremen konfrontiert: **niedriger Temperatur, hoher Druck** und **geringe Nährstoffkonzentration**. Am Meeresgrund gibt es jedoch auch Ökosysteme mit hoher Temperatur und hoher Konzentration an Nährstoffen.

Ab 100 m Tiefe hat Ozeanwasser eine konstante Temperatur von 2–3 °C. Bakterien, die aus Tiefen von mehr als 100 m isoliert werden, sind psychrophil. Einige sind extrem psychrophil und wachsen nur in einem engen Bereich in der Nähe der *in-situ* Temperatur.

Tiefseemikroorganismen, die in einer Tiefe von 5000 m wachsen, müssen in der Lage sein, dem enormen hydrostatischen Druck von 500 atm standzuhalten. Organismen, die aus Tiefen von bis zu etwa 3000 m isoliert wurden, sind barotolerant und wachsen nicht bei einem Druck über 500 atm. Im Gegensatz dazu sind Kulturen, die aus größeren Tiefen, 4000–6000 m, stammen, barophil. Sie wachsen optimal bei einem Druck von etwa 400 atm. Proben aus noch größerer Wassertiefe (10.000 m) fördern extrem (obligat) Barophile zutage. Sie wachsen am schnellsten bei einem Druck von 700–800 atm und fast genauso gut bei 1035 atm, dem Druck im natürlichen Habitat. Sie wachsen nicht bei Druck unter 400 atm.

Meso- und bathypelagische Zonen

Die **meso-** und **bathypelagischen Bereiche** im Ozean repräsentieren das größte kontinuierliche Habitat der Erde. Dennoch weiß man sehr wenig von der Art der Mikroorganismen, die dort leben, und ihren Einfluss auf die globale Umwelt. Das **Mesopelagial** erstreckt sich von 200 bis 1000 m Tiefe und liegt damit zwischen den hellen und dunklen Tiefenzonen, woher auch der Name rührt. Es markiert den Beginn der eigentlichen Tiefsee, der aphotischen Zone. Das **Bathypelagial** reicht von 1000 bis zu 4000 m Tiefe.

Traditionell wurde die Rolle der Mikroorganismen in diesen Zonen als Abbauer von organischem Material angesehen, an welches die Freisetzung von CO_2 gekoppelt ist. Planktonische *Crenarchaeota,* die zur „marinen Gruppe 1“ (MG1) zählen, dominieren aber die prokaryotische Zellzahl in dieser Umgebung. Da sie als Autotrophe bekannt sind, muss die ursprüngliche Einschätzung in Frage gestellt werden. Diese Ergebnisse wurden durch die Isolierung von ersten Reinkulturen untermauert, die einen chemolithoautotrophen Stoffwechsel besitzen, wobei die Oxidation von Ammonium mit Sauerstoff als Quelle von Energie und für Reduktionsäquivalente fungiert.

Crenarchaeota wurden als die vorherrschenden **Ammoniumoxidierer** im Ozean identifiziert. Die Fähigkeit des Einbaus von Bicarbonat in ihre Biomasse wurde in natürlicher Umwelt bestätigt. Weiter betreiben einige *Crenarchaeota* einen **heterotrophen** und/oder **mixotrophen Stoffwechsel**.

Insgesamt scheinen die *Crenarchaeota* die Hauptantreiber von biogeochemischen Zyklen im Ozean zu sein, mit wichtigen Auswirkungen auf die Stickstoff- und Kohlenstoffkreisläufe.

Über einen Zeitraum von tausenden von Jahren findet eine generelle Zirkulation des Ozeans statt. Das in den meso- und bathypelagischen Bereichen aus der abgesunkenen Biomasse freigesetzte CO_2 gelangt jedoch aufgrund der Autotrophie nicht an die Oberfläche zurück und ist damit vom Kohlenstoff-Zyklus über eine viel größere Zeitspanne abgekoppelt.

Der wahrscheinliche Fixierungsweg für Kohlenstoff, der von den autotrophen ammoniumoxidierenden *Crenarchaeota* genutzt wird, ist der 3-Hydroxypropionat/4-Hydroxybutyrat-Zyklus. Der häufige Nachweis der Schlüsselgene des Weges in metagenomischen Datenbanken bestätigt das Vorhandensein auch in bisher nicht kultivierten mikrobiellen Vertretern im Ozean.

Es ist abgeschätzt worden, dass ammoniumoxidierende Archaea **etwa 400 Tg Kohlenstoff pro Jahr** fixieren, was diesen Zyklus als bedeutend für den pelagischen Bereich des Ozeans macht.

Bis heute ist unklar, welche Organismen die Oxidation von Nitrit zum Nitrat im Ozean durchführen. Mögliche Kandidaten sind *Deltaproteobacteria* des Genus *Nitrospina,* die mit MG1-Archaea im Pazifischen Ozean gefunden wurden. *Nitrospina* spp. benutzt wahrscheinlich den Wood-Ljungdahl-Weg oder den reduktiven Tricarbonsäure-Zyklus, da beide Wege in *Deltaproteobacteria* identifiziert worden sind und nicht der Calvin-Benson-Bassham-Zyklus.

Der reduktive Tricarbonsäure-Zyklus scheint auch von *Nitrospira* spp. verwendet zu werden, einer anderen Gruppe von Nitritoxidierern, die in der ozeanischen Umwelt vorkommen (◘ Tab. 10.4).

Oxygen Minimum Zonen und Oxic-Anoxic Interfaces

Generell muss man zwischen Oxygen Minimum Zonen (OMZs) im offenen Ozean und euxinischen Wässern unterscheiden. OMZs sind sauerstoff-mangel Wässer, die übereinander geschichtet zwischen sauerstoff-enthaltenden Wasserschichten liegen. Euxinische Wässer sind dadurch charakterisiert, dass Übergänge von oxischen zu anoxischen sowie sulfidischen Wässern zur Bildung von oxischen-anoxischen Grenzbereichen oder „redoxclines" führen. Das heißt es sind vergleichsweise dünne typische horizontale Schichten, in denen die Eigenschaften der Flüssigkeiten sehr stark über relativ kurze vertikale Strecken variieren.

Einer der Hauptunterschiede zwischen diesen beiden Typen von Schichtung ist das Vorhandensein von Sulfid und anderen reduzierten Schwefelverbindungen in euxinischen Wässern und das generelle Fehlen dieser Substanzen in OMZs. Damit sind Konsequenzen für mikrobielle Gemeinschaften und die Prozesse verbundenen, die in ihnen ablaufen. Traditionell nimmt man an, dass heterotrophe Prozesse in OMZs dominieren, das heißt dass die aerobe Atmung und Denitrifikation an die Oxidation von organischem Material gekoppelt ist.

Die anaerobe Oxidation von Ammonium (Anammox) durch eine spezifische Gruppe

◘ **Tab. 10.4** Mikrobieller Stoffwechsel in den meso- und bathypelagischen Zonen

Stoffwechsel	Elektronendonor	Elektronenakzeptor	Gruppen	Kohlenstoff-Fixierungsweg(e)
Ammoniumoxidation	NH_4^+	O_2	*Crenarchaeota, Proteobacteria*	3-Hydroxypropionat/4-Hydroxybutyrat-Zyklus, Calvin-Benson-Bassham-Zyklus
Nitritoxidation	NO_2^-	O_2	*Proteobacteria, Nitrospira, Nitrospina*	Calvin-Benson-Bassham-Zyklus, reduktiver Tricarbonsäure-Zyklus

von *Planctomycetes* ist heute als die Hauptursache für den Stickstoffverlust in OMZs bekannt. Da Anammox ein autotropher Prozess ist, wird deutlich, dass eine bedeutende Menge von anorganischem Kohlenstoff eher fixiert als freigesetzt wird. Genom- und Enzymstudien der Anammox-Bakterien geben erste Hinweise darauf, dass der Wood-Ljungdahl-Weg für die Kohlenstofffixierung genutzt wird. Dies macht den Weg ziemlich bedeutsam in diesem pelagischen Bereich mit bis **3,5 Tg Kohlenstoff pro Jahr**.

Der Anammox-Prozess wird durch Sauerstoff gehemmt. Das heißt Organismen setzen ihre Aktivität erst fort, sobald anaerobe Bedingungen hergestellt worden sind. Es wurde deshalb beobachtet, dass Anammox-Bakterien mit aeroben, ammoniumoxidierenden *Crenarchaeota* oder Bakterien eng assoziiert leben. Obwohl diese Organismen um Ammonium konkurrieren, führt deren Aktivität in der direkten Nähe zu den Anammox-Zellen zur Erniedrigung der Sauerstoffkonzentration und ist damit von Vorteil.

Es ist interessant, dass Anammox bisher hauptsächlich in solchen Gebieten gefunden worden ist, wo die Bedingungen in der Wassersäule aufgrund des periodischen Auftretens von reduzierten Schwefelverbindungen stärker reduzierend sind. Solche Bereiche findet man im Schwarzen Meer, vor der Küste von Namibia, dem Gulfo Dulce vor Costa Rica und der Peruanischen Auftriebsregion des Tiefenwassers.

An den oxischen-anoxischen Grenzflächen oder dünnen Schichten von **permanent euxinischen Wassersäulen** (zum Beispiel Schwarzes Meer, Cariaco Basin: nördliche, zentrale Küste von Venezuela) und zeitweise auftretenden **euxinischen Wassersäulen** (zum Beispiel Ostsee, Fjorde), wie auch küstennahen Aufquellregionen mit **periodischem Einstrom von sulfidischem Wasser** (zum Beispiel Küste Namibias), spielen schwefeloxidierende Mikroorganismen, inklusive der anaeroben Phototrophen (insbesondere *Chlorobiales* verwenden den reduktiven Tricarbonsäure-Zyklus) eine bedeutende Rolle.

In einigen Fällen wird Nitrat als alternativer Elektronakzeptor genutzt, welches aufgrund der autotrophen Prozesse zu weiterem Stickstoffverlust führt.

Epsilonproteobacteria sind als wichtige Mitglieder der mikrobiellen Gemeinschaft in der chemischen Schichtung des Schwarzes Meer, Cariaco Basin und Ostsee identifiziert worden, wo sie anorganischen Kohlenstoff wahrscheinlich über den reduktiven Tricarbonsäure-Zyklus fixieren, welches an die Oxidation von reduzierten Schwefelverbindungen mit O_2 oder Nitrat gekoppelt ist.

Sogar in einem Bereich des offenen Ozeans, wie dem vor der Küste von Namibia, kann das zeitweise Eindringen von Sulfid massenhaftes Wachstum von schwefeloxidierenden *Epsilon-* und *Gammaproteobacteria* bewirken.

Insbesondere eine Gruppe von *Gammaproteobacteria*, die nahe verwandt mit nicht-kultivierten endosymbiotischen, schwefeloxidierenden Bakterien ist, wurde als wichtiges Mitglieder von mikrobiellen Gemeinschaften in solchen Wässern identifiziert, die geringe Sauerstoffkonzentrationen aufweisen. Das chemolithoautotrophe Potenzial dieser Gruppe wurde kürzlich bestätigt (◘ Tab. 10.5).

Hydrothermale Quellen der Tiefsee

Ausbruchkanäle, zuerst am Riff der Galapagos-Inseln untersucht, bleiben das Vorzeigeobjekt zum Erläutern der Bedeutung von chemoautotrophen Prozessen.

Hydrothermale Ausbruchkanäle sind im Allgemeinen entlang der mittelozeanischen Rücken lokalisiert, wo die ozeanischen Platten durch die darunterliegenden Magmakammern auseinander gedrückt werden. Aber auch an anderen Stellen wie den Back-arc-Becken mit Spreizungszonen (back-arc spreading centers), hotspot Vulkane und Tiefseeberge treten Flüssigkeiten mit ausgeprägten Unterschieden auf, die dann in verschiedenen biologischen Gemeinschaften resultieren.

Tab. 10.5 Mikrobieller Stoffwechsel in der Oxygen Minimum Zone/Euxinische Wassersäule

Stoffwechsel	Elektronendonor	Elektronenakzeptor	Gruppen	Kohlenstoff-Fixierungsweg(e)
Ammoniumoxidation	NH_4^+	O_2	*Crenarchaeota, Proteobacteria*	3-Hydroxypropionat/4-Hydroxybutyrat-Zyklus, Calvin-Benson-Basshamm-Zyklus
Nitritoxidation	NO_2^-	O_2	*Proteobacteria, Nitrospira, Nitrospina*	Calvin-Benson-Basshamm-Zyklus, reduktiver Tricarbonsäure-Zyklus
Anammox	NH_4^+	NO_2^-	*Planctomycetes*	Wood-Ljungdahl-Weg
S-Oxidation	S_{red}	O_2, NO_3^-	*Gammaproteobacteria, Epsilonproteobacteria*	Calvin-Benson-Basshamm-Zyklus, reduktiver Tricarbonsäure-Zyklus
Anoxygene aerobe Photosynthese	S_{red}	Ferredoxin	*Chlorobia*	reduktiver Tricarbonsäure-Zyklus

Übersicht

Backarc-Becken (engl. Back-arc basin) sind Seebecken, die bei der Subduktion einer ozeanischen Platte unter eine andere entstehen können.
Dort, wo die subduzierte Platte unter die aufliegende Platte abtaucht, befindet sich eine Tiefseerinne. Zwischen der Tiefseerinne und dem Inselbogen kann ein Forearc-Becken entstehen und auf der anderen Seite des Inselbogens ein Backarc-Becken, da dort die Kontinentalplatte gedehnt wird und eine Spreizungszone entsteht.
Beispiele für Backarc-Becken sind:
Das japanische Becken zwischen dem asiatischen Festland und Japan (das Südchinesische Meer), sowie die Sulu-See und die Celebes-See.
Beispiele für aktive Backarc-Spreizungszonen sind: der Marianen-Bogen östlich der Philippinen und der Kermadec-Tonga-Rücken gegenüber dem Kermadec-Tonga-Graben, bei den Fiji-Inseln nordöstlich von Neuseeland.
Als **Hotspots** (engl.: heiße Flecken) werden Zentren vulkanischer Aktivität bezeichnet, die nicht direkt durch plattentektonische Prozesse verursacht werden und daher nicht an Plattenränder gebunden sind. Beispiel ist Hawai.

Die enormen Tiefen der Tiefsee erzeugen einen riesigen hydrostatischen Druck. Wasser kocht deshalb bei einer Tiefe von 2600 m erst bei ungefähr 450 °C. Bei bestimmten Quellen wird überhitzte (aber nicht kochende) hydrothermale Flüssigkeit mit Temperaturen von 270–350 °C freigesetzt. Die hydrothermalen Flüssigkeiten, die sich durch Seewasser-Gesteins-Wechselwirkung innerhalb des hydrothermalen Systems bilden, sind hoch angereichert mit reduzierten chemischen Spezies wie H_2, H_2S, Fe^{2+} oder Methan, wobei die Zusammensetzung und Konzentration von dem geologischen Milieu abhängig ist.

Die aus Black Smokern ausgestoßene, mineralhaltige hydrothermale Flüssigkeit kühlt schnell ab, wenn sie in kaltes Meerwasser eintritt, und bildet eine dunkle Wolke präzipitierter Stoffe (große Mengen an Metallsulfiden, insbesondere Eisensulfide). Die ausgefallenen Metallsulfide bilden einen als „Schlot" bezeichneten Turm um die Quelle

herum (Siehe ◘ Abb. 4.33; Hinweis auf anaeroben Methanabbau, ► Abschn. 4.5.1).

Das Mischen dieser sogenannten **„geofuels"** (geologische Brennstoffe) mit kaltem, sauerstoffhaltigem Tiefseewasser entweder über oder unterhalb des Seebodens erzeugt ein chemisches Ungleichgewicht, welches von einer großen Vielfalt von metabolisch vielseitigen chemolithoautotrophen Mikroorganismen nutzbar gemacht werden kann. Die gebildete Biomasse bildet die Basis für Nahrungsketten in diesen hoch-produktiven Ökosystemen.

Das heißt Mikroorganismen transferieren die Energie von den geothermalen Quellen in die höheren Trophieebenen.

Hydrothermale Systeme haben während der Entwicklungsgeschichte der Erde vorgeherrscht und sie ähneln Orten, wo das Leben begann. Sogar heute gibt es Teile des hydrothermalen Systems, welche ganz unabhängig von der Photosynthese sind, ähnlich den Bedingungen auf der frühen Erde. Prozesse, die in diese Kategorie fallen, sind hydrogenotrophe Methanogenese, Schwefelreduktion und Schwefeldisproportionierung.

Es ist jedoch wichtig festzuhalten, dass heute viele chemolithoautotrophe Prozesse, die an den Quellen und generell im Ozean vorkommen, von Sauerstoff oder anderen oxidierten Elektronenakzeptoren wie Nitrat und Sulfat abhängig sind. Letztendlich ist ein bedeutender Teil, wenn nicht die gesamte Biomasseproduktion an den Quellen und in anderen Bereichen des Ozeans mit der oxygenen Photosynthese verbunden.

Interessanterweise koppeln die Chemoautotrophen den Verbrauch von Sauerstoff an die Bildung neuer Biomasse statt an den Abbau von organischem Material. Dies hat Auswirkungen auf den gesamten Redoxzustand der Erde wie auch das Gleichgewicht zwischen O_2 und CO_2.

Aufgrund von thermodynamischen und bioenergetischen Berechnungen wird eine Biomasseproduktion an Tiefseequellen in der Größenordnung von **5 Tg Kohlenstoff pro Jahr** geschätzt.

Die gegenwärtig vorhandenen Informationen legen nahe, dass der Calvin-Benson-Bassham-Zyklus und der reduktive Tricarbonsäure-Zyklus die hauptsächlichen Kohlenstofffixierungswege an Tiefseeausbruchsquellen sind.

Der reduktive Tricarbonsäure-Zyklus scheint der dominierende Pfad in Habitaten zu sein, die durch Temperaturen zwischen 20 und 90 °C charakterisiert sind. Hingegen ist der Calvin-Benson-Bassham-Zyklus als Hauptweg bei einer Temperatur < 20 °C anzusprechen, während andere Kohlenstofffixierungswege, wie der Wood-Ljungdahl-Weg oder der Dicarboxylat/4-Hydroxybutyrat-Zyklus im Bereich > 90 °C arbeiten.

Der reduktive Tricarbonsäure-Zyklus fungiert in *Aquificales* und *Epsilonproteobacteria,* die beide als wichtige, wenn nicht gar als die dominierenden Mitglieder der Gemeinschaft an Tiefseequellen angesehen werden. Die hauptsächliche Wachstumstemperatur für *Aquificales*, welche sich in die Familien *Aquificaceae, Hydrogenothermaceae* und *Desulfurobacteriaceae* aufteilt, liegt zwischen 60 und 90 °C, mit ein paar Mitgliedern, die auch oberhalb von 90 °C wachsen. Während *Aquificaceae* und *Hydrogenothermaceae* hauptsächlich microaerophile Chemolithoautotrophe beherbergen, die ihre Energie durch die Oxidation von molekularem Wasserstoff oder reduzierte Schwefelverbindungen erzeugen, sind alle Mitglieder der *Desulfurobacteriaceae* strikt Anaerobe. Sie erhalten die Energie durch die Kopplung von Wasserstoffoxidation an die Reduktion von elementarem Schwefel oder Nitrat.

Aquificales scheinen hauptsächlich mit sulfidischen Strukturen verbunden zu sein und kolonisieren am liebsten die Oberflächenbereiche der Quellen.

Epsilonproteobacteria sind als wichtige Mitglieder der mikrobiellen Gemeinschaft der Tiefsee in hydrothermalen Quellen identifiziert worden, mit frei-lebenden bakteriellen Populationen in Quellflüssigkeiten, Black Smoker Schornsteinwänden, sowie Oberflächen, die von hydrothermalen Flüssigkeiten

umspült werden, und auch der zerklüfteten Oberfläche.

Epsilonproteobacteria besitzen Metabolismen, welche den der *Aquificales* ähnlich sind: 1) die Oxidation von reduzierten Schwefelverbindungen und Wasserstoff mit Sauerstoff und Nitrat oder 2) die Oxidation von Wasserstoff und elementarer Schwefel gekoppelt an die Fixierung von anorganischem Kohlenstoff. Folglich wird eine ähnliche ökologische Nische besetzt, aber hier bei einer niedrigeren Temperatur zwischen 20 und 70 °C. Verschiedene Gruppen der *Epsilonproteobacteria* können unterschiedliche Nischen bewohnen.

Mitglieder der *Nautilia/Caminibacter*-Gruppe wachsen bei Temperaturen zwischen 40 und 70 °C. Sie sind auf die Oxidation von Wasserstoff gekoppelt an die Reduktion von Nitrat oder elementarem Schwefel (S°) als Energiequelle angewiesen.

Im Gegensatz dazu wachsen Mitglieder der *Sulfurimonas*- und der *Sulfurovum*-Gruppe bei niederer Temperatur zwischen 10 und 40 °C. Sie benutzen reduzierte Schwefelverbindungen und/oder molekularen Wasserstoff als Elektrondonor und Sauerstoff oder Nitrat als Elektronakzeptor. Im Vergleich zu den anderen *Epsilonproteobacteria* können Mitglieder dieser Gruppen eine relativ hohe Sauerstoffkonzentration tolerieren. Die metabolische Eigenschaft kann in solchen Ökosytemen von Vorteil sein, wo eine intensive Mischung von hydrothermalen Flüssigkeiten und Seewasser stattfindet wie in den zerklüfteten Oberflächen. In der Tat findet man *Epsilonproteobacteria* verwandt mit *Sulfurovum* und *Sulfurimonas* spp. oft als dominierende Population an solchen Plätzen.

Arcobacter und verwandte *Epsilonproteobacteria,* die auch oft in Tiefseequellen-Ökosystemen gefunden worden sind, benötigen höhere Sulfidkonzentrationen.

Ammoniumoxidation ist ein anderer Prozess, der wahrscheinlich an der chemoautotrophen Produktion an den Quellen beteiligt ist. *Crenarchaeota* führen diesen unter aeroben Bedingungen mit dem 3-Hydroxypropionat/4-Hydroxybutyrat-Zyklus durch, während *Planctomycetes* unter Nutzung des Wood-Ljungdahl-Weges für die Kohlenstofffixierung im anaeroben Milieu zuständig sind.

Die Möglichkeit eines vollständigen Stickstoffkreislaufes kann also an den Quellen existieren, der allein von den autotrophen Organismen durchgeführt wird: die Reduktion von Nitrat zu N_2 oder Ammonium wird von *Epsilonproteobacteria* und *Aquificales* katalysiert und die Methanogenen fixieren dann N_2.

Da hauptsächlich hyperthermophile *Archaea* bei Temperaturen oberhalb von 90 °C wachsen, wird die meiste wenn nicht alle Biomasseproduktion bei diesen Temperaturen von den *Archaea* durchgeführt, die alternative Kohlenstofffixierungswege benutzen. Darunter sind autotrophe Methanogene wie *Methanopyrus kandleri*, *Methanocaldococcus jannaschii*, welche an der primären Produktion am Meeresboden beteiligt sind, und sulfatreduzierende *Euryarchaeota* des Genus *Archaeoglobus*. Beide Gruppen verwenden den Wood-Ljungdahl-Pfad für die Kohlenstofffixierung.

Auch Mitglieder der *Crenarchaeota* wie *Ignicoccus* spp. und *Pyrolobus fumarii* wachsen bei Temperaturen oberhalb von 90 °C und benutzen den Dicarboxylat/4-Hydroxybutyrat-Zyklus für die Kohlenstofffixierung.

Sehr interessant ist, dass *Ignicoccus* spp. ihre Energie aus der Reduktion von elementarem Schwefel mit Wasserstoff beziehen, einem sehr einfachen und sehr alten Typ von Metabolismus passend zum wahrscheinlich sehr alten Kohlenstofffixierungsweg.

Der Gebrauch des 3-Hydroxypropionat/4-Hydroxybutyrat-Zyklus durch hyperthermophile *Crenarchaeota* wurde bisher nur in acidophilen Mitgliedern der *Sulfolobales* nachgewiesen. Die Mitglieder dieser Gruppe wurden noch nicht an Tiefseequellen gefunden, selbst nicht in Quellen der TOTO-Caldera im Marianen Vulkan-Bogen mit einem pH von 1,6, obwohl vermutet wird, dass eine bisher nicht-kultivierbare Gruppe von Organismen an den hydrothermalen Tiefseequellen diese Rolle spielt.

Es bleibt hinzuzufügen, dass der Wood-Ljungdahl-Weg auch wesentlich an der chemoautotrophen Produktion bei niedrigen Temperaturen beteiligt ist. Er arbeitet in mesophilen Methanogenen, Sulfatreduzierern und anammoxkatalysierenden *Planctomycetes* (◘ Tab. 10.6).

Kalte Gasaustritte/Cold seeps

Es gibt offensichlich auch andere ozeanische Bereiche, wo chemolithoautotrophe Prozesse von Bedeutung sind. Kalte Gasaustritte und Schlammvulkane sind anzusprechen, bei denen hoch-reduzierte Flüssigkeiten von nicht-hydrothermalem Ursprung aus dem

◘ Tab. 10.6 Mikrobieller Stoffwechsel in hydrothermalen Quellen

Temperatur (°C)	Stoffwechsel	Elektronendonor	Elektronenakzeptor	Gruppen	Kohlenstoff-Fixierungsweg(e)
~4–20	Fe^{2+}-Oxidation	Fe^{2+}	O_2, NO_3^-	*Zetaproteobacteria*	Calvin-Benson-Bassham-Zyklus
	S-Oxidation	S_{red}	O_2, NO_3^-	*Gammaproteobacteria, Epsilonproteobacteria*	Calvin-Benson-Bassham-Zyklus, reduktiver Tricarbonsäure-Zyklus
~20–70	S-Oxidation	S_{red}	O_2, NO_3^-	*Gammaproteobacteria, Epsilonproteobacteria*	Calvin-Benson-Bassham-Zyklus, reduktiver Tricarbonsäure-Zyklus
	H_2-Oxidation	H_2	O_2, NO_3^-, S^0	*Epsilonproteobacteria, Aquificales*	reduktiver Tricarbonsäure-Zyklus
	Methanogenese	H_2	CO_2	*Euryarchaeota*	Wood-Ljungdahl-Weg
	Sulfatreduktion	H_2	SO_4^{2-}	*Deltaproteobacteria*	Wood-Ljungdahl-Weg, (reduktiver Tricarbonsäure-Zyklus)
~70–90	S-Oxidation	S_{red}	O_2, NO_3^-	*Aquificales*	reduktiver Tricarbonsäure-Zyklus
	H_2-Oxidation	H_2	O_2, NO_3^-, S^0	*Aquificales*	reduktiver Tricarbonsäure-Zyklus
	Methanogenese	H_2	CO_2	*Euryarchaeota*	Wood-Ljungdahl-Weg
	Sulfatreduktion	H_2	SO_4^{2-}	*Archaeoglobales*	Wood-Ljungdahl-Weg
>90	H_2-Oxidation	H_2	S^0, $S_2O_3^{2-}$, O_2, Fe^{3+}	*Crenarchaeota*	Dicarboxylat/4-Hydroxybutyrat-Zyklus, 3-Hydroxypropionat/4-hydroxybutyrat-Zyklus
	Methanogenese	H_2	CO_2	*Euryarchaeota*	Wood-Ljungdahl-Weg
	Sulfatreduktion	H_2	SO_4^{2-}	*Archaeoglobales*	Wood-Ljungdahl-Weg

Untergrund auftreten, die häufig Methan und andere Kohlenwasserstoffe enthalten (◘ Tab. 10.7).

In diesen Habitaten ist die anaerobe Oxidation von Methan und auch der anderer Kohlenwasserstoffe an die Reduktion von Sulfat gekoppelt. Das gebildete H_2S treibt die chemoautotrophe Produktion an, die hauptsächlich durch *Epsilon-* und *Gammaproteobacteria* entweder als frei-lebende Organismen oder in Symbiose durchgeführt wird.

An Methan-Austrittsstellen fixieren anaerobe Methanoxidierer große Mengen an anorganischem Kohlenstoff, sehr wahrscheinlich über den Wood-Ljungdahl-Weg.

Auf der anderen Seite sind methanproduzierende *Archaea* wichtige Partner bei der autotrophen Kohlenstofffixierung in Tiefsee-Sedimenten, wie es auch autotrophe Acetogene machen. Ähnlich wie in den meso- und bathypelagischen Bereichen bearbeiten beide Gruppen organisches Material, welches ursprünglich von den oxygenen Phototrophen gebildet worden ist, indem sie die Produkte des fermentativen Abbaus von organischem Material, nämlich Wasserstoff und CO_2 verwerten.

Sediment

Sauerstoff dringt wegen seiner geringen Löslichkeit in Wasser nicht sehr tief ins Sediment ein. Bereits in den oberen Millimetern wird er durch aerobe Organismen völlig aufgezehrt. Das heißt die abgelagerte organische Substanz muss mit anderen Elektronenakzeptoren oxidiert werden. Im Meer kommt Sulfat als Alternative zum Sauerstoff eine zentrale Rolle im mikrobiellen Abbaugeschehen zu. So wird in küstennahen Sedimenten mehr als die Hälfte des organischen Eintrags über Sulfatreduktion mineralisiert.

Bei einer Konzentration von 2,68 g Sulfat pro Liter Meerwasser (~ 28 mM) kann mit dem gelösten Sulfat als Elektronenakzeptor ca. 180-mal mehr an organischer Substanz oxidiert werden als mit dem gelösten Sauerstoff (~ 0,2 mM).

Sulfatreduzierende Bakterien (zum Beispiel *Desulfotomaculum-*, *Desulfomonas-*, *Desulfovibrio*-Arten) konkurrieren erfolgreich um die durch Gärungen und Acetogenese gebildeten Fettsäuren, Acetat und Wasserstoff. In tieferen Sedimentschichten, die an Sulfat verarmt sind, kann die Methanogenese dominieren. Ein beachtlicher Teil der organischen Stoffe des Sedimentes wird aber nicht

◘ **Tab. 10.7** Mikrobieller Stoffwechsel an Kalten Gasaustritten

Stoffwechsel	Elektronendonor	Elektronenakzeptor	Gruppen	Kohlenstoff-Fixierungsweg(e)
S-Oxidation	S_{red}	O_2, NO_3^-	*Gammaproteobacteria, Epsilonproteobacteria*	Calvin-Benson-Bassham-Zyklus, reduktiver Tricarbonsäure-Zyklus
H_2-Oxidation	H_2	O_2, NO_3^-	*Gammaproteobacteria, Epsilonproteobacteria, Firmicutes*	Calvin-Benson-Bassham-Zyklus, reduktiver Tricarbonsäure-Zyklus
Methanogenese	H_2	CO_2	*Euryarchaeota*	Wood-Ljungdahl-Weg
Methanotrophie	CH_4	(SO_4^{2-})	*Euryarchaeota*	Wood-Ljungdahl-Weg
Sulfatreduktion	H_2	SO_4^{2-}	*Deltaproteobacteria, Euryarchaeota, Firmicutes*	Wood-Ljungdahl-Weg, (reduktiver Tricarbonsäure-Zyklus)

Tab. 10.8 Mikrobieller Stoffwechsel in tiefvergrabenen marinen Sedimenten

Stoffwechsel	Elektronendonor	Elektronenakzeptor	Gruppen	Kohlenstoff-Fixierungsweg(e)
Methanogenese	H_2	CO_2	*Euryarchaeota*	Wood-Ljungdahl-Weg
Acetogenese	H_2	CO_2	*Firmicutes*	Wood-Ljungdahl-Weg
Sulfatreduktion	H_2	SO_4^{2-}	*Deltaproteobacteria, Euryarchaeota, Firmicutes*	Wood-Ljungdahl-Weg, (reduktiver Tricarbonsäure-Zyklus)

mineralisiert. Aromatische Verbindungen werden langsam abgebaut. Daher kommt es zur Anhäufung des durch FeS schwarz gefärbten Faulschlamms, der mehrere Meter dicke Ablagerungen bilden kann (Tab. 10.8).

Abfallflanken von Gebirgen

Felsen der Abfallflanken von Gebirgen sind andere bedeutende, aber bisher wenig erforschte Bereiche mit chemoautotropher Biomassebildung. Namentlich sind Eisen-, Wasserstoff- und/oder Sulfidoxidation als mögliche Energiequellen identifiziert worden, die eine geschätzte Menge von **~1 Tg Kohlenstoff pro Jahr** fixieren, die an der ozeanischen Kruste durchgeführt werden (Tab. 10.9).

Es gibt Hinweise darauf, dass die autotrophen eisenoxidierenden *Zetaproteobacteria*, die an der Biomasseproduktion in eisenreichen hydrothermalen Systemen und Gestein der Grundgebirge beteiligt sind, wahrscheinlich den Calvin-Benson-Bassham-Zyklus nutzen.

Testen Sie Ihr Wissen

Welche physiko-chemischen Bedingungen haben Einfluss auf das Wachstum von Mikroorganismen?
In welcher Form kommen Mikroorganismen hauptsächlich im Boden vor?
Was versteht man unter der Bodenlösung?

Tab. 10.9 Mikrobieller Stoffwechsel an Krusten von Abfallflanken ozeanischer Gebirge

Stoffwechsel	Elektronendonor	Elektronenakzeptor	Gruppen	Kohlenstoff-Fixierungsweg(e)
Fe^{2+}-Oxidation	Fe^{2+}	O_2, NO_3^-	*Zetaproteobacteria*	Calvin-Benson-Bassham-Zyklus
S-Oxidation	S_{red}	O_2, NO_3^-	*Gammaproteobacteria, Epsilonproteobacteria*	Calvin-Benson-Bassham-Zyklus, reduktiver Tricarbonsäure-Zyklus
H_2-Oxidation	H_2	O_2, NO_3^-	*Gammaproteobacteria, Epsilonproteobacteria, Firmicutes*	Calvin-Benson-Bassham-Zyklus, reduktiver Tricarbonsäure-Zyklus
Methanogenese	H_2	CO_2	*Euryarchaeota*	Wood-Ljungdahl-Weg
Sulfatreduktion	H_2	SO_4^{2-}	*Deltaproteobacteria, Euryarchaeota, Firmicutes*	Wood-Ljungdahl-Weg, (reduktiver Tricarbonsäure-Zyklus)

Diskutieren Sie den Größenvergleich Ton/Schluff/Sand
Beschreiben Sie das Körnungsdreieck.
In welchem Bodenhorizont findet man hauptsächlich mikrobielle Aktivität?
Erläutern Sie den Begriff Syntrophie. Nennen Sie Beispiele.
Welche Bestandteile finden Sie in EPS?
Nennen Sie Probleme durch Biofilme.
Beschreiben Sie das Verhalten von r- und K-Strategen zum Substrat. Unter welchen Bedingungen verdrängt beziehungsweise überwächst der eine Typ den anderen?
Beschreiben Sie den Metabolismus am Black Smoker. Woraus entsteht der Black Smoker? Was hat ein Black Smoker mit Biofim zu tun? Beschreiben Sie den Temperaturverlauf.
Erklären Sie Gradienten in der Natur am Beispiel eines Bodens bzw. im Ozean.
Was besagen maximale spezifische Wachstumsrate und Affinitätskonstante?
Erklären Sie die Begriffe Oligotrophie, autochthon, zymogen, copiotroph.
Nennen Sie Formen der Adaptation.
Was ändert sich bei Organismen, die mit Lösemitteln wachsen können, im Verglich zu „normalen" Organismen?
Warum findet man beim Abbau eine minimale Grenzkonzentration, die nicht unterschritten wird.
Was verstehen Sie unter Stratifikation, Epilimnion, Hypolimnion? Zeigen Sie den jahreszeitlichen Ablauf in einem See auf.
Woher resultiert Europhierung?
Erklären Sie ein Farbstreifenwatt. Welche Stoffwechsel hängen in einem solchen Ökosystem voneinander ab? Sagen Sie etwas zu dort vorzufindenden Gradienten im Verlauf eines Tages. Sagen Sie etwas zur Nutzung von Licht?
Die Wasseraktivität wirkt für einen Organismus wachstumsbegrenzend, wenn die Konzentration kompatibler gelöster Stoffe in seiner Lebensumgebung steigt. Um dieser Situation gegenzusteuern, bildet der Organismus oder häuft er interzelluläre kompatible gelöste Stoffe an, die dazu dienen, die Zelle in einem positiven Wassergleichgewicht zu halten. Die Entwicklung einiger Mikroorganismen ging dahin, am besten bei verringertem Wasserpotential zu wachsen und einige benötigen sogar hohe Salzkonzentrationen, um zu wachsen. Was ist der a_w von reinem Wasser? Was versteht man unter einem kompatiblen gelösten Stoff und warum ist er erforderlich? Nennen Sie einen kompatiblen gelösten Stoff für die Halobacterium-Spezies?
Was verstehen Sie unter Euphotischer Zone, Oxygen Minum Zone, meso- und bathypelagischer Zone?
Wie schätzen Sie die Konzentration von Sauerstoff im Ozean in den verschiedenen Bereichen ein?
Wie schnell findet Stoffaustausch im Ozean statt?
Erreicht das in den Tiefen des Ozeans gebildete CO_2 die Meeresoberfläche?

Literatur

Beck, M., Reckhardt, A., Amelsberg, J., Bartholomä, A., Brumsack, H.-J., Cypionka, H., Dittmar, T., Engelen, B., Greskowiak, J., Hillebrand, H., Holtappels, M., Neuholz, R., Köster, J., Kuypers, M. M. M., Massmann, G., Meier, D., Niggemann, J., Paffrath, R., Pahnke, K., Rovo, S., Striebel, M., Vandieken, V., Wehrmann, A., Zielinski, O. 2017. The drivers of biogeochemistry in beach ecosystems: A cross-shore transect from the dunes to the low-water line. Marine Chem. 190:35–50.

Blume, H.-P., Brümmer, G. W., Horn, R., Kandeler, E., Kögel-Knabner, I., Kretschmar, R., Stahr, K., Wilke, B.-M. 2010. Scheffer/Schachtschabel. Lehrbuch der Bodenkunde, 16. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag S. 121–170.

Bourne, D. G., Riddles, P., Jones, G. J., Smith, W., Blakeley, R. L. 2001. Characterisation of a gene cluster involved in bacterial degradation of the cyanobacterial toxin microcystin LR. Environ. Toxicol. 16:523–534.

Jannasch, H. W. 1967. Growth of marine bacteria at limiting concentrations of organic carbon in seawater. Limnol. Oceanogr. 12:264–271.

Janssen, P. H. 2006. Identifying the dominant soil bacterial taxa in libraries of 16S rRNA and 16S rRNA genes. Appl. Environ. Microbiol. 72:1719–1728.

Knittel, K., Boetius, A. 2009. Anaerobic oxidation of methane: progress with an unknown process. Annu. Rev. Microbiol. 63:311–334.

Matthess, G., Pekdeger, A. 1981. Concepts of the survival and transport model of pathogenic bacteria and viruses in ground water. Sci. Total Environ. 21:149–159.

Matthess, G., Pekdeger, A., Schroeder, J. 1988. Persistence and transport of bacteria and viruses in groundwater – a conceptual evaluation. J. Contam. Hydrol. 2:171–188.

McInerney, M. J., Sieber, J. R., Gunsalus, R. P. 2009. Syntrophy in anaerobic global carbon cycles. Curr. Opin. Biotechnol. 20:623–632.

McInerney, M., Sieber, J., Gunsalus, R. 2011. Genomic sequences reveal systems required to produce hydrogen and formate, plus other hallmarks of the syntrophic lifestyle. Microbe 6:479–485.

Morris, B. E. L., Henneberger, R., Huber, H., Moissl-Eichinger, C. 2013. Microbial syntrophy: interaction for the common good. FEMS Microbiol. Rev. 37:384–406.

Murray, A. E., Kenig, F., Fritsen, C. H., McKay, C. P., Cawley, K. M., Edwards, R., Kuhn, E., McKnight, D. M., Ostrom, N. E., Peng, V., Ponce, A., Priscu, J. C., Samarkin, V., Townsend, A. T., Wagh, P., Young, S. A., Yung, P. T., Doran, P. T. 2012. Microbial life at −13 °C in the brine of an ice-sealed Antarctic lake. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 109:20626–20631.

Rheims, H., Rainey, F. A., Stackebrandt, E. 1996. A molecular approach to search for diversity among bacteria in the environment. J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 17:159–169.

Schachtschabel, P., Hartge, K. 1958. Untersuchungen über die Porengrößenverteilung an drei Marschprofilen. Z. Pflanzenernährung, Düngung, Bodenkunde 81:141–148.

Schink, B. 2002. Synergistic interactions in the microbial world. Ant. v. Leeuwenhoek 81:257–261.

Schink, B., Stams, A. J. 2006. Syntrophism among Prokaryotes. *In:* The prokaryotes. A handbook on the biology of bacteria: ecophysiology and biochemistry. (Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.-H., Stackebrandt, E., eds.) Springer, New York. S. 309–335.

Sieber, J. R., McInerney, M. J., Gunsalus, R. P. 2012. Genomic insights into syntrophy: the paradigm for anaerobic metabolic cooperation. Annu. Rev. Microbiol. 66:429–452.

Stams, A., Plugge, C. 2009. Electron transfer in syntrophic communities of anaerobic bacteria and archaea. Nature Rev. 7:568–577.

Weiterführende Literatur

Alexander M. 1999. Biodegradation and bioremediation. 2nd ed. Academic Press, San Diego.

Andrei, A.-S., Banciu, H. L., Oren, A. 2012. Living with salt: metabolic and phylogenetic diversity of archaea inhabiting saline ecosystems. FEMS Microbiol. Lett. 330:1–9.

Atlas, R. M., Bartha, R. 1993. Microbial ecology: Fundamentals and applications. 3rd ed. The Benjamin/Cummings Publishing Comp., Menlo Park, California.

Boyle, N. R., Morgan, J. A. 2011. Computation of metabolic fluxes and efficiencies for biological carbon dioxide fixation. Metab. Eng. 13:150–158.

Carmichael, W. W., Azevedo, S. M., An, J. S., Molica, R. J., Jochimsen, E. M., Lau, S., Rinehart, K. L., Shaw, G. R., Eaglesham, G. K. 2001. Human fatalities from cyanobacteria: chemical and biological evidence for cyanotoxins. Environ. Hlth. Perspect. 109:663–668.

Christoffersen, K., Lyck, S., Winding, A. 2002. Microbial activity and bacterial community structure during degradation of microcystins. Aquatic Microbial Ecol. 27:125–136.

Egli, T. 1995. The ecological and physiological significance of the growth of heterotrophic microorganisms with mixtures of substrates. Adv. Microb. Ecol. 14:305–386.

Egli, T. 2002. Microbial degradation of pollutants at low concentrations and in the presence of alternative carbon substrates: emerging patterns. In: *Biotechnology for the Environment: Strategy and Fundamentals*, (S. N. Agathos, W. Reineke, eds.). Kluwer Academic Publisher 131–139.

Flemming, H.-C., Wingender J. 2001. Biofilme – die bevorzugte Lebensform der Bakterien. Biol. in unserer Zeit 31:169–180.

Flemming, H.-C., Wingender, J. 2002. Biofilme – die bevorzugte Lebensform der Mikroorganismen. *In:* Faszination Lebenswissenschaften. Beck, E. (Hrsg.), Wiley-VCH, Weinheim, S. 247–265.

Fritsche, W. 2002. Mikrobiologie. 3. Aufl. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg.

Hügler, M., Sievert, S. M. 2011. Beyond the Calvin Cycle: Autotrophic carbon fixation in the ocean. Annu. Rev. Mar. Sci. 3:261–289.

Ishii, H., Abe, T. 2000. Release and biodegradation of microcystins in blue-green algae, Microcystis PCC7820. J. School Marine Sci. Technol. Tokai University 143–157.

Koh, E. Y., Phua, W., Ryan, K. G. 2011. Aerobic anoxygenic phototrophic bacteria in Antarctic sea ice and seawater. Environ. Microbiol. Reports 3:710–716.

Kovarova-Kovar, K., Egli, T. 1998. Growth kinetics of suspended microbial cells: from

single-substrate-controlled growth to mixed-substrate kinetics. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 62:646–666.

Lamy, D., Jeanthon, C., Cottrell, M. T., Kirchman, D. L., Van Wambeke, F., Ras, J., Dahan, O., Pujo-Pay, M., Oriol, L., Bariat, L., Catala, P., Cornet-Barthaux, V., Lebaron, P. 2011. Ecology of aerobic anoxygenic phototrophic bacteria along an oligotrophic gradient in the Mediterranean Sea. Biogeosciences 8:973–985.

Lathi, K., Niemi, M. R., Rapala, J., Sivonen, K. 1997. Biodegradation of cyanobacterial hepatotoxins-characterisation of toxin degrading bacteria. *In*: VIII International Conference on Harmful Algae, Vigo, Spain, 363–365.

Lengeler, J. W., Drews, G., Schlegel, H. G. 1999. Biology of the prokaryotes. Thieme, Stuttgart.

Lynch, J. M., Hobbie, J. E. 1998. Micro-Organisms in Action: Concepts and Applications in Microbial Ecology, 2nd Edition, Blackwell Scientific Publications Ltd., Oxford, England.

Madigan, M. T., Martinko, J. M., Dunlap, P. V., Clark, D. P. 2009. Brock-Biology of Microorganisms. 12th International Edition. Pearson Benjamin Cummings, San Francisco, CA94111.

Oren, A. 2006. Life at high salt concentrations. In: The prokaryotes. A handbook on the biology of bacteria: ecophysiology and biochemistry. (Dworkin, M., Falkow, S., Rosenberg, E., Schleifer, K.-H., Stackebrandt, E., eds), Springer, New York, 2:263–282.

Oren, A. 2008. Microbial life at high salt concentrations: phylogenetic and metabolic diversity. Saline Systems 4:2.

Oren, A. 2011. Diversity of halophiles. In: Extremophiles handbook. (Horikoshi, K., ed.) Springer, Tokyo, pp. 309–325.

Rhodes, M. E., Fitz-Gibbon, S., Oren, A., House, C. H. 2010. Amino acid signatures of salinity on an environmental scale with a focus on the Dead Sea. Environ. Microbiol. 12:2613–2623.

Pfennig, N. 1967. Photosynthetic bacteria. Annu. Rev. Microbiol. 21:285–324.

Posadas, A. N. D., Gimenez, D., Bitteli, M., Vaz, C. M. P, Flury, M. 2001. Multifractal characterization of soil particle-size distributions. Soil Soc. Am. J. 65:1361–1367.

Rainey, F. A., Oren, A. 2006. Extremophile microorganisms and the methods to handle them. *In:* Methods in Microbiology Vol. 35 Extremophiles, Rainey, F. A., Oren, A. (eds). Elsevier Acad. Press, Amsterdam, p. 1–25.

Stoodley, P., Sauer, K., Davies, D. G., Costerton, J. W. 2002. Biofilms as complex differentiated communities. Annu. Rev. Microbiol. 56:187–209.

van Elsas, J. D., Trevors, J. T., Wellington, E. M. H. 1997. Modern soil microbiology. Marcel Dekker, Inc, New York.

Varnam, A. H,. Evans, M. G. 2000. Environmental Microbiology. Manson Publishing, London.

Mikrobielle Lebensgemeinschaften. Strukturelle und funktionelle Analysen mit klassischer Vorgehensweise

11.1 Summarische Methoden – 418
11.1.1 Bestimmung von Keimzahlen und Biomassen – 418
11.1.2 Bestimmung von Aktivitäten – 423

11.2 Nachweis bestimmter Mikroorganismen – 428

11.3 Mikroorganismen, aus der Natur ins Labor, die Isolierung von Reinkulturen – 433
11.3.1 Organismen nicht kultivierbar? – 433
11.3.2 Isolierung und Probleme – 434
11.3.3 Anreicherungssystem – 435
11.3.4 Analoganreicherung: Sinn oder Unsinn? – 436
11.3.5 Impfmaterial für eine Anreicherungskultur – 436

Literatur – 440

© Springer-Verlag GmbH Deutschland, ein Teil von Springer Nature 2020
W. Reineke und M. Schlömann, *Umweltmikrobiologie,* https://doi.org/10.1007/978-3-662-59655-5_11

Mikroorganismen sind an zahlreichen Prozessen in der Umwelt in erwünschter oder unerwünschter Weise beteiligt. Gleichzeitig kommen sie in der Natur praktisch nie als Reinkultur vor, sondern immer gemeinsam mit anderen Mikroorganismen und oft auch höheren Organismen. Insofern stellt sich immer wieder die Aufgabe, etwas über den Zustand mikrobieller Gemeinschaften zu erfahren. So möchte man eventuell etwas über die mikrobielle Aktivität eines Bodens erfahren, um Rückschlüsse auf Folgen von Bewirtschaftungsmaßnahmen ziehen zu können. Man möchte vielleicht wissen, ob der Belebtschlamm einer Kläranlage durch Einleitung toxischer Chemikalien in seiner Aktivität beeinträchtigt ist. Das Vorkommen bestimmter physiologischer Gruppen, zum Beispiel von Nitrifikanten, ist eventuell zu verfolgen. Oder es interessiert, ob an einem Standort die für einen Abbauprozess notwendigen Bakterien beziehungsweise die Abbaugene vorhanden und gegebenenfalls induziert sind. Man möchte eventuell die Träger eines Prozesses identifizieren, um anhand ihrer Entwicklung Prozesse besser steuern oder um die Mikroorganismen eventuell auch gezielt einsetzen zu können. Schließlich möchte man manchmal auch sicherstellen, dass bestimmte Bakterien in einer Gemeinschaft nicht oder nicht in hoher Zahl vorkommen. Im folgenden Kapitel sollen einige der Ansätze und Prinzipien erläutert werden, mit denen man an solche oder ähnliche Fragestellungen herangehen kann.

Die nachfolgende BOX zählt verschiedene methodische Ansätze und Strategien zur Analyse von mikrobiellen Lebensgemeinschaften auf.

Strategien zur Analyse von mikrobiellen Lebensgemeinschaften

Charakterisierung durch Nachweise von Zellbestandteilen

- Unspezifische Bestandteile
  - Proteinbestimmung
  - Biomassebestimmung durch CO_2-Freisetzung
- Biomarker
  - Nicht-Nukleinsäure-Biomarkermoleküle
    - Phospholipide
    - Fettsäuremuster
    - Muraminsäure
    - Ergosterol bei Pilzen
  - Nukleinsäure-Biomarkermoleküle

Charakterisierung durch Nachweise von Aktivitäten

- Gemeinschaftsaktivitäten:
  - CO_2-Freisetzung
  - O_2-Verbrauch
  - Einbau radioaktiver Verbindung z. B. ^{3}H-markiertes Thymidin
  - Isotopenfraktionierung
  - ATP-Gehaltsbestimmung als Zustandsbeschreibung von Zellen
  - Bestimmung von Enzymaktivitäten
    - Hydrolasen
    - Esterasen
    - Lipasen
    - Proteasen
    - Dehydrogenasen
  - Vorhandensein von mRNA als Hinweis auf die exprimierten Enzyme und den genutzten Stoffwechsel

11.1 Summarische Methoden

Mit summarischen Methoden versucht man, etwas über die Lebensgemeinschaft als Ganze und nicht über das Vorkommen oder die Aktivität einzelner taxonomischer oder physiologischer Gruppen auszusagen. Grob differenzieren kann man zwischen solchen Methoden, die die Zellzahl oder Biomasse ermitteln, und den Methoden, die direkt etwas über deren Aktivität aussagen.

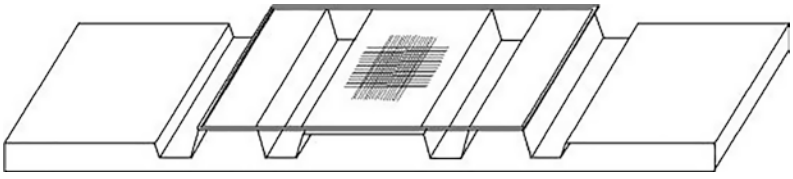
11.1.1 Bestimmung von Keimzahlen und Biomassen

Die **Gesamtkeimzahl** in einer Probe (inklusive nicht mehr teilungsfähiger Zellen) lässt sich relativ leicht durch Mikroskopie unter Verwendung einer **Zählkammer** ermitteln. Bei Zählkammern handelt es sich um Objektträger, die zum einen mit einem Raster versehen sind, welches die beobachtete Fläche definiert, und zum zweiten mit Stegen,

die einen festgelegten Abstand des Deckgläschens und damit ein definiertes Volumen über den Flächen des Rasters gewährleisten (◘ Abb. 11.1). Eine andere Möglichkeit der Zählung von Bakterien stellt der **Coulter-Counter** dar, beim dem der Durchtritt von Partikeln durch eine Kapillare über Leitfähigkeitsänderungen registriert wird.

Ein häufiges Problem bei der Mikroskopie speziell von prokaryotischen Mikroorganismen ist der geringe Kontrast zur Umgebung. Eine Maßnahme zur Verbesserung ist die Verwendung von **Phasenkontrast**-Objektiven, bei denen die beim Durchtritt des Lichtes durch ein Objekt auftretenden Phasenverschiebungen zur Kontrasterhöhung ausgenutzt werden. Eine andere, in der Mikrobiologie seit langem genutzte Maßnahme ist das Anfärben von Zellen mit entsprechenden Farbstoffen. Besonders wirkungsvoll ist die Verwendung von **Fluoreszenzfarbstoffen** (◘ Abb. 11.2). Manche dieser Farbstoffe, wie zum Beispiel Fluoresceinisothiocyanat, binden an SH-Gruppen von Proteinen, andere, wie zum Beispiel Acridinorange und DAPI, binden an DNA. Propidiumiodid (PI) wirkt wie Ethidiumbromid als Nukleinsäureinterkalator. Acridinorange ändert bei der Bindung seine Farbe von orange auf grün, DAPI fluoresziert blau. Die verfügbaren Farbstoffe unterscheiden sich in ihrer Fähigkeit, Membranen zu durchdringen. Während zum Beispiel DAPI und SYTO® 9 auch durch intakte Membranen in die Zelle eindringen, benötigen andere Farbstoffe (zum Beispiel Propidiumjodid und SYTOX® Green) zum Eindringen eine geschädigte Membran. Bei geeigneter Kombination miteinander in Wechselwirkung tretender Farbstoffe unterschiedlicher Membrangängigkeit und unterschiedlicher Fluoreszenz in Form kommerzieller ***viability kits*** lassen sich intakte von toten beziehungsweise geschädigten Zellen unterscheiden. Manche der für solche Färbungen verwendeten Kits basieren zusätzlich zur Membrangängigkeit auf der Aktivität von Enzymen (zum Beispiel Esterasen) in den Zellen. Je nach Vorgehensweise und verwendetem Fluoreszenzfarbstoff hat man es also in manchen Fällen mit einer Aktivitätsfärbung und nicht mit einer Gesamtkeimzahl-Bestimmung zu tun.

Von größerer Relevanz ist mittlerweile die **Durchflusszytometrie** zu sehen. Sie beschreibt ein Messverfahren, das sowohl in der Medizin als auch der Biologie zur Anwendung kommt. Durchflusszytometer (siehe schematischen Aufbau in ◘ Abb. 11.3) arbeiten mit hydrodynamischer Fokussierung von suspendierten Zellen. Durch den Hüllstrom fokussiert, tritt die Probe in den Mikrokanal einer hochpräzisen Küvette aus Glas oder Quarz ein. Jede Zelle wird so einzeln nacheinander durch den Messbereich eines oder mehrerer Laserstrahlen geführt. Das resultierende Streu- oder Fluoreszenzlicht wird durch Photomultiplier detektiert. Mittels optischer Filter können mögliche Fluorophore auf oder in den Zellen durch Peaks ihrer Emissionsspektren quantifiziert werden. Je nach Form, Struktur und/oder Färbung der Zellen werden unterschiedliche Effekte erzeugt, aus denen die Eigenschaften jeder einzelnen Zelle abgeleitet werden können. Durch die Analyse einer großen Anzahl von Zellen innerhalb eines sehr kurzen Zeitintervalls (>1000 Zellen/sec) erhält man schnell repräsentative Informationen über Zellpopulationen.



◘ **Abb. 11.1** Zählkammer zur Bestimmung von Gesamtkeimzahlen

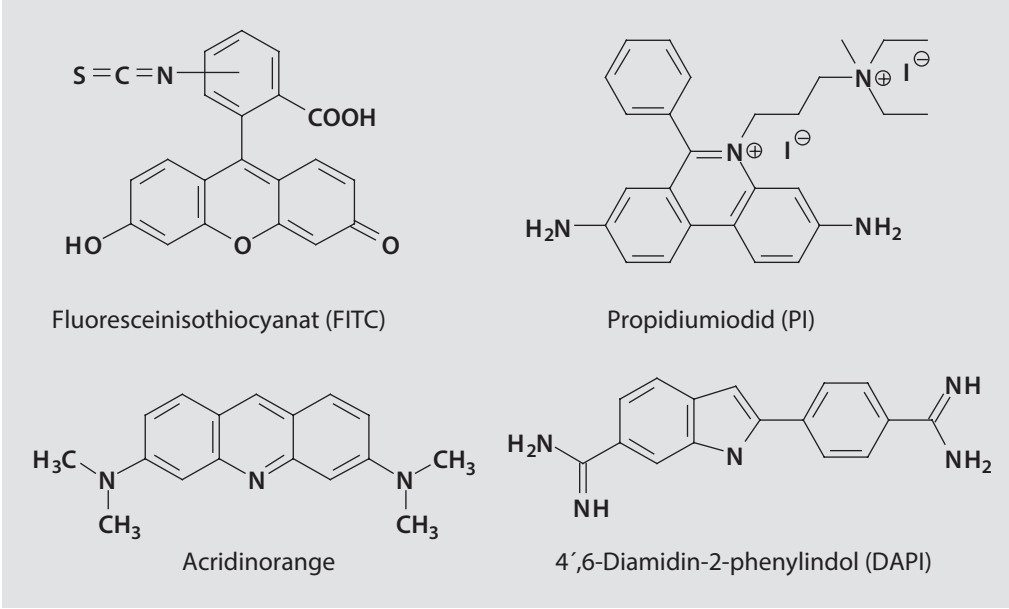


Abb. 11.2 Strukturformeln ausgewählter Fluoreszenzfarbstoffe

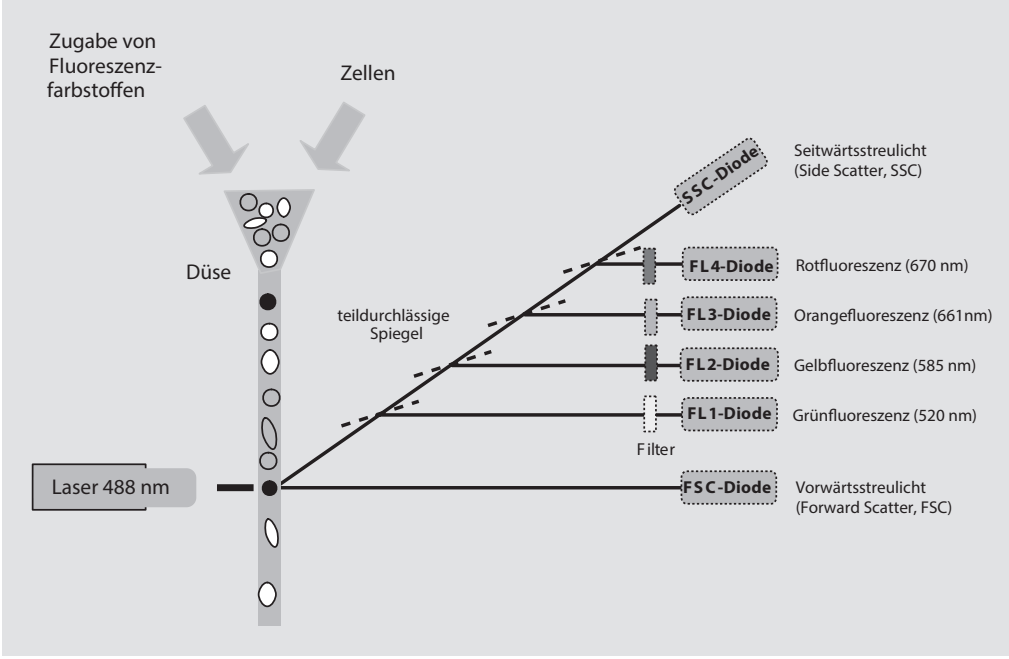


Abb. 11.3 Schematischer Aufbau eines Durchflusszytometers

Die Menge des gestreuten Lichts korreliert mit der Größe der Zelle und mit ihrer Komplexität. Das Vorwärtsstreulicht ist ein Maß für die Beugung des Lichts im flachen Winkel und hängt vom Volumen der Zelle ab. Das Seitwärtsstreulicht ist ein Maß für die Brechung des Lichts im rechten Winkel, die von der Granularität der Zelle, der Größe und Struktur des Zellkerns und der Menge der Vesikel in einer Zelle beeinflusst wird.

Im Durchflusszytometer werden zugleich mit dem gestreuten Licht Fluoreszenzfarben gemessen. Diese können endogene Fluorophore wie Chlorophyll sein. Da nur wenige Zellen an sich fluoreszierendes Licht emittieren, setzt man, wie oben angeführt **Fluoreszenzfarbstoffe** zu. Verwendet man zum Beispiel DAPI und Propidiumiodid, welche an die DNA einer Zelle binden beziehungsweise in diese interkalieren, so lässt sich anhand der Helligkeit bestimmen, wie viel DNA eine Zelle enthält. Durch Einsatz von verschiedenfarbigen Lasern und vor allem Filtern kann die Anzahl der einsetzbaren Farbstoffe und damit die Informationsdichte erhöht werden.

Eine Anwendung der Durchflusszytometrie ist die quantitative Untersuchung von Zellen, aber auch eine Zellviabilitätsbestimmung, indem lebende von toten Zellen durch Anfärben mit Propidiumiodid in Kombination mit einem DNA-Farbstoff wie DAPI unterschieden werden.

Da mit dem Verfahren auch das Verhältnis von eher großen zu eher kleinen Zellen ermittelt werden kann, lässt sich auch eine mögliche Änderung in einer Zellpopulation als Folge einer Veränderung seiner Umweltbedingungen feststellen. So wurde die Durchflusszytometrie als empfohlene Methode zur Bestimmung der Totalzellzahl in Süßwasser in das Schweizerische Lebensmittelbuch aufgenommen.

Die Ermittlung der **Lebendkeimzahl,** also der Zahl teilungsfähiger Mikroorganismen, erfordert deren Kultivierung auf entsprechenden Medien. Am einfachsten lässt sich die Lebendkeimzahl ermitteln, indem eine Verdünnungsreihe der jeweiligen Probe angelegt und jeweils ein Aliquot auf Agarplatten verteilt (◘ Abb. 11.4) oder beim Plattengussverfahren im Agar verteilt wird. Durch Auszählung der während einer Inkubation entstehenden Kolonien erhält man die Zahl der **koloniebildenden Einheiten** (colony forming units, CFU) pro ml der plattierten Suspension, wobei immer zu berücksichtigen ist, dass noch aneinander hängende Zellen nur eine gemeinsame Kolonie bilden können. Sofern man möglichst viele der teilungsfähigen Zellen erfassen will, ist es wichtig, ein möglichst wenig selektives Medium zu verwenden. Dies wird normalerweise ein **Komplettmedium** sein, also ein Medium, welches eine Vielzahl von Verbindungen enthält, normalerweise aus biologischem Material gewonnen wird und nur begrenzt definiert ist, zum Beispiel Hefeextrakt, Fleischextrakt, Pepton (Polypeptidgemisch aus enzymatischer Spaltung von Proteinen) oder Casein-Hydrolysat. Da viele Bakterien eher an die in der Natur üblichen relativ niedrigen Substratkonzentrationen angepasst sind (► Abschn. 10.1.1), ist es zur Erfassung möglichst vieler Bakterien auch wichtig, die **Konzentration** der Substrate nicht zu hoch zu wählen, wobei gegebenenfalls Kompromisse eingegangen werden müssen, um eine hinreichende Größe und damit Sichtbarkeit der Kolonien zu gewährleisten. Schließlich sind auch Inkubationsparameter wie die Temperatur zu berücksichtigen, die nach Möglichkeit denen des Herkunftsortes der Probe weitgehend entsprechen sollten. Auch wenn man versucht, die Bedingungen zur Erfassung der Lebendkeimzahl möglichst wenig selektiv zu gestalten, wird insbesondere bei Umweltproben die erhaltene Zahl immer deutlich kleiner als die Gesamtkeimzahl sein, weil aneinander hängende Zellen nur eine Kolonie bilden, weil möglicherweise nicht alle Zellen teilungsfähig sind und vor allem weil viele der in der Natur vorkommenden Mikroorganismen mit den gängigen Methoden nicht kultivierbar sind (siehe auch ► Abschn. 11.3).

Ein Grundproblem bei den Keimzahlbestimmungen besonders im Boden ist die Möglichkeit der **Adsorption an Oberflächen,** die dazu führen kann, dass Zellen sich nicht

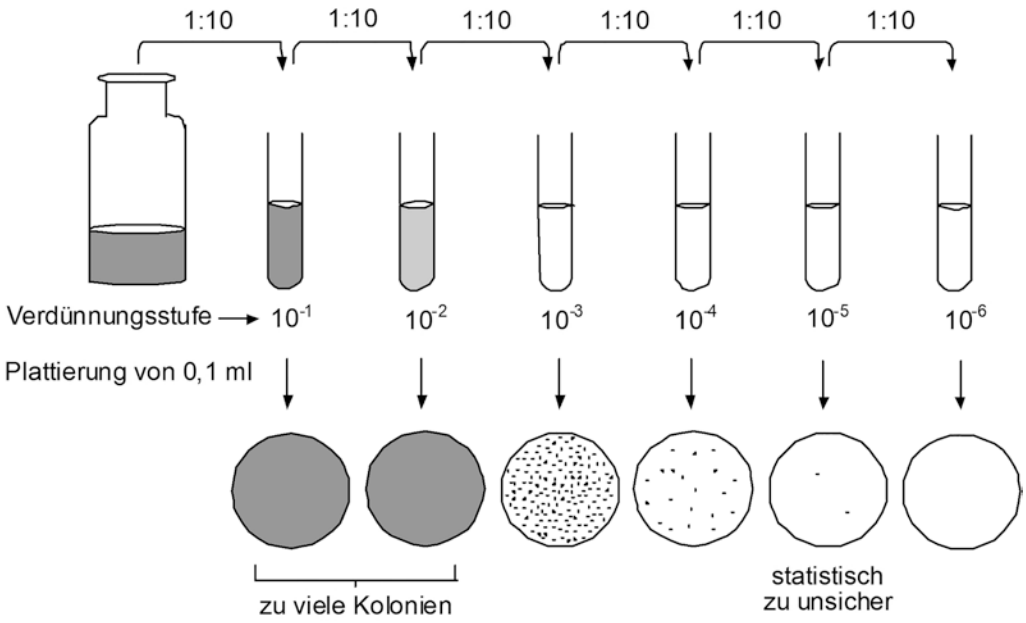


Abb. 11.4 Bestimmung der Lebendkeimzahl einer Probe auf festen Nährböden

ablösen und deshalb nicht erfasst werden. Gleichzeitig müssen Keimzahlen nicht immer nur ausgehend von Proben in Form einer Suspension bestimmt werden. Zuweilen werden Oberflächen direkt im Lebensraum der Mikroorganismen angeboten, sodass diese daran adsorbieren oder darauf wachsen können und dann einer Zählung zugeführt werden.

Da zahlreiche Mikroorganismen nicht gut auf Agarplatten oder in Agar zu kultivieren sind, ist man zuweilen darauf angewiesen, die Zahl vermehrungsfähiger Organismen einer Probe nach einer Kultivierung oder Reaktion in Flüssigmedien abzuschätzen. Da dies insbesondere bei der Quantifizierung bestimmter physiologischer Gruppen eine Rolle spielt, wird die Herangehensweise (die **MPN-Methode**) in ► Abschn. 11.2 erläutert.

Die Ermittlung der **Biomasse** in einer Umweltprobe hängt stark von der Probe und ihrem Gehalt an anderen Feststoffen ab. Ist der Gehalt an störenden Feststoffen gering, können die Organismen durch **Zentrifugation oder Filtration** von der wässrigen Phase abgetrennt und anschließend getrocknet werden, um die Trockenbiomasse zu erhalten. Bei Lebensgemeinschaften aus dem Boden ist dies selbstverständlich nicht möglich. Hier gibt es Abschätzungen, die aus **mikroskopischen Untersuchungen** der Zellzahl und der beobachteten Zellgrößen anhand durchschnittlicher Dichten die Masse ermitteln.

Eine andere auf Boden angewendete Methode ist die sogenannte **Chloroform-fumigations-Inkubations-Methode.** Hierbei werden die Zellen der Bodenprobe mit Chloroform abgetötet und die Zellinhaltsstoffe werden freigesetzt. Der Ansatz wird anschließend mit einer nicht behandelten Bodenprobe inkubiert, und das durch **Veratmung der Biomasse** entstehende **CO_2** wird über Alkalilaugen aufgefangen und bestimmt (zur Methodik siehe unten). Von dem Wert wird der mit einer nicht mit Chloroform behandelten Probe erhaltene Wert subtrahiert. Da nicht die ganze Biomasse freigesetzt und oxidiert wird, sowie zur Umrechnung in Kohlenstoff-Masse, muss die Masse des erhaltenen CO_2 noch mit einem Korrekturfaktor multipliziert werden, wobei es zweifelhaft ist, ob hier für alle Böden derselbe Faktor verwendet werden kann.

Bei der **Chloroformfumigations-Extraktions-Methode** ist die Vorgehensweise prinzipiell ähnlich. Doch wird der Ansatz Chloroform-behandelter Zellen hier mit einer Lösung von K_2SO_4 extrahiert. Der organische Kohlenstoff in der Lösung kann dann mit Kaliumdichromat ($K_2Cr_2O_7$) zu CO_2 oxidiert und anhand der bei Reduktion des Dichromats eintretenden Extinktionsänderung ermittelt werden. Alternativ kann der Kohlenstoff-Gehalt auch in einem Analysator für organischen Kohlenstoff (DOC) bestimmt werden. Bei der Extraktionsmethode werden nur etwa 70 % der mit der Inkubationsmethode oxidierten organischen Verbindungen erfasst. Bei Biomassebestimmungen besteht das Grundproblem, dass kaum zwischen aktiven und abgestorbenen Mikroorganismen differenziert werden kann.

Zunehmende Bedeutung für Keimzahl-Bestimmungen gewinnt die quantitative PCR, die in ► Abschn. 12.2 erläutert wird. Da diese Methode mit einer DNA-Isolierung einhergeht, deren Effizienz Schwankungen unterliegen kann, muss mit einem internen Standard gegebenenfalls quantifiziert werden.

11.1.2 Bestimmung von Aktivitäten

In vielen Fällen geht es nicht so sehr darum Keimzahlen oder Biomassen zu erfassen, sondern deren Aktivitäten. Dies ist zum Beispiel von Interesse, wenn man die Auswirkungen von Schadstoffen oder Bodenbewirtschaftungsmethoden auf mikrobielle Lebensgemeinschaften oder den Erfolg von Sanierungsmaßnahmen beurteilen möchte. Natürlich kann man durch Verfolgung von Biomasse oder Keimzahl im Zeitverlauf auch Aussagen über die Aktivität mikrobieller Gemeinschaften ableiten. Das ist jedoch recht aufwändig. Je nach untersuchtem Stoffwechseltyp, Matrix, genauer Fragestellung und apparativer Ausstattung kann man zwischen mehreren prinzipiell unterschiedlichen Herangehensweisen wählen.

Bei aeroben Mikroorganismen wird häufig die **Atmungsaktivität** bestimmt. Hierbei kann es sich um die Basalatmung handeln, also den O_2-Verbrauch beziehungsweise die CO_2-Bildung, die ohne Zugabe eines zusätzlichen Substrates messbar ist. Oder es kann sich um eine Substrat-induzierte Atmung handeln, die nach einer solchen Zugabe beobachtet wird.

Die Atmungsaktivität wird häufig anhand der Rate des **Sauerstoff-Verbrauches** bestimmt. Der Sauerstoff-Verbrauch dient aber nicht nur zur Ermittlung der Aktivität aerober Organismen, sondern auch zur Beschreibung der Belastung von Abwässern mit oxidierbaren Verbindungen (► Abschn. 14.1). Zur Messung von O_2-Konzentrationen stehen u. a. die folgenden Methoden zur Verfügung:

- Die O_2-Konzentration kann im Zeitverlauf anhand einer **O_2-Elektrode** verfolgt werden, wie sie häufig bei BSB-Messungen (► Abschn. 14.1) zum Einsatz kommt.
- Sofern entstehendes CO_2 durch Alkalihydroxid-Lösungen abgefangen wird, geht der O_2-Verbrauch in einem geschlossenen System mit einer Senkung des Druckes einher. Solche **Druckänderungen** können mit einer Reihe von Geräten im Zeitverlauf verfolgt werden.
- Bei aufwändigeren Geräten, sogenannten **Sapromaten,** wird der O_2-Verbrauch im geschlossenen System kompensiert durch elektrolytische Nachbildung von O_2. Die Menge an verbrauchtem O_2 wird auch in diesem Fall über eine Druckmessung registriert und der nachgebildete O_2 ergibt sich aus dem für die Elektrolyse verbrauchten Strom. Ein Vorteil des Sapromaten ist, dass eine Absenkung der O_2-Konzentration im Ansatz und eine daraus resultierende Begrenzung der Reaktion vermieden werden kann.
- Eine Messung der O_2-Konzentration ist mit **Gaschromatographen** möglich.
- Die Messung der O_2-Konzentratuion mit **Optoden** beruht auf dem Quenchen der Lumineszenz eines Luminophors durch O_2. In Abwesenheit von O_2 führt das vom Luminophor (zum Beispiel polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe oder bestimmte Übergangsmetall-Komplexe) absorbierte Licht zunächst zu einem

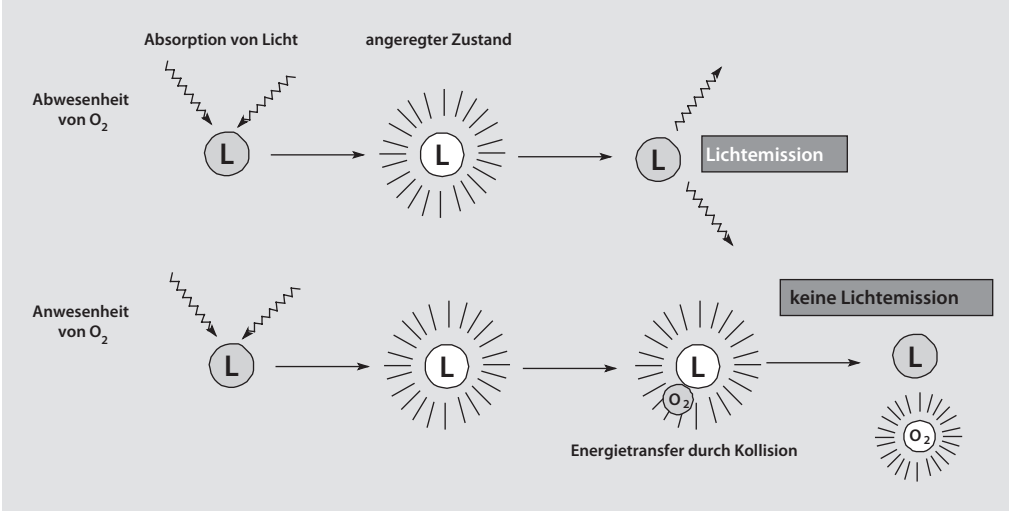


Abb. 11.5 Prinzip der O_2-Konzentrationsmessung mit Optode. L = Luminophor

angeregten Zustand, der dann wiederum Licht abstrahlt (Abb. 11.5). In Anwesenheit von O_2 findet bei Kollision mit dem angeregten Luminophor ein Energietransfer vom Luminophor auf O_2 statt, was zum Quenchen (Löschen) der Lichtemission führt.

Auch die Bestimmung der mit Atmungsprozessen einher gehenden **CO_2-Bildung** kann zur Beurteilung von Atmungsaktivitäten herangezogen werden. Auch hierzu stehen mehrere Möglichkeiten zur Verfügung:

- Die Bildung von CO_2 kann durch **Infrarot**-Gasanalyse direkt in der Gasphase verfolgt werden.
- Eine Analyse mit **Gaschromatographie** ist ebenfalls direkt in der Gasphase möglich.
- Klassisch ist die Methode, gebildetes CO_2 mit Alkalihydroxid-Lösungen abzufangen und es dann durch Zugabe von $BaCl_2$ als schwer lösliches Bariumcarbonat zu fällen. Die Konzentration an nicht verbrauchtem Alkalihydroxid kann durch Titration mit Säuren ermittelt und zur Berechnung des durch CO_2-Bildung verbrauchten Alkalihydroxids verwendet werden. Alternativ kann nach Trocknung und Wägung auch das gefällte Bariumcarbonat als Maß für gebildetes CO_2 dienen (Abb. 11.6).

Da sich der Zustand von Zellen gut anhand ihres **Gehaltes an ATP** bestimmen lässt, wird häufig auch der ATP-Gehalt in Umweltproben analysiert. Dies ist durch HPLC-Messungen möglich. Weit verbreitet ist es auch, ATP durch Biolumineszenz zu quantifizieren. Das **Luciferin** der Leuchtkäfer benötigt ATP zu seiner Aktivierung, und das adenylierte Luciferin reagiert in Gegenwart von Sauerstoff unter Lichtemission zum Oxyluciferin (Abb. 11.7). Die Lichtemission wird gemessen und erlaubt im Prinzip eine sensitive ATP-Analyse, die allerdings empfindlich gegen manche Begleitstoffe aus der Umweltprobe ist.

Da Stoffwechselaktivität zwangsläufig mit der **Aktivität von Enzymen** einhergeht,

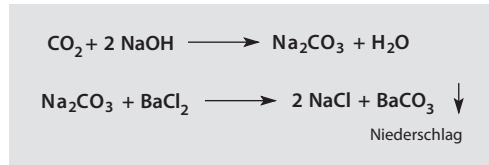


Abb. 11.6 Abfangen von gebildetem CO_2 durch Alkalilauge und Fällung als Bariumcarbonat

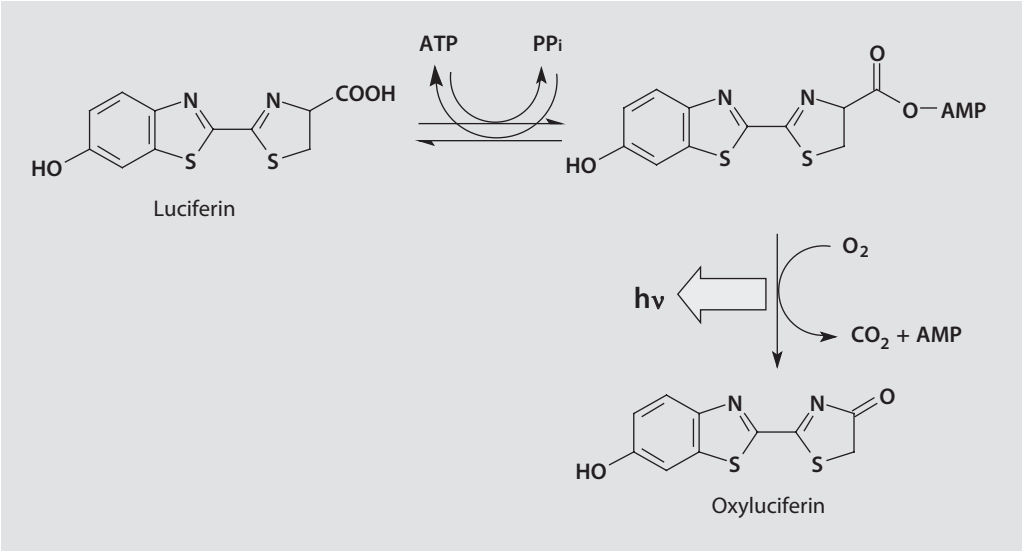


Abb. 11.7 Reaktion der Luciferase der Leuchtkäfer

werden häufig auch die Aktivitäten **weit verbreiteter und gut zu messender Enzyme** bestimmt. In vielen Fällen wird dabei versucht, die Enzymaktivität über Verbrauch oder Bildung eines Farbstoffes zu verfolgen, auch wenn das bei der Messung eingesetzte Substrat eine nicht natürliche Verbindung ist und vom Enzym gewissermaßen nur zufällig mit umgesetzt wird. Folgende Beispiele für in Umweltproben häufiger bestimmte Enzyme sowie für die Messprinzipien seinen erwähnt:

- Viele der **Dehydrogenasen** der Atmungsketten reagieren nicht nur mit ihren natürlichen, sondern auch mit künstlichen Elektronenakzeptoren. Eine dieser Verbindungen ist das Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC), das zu dem roten Farbstoff Trimethylformazan (TPF) reduziert wird (Abb. 11.8). Die Aktivität der Dehydrogenasen ist von der Integrität der Zelle abhängig.
- Auch die Hydrolyse von Fluoresceindiacetat zum grünen Fluorescein durch **Esterasen,** Lipasen und Proteasen wird als Indikator für mikrobielle Aktivität verwendet (Abb. 11.9).

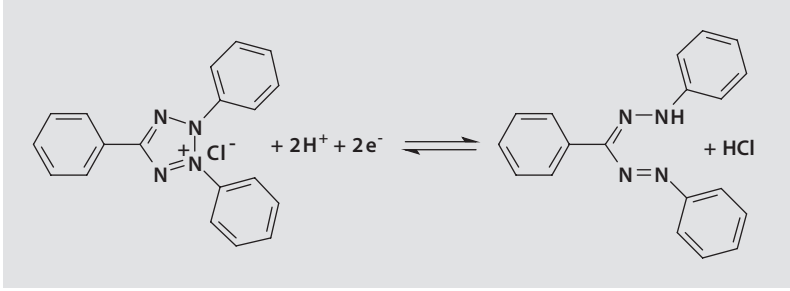


Abb. 11.8 Messung der Dehydrogenase-Aktivitäten durch Reduktion von Triphenyltetrazoliumchlorid zum Triphenylformazan

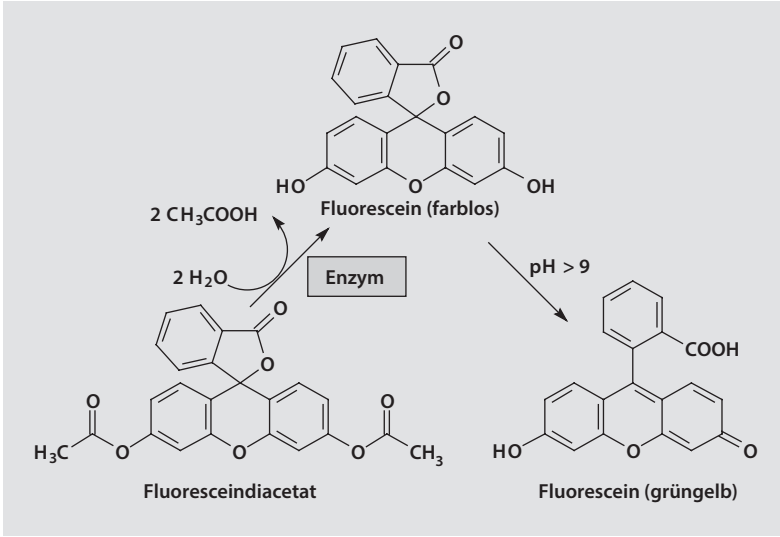


Abb. 11.9 Messung der Aktivitäten von Esterasen, Lipasen und Proteasen durch Hydrolyse von Fluoresceindiacetat zu Fluorescein

Die Messung von solchen Enzymaktivitäten liefert nur unter gewissen **Bedingungen** eine zutreffende Aussage über die allgemeine mikrobielle Aktivität in der Umweltprobe (zum Beispiel im Boden), nämlich dann, wenn das jeweilige Enzym weit verbreitet ist, wenn die Enzyme der unterschiedlichen Organismen zum großen Teil mit dem gegebenenfalls unnatürlichen Testsubstrat gemessen werden können, wenn sie ähnlich schnell mit dem Testsubstrat reagieren und wenn sie unter den Untersuchungsbedingungen auch weitgehend stabil sind. Diese Bedingungen werden oft nur teilweise erfüllt.

Die mit dem Stoffwechsel von Mikroorganismen einhergehende Wärmetönung lässt sich auch bei Lebensgemeinschaften durch **Kalorimetrie** erfassen und bietet ein sehr gutes Maß für deren Aktivität.

Schließlich wird auch der **Einbau radioaktiver Verbindungen,** etwa von ^{3}H-markiertem Thymidin in die Biomasse als Maß für Stoffwechselaktivität verwendet.

Beim mikrobiellen Abbau organischer Verbindungen kann man durch Zufüttern von ^{15}N-Medium das Entstehen von **schwerer DNA** als Hinweis auf Verwertung der Verbindung nutzen. Schwere und leichte DNA lassen sich durch Zentrifugation trennen.

Beim mikrobiellen Abbau organischer Verbindungen werden in vielen Fällen Moleküle mit dem schwereren ^{13}C-Isotop etwas langsamer umgesetzt als diejenigen ohne dieses Isotop. Dies führt im Verlauf von Abbauprozessen zu einer Anreicherung des schweren Isotops und zu einer Erhöhung des $^{13}C/^{12}C$-Isotopen-Verhältnisses in der nicht umgesetzten Restfraktion einer Substanz. Das Ausmaß einer solchen Isotopenfraktionierung lässt sich durch massenspektrometrische Analyse bestimmen und wird durch den Isotopenfraktionierungsfaktor α angegeben. Bei Kenntnis des **Fraktionierungsfaktors** α aus vergleichenden Untersuchungen kann unter Verwendung der Rayleigh-Gleichung für geschlossene Systeme

$$\frac{R_t}{R_0} = \left(\frac{C_t}{C_0}\right)^{\alpha-1} \text{ bzw. } \ln(R_t/R_0) = (\alpha\text{-}1)\ln(C_t/C_0)$$

(R_t, R_0, $^{13}C/^{12}C$-Isotopenverhältnisse zu Zeitpunkten t bzw. 0; C_t, C_0, Konzentrationen zu Zeitpunkten t bzw. 0)

aus der beobachteten Isotopenfraktionierung auf den bereits eingetretenen Abbau zurückgeschlossen werden, was zum

Beispiel bei der Beurteilung länger zurückliegender Schadensfälle mit organischen Schadstoffen von großem Interesse ist.

Eine andere wichtige Größe zur Beschreibung von Isotopeneffekten ist der **δ–Wert.** Zur Berechnung des δ-Wertes wird das Isotopenverhältnis einer Probe (R_{Pr}) zu dem eines Standards (R_{St}) ins Verhältnis gesetzt:

$$\delta = \frac{R_{Pr} - R_{St}}{R_{St}} \times 1000\,(^{\circ}/_{\infty})$$

Durch mikrobielle Aktivität verursachte Isotopenfraktionierung zeigt sich in charakteristischen δ-Werten der Probe. So führt zum Beispiel im Bereich **anorganischer Verbindungen** rein chemische Sulfidoxidation zu anderen $\delta^{18}O$-Werten im entstehenden Sulfat als mikrobiell vermittelte Sulfidoxidation (vgl. ▶ Abschn. 8.1.4), was gegebenenfalls Rückschlüsse auf die am jeweiligen Standort wichtigen Mechanismen erlauben kann.

Das NanoSIMS Laboratorium

Die Forschung mit dem NanoSIMS verbindet erstmalig die Möglichkeit einzelne Zellen aus natürlichen, mikrobiellen Lebensgemeinschaften phylogenetisch zu identifizieren, und gleichzeitig Erkenntnisse über die jeweilige metabolische Funktion zu gewinnen.
Das NanoSIMS ist ein Sekundärionen-Massenspektrometer im Nanometer-Maßstab mit sowohl extrem hoher lateraler Auflösung als auch hoher Massenauflösung zur Analyse der Zusammensetzung von festen Oberflächen und dünnen Schichten.
Die hohe Massenauflösung des Massenanalysators ermöglicht die Trennung des Isotops (Masse) von Interesse von störenden Isotopen und/oder molekularen Clustern mit sehr ähnlichen Massen (◘ Abb. 11.10).
Beispiele für den Einsatz von NanoSIMS sind:

- Einzelzellen-Analyse
- Abbau von Plastik im Boden

Individualismus von Zellen

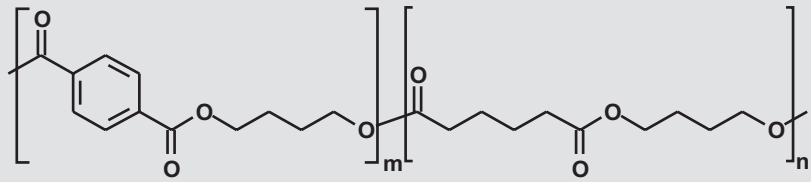
Mit NanoSIMS lässt sich die Nahrungsaufnahme einzelner Zellen messen.
Einzelne Zellen in Bakteriengruppen, die unter Nährstoffmangel leiden, können sehr unterschiedlich reagieren. Obwohl alle Zellen einer solchen Gruppe genetisch genau gleich sind, gehen sie ganz unterschiedlich mit den Nährstoffen in ihrer Umgebung um.
Bakterien der Art *Klebsiella oxytoca* nehmen bevorzugt Stickstoff in Form von Ammonium (NH_4^+) auf, denn das kostet vergleichsweise wenig Energie. Wenn nicht genügend Ammonium für alle vorhanden ist, beziehen einige Zellen der Gruppe ihren Stickstoff durch Stickstofffixierung aus elementarem Stickstoff (N_2), obwohl das deutlich aufwändiger ist.
Die Bakterienkulturen von *K. oxytoca* wurden in kontinuierlichen Kulturen mit verschiedenen Konzentrationen von Ammonium und einem Überschuss an $^{15}N_2$ versorgt. Die jeweilige Population wurde anschließend mit einem NanoSIMS untersucht und so die Stickstofffixierung einzelner Zellen in der Bakterienkultur sichtbar gemacht (◘ Abb. 11.11).
Das Niveau der NH_4^+-Limitierung beeinflusst die phänotypische Heterogenität der N_2-Fixierung. Im Gegensatz dazu korreliert die Rate der N_2-Fixierung einzelner Zellen positiv mit ihrer Wachstumsrate bei der Verschiebung zur NH_4^+-Verarmung.
Obwohl alle Individuen der Gruppe genetisch identisch sind und den gleichen Umweltbedingungen ausgesetzt waren, sind die einzelnen Zellen verschieden. Unterschiede zwischen Individuen verleihen der ganzen Gruppe neue Eigenschaften und erlauben ihr so, mit schwierigen Umweltbedingungen umzugehen. Ging das Ammonium plötzlich ganz aus, waren diese Zellen auf den Mangel gut vorbereitet. Auch wenn einzelne Zellen leiden, kann die Gruppe als Ganze weiterwachsen.
Es wurde herausgefunden, dass Bakterienpopulationen besonders viele Individualisten hervorbringen, wenn es nur begrenzt Nährstoffe gibt. Das bedeutet, dass diese Bakterienpopulationen sich nicht nur im Nachhinein an veränderte Umweltbedingungen anpassen. Die Individualisten können auch schon im Vorhinein auf solche Veränderungen vorbereitet sein (Schreiber et al., 2016).

Mikroorganismen können Plastik im Boden zersetzen

Schon seit den 1960er Jahren werden in der Landwirtschaft Plastikfolien zum sogenannten Mulchen (Bedecken des Bodens) verwendet. Sie haben vielerlei Nutzen – zum Beispiel ermöglichen sie eine bessere Verteilung und langsamere Verdunstung von Feuchtigkeit im Boden, ideale Temperaturen für Pflanzenwurzeln und Schutz vor Unkräutern und Insekten. Damit verbessern sich die Bedingungen für das Pflanzenwachstum, während sich der Wasserverbrauch sowie der Einsatz von Herbiziden und Düngemitteln verringert. Üblicherweise bestehen Mulchfilme aus nicht-abbaubarem Polyethylen (PE). Werden diese PE-Folien nach der Ernte nicht vollständig von den Böden entfernt, bleiben Reste zurück und reichern sich auf Dauer im Boden an. Es wird geschätzt, dass 2016 weltweit sechs Millionen Tonnen Plastik in der Landwirtschaft verwendet wurden, davon allein zwei Millionen Tonnen in Form von Mulchfilmen.

Ein vielversprechender Weg, die Anreicherung von Plastik in landwirtschaftlichen Böden zu umgehen, ist die Nutzung von Folien aus Polymeren, die von Bodenmikroorganismen abgebaut werden können. Ein in dieser Hinsicht vielversprechendes Polymer, das in Mulchfilmen verwendet wird, ist PBAT (Polybutylenadipat-terephthalat). Um den biologischen Abbau in Böden näher zu untersuchen verwendeten die Forscher spezielles PBAT, dessen Bausteine statt des herkömmlichen Kohlenstoffs ^{12}C eine erhöhte Menge des stabilen Kohlenstoffisotops ^{13}C enthielten. Da das ^{13}C-Isotop in der Umwelt nur etwa ein Prozent allen Kohlenstoffs ausmacht, kann es in angereicherter Form in Polymeren hervorragend verwendet werden, um den Fluss von Kohlenstoffatomen aus dem Polymer während des Bioabbaus in Böden zu verfolgen.

Der Abbauprozess im Boden verläuft in zwei Schritten: Zuerst muss das PBAT durch mikrobielle Enzyme in seine einzelnen Bausteine zerlegt (depolymerisiert) werden. Dann können die kleinen Bausteine von den Bodenmikroorganismen aufgenommen und verwertet werden. Um den Einbau des ^{13}C-Kohlenstoffs in die Biomasse von Bodenmikroorganismen nachzuweisen, wurden die Polymerproben aus den Bodenexperimenten mittels hochortsaufgelöster Sekundärionen Massenspektrometrie (NanoSIMS) untersucht. Die Messungen zeigten, dass sowohl Pilze wie auch einzellige Mikroorganismen (also höchstwahrscheinlich Bakterien) am Abbau des Polymers beteiligt waren. Und vor allem, dass alle drei Bestandteile des Polymers von Mikroorganismen genutzt wurden (Zumstein et al., 2018).



11

11.2 Nachweis bestimmter Mikroorganismen

In vielen Fällen benötigt man nicht so sehr Aussagen darüber, wie viele Mikroorganismen in einer Lebensgemeinschaft insgesamt vorkommen beziehungsweise wie aktiv diese sind, sondern viel mehr Informationen darüber, ob und in welcher Zahl bestimmte Mikroorganismen vorkommen. Bei den nachzuweisenden Bakterien kann es dabei um bestimmte Taxa (zum Beispiel bestimmte Arten) gehen oder auch um physiologische Gruppen unabhängig vom Taxon (zum Beispiel Sulfatreduzierer oder Nitrifikanten). Klassische Methoden zum Nachweis von Mikroorganismen beruhen zum großen Teil auf mehr oder weniger **selektiven Kultivierungsverfahren.** Im Unterschied zu den im ► Abschn. 11.1.1 erwähnten möglichst

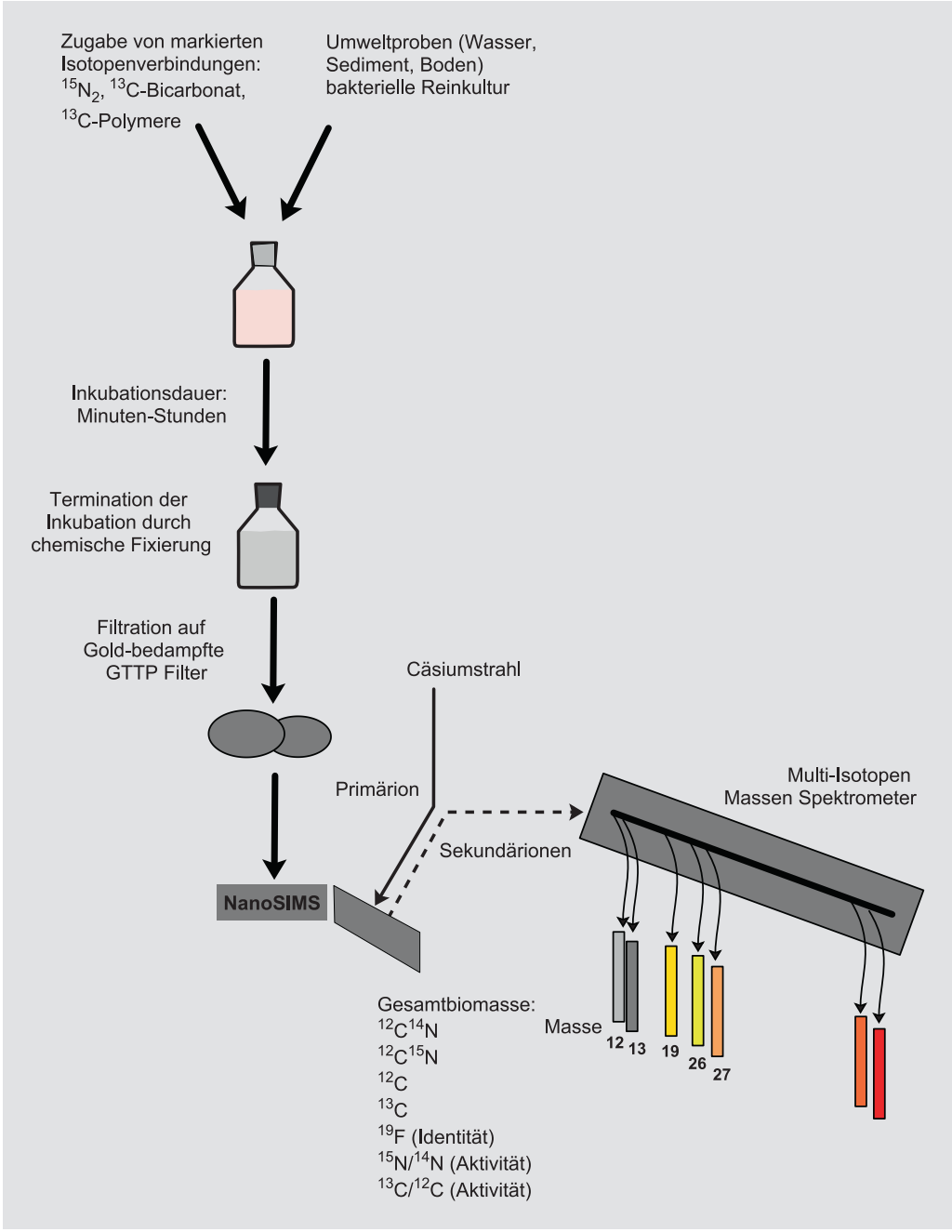


Abb. 11.10 NanoSIMS Technik zum empfindlichen Nachweis von Aktivitäten (GTTP: Hydrophilic, Isopore, Polykarbonat-Membranfilter)

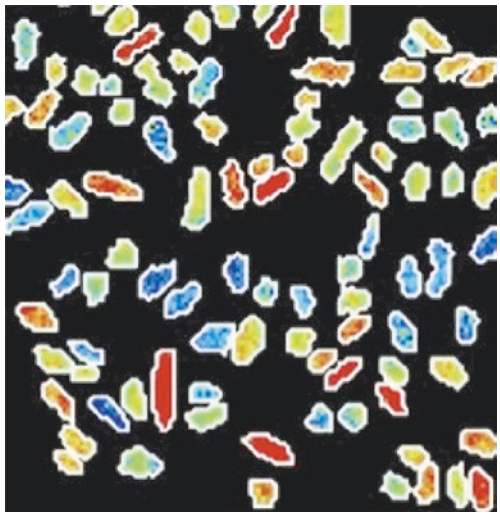


Abb. 11.11 Das Bild zeigt die Anreicherung der Zellen mit schwerem Stickstoff (^{15}N), nachdem diese mit schwerem elementarem Stickstoff ($^{15}N_2$) gefüttert worden sind. Die unterschiedliche Färbung zeigt, dass die genetisch gleichen Zellen einer Population unterschiedlich viel elementaren Stickstoff in die Zellmasse eingebaut haben. Je wärmer die Färbung, desto mehr elementarer Stickstoff wurde eingebaut. Nachfragt: © Frank Schreiber (BAM Berlin) und Sten Littmann (MPI Bremen)

wenig selektiven Bedingungen, versucht man in diesem Fall, durch Wahl der Art und Konzentration von Elektronendonor und Elektronenakzeptor, durch Inkubationsbedingungen (unter anderem Temperatur, pH), Stickstoffquelle, Hemmstoffe und andere vorwiegend oder ausschließlich die gesuchten Mikroorganismen zur Entwicklung kommen zu lassen. Je nach Fragestellung müssen dann isolierte Mikroorganismen gegebenenfalls noch identifiziert werden.

Eine **Quantifizierung** von Mikroorganismen mit gewissen physiologischen Eigenschaften ist oft durch eine **Lebendkeimzahl-Bestimmung** auf einem selektiven Agar möglich, indem man Aliquots aus einer Verdünnungsreihe der Probe auf einem entsprechenden selektiven Nährboden ausplattiert (vergleiche ◘ Abb. 11.4). Wie oben bereits erwähnt, lassen sich manche Eigenschaften auf festen Nährböden nicht angemessen überprüfen, und es muss eine Abschätzung von Häufigkeiten auf der Basis einer Kultivierung oder biochemischen Reaktion in Flüssigkultur erfolgen. Da hier keine Auszählung entstehender Kolonien möglich ist, ermittelt man, aus welcher Verdünnungsstufe der Probe noch in Flüssigmedium wachsende oder sonst reagierende Zellen erhalten werden. Würde man aus jeder Verdünnungsstufe nur ein Flüssigmedium animpfen, würde man nur die Größenordnung der in der ursprünglichen Probe enthaltenen und im Flüssigmedium teilungs- oder reaktionsfähigen Zellen erhalten, und diese Angabe hätte eine erhebliche Unsicherheit, weil je nach dem, ob beim Überimpfen aus einer hohen Verdünnungsstufe noch zufällig eine Zelle erfasst würde oder nicht, eine unterschiedliche Größenordnung erhalten würde. Um diese statistische Unsicherheit zu reduzieren, überimpft man bei der ***most probable number*-Methode** (MPN-Methode) mehrfach parallel aus den Verdünnungsstufen der Probe in die Flüssigkulturen. (◘ Abb. 11.12). Man beurteilt an den drei höchsten Verdünnungsstufen, die noch zu Wachstum oder Reaktion führen, in wie vielen der parallel angesetzten Flüssigkulturen dieses auftritt. Anhand von Tabellen lassen sich dann wahrscheinliche Zahlen teilungs- oder reaktionsfähiger Mikroorganismen in der ursprünglichen Probe ermitteln. Die Genauigkeit der Angabe ist abhängig von der Zahl analysierter Parallelansätze je Verdünnungsstufe.

Ein gutes Beispiel ist der **Nachweis von *Escherichia coli*** im Trinkwasser. Die Trinkwasser-Verordnung legt neben anderen mikrobiologischen Parametern fest, dass in 100 ml Wasser keine teilungsfähige Zelle des als Indikatorbakterium für Fäkalverunreinigungen verwendeten *E. coli* vorhanden sein darf. Dies wird nach DIN EN ISO 9808-1 getestet, indem die Probe zunächst durch eine Membran mit einem mittleren Porendurchmesser von 0,45 µm filtriert und die Membran dann auf einem Agar mit Lactose und Komplettmediumsbestandteilen sowie 2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC), Natriumheptadecylsulfat und Bromthymo-

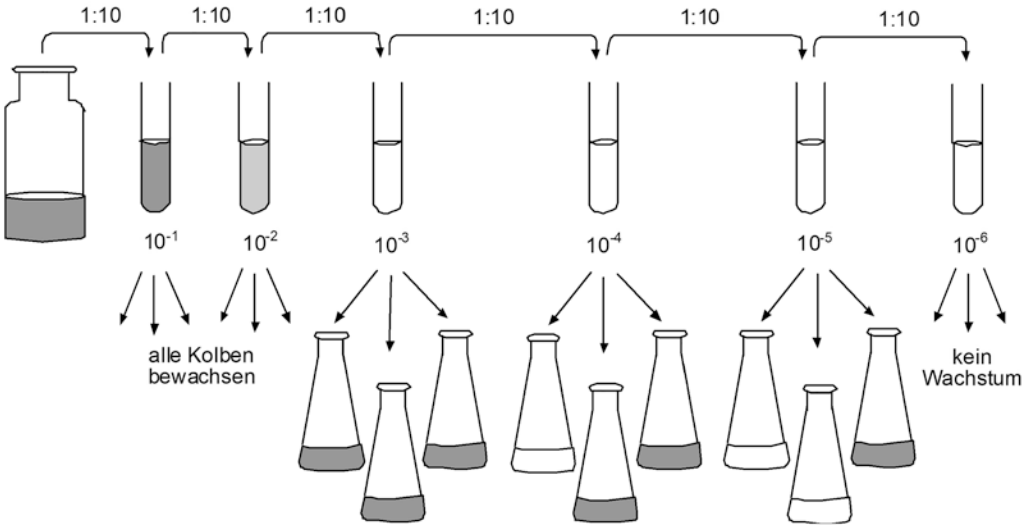


Abb. 11.12 Abschätzung der Häufigkeit von Bakterien mit gewünschten Eigenschaften in Flüssigkulturen unter Verwendung der MPN-Methode

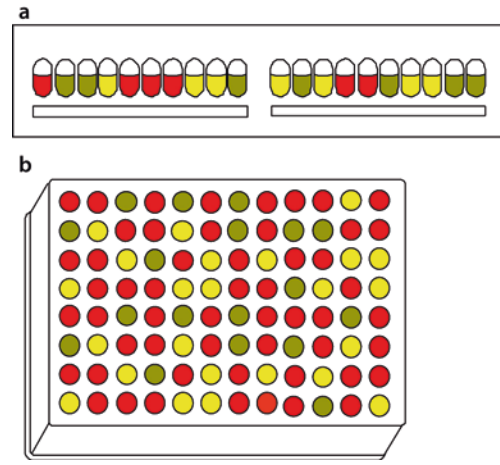
lblau inkubiert wird. Hier wird genutzt, dass coliforme Bakterien wie *E. coli* Lactose üblicherweise über β-Galactosidase spalten und unter Säurebildung abbauen können, was zur Gelbfärbung des pH-Indikators führt. Natriumheptadecylsulfat und TTC hemmen viele Gram-positive Bakterien. TTC wird bei Lactose-negativen Zellen außerdem zu einem roten Farbstoff reduziert (Abb. 11.8), während Lactose-positive coliforme Bakterien aufgrund einer schwachen TTC-Reduktion gelb-orange erscheinen. Zur genaueren Differenzierung wird anschließend noch überprüft, ob die Bakterien der gelb-orange-farbenen Kolonien wie *E. coli* im Oxidase-Test negativ und im Indol-Test positiv sind. Der Oxidase-Test überprüft das Vorkommen Cytochrom-Oxidase durch Oxidation von Tetramethyl-*p*-phenylendiamin zu einem blauen Farbstoff. Im Indol-Test wird das Tryptophan spaltende Enzym Tryptophanase dadurch nachgewiesen, dass das entstehende Indol unter sauren Bedingungen mit *p*-Dimethylaminobenzaldehyd zu einem roten Farbstoff reagiert. Insgesamt ist der *E. coli*-Nachweis ein mehrere Stoffwechsel- und Resistenzeigenschaften nutzendes, mehrstufiges und daher relativ aufwändiges Verfahren, das bei der Standardprozedur zwei bis drei Tage in Anspruch nimmt.

Interessiert man sich zum Beispiel für die **Abbaufähigkeit** der Mikroorganismen eines Bodens oder eines Belebtschlammes für **organische Schadstoffe,** so kann man versuchen, das Vorkommen der Schadstoff-verwertenden Mikroorganismen nachzuweisen, indem man ein Mineralmedium mit einer solchen Verbindung als einziger Kohlenstoff- und Energiequelle anbietet. Das Wachstum in entsprechenden Flüssigkulturen oder die Koloniebildung auf entsprechenden festen Nährböden zeigen die Gegenwart des Schadstoff-verwertenden Mikroorganismus an. Bei direkter Plattierung auf festen Nährböden (also ohne vorherige Anreicherung in Flüssigmedium) oder bei Anwendung der MPN-Methode lässt sich auch die Häufigkeit der Mikroorganismen mit der jeweiligen Abbaueigenschaft in der Umweltprobe abschätzen.

Eine taxonomische Analyse mikrobieller Lebensgemeinschaften in Umweltproben ist mit klassischen Methoden ein praktisch unlösbares Problem (selbst wenn man einmal nur die kultivierbaren Bakterien betrachtet),

denn eine solche taxonomische Analyse erfordert gleichzeitig eine Identifizierung wie eine Quantifizierung der vorkommenden Mikroorganismen. Eine **Identifizierung von Mikroorganismen,** also ihre Zuordnung zu beschriebenen Arten oder anderen Taxa, ist aber bei Verwendung klassischer Methoden aufgrund der geringen morphologischen Unterschiede mit Einzelzellen in der Regel nicht möglich. Eine Ausnahme bildet die Identifizierung von Mikroorganismen unter Verwendung **immunologischer Methoden,** also spezifischer und mit einer Markierung versehener Antikörper, die aber in der Regel nur für einzelne Arten und nicht für die Mehrzahl der Organismen einer Gemeinschaft zur Verfügung stehen. Traditionell können Mikroorganismen also meist erst identifiziert werden, wenn sie als **Reinkultur** vorliegen. Wie am Beispiel von *E. coli* demonstriert, kann dann unter anderem durch **Färbetechniken** (zum Besipiel Gram-Färbung) und vor allem verschiedene Tests auf **Stoffwechseleigenschaften** (Verwertung von Kohlenstoffquellen, Verhältnis zum Sauerstoff, Bildung von Stoffwechselprodukten, nachweisbare Enzymaktivitäten) meist eine adäquate Zuordnung erreicht werden (◘ Abb. 11.13). Von großer Bedeutung für die Taxonomie und damit für die Identifizierung von Stämmen sind heute auch **chemotaxonomische Merkmale,** also etwa das Vorkommen charakteristischer Fettsäuren in den Membranlipiden oder die Art der Chinone in den Atmungsketten. Auch solche Merkmale lassen sich nur anhand hinreichender Mengen von Biomasse einer Reinkultur untersuchen.

Die Gewinnung von Reinkulturen für die Identifizierung steht aber im Widerspruch zum Ziel der Quantifizierung von Arten in der Umweltprobe, denn die Isolierung wird zwangsläufig in gewisser Hinsicht selektiv durchgeführt. Sie kann nicht näherungsweise alle vorhanden Mikroorganismen erfassen und ist auch kaum mit hunderten oder tausenden unterschiedlicher Bakterien einer Umweltprobe durchführbar.



◘ **Abb. 11.13** Bakterienidentifizierung durch gleichzeitiges Austesten mehrerer Stoffwechseleigenschaften in **a** „Bunten Reihen" oder **b** Tests zur Substratoxidation in Mikrotiterplatten in Gegenwart eines Redoxfarbstoffes

Auch wenn eine taxonomische Analyse von **Lebensgemeinschaften** auf Artniveau mit nicht-genetischen Methoden in der Regel nicht möglich ist, kann eine Analyse auf der Ebene höherer taxonomischer Einheiten jedoch zum Teil auf Basis der erwähnten sowie weiteren chemotaxonomischen Merkmale erfolgen, die als **Biomarker** betrachtet werden. So kann das in Pilzen häufige **Ergosterol** als Maß für die Biomasse von Pilzen in einer Lebensgemeinschaft dienen. Die in den Zellwänden praktisch aller Bakterien vorkommende **Muraminsäure** wird zuweilen als Marker für bakterielle Biomasse verwendet, doch ist zu bedenken, dass Zellwandreste auch in totem organischem Material, insbesondere Huminstoffen, auftreten und die Messungen stark verfälschen können. Genauere Rückschlüsse über die Verbreitung mikrobieller Taxa in einer Lebensgemeinschaft erlaubt die Analyse des **Fettsäuremusters** der aus der Lebensgemeinschaft extrahierbaren Membranlipide. Die Tatsache jedoch, dass schon bei jedem einzelnen Taxon (und je nach physiologischem Zustand) eine Reihe verschiedener Fettsäuren auftritt, führt bei ganzen Lebens-

gemeinschaften tendenziell zu sehr komplexen Mustern mit begrenzter Aussagekraft.

11.3 Mikroorganismen, aus der Natur ins Labor, die Isolierung von Reinkulturen

Die Mehrzahl der Informationen der Mikrobiologie wurde mit Reinkulturen gewonnen. Isolierte Mikroorganismen sind also von großer Wichtigkeit für unser Wissen.

11.3.1 Organismen nicht kultivierbar?

Schon 1918 wurde herausgestellt, dass die zur Verfügung stehenden Methoden der Kultivierung von Bakterien auf künstlichen Medien nur bei 1,5 bis 10 % der im Boden vorhandenen Bakterienzellen zur Koloniebildung führte (Conn, 1918).

Auch bis heute ist nur ein geringer Teil der in der Natur vorkommenden prokaryotischen Mikroorganismen im Labor kultiviert worden. Man schätzt diesen Anteil weiterhin auf weniger als 1 % (Amann et al., 1995; Schloss & Handelsman, 2005).

Es stellt sich die Frage: Ist die Mehrzahl der Organismen nicht kultivierbar oder können wir es nicht?

Die Ursachen für den geringen Erfolg bei der Erfassung der in der Natur vorkommenden Mikroorganismen sind sehr vielfältig. Bei der Annäherung an die Problematik soll zunächst besprochen werden, was ein Organismus braucht, um kultiviert zu werden, und an welchem Punkt mögliche Schwierigkeiten bei der Isolierung/Anreicherung aus Umweltmedien zu erwarten sind.

Die Ansprüche verschiedener Mikroorganismen an die Zusammensetzung von Nährlösungen und die Milieubedingungen sind vielfältig. Sie hängen von der Art seines Energiestoffwechsels und seinen biosynthetischen Leistungen ab. Das mikrobielle Wachstum wird also beinflusst von

- den Kohlenstoffquellen,
- den Elektronendonoren und -akzeptoren,
- den Stickstoffquellen,
- den Quellen anderer Hauptelemente wie Schwefel, Phosphor, Magnesium und Calcium,
- dem Bedarf an Spurenelementen,
- dem Bedarf an Vitaminen und möglicherweise Wachstumsfaktoren
- und einigen physiko-chemischen Faktoren wie Temperatur, pH sowie der Notwendigkeit von Sauerstoff und dem Salzgehalt.

Der natürliche Standort und das Labor sind zwei sehr unterschiedliche Welten. Im Labor gelingt es oft nicht, die an den natürlichen Standorten der Bakterien gegebenen abiotischen und biotischen Rahmenbedingungen hinreichend zu simulieren, sodass eine Isolierung von Mikroorganismen bisher erfolglos blieb.

- Anreicherungskulturen werden häufig als Standkulturen inkubiert, wobei anfangs sehr hohe und später niedrige Konzentrationen vorhanden sind.
- Aerobier werden auf der Schüttelmaschine **in suspendierter Form** bebrütet. Der Partialdruck von O_2 ist gegebenenfalls sehr hoch. An den natürlichen Standorten bilden viele Bakterien hingegen Kolonien oder kommen in Flocken, Matten oder Biofilmen vor. Häufig liegen Bakterien auch adsorbiert an Oberflächen vor.
- An den meisten natürlichen Standorten liegen Nährstoffe nur in relativ niedriger Konzentration vor, die meist viel niedriger ist als die in den Labormedien verwendeten. Sehr viele Mikroorganismen sind an diese niedrigen Konzentrationen besonders angepasst.
- Im Gegensatz zu den meisten Labormedien liegt in der Natur selten nur eine einzige Kohlenstoffquelle vor.

- In der Natur liegen nie Rein-, sondern mehr oder weniger komplexe Mischkulturen vor. Zwischen ihnen gibt es eine Vielzahl unterschiedlicher Interaktionen, zu denen auch symbiontische gehören, die durchaus auch obligat sein können. Vor allem einige strikte Anaerobier sind obligat auf eine Kooperation mit Partnerorganismen, die zum Beispiel H_2 verbrauchen, angewiesen und können daher nicht ohne weiteres in Reinkultur gezüchtet werden.

11.3.2 Isolierung und Probleme

Einige Arten haben so spezifische Ansprüche, dass es sehr gute mikrobiologische Kenntnisse, vor allem der Stoffwechselphysiologie erfordert, sie in Reinkultur zu bekommen. Umfassende Erfahrungen in mikrobiologischen Arbeitstechniken, Fingerspitzengefühl und viel Geduld sind ferner notwendig. Grundsätzlich gilt: „Man muss wissen, wonach man suchen soll." Will man also eine ganz bestimmte Mikroorganismenart aus einer Mischpopulation anreichern, so setzt das die genaue Kenntnis ihrer Nährstoffansprüche und optimalen Bebrütungsbedingungen voraus. Häufig kennt man entscheidende Informationen nicht.

Einige Mikroorganismen wachsen nicht auf Platten, die Agar als Festigungsmittel nutzen. Bei acidophilen Eisenoxidierern sind organische Säuren aus Agar und Agarose offenbar toxisch. Als alternatives Mittel kann dann oft Gellan (ein Polysaccharid aus *Pseudomonas elodea*) oder andere Verfestiger wie Gelrite und Kieselgel eingesetzt werden.

Man muss auch damit rechnen, dass manche Mikroorganismen sehr langsam wachsen, was bedeutet, dass einige Wochen oder auch Monate vergehen können, bis sichtbares Wachstum auf festen Medien oder in Flüssigkultur festzustellen ist.

Obwohl sehr wichtig, werden Gründe für die Zusammensetzung eines Mediums und der Gebrauch spezifischer Kulturbedingungen jedoch eher selten in der Literatur angesprochen.

So konnte man *Methanomicrobium mobile* erst kultivieren, als man die Notwendigkeit eines neuen Wachstumsfaktors herausgefunden hatte. *Desulfomonile tiedjei* war erst als Reinkultur fassbar, als die Biochemie der Dehalogenierung als Folge der Nutzung von 3-Chlorbenzoat als Elektronenakzeptor geklärt war. Die Kultivierung dieser spezifischen sulfatreduzierenden Bakterien aus Umweltproben war damit möglich.

Ein anderes Beispiel ist *Pelagibacter ubique* SAR11, der bis zu 50 % der gesamten mikrobiellen Gemeinschaft des Oberflächenwassers der Sargasso See ausmacht. Der oligotrophe Organismus ist auf reduzierte Schwefelverbindungen angewiesen, die andere Organismen im Habitat bereitstellen.

Viele Probleme beim Wachstum von Mikroorganismen ergeben sich aufgrund von inkorrekter oder unkontrollierter Inkubationstemperatur oder dem pH-Wert der Kultur. Ferner führt, wie oben angesprochen, das Fehlen von notwendigen Nährstoffen, die wenig ideale Art und Weise des Zusatzes der Kohlenstoff- oder Energiequellen und sogar der Überschuss einiger Medienbestandteile zu schlechtem oder keinem Wachstum oder zum Überwachsen durch schnellere Organismen in einer Anreicherungskultur.

Einige Verbindungen können sogar toxisch oder unlöslich bei den Konzentrationen sein, wie sie Medien häufig zugesetzt werden. Dies weiß man von Substraten wie Formaldehyd, Kohlenwasserstoffen und sogenannten Xenobiotika.

Für einige toxische Substrate ist es notwendig, sie in niedriger, nicht toxischer Konzentration zuzusetzen, den Verbrauch zu verfolgen und die Kultur erneut mit den

toxischen Substraten zu versorgen, wenn sie verbraucht sind.

11.3.3 Anreicherungssystem

Nach den aufgezeigten möglichen Problemen beim Isolieren von Mikroorganismen soll die für Mikrobiologie wichtige, von **Winogradsky** und **Beijerinck** entwickelte Technik der Anreicherung vorgestellt werden. Diese Technik erlaubt es, Prokaryoten mit spezifischen metabolischen Fähigkeiten mittels der selektierenden Eigenschaften ausgewählter Nährlösungen zu isolieren. Man stellt in einer Nährlösung die entsprechenden Umweltbedingungen her, indem man eine Anzahl von Faktoren (Energie-, Kohlenstoff- und Stickstoffquelle, Elektronenakzeptor, Gasatmosphäre, Licht, Temperatur, pH-Wert) festlegt und diese Nährlösung mit einem Organismengemisch beimpft, wie es zum Beispiel in einer Boden-, Schlamm- oder Wasserprobe vorliegt. Man schafft also auf diese Weise eine künstliche ökologische Nische.

Durch das spezifisch zugeschnittene Medium sowie durch die Inkubationsbedingungen werden einzelne Organismen gegenüber anderen bevorzugt zur Vermehrung gebracht, sodass sie schließlich in der flüssigen Nährlösung dominieren und leicht isoliert werden können. In einer solchen Anreicherungskultur setzt sich also derjenige Organismus durch, der am schnellsten wachsen kann. Alle übrigen Begleitorganismen werden überwachsen und entgehen der Isolierung.

Soll eine möglichst große Zahl von verschiedenen Stämmen unter selektiven Wachstumsbedingungen isoliert werden, bietet sich eine direkte Ausplattierung ohne vorherige Anreicherung in Flüssigkultur an. Wird das Impfmaterial auf einem verfestigten Selektivnährmedium verteilt, so wachsen die begünstigten Stoffwechseltypen zu Kolonien heran. Bei hinreichend weitem Kolonieabstand entgehen sie der Konkurrenz um Nährstoffe; die langsamer wachsenden Stämme werden von schneller wachsenden nicht verdrängt und lassen sich somit getrennt isolieren.

Die Isolierung einer Reinkultur kann auch in flüssigen Nährmedien erfolgen, allerdings nur, wenn der gewünschte Organismus im Ausgangsmaterial zahlenmäßig weit überwiegt. Durch **serielle Verdünnung** einer mehrfach übertragenen flüssigen Anreicherungskultur in der Nährlösung lässt es sich schließlich erreichen, dass sich in der letzten Verdünnungsstufe statistisch nur noch eine Zelle befindet, aus der dann eine Reinkultur hervorgeht.

Zur Überprüfung der Reinheit einer Kultur setzt man – im Gegensatz zur Anreicherung – ein möglichst wenig selektives, komplexes Nährmedium ein, um eventuellen Kontaminanten das Wachstum zu erleichtern und sie so leicht sichtbar zu machen.

Für spezialisierte Mikroorganismen lassen sich **besonders selektive Anreicherungsbedingungen** herstellen:

- Ein Mineralmedium, dem eine Stickstoffquelle fehlt, selektiert für **stickstofffixierende Cyanobakterien,** wenn es belichtet wird.
- Die Ergänzung der Nährlösung durch eine organische Energie- und Kohlenstoffquelle führt im Dunkeln unter Luft zur Anreicherung des N_2-fixierenden aeroben Bodenbakteriums ***Azotobacter.***
- Findet diese Anreicherung ohne Sauerstoff statt, so erfolgt dann die Selektion von **Clostridien.**
- Für die Anreicherung von fermentierenden Organismen ist der chemische Charakter des Substrates sehr wichtig. Damit es durch Fermentation abgebaut werden kann, darf es nicht zu oxidiert und nicht zu reduziert sein. Zucker sind vorzügliche Fermentationssubstrate, aber auch andere Klassen von organischen Verbindungen mit einem ähnlichen Oxidationzustand können fermentiert werden. Die Anreicherungskultur muss nur anaerob und in Abwesenheit anderer guter Elektronenakzeptoren wie NO_3^- oder Fe^{3+}

kultiviert werden, nicht nur weil einige fermentative Organismen obligate Anaerobe sind, sondern um die Konkurrenz aerober Formen oder von Denitrifizierern oder Eisenreduzierern zu vermeiden.
- Nitrat sollte nicht als Stickstoffquelle für die Anreicherung von fermentativen Organismen verwendet werden, da es das Wachstum von denitrifizierenden Bakterien erlaubt.

Es dürfen aber nicht mehr als die minimalen Bedürfnisse des anzureichernden Stoffwechseltyps erfüllt werden, damit eine Anreicherung erfolgreich ist:
- Bei der Isolierung von Organismen, die Wasserstoff mit Nitrat oder Sulfat als Elektronenakzeptor oxidieren, muss Sauerstoff ausgeschlossen werden. Aerobe Wasserstoffoxidierer würden die Nitrat- und Sulfatatmer bei Gegenwart von Sauerstoff überwachsen.

Für die Anreicherung von **chemoautotrophen** und **photoautotrophen** Organismen müssen organische Verbindungen im Medium vermieden werden und CO_2 oder Bicarbonat als einzige Kohlenstoffquelle zugesetzt sein (◘ Abb. 11.14).

11.3.4 Analoganreicherung: Sinn oder Unsinn?

Bakterien, die mit Xenobiotika wie Chloraromaten wachsen können, werden als selten in der Natur vorkommend betrachtet. Deshalb erhöht man die Zellpopulation spezifisch, indem man ein Substratanalogon als erstes Anreicherungssubstrat verwendet: Will man also Chlorbenzol-Verwerter isolieren, kann man zuerst mit der Anreicherung einer Benzolkultur anfangen, die man anschließend langsam auf Chlorbenzol umstellt. Nach Kenntnis des Stoffwechsels und gefundener Engpässe kann man heute sagen, dass diese Vorgehensweise eher schlecht ist, da solche Benzol-Verwerter bei Chlorbenzol-Gabe die toxischen Chlorbrenzcatechine akkumulieren, welches einer Anreicherung entgegenläuft. Man isoliert also eher Organismen, die einen solchen Stress überstehen. **Vorsichtige Selektion von Chlorbenzol-Verwertern ist der richtige Weg, der auch eine Vielzahl von Organismen isolieren lässt** (Hinweis auf Box „Substratgabe bei lipophilen, flüssigen Substraten“).

11.3.5 Impfmaterial für eine Anreicherungskultur

Geeignetes Material für die Anreicherung vieler Mikroorganismen liefern Boden, Gewässer und Schlamm. Die Anreicherungskultur erlaubt, Mikroorganismen mit einer Vielzahl an Kombination von Nährstoffbedürfnissen anzureichern. Voraussetzung ist, dass der gewünschte Typ überhaupt in der Natur vorkommt und der gewünschte Organismentyp im Inokulum enthalten ist. Dies ist trotz der ubiquitären Verbreitung der meisten Mikroorganismen nicht immer selbstverständlich. Mikroorganismen mit bestimmten Leistungen wird man also nur aus bestimmten Habitaten isolieren können. Man sollte deshalb das Impfmaterial für eine Anreicherungskultur von einem Standort entnehmen, der dem gewünschten Organismus geeignete Wachstumsbedingungen bietet und an dem bereits eine natürliche Anreicherung stattgefunden hat:
- Kohlenmonoxid-verwertende Mikroorganismen aus Gaswerksabwässern,
- Kohlenwasserstoff-Oxidierer aus Erdölfeldern,
- Cellulose-verwertende Gärer aus Kuhpansen.

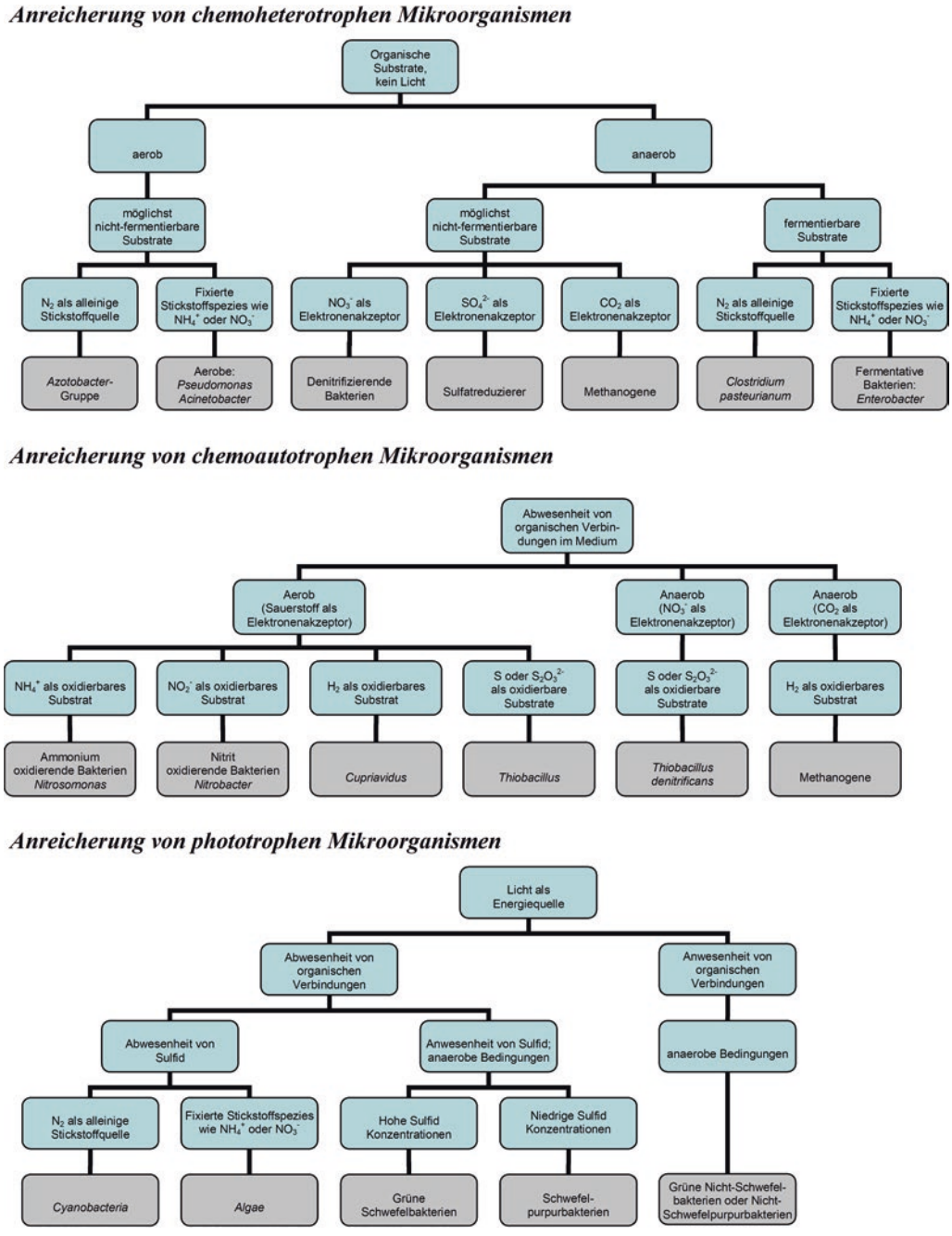


Abb. 11.14 Anreicherungen: Für eine Auswahl repräsentativer Stoffwechseltypen sind in den Fließschemata wesentliche, selektive Wachstumsbedingungen angegeben. Fermentierbare Substrate: generell Glucose; für *Azotobacter:* Alkohole, Butyrat, Benzoat; für Denitrifizierer: Acetat, Butyrat, Ethanol; für Sulfatreduzierer: Lactat, Malat Bevorzugte nicht-fermentierbare Substrate für Aerobier: Lactat, Benzoat, Mannit Bevorzugte nicht-fermentierbare Substrate für Anaerobier: organische Säuren: Acetat, Butyrat; für Methanogene: Acetat, Formiat; Nicht leicht-fermentierbare Substrate für Nicht-Schwefelpurpurbakterien: Acetat, Butyrat oder Malat

„Standard laboratory conditions" sind für unlösliche und flüchtige Substrate nicht geeignet: Beispiele, die zeigen, worauf man im Zusammenhang mit der Anreicherung bei der Substratzugabe achten muss

Es gibt einige sehr gute Gründe, warum physiko-chemische Informationen von Verbindungen sehr notwendig sind, wenn man Organismen anreichern möchte. Die Verbindungen sollten **richtig** in Anreicherungsmedien eingesetzt werden. Ein Beispiel: Es ist oft gute Praxis, wasser-unlösliche Festsubstanzen (wie Biphenyl) in Konzentrationen weit über ihrer Löslichkeit in Anreicherungsmedien zuzusetzen. Die Verbindung wird sich kontinuierlich lösen soweit sie in der Flüssigphase abgebaut wird und damit selten toxisch für Bakterien sein.

Im Gegensatz dazu müssen Verbindungen, die bei Raumtemperatur Flüssigkeiten und wasser-unlöslich sind (wie Benzol, Toluol), vorsichtig den Medien zugesetzt werden. Das beruht darauf, dass sich die Bildung von zwei Flüssigkeitsphasen in Anreicherungsmedien als sehr toxisch für viele Bakterien herausgestellt hat, indem die Flüssigkeit die Lipide der Zellwand extrahiert.

Diesem Problem kann man einfach begegnen, indem flüchtige, wasser-unlösliche Verbindungen als Dampf appliziert werden und zwar als Flüssigkeit in einem Gefäß über dem Wachstumsmedium in dem Anreicherungsgefäß (◘ Abb. 11.15). Diese Vorgehensweise versorgt die Bakterien mit einer kontinuierlichen Gabe des Substrates, ohne dass ein Zwei-Phasen-System entsteht, welches sie abtöten würde.

In diesem Zusammenhang wurden Bakterien, die mit Aromaten wie Benzol und Toluol wachsen, als in der Natur selten vorkommend betrachtet, da Toluol direkt den Anreicherungsmedien zugesetzt worden war. Aber dieser Befund war ein Artefakt, der aufgrund der Toxizität resultierte.

Die Einführung der „vapor bulb technique" führte zur Isolierung von vielen Bakterien, die mit Toluol/Benzol und verwandten Aromaten wachsen (◘ Tab. 11.1).

11

Testen Sie Ihr Wissen

Nennen Sie summarische Methoden zur Charakterisierung von mikrobiellen Lebensgemeinschaften.

Wozu verwendet man Fluoreszenz-farbstoffe?

Vergleichen Sie eine Auszählung nach Koloniebildenden Einheiten mit der Nutzung einer Zählkammer.

Was versteht man unter der MPN-Methode?

Womit lässt sich die O_2-Konzentration bestimmen?

Beschreiben Sie die Aktivitätsbestimmung einer Esterase.

Warum ist Fluorescein erst nach NaOH-Zugabe grün? Zeichnen Sie die relevanten Strukturen.

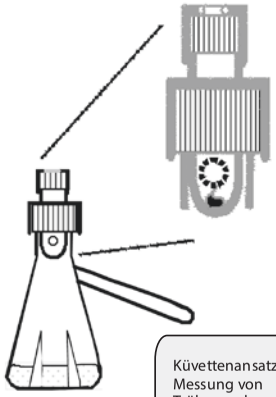
Was hat der Leuchtkäfer mit der ATP-Quantifizierung zu tun?

Bei der Bakterienidentifizierung bedient man sich der „Bunten Reihe". Bitte erläutern Sie warum „bunt"?

Worauf beruht der Nachweis von mikrobieller Aktivität anhand der Isotopenfraktionierung?

Die Zugabe von Benzol oder Toluol direkt als Flüssigkeit ins Medium führt zu **keinem Wachstum**

Wird Benzol in einen **Paraffinblock** gegeben, so erlaubt die sehr langsame Diffusion **Wachstum**: die Technik nach **David T. Gibson**



Küvettenansatz: Messung von Trübung ohne Öffnen des Gefäßes

Die ***vapor bulb technique***: Microliter-Mengen des flüssigen Substrates (wie Chlorbenzol) werden mit einer Spritze über ein Septum in den oberen Ansatz gegeben. Verdampfen und Lösen aus der Gasphase führt zu sehr geringen Konzentrationen im Medium (meist nahe Null). Stetiges Nachlösen erlaubt Wachstum.

Auch bei der Technik der Zugabe des Substrates über die Dampfphase kann es negative Einflüsse auf das Wachstum bei zu hoher Gabe geben. Selbst für Organismen, die Chlorbenzol mögen, bewirkt jede neue Gabe in den oberen Ansatz eine kurze Wachstumsstörung.

Selbst die **Lochgröße im oberen Ansatz** kann einen Einfluss auf Wachstum haben: Gefäße, die sich für Chlorbenzol-Anzucht eignen, erlauben kein Wachstum von Organismen mit Tetralin. Sehr viel geringere Lochgröße im Ansatz erlaubt hingegen Wachstum mit Tetralin. Chlorbenzol und Tetralin unterscheiden sich deutlich bezüglich log Octanol-Wasser-Koeffizienten. Tetralin ist membranlösender, seine Konzentration im Medium muss also sehr niedrig sein.

Anreicherung ohne Direktkontakt: Das Medium mit dem Inokulum ohne Substrat befindet sich im abgeschlossenen Greiner-Röhrchen (mit Polypropylen-Wand) in einem Wheaton-Gefäß auf einem Schüttler. Das Flüssigsubstrat verdampft und diffundiert durch die Polypropylen-Wand und versorgt die Organismen mit Substrat, dessen Konzentration im Wachstumsmedium immer nahe Null ist.
(Alles geht sehr langsam!!!)
Wheaton-Gefäß 500 mL, Greiner-Röhrchen 50 mL, Mineralmedium 10-15 mL plus Inokulum, flüssiges Substrat 20 microliter.

Abb. 11.15 Wachstumserfolg in Abhängigkeit von der Art der Zugabe eines Substrates (Beispiel: Benzol/Toluol/Chlorbenzol/Tetralin)

Tab. 11.1 Physiko-chemische Daten zu drei als Wachstumssubstrate untersuchten Aromaten

	Benzol	**Chlorbenzol**	**Tetralin**
Kurzbeschreibung	Farblose Flüssigkeit mit charakteristischem Geruch	Farblose Flüssigkeit mit benzolartigem Geruch	Farblose Flüssigkeit mit naphthalinartigem Geruch
Aggregatzustand	Flüssig	Flüssig	Flüssig
Dichte (g/cm^3)	0,88	1,11	0,97
Schmelzpunkt (°C)	5,5	−45,2	−35,8
Siedepunkt (°C)	80,1	132	208
Dampfdruck (hPa bei 20 °C)	100	11,7	0,4
Löslichkeit in Wasser (mg/l bzw. mM)	Schlecht: 1770 bzw. 22,7	Sehr schlecht: 490 bzw. 4,35	Sehr schlecht: 45 bzw. 0,34
Log Octanol-Wasser-Koeffizient	2,13	2,84	3,49
Henry-Konstante (atm m^3/mol)	$5{,}53 \cdot 10^{-3}$	$3{,}11 \cdot 10^{-3}$	$1{,}36 \cdot 10^{-3}$

11

Literatur

Amann, R. I., Ludwig W., Schleifer, K. H. 1995. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. Microbiol. Rev. 59:143–169.

Conn, H. J. 1918. The microscopic study of bacteria and fungi in soil. New York Agric. Experiment Station-Technical Bull. 64:3–20.

Schloss, P. D., Handelsman, J. 2005. Metagenomics for studying unculturable microorganisms: cutting the Gordian knot. Genome Biol. 6:229.

Schreiber, F., Littmann, S., Lavik, G., Escrig, S., Meibom, A., Kuypers, M., Ackermann, M. 2016. Phenotypic heterogeneity driven by nutrient limitation promotes growth in fluctuating environments. Nature Microbiology ► https://doi.org/10.1038/nmicrobiol.2016.55.

Zumstein, M. T., Schintlmeister, A., Nelson, T. F., Baumgartner, R., Woebken, D., Wagner, M., Kohler, H.-P. E., McNeill, K., Sander, M. 2018. Biodegradation of synthetic polymers in soils: Tracking carbon into CO_2 and microbial biomass. Sci. Adv. 4, eaas9024.

Weiterführende Literatur

Alef, K. 1991. Methodenhandbuch Bodenmikrobiologie: Aktivitäten, Biomasse, Differenzierung. ecomed Verlagsgesellschaft, Landsberg/Lech.

Akkermans, A. D. L., van Elsas, J. D., de Bruijn, F. J. 1995. Molecular Microbial Ecology Manual. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, London.

Atlas, R. M. 1995. Handbook of Media for Environmental Microbiology. CRC Press, Boca Raton.

DeWeerd, K. A., Mandelco, L., Tanner, R. S., Woese, C. R., Suflita, J. M. 1990. *Desulfomonile tiedjei* gen. nov. and sp. nov., a novel anaerobic, dehalogenating, sulfate-reducing bacterium. Arch. Microbiol. 154:23–30.

Gerhardt, P., Murray, R. G. E., Wood, W. A., Krieg, N. R. 1994. Methods for General and Molecular Bacteriology. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

Hoefs, J. 2004. Stable Isotope Geochemistry. 5. Aufl. Springer, Berlin.

Hurst, C. J., Crawford, R. L., Knudsen, G. R., McInerney, M. J., Stetzenbach, L. D. 2002. Manual of Environmental Microbiology. 2. ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

Overmann, J. 2013. Principles of enrichment, isolation, cultivation, and preservation of Prokaryotes. *In:* The Prokaryotes – Prokaryotic Biology and Symbiotic Associations, E. Rosenberg et al. (eds.), ► https://doi.org/10.1007/978-3-642-30194-0_7, # Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Kap. 7, pp. 149–207.

Rappé, M. S., Connon, S. A., Vergin, K. L., Giovannoni, S. J. 2002. Cultivation of the ubiquitous SAR11 marine bacterioplankton clade. Nature 418:630–633.

Schlegel, H. G., Kröger, E. 1965. Anreicherungskultur und Mutantenauslese. Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionskrankh. Hygiene, I. Abt., Supplement 1, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.

Tanner, R. S., Wolfe, R. S. 1988. Nutritional requirements of *Methanomicrobium mobile*. Appl. Environ. Microbiol. 54:625–628.

Mikrobielle Lebensgemeinschaften. Strukturelle und funktionelle Analysen mit molekularbiologischer Vorgehensweise

12.1 Grundlegende molekulargenetische Methoden zur Klassifizierung und Identifizierung von Reinkulturen – 445

12.2 Molekulargenetische Methoden zur Charakterisierung von Lebensgemeinschaften – 456

12.3 Metagenomik – 470

12.3.1 Gemeinschaft eines sauren Minenwassers – 470

12.3.2 Gemeinschaft der Sargasso See – 473

12.3.3 Die Global Ocean Sampling Expedition – 475

12.3.4 Sequenzdaten und Funktionalität – eine kritische Sicht – 480

Literatur – 481

© Springer-Verlag GmbH Deutschland, ein Teil von Springer Nature 2020
W. Reineke und M. Schlömann, *Umweltmikrobiologie*, https://doi.org/10.1007/978-3-662-59655-5_12

Die **klassische Vorgehensweise** setzt auf Anreicherungstechniken. Die Erkundung der abiotischen und biotischen Faktoren eines Habitats in Verbindung mit dem dort vorhandenen Fluss von Nährstoffen wird Rückschlüsse darauf zulassen, welche Stoffwechseltypen in dem jeweiligen Habitat zu erwarten sind. Mit den erhaltenden Rahmenbedingungen sollte dann eine selektive Anreicherung der im Habitat zu fordernden Mikroorganismen möglich sein. Neuere Strategien, die anschließend besprochen werden, verzichten auf die Anreicherung der Bakterien selbst.

Man weiß heute, dass die große Mehrzahl der in der Natur vorkommenden Mikroorganismen nicht ohne weiteres kultivierbar ist. Zahlenangaben für den **Anteil kultivierbarer Mikroorganismen** schwanken für die unterschiedlichen Standorte (◘ Tab. 12.1). Untersuchungen, die von einer Kultivierung abhängen, werden in der Regel nur einen kleinen Teil der vorhandenen Mikroorganismen erfassen und deshalb, zumindest, wenn sie allein verwendet werden, nur Aussagen mit eingeschränkter Gültigkeit für die Beschreibung der Umwelt liefern.

Man weiß heute auch, dass nicht nur die Zahl, sondern auch die **Diversität** der Mikroorganismen an natürlichen Standorten sehr viel größer ist, als in den kultivierungsabhängigen Methoden zum Ausdruck kommt. So gehören die meisten der normalerweise verwendeten Bakterien zu einer relativ beschränkten Zahl von Phyla, während von mehreren mutmaßlichen Phyla noch keine kultivierten Vertreter bekannt sind.

Molekulargenetische Techniken sind selbst bei der Identifizierung und Klassifizierung von Reinkulturen aussagekräftiger als die traditionellen, in ▶ Abschn. 11.1.2 erwähnten Methoden (Bestimmung von Morphologie, Färbeverhalten, Stoffwechseleigenschaften und andere). Diese reichen zwar oft für eine Zuordnung einzelner Stämme zu bekannten Arten aus, und sie erlaubten auch eine gewisse **Klassifizierung** der bekannten Mikroorganismen. Man war sich aber auch schon lange klar darüber, dass die auf traditionellen Klassifizierungsmethoden beruhende Einteilung der Mikroorganismen kein **phylogenetisches System** darstellt, also keine Einteilung, die die Evolution widerspiegelt, bei der die einzelnen taxonomischen Gruppen also Abstammungseinheiten in der Natur entsprechen. Mittlerweile stützen sich Identifizierung und Klassifizierung weitgehend auf Sequenzanalysen von ribosomaler RNA (rRNA) beziehungsweise der diese kodierenden rDNA sowie von Genen universell verbreiteter Enzyme, da dies zu phylogenetisch korrekteren taxonomischen Gruppierungen führt als traditionelle Methoden und da auch sehr entfernte Verwandtschaften analysierbar sind. Im Folgenden sollen deshalb die Prinzipien hinter den wichtigsten molekulargenetischen Methoden zur Identifizierung und Klassifizierung von isolierten Bakterien und zur Charakterisierung mikrobieller Lebensgemeinschaften kurz dargestellt werden.

12

◘ **Tab. 12.1** Anteile kultivierbarer Bakterien in verschiedenen Lebensräumen

Lebensraum	Kultivierbarkeit (%)
Meerwasser	0,001–0,1
Süßwasser	0,25
Mesotropher See	0,1–1
Unverschmutztes Wasser aus Mündungsbereichen	0,1–3
Belebtschlamm	1–15
Sedimente	0,25
Boden	0,3

Die Zahlen wurden von Amann et al. (1995) zusammengestellt. Die Kultivierbarkeit wurde als kultivierbare Bakterien (koloniebildende Einheiten) bezogen auf die Gesamtzellzahl bestimmt

12.1 Grundlegende molekulargenetische Methoden zur Klassifizierung und Identifizierung von Reinkulturen

Die Grundannahme bei der Identifizierung und Klassifizierung von Organismen auf der Basis der Sequenzen von Makromolekülen ist, dass einander entsprechende Moleküle unterschiedlicher Organismen homolog sind, das heißt, dass sie in der Evolution aus einem Ursprungsmolekül im gemeinsamen Vorfahren der untersuchten Organismen hervorgegangen sind. Im Zeitverlauf akkumulierten sich durch auftretende Mutationen die Sequenzunterschiede. Das Ausmaß an Sequenzähnlichkeit zeigt also, wie nah verwandt die jeweiligen Organismen miteinander sind.

In den 80er Jahren setzten sich die Analysen von ribosomaler RNA und insbesondere der 16S-rRNA beziehungsweise der diese kodierenden Gene als wichtigste Methode zur Klassifizierung und damit auch Identifizierung von Mikroorganismen durch. Mittlerweile gibt es in der Datenbank des Ribosomal Database Project hunderttausende Eintragungen für die 16S-rRNA. Die Sequenzanalysen haben die Taxonomie der Mikroorganismen revolutioniert und unsere Vorstellungen über die Evolution der Lebewesen nachhaltig beeinflusst.

Hintergrund: Ribosomale RNA und DNA

Die Ribosomen sind in den Zellen aller Lebewesen die für die Proteinsynthese zuständigen Komplexe, wobei die sogenannten 80S-Ribosomen eukaryotischer Organismen etwas größer sind als die 70S-Ribosomen von Prokaryoten (*Eubacteria* und *Archaea*). Alle Ribosomen verfügen jeweils über eine große und eine kleine Untereinheit und bestehen aus unterschiedlichen Proteinen und ribosomalen Ribonukleinsäuren (rRNAs). Bakterien verfügen in der großen Untereinheit der Ribosomen über zwei rRNAs, die 5S-rRNA und die 23S-rRNA, sowie in der kleinen Untereinheit über die 16S-rRNA. Letztere ist normalerweise an der Erkennung des Startpunktes eines Gens auf der mRNA beteiligt und wird für taxonomische und ökologische Untersuchungen besonders häufig eingesetzt (◘ Tab. 12.2). Die Bedeutung der rRNAs für die Taxonomie beruht unter anderem darauf, dass diese Moleküle universell verbreitet sind und in allen Organismen die gleiche Funktion wahrnehmen. Wichtig ist, dass die rRNAs ein Muster von extrem konservierten, weniger konservierten und eher variablen Regionen aufweisen. Erstere liefern beim Sequenzvergleich die Referenzpunkte, welche Bereiche der immer etwas unterschiedlich langen Moleküle einander entsprechen. Die variablen Regionen dagegen liefern die Unterschiede zur Differenzierung zum Beispiel zwischen unterschiedlichen Arten oder Gattungen.

Nicht unwichtig ist auch der Aspekt, dass die 16S- und insbesondere die 23S-rRNA eine hinreichende Länge aufweisen, sodass viele voneinander unabhängige Mutationsereignisse analysiert werden können. Schließlich ist zu erwähnen, dass die Gene der rRNAs (die rDNA) generell keinem horizontalen Gentransfer in andere Mikroorganismen unterliegen (◘ Abb. 12.1).

Tab. 12.2 Aufbau der Ribosomen und ihre Bestandteile im Vergleich bei Prokaryoten und Eukaryoten (Nach Nelson & Cox, 2005)

	Bakterium	Eukaryot (Cytoplasma)
Größe der Ribosomen	70S	80S
Größe der großen Untereinheit	50S	60S
Zahl der Proteine	36	≈ 49
rRNAs	5S (≈ 120 Nucleotide)	5S (≈ 120 Nucleotide)
	23S (≈ 3200 Nucleotide)	28S (≈ 4700 Nucleotide)
		5,8S (≈ 160 Nucleotide)
Größe der kleinen Untereinheit	30S	40S
Zahl der Proteine	21	≈ 33
rRNAs	16S (≈ 1540 Nucleotide)	18S (≈ 1900 Nucleotide)

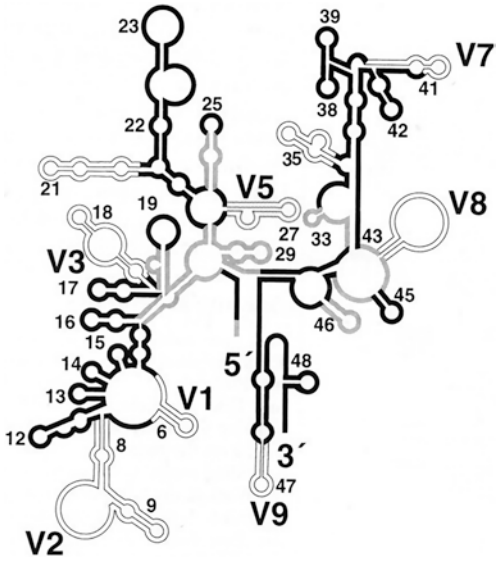


Abb. 12.1 Zweidimensionale Darstellung der 16S-rRNA mit Angabe konservierter Sequenzbereiche in schwarz, weniger konservierter Bereiche in grau und variabler Bereiche mit Doppellinien (veränderte Abbildung von E. C. Böttger mit Zustimmung des Autors)

House-keeping genes
Alternative Oligonucleotidsonden mit einer Auflösung auf Speziesebene beinhalten verschiedene *house-keeping genes*. Spezielle Sequenzdatenbanken enthalten aber beträchtlich weniger Einträge für diese alternativen Marker als die 16S-rRNA Datenbanken (Tab. 12.3).

Hat man einen neu isolierten Bakterienstamm und möchte ihn mittels 16S-rRNA-Analyse identifizieren, so muss man zunächst die entsprechende Nukleinsäure in hinreichender Menge isolieren. Während man früher meist die ribosomale RNA selbst isoliert und analysiert hat, vervielfältigt man heute meist das Gen, die 16S-rDNA mit Hilfe der **Polymerase-Kettenreaktion (PCR,** *polymerase chain reaction*). Hierbei wird ein bestimmtes Stück der DNA des untersuchten Stammes durch Verwendung von Bausteinen der DNA (Desoxynucleosidtriphosphaten) sowie einer

Tab. 12.3 *House-keeping genes*[a]

Gen	Protein
rpoB	DNA-gerichtete RNA Polymerase beta Kette
gyrA gyrB	Gyrase
recA	RecA Proteinfamilie, die die homologe Recombination durchführen
tuf	Elongationsfaktor Tu, EF TU
groEL	Chaperone
atpD	F_1F_0ATPase, Untereinheit D
ompA	*Outer Membrane Protein*
gapA	γ-Aminobutyrat-Permease
pgi	Phosphoglucose-Isomerase

[a]*House-keeping genes* sind Gene, die generell immer exprimiert werden und deshalb in den normalen Zellmetabolismus einbezogen sind. Sie sind essentiell für metabolische Prozesse und Substanzen

hitzestabilen DNA-Polymerase in ca. 20 bis 30 Zyklen immer wieder durch Kopieren verdoppelt und so exponentiell vervielfältigt. Welches Stück kopiert wird, hängt von zwei sogenannten Primern ab. Das sind etwa 20 bis 25 Nucleotide lange Oligonucleotide, deren Basensequenz so ausgewählt wurde, dass sie jeder an einem anderen Strang vorn und hinten im zu vervielfältigenden Bereich, also zum Beispiel dem Gen der 16S-rRNA, binden (Abb. 12.2). Man versucht, die Bedingungen (zum Beispiel im Hinblick auf die Temperatur) so stringent zu wählen, dass eine Bindung an andere Regionen des Genoms nicht möglich ist. Da jeder Nukleinsäurestrang eine festgelegte Richtung hat und immer nur an seinem 3′-Ende verlängert werden kann, werden die Desoxynucleotide durch die DNA-Polymerase an das 3′-Ende der Primer angehängt. Die Zyklen werden realisiert, indem die Reaktionsgefäße immer wieder aufgeheizt, abgekühlt und bei mittlerer Temperatur inkubiert werden. Das Aufheizen auf ca. 95 °C führt zur Denaturierung der DNA-Stränge, also zur Trennung der beiden Stränge der Doppelhelix. Die Abkühlung auf (je nach Primer) ca. 50–60 °C führt dazu, dass sich wieder Wasserstoffbrücken-Bindungen zwischen komplementären Strängen bilden können, wobei es vorwiegend zur Bindung der Primer an die zu ihnen komplementären Regionen auf der Matrizen-DNA kommt. Die Erwärmung auf ca. 70 °C steigert die Aktivität der zur PCR verwendeten DNA-Polymerasen und führt zur Elongation, also zum Anhängen von Nucleotiden an die Primer.

Während die Nucleotide, die DNA-Polymerase und der Puffer bei unterschiedlichen PCR-Reaktionen oft gleich sind und auch als fertige Mischungen vertrieben werden, sind die Primer entscheidend dafür, welches Stück der Matrizen-DNA vervielfältigt wird. Das **Primer-Design** hat also eine große Bedeutung. Im Fall der 16S-rDNA sind zum Beispiel extrem konservierte Regionen dieser Gene verwendet worden, um sogenannte „universelle" Primer zu entwerfen, die bei fast allen Organismen an derselben Stelle der rDNA beziehungsweise rRNA binden. Andere Primer sind spezifisch für kleinere oder größere taxonomische Gruppen. Wenn man einen Vorwärts-Primer für den Anfang des 16S-rRNA-Gens und einen Rückwärts-Primer für den hinteren Teil dieses Gens wählt, so kann man fast die vollständige 16S-rDNA (etwa 1500 Basenpaare) vervielfältigen. Zur Kontrolle der Reaktion kann anhand einer Agarose-Elektrophorese die Größe des PCR-Produktes überprüft werden.

Ein PCR-Produkt kann zwar in vielen Fällen direkt einer Sequenzanalyse unterzogen werden. Oft findet aber zuvor eine **Klonierung** in einen Vektor statt. Hierzu wird der entsprechende Plasmidvektor mit einem Restriktionsenzym geschnitten und das PCR-Produkt wird durch eine DNA-Ligase mit der Vektor-DNA verbunden. Anschließend wird das rekombinante Plasmid meist in einen *E. coli*-Stamm transformiert, bei dessen Teilung es leicht mit vervielfältigt und aus dem es leicht isoliert werden kann.

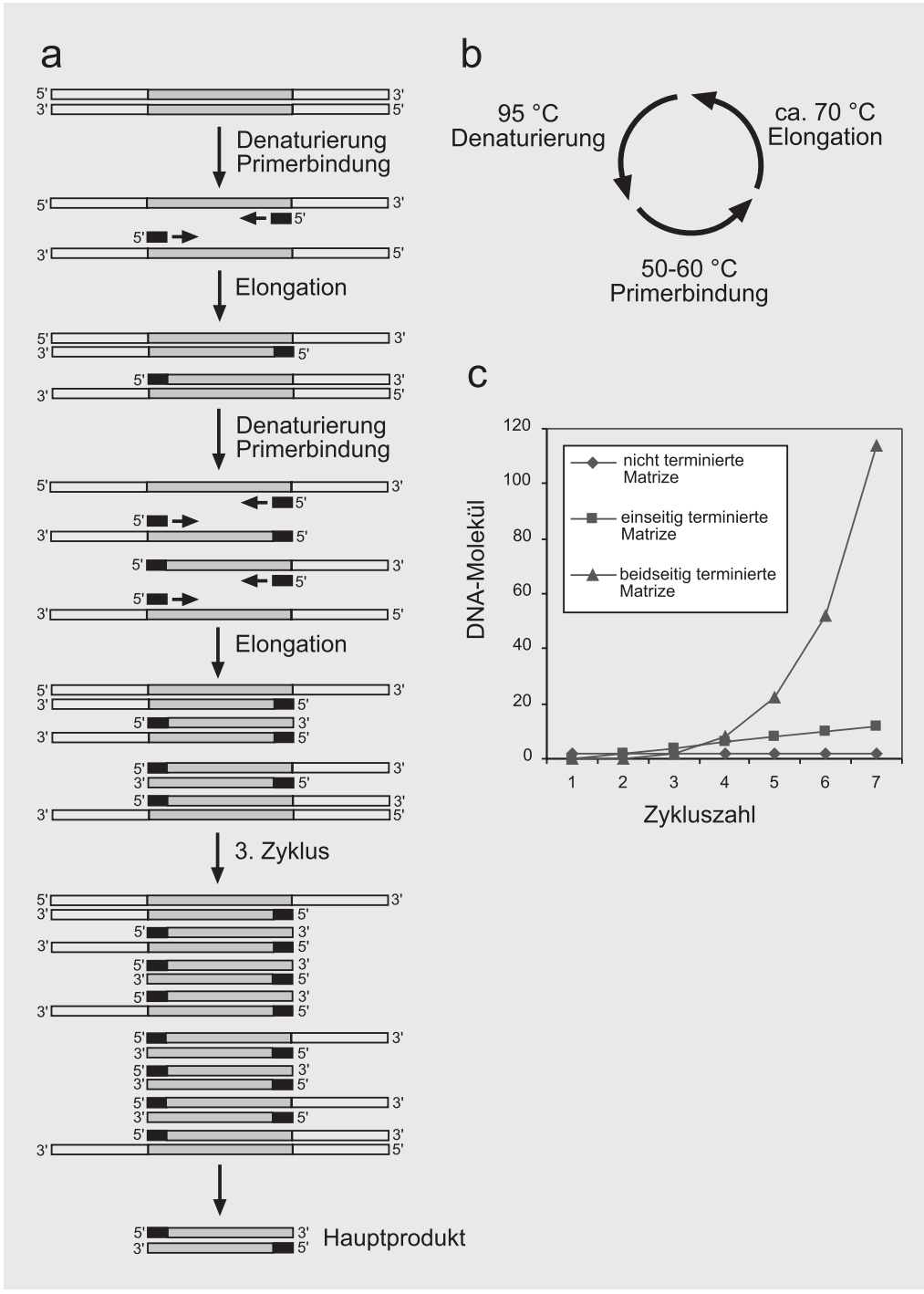


Abb. 12.2 Polymerase-Kettenreaktion (PCR). **a** Darstellung der Vervielfältigung eines DNA-Stückes. Man beachte, dass die direkt von der Matrizen-DNA kopierten Nucleotide zwar keine genau festgelegte Länge haben, dass die große Mehrzahl der Moleküle des PCR-Produktes letztlich dennoch eine Länge hat, die durch die Bindungsstellen der beiden Primer genau festgelegt ist. **b** Temperaturzyklus. **c** Wachstumskurven für die beiden unterschiedlichen PCR-Produkte

Sequenzierung nach Sanger

Die heute üblichen Formen der **DNA-Sequenzanalyse** verlängern DNA-Primer durch Anhängen von Desoxynucleotiden durch eine DNA-Polymerase. Insofern erinnert eine **Sequenzierungsreaktion** an eine PCR-Reaktion. Die klassische Sequenzierung nach Sanger geht davon aus, dass im Vorfeld eine Vervielfältigung der DNA durch eine PCR oder durch Klonierung und DNA-Isolation stattgefunden hat.

Da bei der Sequenzierung nur ein Primer verwendet wird, ist folglich im Unterschied zur PCR immer nur ein DNA-Strang Matrize, und es kommt nur zu einer zeitlich linearen, nicht zu einer exponentiellen Vervielfältigung. Entscheidend für die Sequenzierung nach Sanger ist, dass den Sequenzierungsreaktionen sogenannte Didesoxynucleotide zugegeben werden. Diesen fehlt an der 3′-Position des Zuckerbausteins eine OH-Gruppe (◘ Abb. 12.3). Wird ein solches Didesoxynucleotid im Verlauf der Sequenzierungsreaktion in ein wachsendes Oligonucleotid eingebaut, so kommt es an dieser Stelle zum Kettenabbruch, weil im folgenden Zyklus keine 3′-OH-Gruppe zur Verfügung steht, an die der nächste Baustein angehängt werden könnte.

Für jede Sequenzierung werden **vier Reaktionsansätze** aus zu sequenzierender DNA, DNA-Polymerase und allen vier Desoxynucleotiden inkubiert, wobei jedem Ansatz zusätzlich noch eines der vier Didesoxynucleotide zugesetzt wird. Die Didesoxynucleotide konkurrieren mit den normalen Desoxynucleotiden um den Einbau in die wachsende Kette und führen so mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit zum Kettenabbruch. In jedem der vier Reaktionsansätze entsteht also ein Gemisch aus Oligonucleotiden unterschiedlicher Länge, wobei die Oligonucleotide in einem Ansatz immer bei einem Didesoxyadenin enden, im zweiten Ansatz immer bei Didesoxycytosin, im dritten bei Didesoxyguanin und im vierten bei Didesoxythymin. Um die Gemische unterschiedlich langer Oligonucleotide auftrennen zu können, wird eine **Elektrophorese** durchgeführt, bei der die Oligonucleotide im elektrischen Feld unterschiedlich schnell durch ein Polyacrylamidgel oder eine Kapillare wandern. Kurze Oligonucleotide laufen schneller als lange. Da die neu synthetisierten Oligonucleotide alle an derselben Stelle mit demselben Primer beginnen und da die Trennungsbedingungen so gewählt werden, dass der Einbau schon eines zusätzlichen Nucleotides die Wanderungsstrecke bei der Elektrophorese verlangsamt, kann aus dem Vergleich der Längen der Oligonucleotide in den vier Ansätzen die Basensequenz der zu sequenzierenden DNA abgelesen werden (◘ Abb. 12.4). Um die entstehenden Oligonucleotide sichtbar zu machen, müssen sie markiert sein. Hierzu werden heute entweder mit **Fluoreszenzfarbstoff** versehene Primer verwendet oder aber Fluoreszenzfarbstoff-tragende Didesoxynucleotide, sodass dann die Sequenziergeräte die Emission der von einem Laser angeregten Fluoreszenzfarbstoffe registrieren können.

Pyrosequenzierung und die Sequenzierung mittels cyclisch reversibler Termination

Die eigentliche Ermittlung der DNA-Sequenz erfolgte jahrzehntelang fast ausschließlich durch verschiedene Varianten der Sequenzierung nach Sanger. Seit einigen Jahren treten jedoch immer mehr Hochdurchsatz-Sequenziertechniken in den Vordergrund, die weitgehend automatisiert ablaufen. Sie realisieren neuartige Sequenzierprinzipien, bei denen die jeweilige PCR-Variante eng an die eigentliche Sequenzierung gekoppelt ist. Von den neuartigen Techniken sollen hier die **Pyrosequenzierung** und die **Sequenzierung mittels cyclisch reversibler Termination** betrachtet werden. Diesen und der Sanger-Sequenzierung ist gemein, dass sie (wie die PCR) von einer durch eine DNA-Polymerase katalysierten Verlängerungsreaktion ausgehen. Benötigt werden also in allen Fällen auch ein Primer sowie die Bausteine der DNA, die Desoxynucleosidtriphosphate (dNTPs).

Die **Pyrosequenzierung** wurde zur Hochdurchsatz-DNA-Sequenzierung in Microtiterplatten mit sehr kleinen Vertiefungen entwickelt. Da diese

nicht mehr von Hand mit PCR-Produkten befüllt werden können, ist die Pyrosequenzierung sehr eng an spezielle Form der PCR, die sogenannte Emulsions-PCR gekoppelt. Hierbei binden DNA-Moleküle, die mit zwei Adaptersequenzen versehen wurden, an Kügelchen, die eine zu einer der Adaptersequenzen komplementäre DNA tragen. Diese DNA wirkt als Primer, durch die die Matrizen-DNA kopiert werden kann. Durch wiederholte Amplifikationsschritte wird erreicht, dass jedes Kügelchen nur mit ein und demselben PCR-Produkt belegt ist.

Die eigentliche Sequenzermittlung der an die Kügelchen gebundenen PCR-Produkte erfolgt bei der Pyrosequenzierung nicht erst nach Abschluss der DNA-Verlängerungsreaktion, sondern bereits während der Reaktionen, das heißt nach jedem einzelnen Verlängerungsschritt, durch die Registrierung von Lichtsignalen. Nacheinander werden der DNA-Polymerase beziehungsweise dem wachsenden Stamm die vier Desoxynucleosid-Triphosphate angeboten (genau genommen ist es im Fall von Adenin allerdings nicht dATP, sondern das Schwefelderivat dATPαS, Begründung siehe unten). Dann, wenn die angebotene Base passt, also komplementär zur entsprechenden Base in der Matrize ist, kommt es zur Reaktion. Bei dieser Reaktion wird Pyrophosphat (PP_i) freigesetzt (◘ Abb. 12.5). Das Pyrophosphat reagiert in Gegenwart der ATP-Sulfurylase mit Adenosinphosphosulfat (APS) (vergl. Sulfatreduktion ► Abschn. 8.1.1) zu Sulfat und ATP. Das ATP wiederum reagiert mit Luciferin in Gegenwart der Luciferase und Sauerstoff zu Oxyluciferin, CO_2, AMP und PP_i, wobei ein Lichtsignal entsteht (vergl. ◘ Abb. 11.7). Das Lichtsignal ist proportional zum ATP und damit dem in der DNA-Verlängerungsreaktion freigesetzten PP_i, sodass bei mehreren gleichen Basen hintereinander auch ein größeres Lichtsignal entsteht. Damit die Luciferase nicht schon das der DNA-Polymerase angebotene dATP zu einem Lichtsignal nutzt, wird das bereits erwähnte Derivat dATPαS verwendet. Nach jedem Reaktionszyklus müssen durch die Apyrase die nicht eingebauten Nucleotide beziehungsweise nicht umgesetztes ATP abgebaut werden, bevor der nächste Reaktionszyklus mit dem nächsten Nucleotid starten kann.

Die Pyrosequenzierung erreicht Leseweiten in ähnlicher Größenordnung wie die Sanger-Sequenzierung (~ 700 bp pro Lauf). Sie ist aufgrund der hochgradigen Automatisierung aber kostengünstiger und insofern gerade auch für Sequenzierung neuer Genome geeignet. Die Pyrosequenzierung wird zur Auslastung der Geräte in Zentren durchgeführt, seien es Sequenzierzentren von Forschungsinstituten der Universitäten oder Dienstleistungsfirmen.

Bei der **Sequenzierung mittels cyclisch reversibler Termination** gibt es eine entscheidende Besonderheit schon bezüglich der PCR. Diese läuft weder in Lösung, noch als Emulsion von Kügelchen, sondern auf der Oberfläche eines Glas-Plättchens ab, und zwar als sogenannte Brücken-PCR. Hierzu werden Vorwärts- und Rückwärtsprimer in hohen Dichten auf die Glas-Oberfläche aufgebracht. Hieran binden DNA-Moleküle, die von komplementären Sequenzen begrenzt werden. Nach Brückenbildung zum anderen Primer kann dieser die Verlängerungsreaktion primen. Durch die PCR entsteht um den ersten Anheftungspunkt des Matrizenfragmentes herum ein Fleck einheitlicher DNA-Sequenzen. Zur eigentlichen Sequenzierungsreaktion werden neben DNA-Polymerase und dNTPs in diesem Fall auch dNTPs eingesetzt, die an der 3′-Position der Desoxyribose einen abspaltbaren Terminator (eine 3′-O-Azidomethyl-Gruppe) tragen. Der Einbau dieser Moleküle führt also analog der Sanger-Sequenzierung zum Kettenabbruch. Allerdings kann die Gruppe vor dem nächsten Reaktionszyklus wieder abgespalten werden. Bei der Sequenzierung mittels cyclisch reversibler Termination tragen die vier unterschiedlichen Nucleotide jeweils einen anderen Fluoreszenzfarbstoff. Nach der Aufnahme eines Bildes zum jeweiligen Reaktionszyklus werden Farbstoff und Terminator abgespalten und ein neuer Reaktionszyklus wird gestartet.

Die Sequenzierung mittels cyclisch reversibler Termination ist noch einmal deutlich kostengünstiger pro sequenzierter Base als die Pyrosequenzierung. Allerdings sind die Leseweiten deutlich geringer (ca. 100 bp pro Lauf). Deshalb ist diese Form der Sequenzierung weniger zur Neusequenzierung von Genomen geeignet, wohl aber für Transkriptom-Analysen bereits sequenzierter Genome.

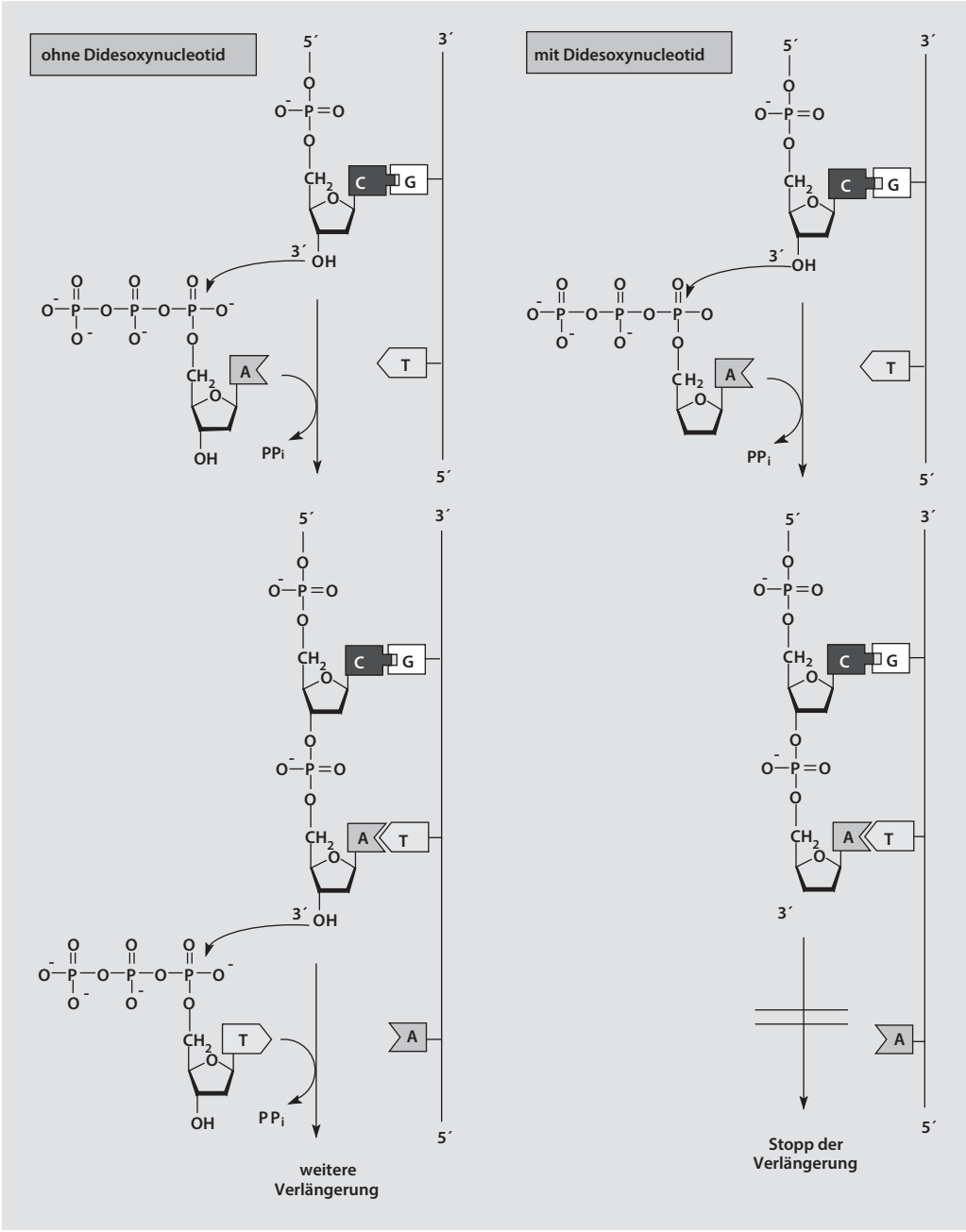


Abb. 12.3 Normale Verlängerung eines DNA-Stranges durch DNA-Polymerase und Kettenabbruch nach Einbau eines Didesoxynucleotides

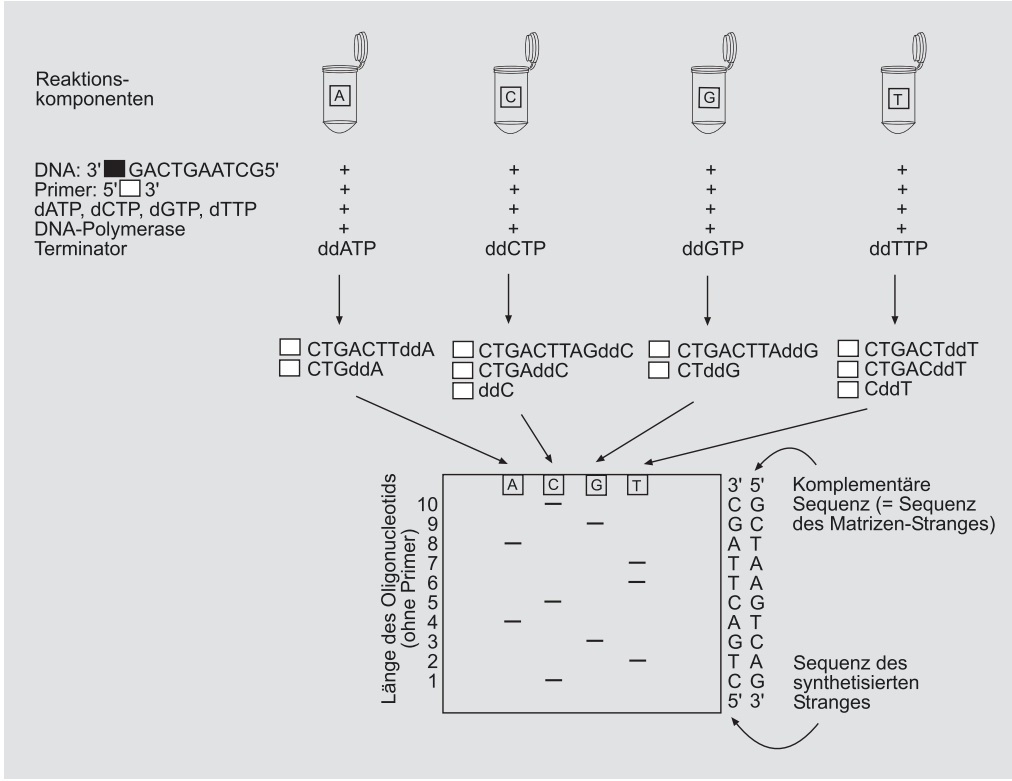


Abb. 12.4 Reaktionen zur DNA-Sequenzierung nach Sanger in Gegenwart unterschiedlicher Didesoxynucleotide und Gel-Elektrophorese zur Trennung der jeweils entstehenden Gemische unterschiedlich langer Oligonucleotide

Die Verfügbarkeit einer 16S-rRNA-Sequenz allein sagt noch nichts aus über die taxonomische Zuordnung eines angenommenen, neu isolierten Stammes. Vielmehr ergibt sich diese erst aus dem Vergleich mit den in den Datenbanken bereits verfügbaren Sequenzen identifizierter Stämme. Zu beachten ist, dass Datenbanken von Sequenzen, die direkt aus der Umwelt und nicht aus einem charakterisierten Organismus stammen, geradezu überschwemmt werden. In einem ersten Schritt kann man mit der neuen Sequenz einen ***on line*-Datenbank-Vergleich** durchführen und erhält eine Auflistung der ähnlichsten Datenbankeintragungen zusammen mit einer Darstellung der gefundenen Ähnlichkeiten in Form eines paarweisen Sequenz-Alignments, bei dem die beiden Sequenzen so aneinander gelegt sind, dass einander entsprechende Positionen übereinander stehen. Man weiß in vielen Fällen dann schon recht gut, um welche Gattung es sich beispielsweise bei dem neuen Isolat handeln könnte, insbesondere dann, wenn man in der erhaltenen Liste nach Sequenzen sogenannter Typstämme der Spezies sucht.

Aussagekräftigere Analysen resultieren jedoch aus der Einordnung der Sequenz in ein Dendrogramm, einen Stammbaum, bekannter Sequenzen. Um dieses erstellen zu können sowie um sonst mehrere Sequenzen sinnvoll miteinander vergleichen zu können, muss zunächst (durch einen Computer) ein **multiples Sequenz-Alignment** erstellt werden. In diesem Fall werden mehrere

a Prinzip

Schritt 1: Hybridisierung

einzelsträngige Matrizen-DNA + Primer $(dNMP)_n$

Schritt 2: DNA-Synthese durch DNA-Polymerase

Matrizen-DNA mit gebundenem Primer $(dNMP)_n$ + ein dNTP → verlängerter Primer $(dNMP)_{n+1}$ + **PP_i**

Schritt 3: Detektion von Pyrophosphat

a) durch ATP-Sulfurylase: PP_i + Adenosin-5´-phosphosulfat (APS) → **ATP** + Sulfat

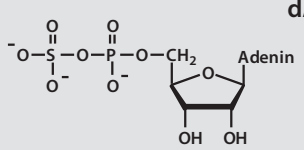
b) durch Luciferase: ATP + Luciferin + O_2 → Oxyluciferin + CO_2 + AMP + PP_i + **Lichtblitz**

Schritt 4: Abbau durch Apyrase

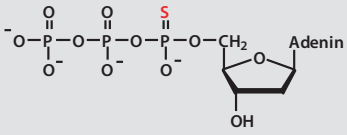
nicht eingebautes dNTP und nicht verbrauchtes ATP

Der Reaktionszyklus beginnt erneut bei Schritt 2 mit einem anderen Nucleotid (4 Zyklen pro gelesene Base).

APS



dATPαS (A*)



b Ergebnis

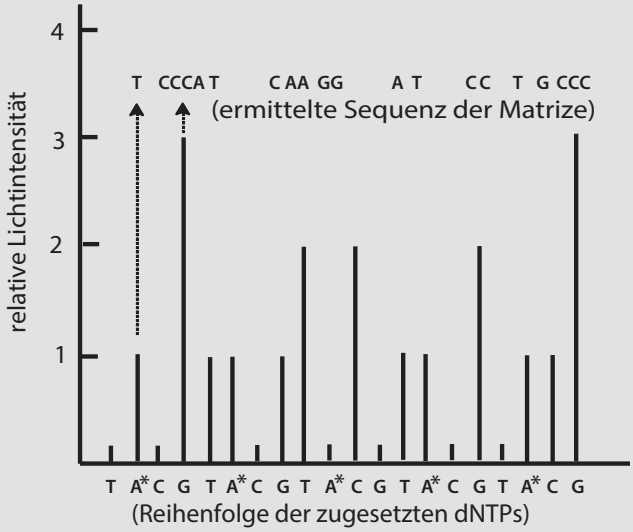


Abb. 12.5 Pyrosequenzierung. **a** Prinzip und **b** Ergebnis

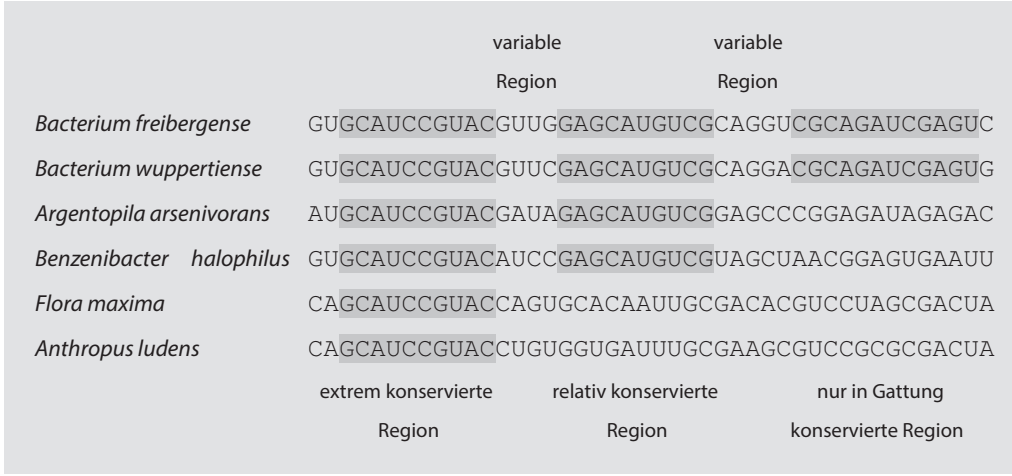


Abb. 12.6 Multiples Sequenz-Alignment der RNA hypothetischer Organismen aus verschiedenen Domänen der Organismen. Gekennzeichnet sind stark konservierte, weniger stark konservierte und eher variable Regionen

Sequenzen, ausgewählt zum Beispiel durch den erwähnten Datenbank-Vergleich, so aneinander gelegt, dass gleiche oder einander entsprechende Positionen übereinander stehen (Abb. 12.6). Dort, wo im Laufe der Evolution durch Insertionen oder Deletionen Längenunterschiede in homologen Molekülen aufgetreten sind, müssen die Programme in der einen oder anderen Sequenz Lücken einbauen. Rechnerisch optimiert wird beim Alignment die Zahl der in verschiedenen Sequenzen übereinstimmenden übereinander stehenden Positionen, wobei je nach Programm Strafpunkte für das Einführen oder die Verlängerung von Lücken oder für nicht übereinstimmende Positionen berücksichtigt werden. Aus den Alignments wird deutlich, welche Regionen auch bei entfernt verwandten Organismen gleich, also stark konserviert sind, welche Bereiche weniger konserviert sind, zum Beispiel innerhalb eines Phylums, und welche Bereiche noch variabler sind (Abb. 12.6).

Für die Umsetzung des Sequenzvergleichs im Alignment in ein **Dendrogramm,** also einen Stammbaum, gibt es verschiedene Prinzipien und rechnerische Vorgehensweisen. In vielen Fällen werden die im Alignment sichtbaren, paarweisen Unterschiede bezogen auf die Länge der verglichenen Region errechnet (Abb. 12.7a), mit einem Faktor zur Berücksichtigung von Mehrfachmutationen multipliziert und dann in eine Distanzmatrix (Abb. 12.7b) eingetragen. In einer solchen Distanzmatrix sind die paarweisen Ähnlichkeiten oder Unterschiede zwischen zwei Sequenzen, zum Beispiel den 16S-rRNA-Sequenzen zweier Organismen, auf jeweils eine Zahl, die evolutionäre Distanz, reduziert. Die Distanzwerte werden anschließend rechnerisch in das Verzweigungsmuster eines Dendrogrammes umgesetzt, wobei die Summe der Zweiglängen zwischen zwei Sequenzen im Dendrogramm ihrer evolutionären Distanz entspricht (Abb. 12.7c, d). Gerade die zuverlässigeren rechnerischen Methoden führen zu einem Dendrogramm, welches nur die Verzweigungsmuster und Abstände zwischen den verglichenen Sequenzen darstellt, ohne anzugeben, wo im Dendrogramm die gemeinsame Wurzel anzusetzen ist (Abb. 12.7d). (Das entspräche, so zu sagen, einem „Stammbaum" nur mit „Krone", wo nicht deutlich wird, wo der Stamm ansetzt.) Da die Lage der Wurzel aber dennoch von Interesse ist, werden Sequenzen in die Analyse einbezogen, sogenannte Außengruppen, von denen man weiß, dass sie zwar homolog

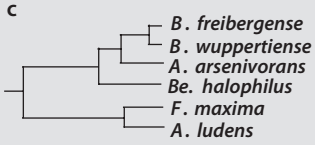
a

	B.f.	B.w.	A.a.	Be.h.	F.m.	A.l.
B.f.	0	3	9	12	23	21
B.w.	0,07	0	10	12	23	21
A.a.	0,20	0,23	0	16	23	24
Be.h.	0,27	0,27	0,36	0	23	22
F.m.	0,52	0,52	0,52	0,52	0	9
A.l.	0,48	0,48	0,55	0,50	0,20	0

b

	B.f.	B.w.	A.a.	Be.h.	F.m.
B.w.	0,07				
A.a.	0,24	0,27			
Be.h.	0,34	0,34	0,50		
F.m.	0,90	0,90	0,90	0,90	
A.l.	0,76	0,76	0,97	0,82	0,24

c



d

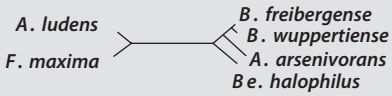


Abb. 12.7 **a** Matrix mit beobachteten Unterschieden zwischen den Sequenzen des Alignments in Abb. 12.6 (oben rechts) sowie mit den Anteilen der Unterschiede an der Gesamtlänge von 44 Positionen (unten links). **b** Matrix mit evolutionären Distanzen D, die aus der Häufigkeit f der Unterschiede in a) unter Berücksichtigung mehrfacher Mutationen an derselben Stelle, aber ohne weitere Wichtung berechnet wurden ($D = -\frac{3}{4} \ln(1 - \frac{4}{3} f)$). **c** Mögliche Darstellung der Sequenzähnlichkeiten als Dendrogramm mit Wurzel unter Annahme konstanter Mutationsraten. **d** Mögliche Darstellung der Sequenzähnlichkeiten als Dendrogramm ohne Wurzel

zu den betrachteten Sequenzen sind, dass sie aber nur relativ geringe Ähnlichkeit aufweisen und außerhalb der gerade betrachteten Gruppe verwandter Sequenzen liegen.

Die Identifizierung des angenommenen neu isolierten Stammes ergibt sich im Wesentlichen aus der Einordnung seiner rRNA-Sequenz in das Dendrogramm und insbesondere aus der taxonomischen Zugehörigkeit der Stämme, die im Dendrogramm als die nächst verwandten erscheinen. Die offizielle taxonomische Methode zur Definition von bakteriellen Arten, die paarweise Hybridisierung von DNA verschiedener Stämme, ist sehr viel aufwändiger und wird bei Routineuntersuchungen zur Stamm-Identifizierungen kaum eingesetzt.

Sind viele, möglicherweise auch sehr nah verwandte Stämme miteinander zu vergleichen, wird auch die komplette Sequenzanalyse all dieser Stämme mit Sanger-Sequenzierung aufwändig und teuer. In solchen Fällen kann man auf Fingerprint-Techniken zurückgreifen, um in einem ersten Schritt zu klären, welche Sequenzen vermutlich sehr ähnlich sind, von welchen also eventuell nur einzelne exemplarisch behandelt werden müssen, und welche einer genaueren Analyse bedürfen. Eine häufig angewendete Fingerprint-Methode ist **ARDRA** *(amplified ribosomal DNA restriction analysis)*. Die 16S-rDNA der Stämme wird auch in diesem Fall amplifiziert. Die PCR-Produkte werden dann aber nicht alle einer Sequenzanalyse unterzogen, sondern mit sogenannten Restriktionsenzymen geschnitten. Restriktionsenzyme erkennen ein bestimmtes Sequenzmuster und die allermeisten schneiden den DNA-Doppelstrang im Bereich der Erkennungssequenz auf. Für ARDRA sind Restriktionsenzyme relevant, deren Erkennungssequenz (meist 4 Basenpaare lang) statistisch im Abstand von wenigen hundert Basen auf der DNA vorkommt. Bei zwei sehr ähnlichen Sequenzen (aus zwei nah verwandten Stämmen) werden auch die Schnittstellen für Restriktionsenzyme auf dem 16S-rRNA-PCR-Produkt in der Regel gleich verteilt sein und deshalb bei einer Elektrophorese zu einem ähnlichen Bandenmuster führen (Abb. 12.8). Bei sehr verschiedenen Sequenzen werden auch die Schnittstellen unterschiedlich verteilt sein und entsprechend ein unterschiedliches Bandenmuster ergeben.

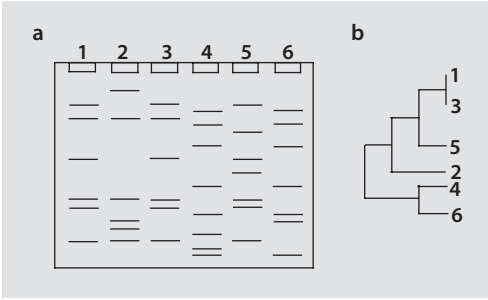


Abb. 12.8 Vergleich von sechs Bakterienstämmen durch ARDRA. **a** Bandenmuster auf einem Elektrophorese-Gel nach Schneiden amplifizierter ribosomaler DNA mit einem Restriktionsenzym. **b** Dendrogramm zur Veranschaulichung von Ähnlichkeiten des Bandenmusters der sechs Stämme

Auch die Ähnlichkeit von Fingerprint-Mustern lässt sich in Form von Dendrogrammen darstellen. Eine analoge Vorgehensweise wie beim ARDRA nutzt man bei der Analyse von Lebensgemeinschaften in Form der T-RFLP-Analyse.

12.2 Molekulargenetische Methoden zur Charakterisierung von Lebensgemeinschaften

Wie bereits erläutert gibt es zahlreiche Situationen, in denen man etwas über die Zusammensetzung von mikrobiellen Lebensgemeinschaften erfahren möchte, in denen man das Vorkommen bestimmter Arten quantifizieren möchte oder in denen man die Häufigkeit oder den Expressionszustand bestimmter Gene (etwa von Abbaugenen) analysieren möchte. Gewisse Aussagen über die Zusammensetzung mikrobieller Lebensgemeinschaften lassen sich gewinnen, indem man Reinkulturen isoliert und dann identifiziert. Bei einer solchen Herangehensweise beschränkt man sich jedoch auf die mit üblichen Methoden kultivierbaren Mikroorganismen, und das sind die allerwenigsten. Deshalb ist man bestrebt, mikrobielle Lebensgemeinschaften unabhängig von einer Stammkultivierung mit molekulargenetischen und zunehmend auch mit massenspektrometischen Methoden zu charakterisieren.

Eine wichtige Grundlage der meisten molekulargenetischen Methoden zur Charakterisierung von Lebensgemeinschaften, aber auch schon für die Durchführung einer herkömmlichen PCR, ist die **Spezifität der Bindung** zwischen einem der Probe zugesetzten synthetischen Oligonucleotid und der DNA oder RNA in der Probe. Diesen Vorgang der Zusammenlagerung von zwei Nukleinsäure-Strängen, die (im Unterschied zu den beiden Strängen der DNA-Doppelhelix) zunächst nicht zusammen gehörten, nennt man **Hybridisierung.** So wie die DNA-Doppelhelix durch je zwei Wasserstoffbrücken-Bindungen zwischen Adenin und Thymin sowie je drei Wasserstoffbrücken-Bindungen zwischen Guanin und Cytosin zusammen gehalten wird und so wie die identische Verdopplung der DNA durch die Spezifität dieser Bindungen gewährleistet ist, werden auch kürzere Nukleinsäuren je nach Bedingungen nur oder vornehmlich dort binden, wo möglichst viele dieser Wasserstoffbrücken ausgebildet werden können, wo also das Oligonucleotid möglichst optimal passt (Abb. 12.9). Im Prinzip gilt die gleiche Argumentation für die Wechselwirkung zwischen DNA und RNA, wobei die synthetischen Oligonucleotide in der Regel DNAs sind, die an RNAs in der Probe binden. Da in den RNAs Uracil anstelle von Thymin vorkommt, gibt es bei DNA-RNA-Hybriden auch Adenin-Uracil-Wechselwirkungen.

Zur Untersuchung mikrobieller Lebensgemeinschaften unter Anwendung molekulargenetischer Techniken wurden in den letzten Jahren zahlreiche sogenannte **molekularökologische Methoden** entwickelt. Einige wichtige sind, unter Erwähnung auch einzelner kultivierungsabhängiger Strategien, in Abb. 12.10 zusammengefasst. Grundsätzlich kann man bei den molekularen Methoden differenzieren zwischen solchen, bei denen zunächst Nukleinsäuren (DNA oder RNA) aus der Lebensgemeinschaft isoliert werden und solchen, bei denen man darauf verzichtet.

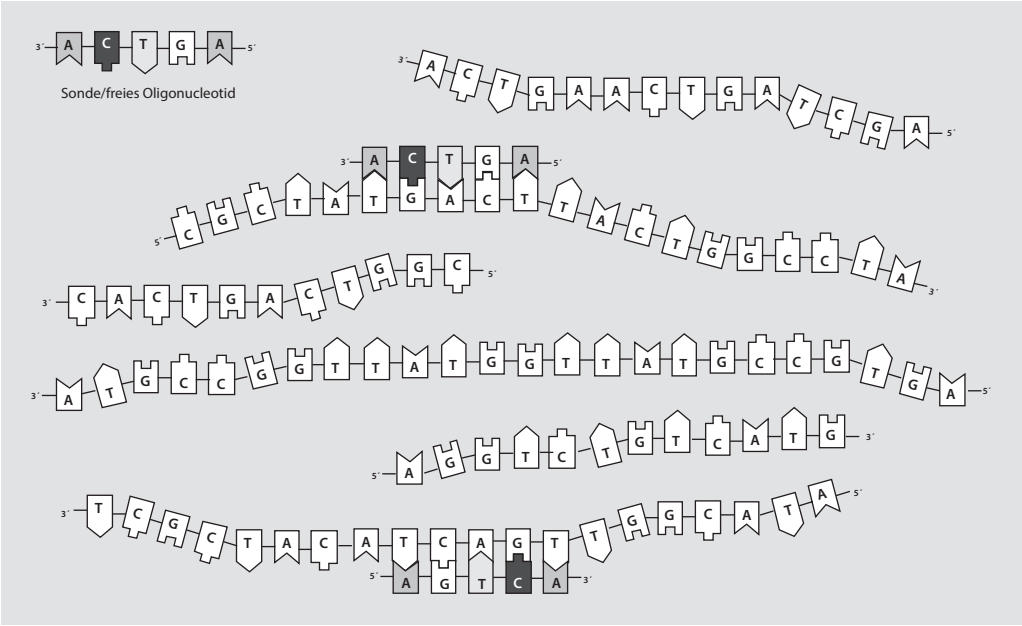


Abb. 12.9 Bindung eines Oligonucleotides an ein Gemisch einzelsträngiger DNA-Moleküle

Eine Methode, bei der man auf die Isolierung von Nukleinsäuren verzichtet, ist die **Fluoreszenz-*in situ*-Hybridisierung (FISH)**. Bei dieser Vorgehensweise werden Oligonucleotide eingesetzt, die mit Fluoreszenzfarbstoffen oder mit bestimmten Enzymen markiert sind, sogenannte Gensonden. Um das Eindringen der Gensonden in die Zellen zu ermöglichen, müssen diese fixiert und permeabilisiert sein. Bindet die Gensonde in hinreichendem Umfang in der Zelle wird der Fluoreszenzfarbstoff in der Zelle zurückgehalten und die Färbung der Zelle kann im Fluoreszenzmikroskop festgestellt werden (Abb. 12.11). Bei Enzym-markierten Sonden wird durch das Enzym (zum Beispiel Meerretich-Peroxidase) ein Farbstoff generiert und zwar viele Farbstoffmoleküle pro gebundener Sonde, wodurch es zur Sensitivitäterhöhung kommt. Man spricht hier von *catalyzed reporter deposition FISH* (CARD-FISH).

Verwendet wird die FISH-Technik in der mikrobiellen Ökologie vornehmlich im Zusammenhang mit Gensonden für die 16S-rRNA oder 23S-rRNA. In der Zelle binden die Oligonucleotide nicht nur an die Gene der ribosomalen RNAs, sondern vor allem an die RNAs selbst. Bakterienzellen enthalten zwar oft mehrere (1 bis 15) Gene für ribosomale RNA, die Zahl der Ribosomen pro Zelle ist aber ungleich höher, oft bis zu 100.000 oder 200.000. Durch die hohe Zahl von Ribosomen erhält die Methode eine für viele Fragestellungen ausreichende Sensitivität. Da aber die Zahl der Ribosomen in gewissem Maße mit der Wachstumsrate korreliert, werden langsam wachsende Zellen zum Teil nur schlecht erfasst, ein Problem, das durch CARD-FISH zum Teil behoben wird. Vom Prinzip her ist FISH-Technik für quantitative Fragestellungen geeignet, wobei die Ergebnisse außer durch die erwähnten Probleme mit unterschiedlichem Ribosomengehalt zum Beispiel auch durch unterschiedlich effiziente Permeabilisierung der Zellen oder unterschiedlich effiziente Bindung der Sonden verfälscht werden können. Da auf eine Probe gleichzeitig immer nur eine sehr beschränkte Zahl von Markierungen und

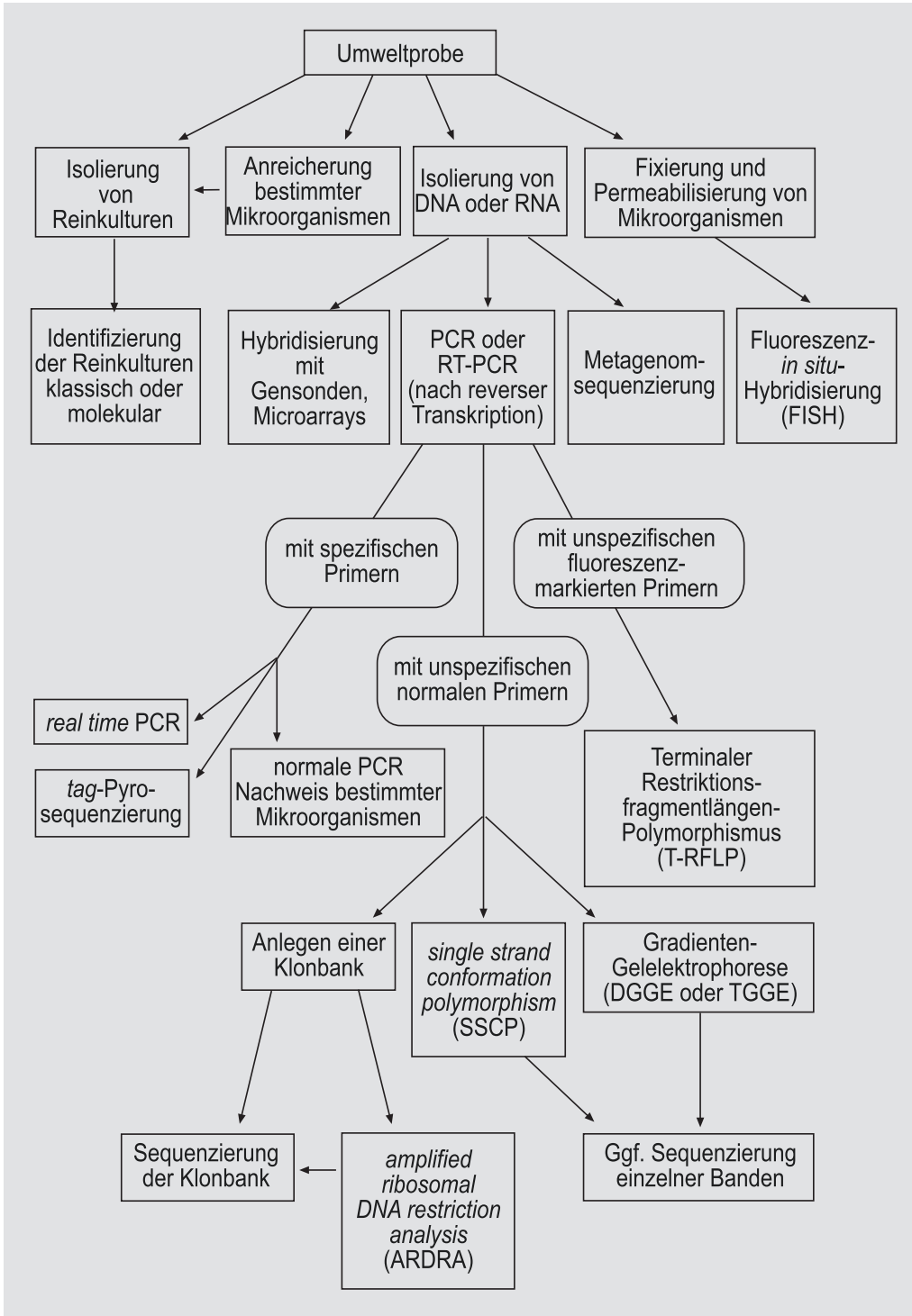


Abb. 12.10 Überblick über einige Nukleinsäuren-basierte Methoden zur Charakterisierung mikrobieller Lebensgemeinschaften

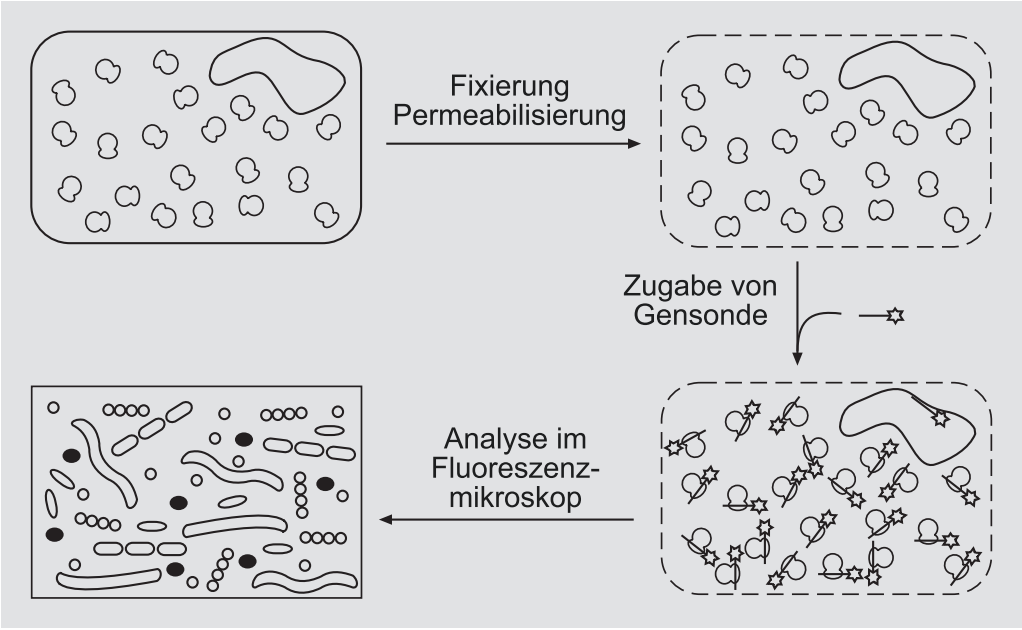


Abb. 12.11 Prinzip der Fluoreszenz-*in situ*-Hybridisierung

damit Sonden angewendet werden kann, wird man mit der FISH-Technik nie einen weitgehend vollständigen Überblick über die mikrobielle Diversität einer Lebensgemeinschaft erhalten. Man bekommt gewissermaßen immer nur eine Antwort auf die Frage, wie viele Organismen von einer gewissen Gruppe in der untersuchten Lebensgemeinschaft vorkommen. So kann man mit einer relativ spezifischen Gensonde zum Beispiel die Häufigkeit bestimmter Arten oder Gattungen in der Lebensgemeinschaft bestimmen und mit einer für bestimmte Großgruppen, zum Beispiel Phyla, spezifischen Sonde das Vorkommen von Organismen dieser Großgruppe. Als Bezugsgrößen für quantitative Angaben verwendet man zum einen die Zahl der mit DAPI (► Abschn. 11.1.1) anfärbbaren Zellen sowie die Zahl der mit einer universellen Gensonde anfärbbaren Zellen. Ein besonderer Vorzug der FISH-Technik ist, dass die Zellen auch in einer weitgehend intakten engeren Umgebung sichtbar gemacht werden können. So kann man zum Beispiel die Lage von bestimmter Zelle in einem Biofilm analysieren. Für solche Analysen mit komplexerer, mehrschichtiger Umgebung ist allerdings ein normales Fluoreszenzmikroskop nicht ausreichend, sondern es muss ein konfokales Laser-Scanning-Mikroskop zur Verfügung stehen.

Bei der Mehrzahl der molekularökologischen Methoden wird je nach genauer Fragestellung zunächst DNA oder RNA aus der Lebensgemeinschaft isoliert. Dies kann mit direkten Extraktionsmethoden erfolgen oder nachdem in einem ersten Schritt versucht wurde, die Mikroorganismen zum Beispiel. von der Bodenmatrix abzulösen. Für die **Isolierung von DNA** aus einer Umweltprobe stehen mehrere relativ etablierte Methoden zur Verfügung, wobei insbesondere die Isolierung aus Boden und die Abtrennung von Huminstoffen noch problematisch sind, speziell wenn die Isolierung zu einer Reinheit führen muss, die einen Einsatz der DNA auch in anschließenden enzymatischen Schritten wie bei der PCR erlaubt. Die **Isolierung von RNA** ist trotz der grundsätzlichen Verfügbarkeit geeigneter Methoden noch sehr viel problematischer, weil zum ersten die RNAs durch relativ stabile RNasen, also

RNA hydrolysierende Enzyme, zerstört werden können, und weil zum zweiten für viele Fragestellungen sichergestellt sein muss, dass die isolierte RNA frei von jeglicher DNA ist. Trotz dieser Schwierigkeiten wendet man sich zunehmend der RNA aus Umweltproben zu. Bei taxonomischen Analysen hat die rRNA gegenüber der sie kodierenden rDNA den Vorzug, dass man vorwiegend die wachsenden, also die aktiven Zellen einer Lebensgemeinschaft erfasst, während die DNA auch in nicht mehr teilungsfähigen Zellen noch intakt sein kann und bei auf die DNA abzielenden Analysen gegebenenfalls mit erfasst wird. Die mRNA aus Umweltproben erlaubt es zu analysieren, ob bestimmte Gene unter den Umweltbedingungen induziert werden, eine Information, die allein aus DNA-Analysen nicht zu erhalten ist.

Aus einer Lebensgemeinschaft isolierte Nukleinsäuren können direkt für eine **Hybridisierung mit einer Gensonde,** also einem markierten Oligonucleotid, eingesetzt werden. So lässt sich zum Beispiel bei Hybridisierung zwischen Sonde und mRNA der Induktionszustand eines Gens in der Lebensgemeinschaft untersuchen. Die einzelsträngige DNA kann auf einer Membran fixiert sein. Im Hinblick auf komplexe Proben besteht bei einer einfachen Hybridisierung die Beschränkung, dass immer nur Aussagen bezüglich der jeweils eingesetzten Gensonde gewonnen werden. Um diese Einschränkung zu umgehen, werden mittlerweile zahlreiche Gensonden in Form sogenannter **Microarrays** zusammengefasst. Hierzu werden zahlreiche unterschiedliche Oligonucleotide oder PCR-Produkte auf Glasplättchen fixiert und dann mit dem Gemisch der extrahierten Nukleinsäuren hybridisiert. Die direkte Hybridisierung setzt in allen Fällen voraus, dass von der Nukleinsäure aus der Umweltprobe eine für die Hybridisierung ausreichende Menge extrahiert werden kann.

DNA-Microarrays

Microarrays können in der Mikrobiologie für eine Vielzahl unterschiedlicher Anwendungen eingesetzt werden, so zu Untersuchungen zur Genregulation und bakterieller Antwort auf Änderungen der Umwelt, der Genomorganisation und zu evolutionären Fragestellungen bis hin zu Taxonomie- und Umweltuntersuchungen.
Das Wesen der Microarray-Technologie ist die parallele Hybridizierung einer Mischung markierter Nukleinsäuren, genannt **Zielgen,** mit einer Vielzahl von individuellen Nukleinsäure-Spezies, genannt **Sonden,** die durch ihre jeweilige, festgelegte Position in einem einzigen Experiment identifiziert werden kann.
Der Ort einer spezifischen Sonde auf dem Array wird **spot** genannt. Während die **Sonden** auf dem festen Träger immobilisiert sind, werden die **Zielgene** in Lösung auf den Array zur Hybridisierung nach der Fluoreszenzmarkierung eingesetzt.
Auf verschiedenen Trägermaterialien werden genspezifische cDNA- oder Oligonucleotid-Sonden an definierte Positionen eines Rasters als Sonde „aufgedruckt" (◘ Abb. 12.12).
Die folgenden Haupttypen von DNA-Microarrays werden verbreitet eingesetzt:

- **Gen-Chips:** Microarrays, bei denen die Sonden *in situ* Nucleotid nach Nucleotid direkt auf die Oberfläche des Chip synthetisiert werden.
- **Gedruckte Microarrays,** unabhängig synthetisierte ganze Oligonucleotidsonden werden auf spezielle Glasoberflächen „gedruckt".

Gen-Chips werden in einem photolithografischen Prozess produziert, der analog zu den Methoden ist, die für die Erzeugung von mikroelektronischen Chips in Kombination mit chemischen Reaktionen entwickelt wurden. Die Synthese erfolgt an genau definierten Positionen auf der Glasoberfläche. Auf einem Chip von 1–3 cm Kantenlänge können zehntausende unterschiedlicher Oligonucleotide hergestellt werden, jedes in Tröpfchen von 100–200 µm Durchmesser. Kommerzielle high-density Oligonucleotid-Arrays können bis zu 400.000 Merkmale aufweisen.
In sich wiederholenden Zyklen von Maskierung, Bestrahlen

zur Beseitigung von blockierenden Schutzgruppen und chemischer Kopplung eines Nucleotides, welches am 3'-OH-Ende eine Schutzgruppe trägt, werden Oligonucleotide von 25 Nucleotiden Länge auf der Chipoberfläche synthetisiert. Da die Spezifität einer solchen Sonde mit 25 Nucleotiden nicht hoch genug ist, wird jede Sonde ***(„match")*** von einer Negativkontrolle begleitet, bei der eine einzelne Base in der Mitte der Sonde verändert ist, diese wird ***mismatch* Sonde** genannt. Effizienz der **Sonde** und ***mismatch* Sonde** kann folglich benutzt werden, um Kreuzhybridisierung zu erkennen und zu eliminieren. **Sonde** und ***mismatch* Sonde** werden als **Sondenpaare** bezeichnet. Gewöhnlich bilden 11 bis 15 **Sondenpaare,** ein sogenanntes **Sondenset,** welches damit etwa ein einzelnes Gen repräsentiert. Die **Gedruckten Microarrays** werden unabhängig synthetisiert und dann auf die Oberfläche des Array durch einen Microarray spotter wie bei einem Tintenstrahldrucker aufgespritzt. Der hauptsächliche Vorteil von **Gedruckten Microarrays** ist die standardisierte Größe. Historisch gesehen wurden die ersten Microarrays auf mikroskopischen Objektträgern gedruckt, folglich war die Größe 25×75 mm und eine Dicke von 1,0 bis 1,2 mm gewöhnlich im Gebrauch. Dies erlaubt die freie Wahl des Spotters, der Hybridisierungseinrichtung, des Scanners und der Software von verschiedenen Lieferanten oder auch die Möglichkeit der Modifikation der Oberflächenchemie der Träger. Insgesamt haben **Gedruckte Microarrays** eine viel geringere Sondendichte im Vergleich zu der der Gen-Chips: etwa 10.000 bis 30.000 Sonden können auf einem einzelnen **Gedruckten Microarrays** platziert werden.

Drei Hauptkategorien von **m**ikrobiellen **d**iagnostischen **M**icroarrays für die Analyse von mikrobiellen Gemeinschaften lassen sich bezüglich der Natur der Sonde und der verwendeten Zielmoleküle unterscheiden:

- Phylogenetische Oligonucleotid Microarrays (***Phylochips)*** verwenden kurze Oligonucleotiden, die gegen ein phylogenetisches Markergen entwickelt worden sind.
- ***Functional gene arrays*** (FGAs) verwenden Genfragmente oder Oligonucleotide als Sonde, die auf Gene zielen, die interessierende Funktionen kodieren.
- ***Community genome arrays*** (CGAs) verwenden ganze bakterielle Genome als Sonden.

DNA-Microarrays finden zunehmend Anwendung in der Diagnostik und bei Untersuchungen in der differenziellen Genexpression. Für viele ist der Ausdruck Chip-Analyse also äquivalent mit der Durchführung von Studien der Transkriptionsmenge. DNA-Microarrays dienen hier also dazu, die RNA-Menge bestimmter Gene nachzuweisen.

Um das **Transkriptom** eines Organismus in bestimmten physiologischen Situationen zu untersuchen, wird RNA aus Zellen, die unter entsprechenden Bedingungen kultiviert wurden, isoliert. Unter Verwendung von Reverser Transkriptase, einem Gemisch aus zufällig generierten kurzen Oligonucleotiden als Primern und in Gegenwart eines fluoreszenzmarkierten Nucleosidtriphosphates (grüne Fluoreszenz für zum Beispiel Wachstum auf Glucose (Kontrolle), rote für zum Beispiel Wachstum auf Aromaten) wird die mRNA in cDNA umgeschrieben.

Die cDNAs werden gemischt und mit den auf dem Chip immobilisierten Oligonucleotiden hybridisiert. Hierbei binden markierte cDNA Stücke an ihren komplementären Gegenpart auf dem Array. Nach Abwaschen der nicht gebundenen cDNA Stücke wird das Fluoreszenzsignal jeder Position des DNA-Microarrays mit zwei Lasern verschiedener Wellenlänge aufgenommen. Der Fluoreszenzwert ist ein Maß für die relative Menge des Transkiptes in den beiden mRNA-Populationen. Durch Überlagerung der Signale wird ermittelt, welche Gene unter einer der gegebenen physiologischen Bedingungen verstärkt exprimiert (grün beziehungsweise rot), welche unter beiden Bedingungen (orange-gelb) oder überhaupt nicht beziehungsweise unterhalb der Nachweisgrenze (grau) exprimiert werden (◘ Abb. 12.13).

Die große Datenmenge wird anschließend mit bioinformatischen Methoden statistisch ausgewertet und es können Gruppen von Genen gebildet werden, die koordiniert reguliert werden. Durch diese Vorgehensweise können also zum Beispiel globale Veränderungen des

Transkriptoms einer Zelle erkannt werden. Die cDNA wird anschließend von dem Chip abgewaschen, sodass er wieder verwendet werden kann. Microarray-Analysen haben den großen Vorteil, dass das Vorhandensein vieler taxonomischer Gruppen oder funktioneller Gene in einer Lebensgemeinschaft oder die Expression aller Gene eines Genoms oder Metagenoms parallel analysiert werden kann. Allerdings ist die Herstellung von entsprechenden Arrays entsprechend aufwändig und teuer. Deshalb lohnt sich die Herstellung eines Arrays insbesondere dann, wenn vielfach dieselbe Fragestellung mit unterschiedlichen Proben untersucht werden soll. Sonst kann es sinnvoll sein, auf alternative Hochdurchsatz-Sequenziertechniken wie *tag*-Pyrosequenzierung oder Expressionsanalysen mittels Hochdurchsatz-**Sequenzierung auf Basis von cyclisch reversibler Termination** auszuweichen.

Sehr viele molekularökologische Methoden basieren in der einen oder anderen Form auf der **PCR,** deren Prinzip schon im Zusammenhang mit der Identifizierung von Reinkulturen dargestellt wurde. Sofern eine PCR auf einen RNA-Extrakt angewendet werden soll, muss die RNA zunächst durch eine reverse Transkriptase in DNA umgeschrieben werden. Man spricht bei dieser Kombination deshalb von **rT-PCR.** Grundsätzlich hat die PCR gegenüber der direkten Hybridisierung den Vorteil, dass sie mit sehr geringen Mengen an Nukleinsäure auskommt. Ein Nachteil ist, dass die einfache PCR vom Ansatz her keine quantitative Methode ist. Vielmehr läuft die exponentielle Vervielfältigung häufig bis irgendeine Komponente der Reaktion begrenzend wird, sodass auch bei ursprünglich unterschiedlichen Mengen an Matrizen-DNA oder – RNA ähnliche Mengen an PCR-Produkt und damit ähnliche Bandenintensitäten in der nachfolgenden Elektrophorese erreicht werden. Die Durchführung der PCR und insbesondere die Wahl der Primer richtet sich entscheidend nach der Fragestellung, die man verfolgt.

Ist es das Ziel, bestimmte Mikroorganismen oder bestimmte Gene in einer Umweltprobe nachzuweisen oder ihre Häufigkeit zu bestimmen, so wird man relativ **spezifische Primer** wählen, eben solche, die gerade auf die 16S-rRNA oder 16S-rDNA der taxonomischen Gruppe oder auf das gesuchte Gen passen. Eine **„normale" PCR** beziehungsweise „normale" rT-PCR wird dann im positiven Fall zu einer Bande im Elektrophorese-Gel führen, die das Vorkommen der entsprechenden Matrizen-DNA oder -RNA nachweist. Wie erwähnt handelt es sich bei diesem Nachweis nicht um eine Quantifizierung. Da auch eine mit spezifischen Primern durchgeführte PCR je nach Bedingungen zu unspezifischen Neben-

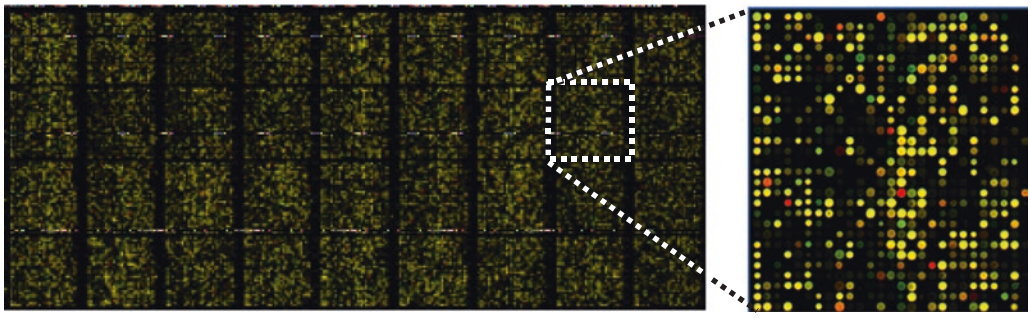


Abb. 12.12 Teil eines Microarray. (links) Aufsicht mit 36 Spotfeldern und (rechts) ein Spotfeld am Ende des Tests nach Hybridisierung und Laserscanning. Jeder Farbpunkt steht für eine spezifische Oligonucleotid-Sonde

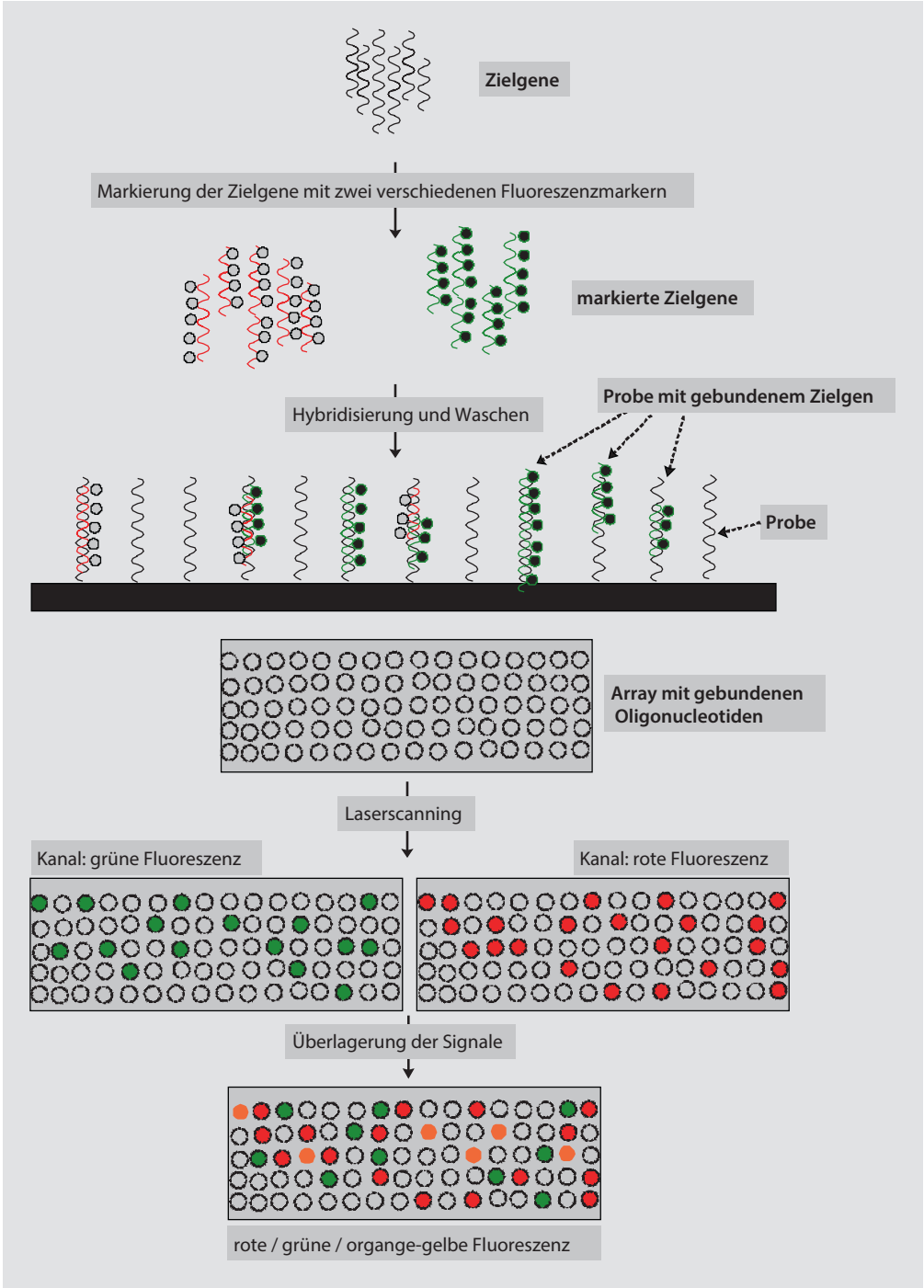


Abb. 12.13 Versuchsablauf beim Microarray mit dem Ergebnis der Sichtbarmachung der Hybridisierung anhand der Fluoreszenzfarbe jeder Sonde. **gelb bis orange-gelb:** Zielgene mit beiden Farbmarkierungen haben gebunden **grau:** keines der Zielgene hat gebunden **rot:** Zielgen mit roter Fluoresenz hat gebunden **grün:** Zielgen mit grüner Fluoresenz hat gebunden

produkten führen kann, ist es oft notwendig, eine **Überprüfung der Korrektheit** des PCR-Produktes vorzunehmen. Hierzu kann man zum Beispiel die Größe des Produktes durch Vergleich mit Größenstandards bei der Elektrophorese ermitteln. Man kann eine „*nested* PCR" durchführen, bei der das PCR-Produkt der ersten Reaktion als Matrize für eine zweite Reaktion mit weiter innen bindenden Primern eingesetzt wird. Oder man kann zur Kontrolle die Sequenz des PCR-Produktes bestimmen.

Die schnellste und einfachste Möglichkeit, quantitative PCR durchzuführen, bietet die ***real time*-PCR.** Hierbei wird während der PCR auf unterschiedliche Weise die Fluoreszenz eines Farbstoffes erhöht (◘ Abb. 12.14). Entscheidend ist, dass die Fluoreszenz durch das *real time*-PCR-Gerät schon während der Reaktion registriert wird, sodass das Ergebnis nicht erst, wie bei der normalen PCR, nach Ende der Reaktion und Durchführung einer Elektrophorese, sondern schon im Verlauf beurteilt werden kann. Dies ermöglicht zum einen eine schnellere Beurteilung von Ergebnissen. Zum anderen ergeben in der exponentiellen Phase höhere Zahlen von Matrizenmolekülen schneller Signale, die einen Schwellenwert überschreiten. Insofern sind quantitative Unterschiede sichtbar, die bei einer herkömmlichen PCR mit vielen Zyklen häufig nicht erkennbar bleiben Zur Quantifizierung wird die Zyklenzahl bis zum Erreichen des Schwellenwertes für Probe und Standards mit bekannter Kopienzahl verglichen. Die Korrektheit des Produktes kann über Schmelzkurven analysiert werden. Zur Erhöhung der Fluoreszenz im Verlauf der PCR-Reaktion werden verschiedene Ansätze verwendet (◘ Abb. 12.14).

- Es kann ein Farbstoff wie SYBR Green I verwendet werden, dessen Fluoreszenz bei Bindung an doppelsträngige DNA zunimmt (◘ Abb. 12.14a). Da im Verlauf der PCR die Konzentration doppelsträngiger DNA steigt, nimmt auch die Fluoreszenz zu. Der Effekt auf die Fluoreszenz wird durch jegliche doppelsträngige DNA bewirkt, was einerseits von Vorteil ist, weil man nicht für jedes Experiment (teure) entsprechend markierte Oligonucleotide benötigt. Die Unspezifität ist andererseits von Nachteil, da auch ungewollte, unspezifisch entstandene PCR-Produkte ein positives Signal ergeben.
- Ein spezifisches Signal nur durch die gesuchten PCR-Produkte wird erreicht, wenn sowohl der Fluoreszenzfarbstoff als auch ein Quencher an einem Oligonucleotid gebunden sind (◘ Abb. 12.14b). Solange beide durch die Bindung an dasselbe Oligonucleotid in der Nähe zueinander sind, gelingt die Auslöschung der Fluoreszenz durch den Quencher. Im Verlauf der PCR werden die Oligonucleotide jedoch durch die 5′→ 3′-Exonuklease-Aktivität der DNA-Polymerase zerstört, und dadurch werden Fluoreszenzfarbstoff und Quencher voneinander getrennt, was zum Anstieg der Fluoreszenz führt.
- Verschiedene Methoden verwenden Oligonucleotide, bei denen der hieran gebundene Fluorophor und der ebenfalls gebundene Quencher durch Ausbildung einer Haarnadel-Struktur des Oligonucleotides in Nachbarschaft zueinander gebracht werden (◘ Abb. 12.14c). Bei der Anlagerung an komplementäre DNA werden Fluorophor und Quencher räumlich voneinander getrennt, wodurch Fluoreszenz möglich wird. Im Verlauf der PCR wird immer mehr komplementäre DNA gebildet, was sich durch ein stärkeres Fluoreszenzsignal erkennen lässt.
- In einer weiteren spezifischen Methode wird das 3′-Ende eines Oligonucleotides mit einem grün fluoreszierenden Farbstoff markiert und das 5′-Ende eines zweiten, an der Ziel-DNA benachbart bindenden Oligonucleotides mit einem rot fluoreszierenden Farbstoff (◘ Abb. 12.14d). Bei Bindung an benachbarte Regionen kommt

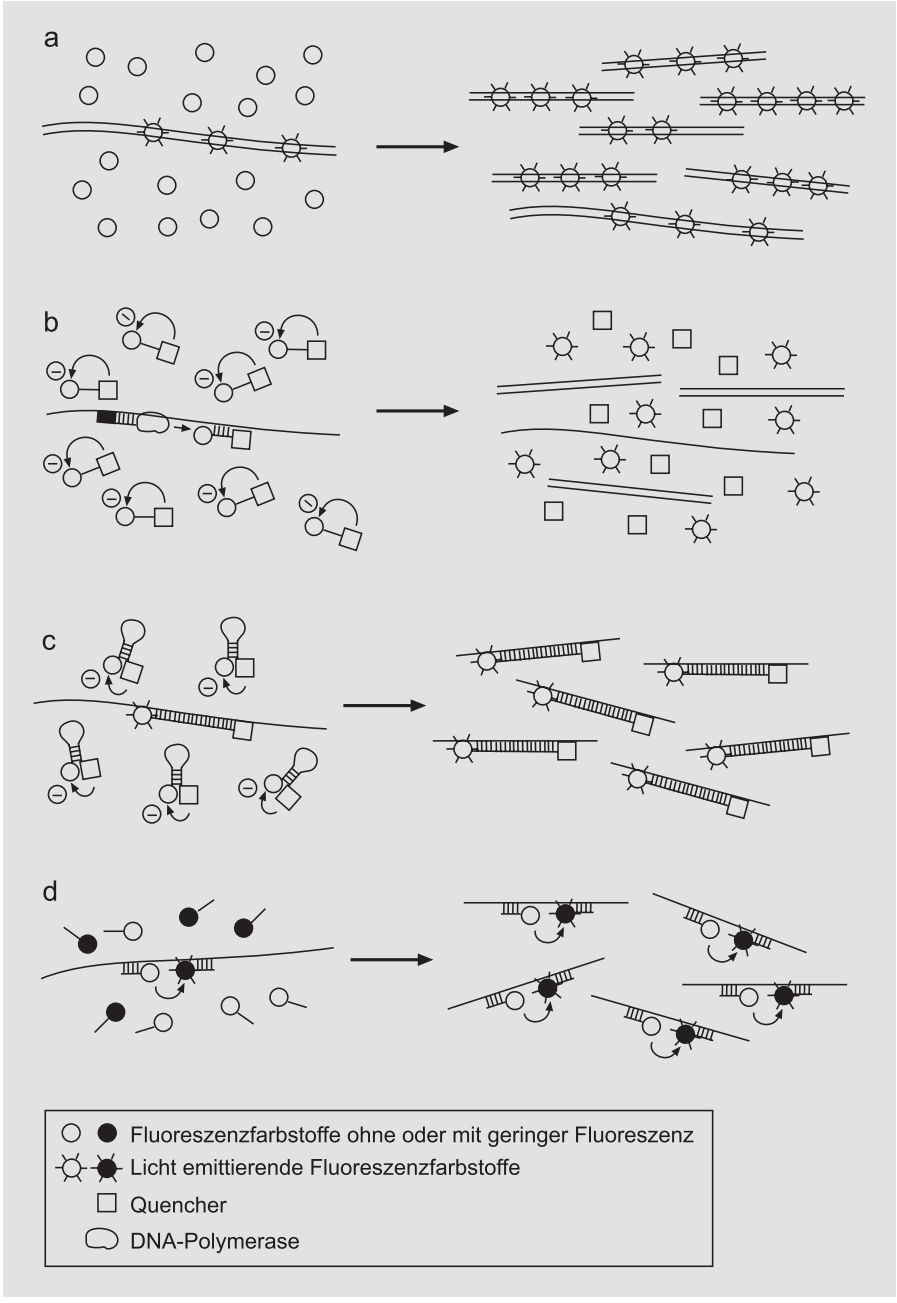


Abb. 12.14 Möglichkeiten der Quantifizierung von Genen durch *real time*-PCR. **a** Verwendung eines bei Bindung an doppelsträngige DNA stärker fluoreszierenden Farbstoffes. **b** Verwendung eines Oligonucleotides mit Fluoreszenzfarbstoff und Quencher. Beseitigung der Wirkung des Quenchers durch 5′ → 3′-Exonuclease-Aktivität der DNA-Polymerase. **c** Verwendung eines Oligonucleotides mit Fluoreszenzfarbstoff und Quencher, wobei die Quenchwirkung durch Bindung an komplementäre DNA aufgehoben wird. **d** Energietransfer vom Fluoreszenzfarbstoff am 3′-Ende eines Oligonucleotides auf anderen Fluoreszenzfarbstoff am 5′-Ende eines zweiten Oligonucleotides

es durch Energietransfer vom ersten zum zweiten Farbstoff zu einer roten Fluoreszenz. Benachbarte Bindung wird durch Bildung des PCR-Produktes verstärkt möglich. Auch bei diesem System wird ein Signal durch unspezifische PCR-Produkte vermieden.

In vielen Fällen ist das Untersuchungsziel nicht so sehr der qualitative oder quantitative Nachweis bestimmter Stämme oder Gene, sondern vielmehr eine Bestandsaufnahme dessen, was am Standort insgesamt vorkommt, also zum Beispiel eine Aussage zur Frage, aus welchen Mikroorganismen die Lebensgemeinschaft besteht. In solchen Fällen wird man die PCR mit relativ **unspezifischen Primern** durchführen, um der möglichen Diversität am Standort Rechnung zu tragen. „Relativ unspezifisch" kann bedeuten, dass man für taxonomische Fragen universelle Primer verwendet, „relativ unspezifisch" kann aber auch bedeuten, dass man sich nur für eine bestimmte Gruppe und die Diversität innerhalb dieser Gruppe interessiert und deshalb Primer auswählt, die eine ganze Gruppe erfassen. Amplifiziert man mit relativ unspezifischen Primern DNA (oder revers transkribierte RNA) aus einer Lebensgemeinschaft, so wird das **PCR-Produkt aus zahlreichen unterschiedlichen Sequenzen** bestehen.

Diese unterschiedlichen Moleküle werden, wenn sie alle von demselben Gen, also zum Beispiel der 16S-rDNA, des jeweiligen Mikroorganismusses stammen, mehr oder weniger die gleiche Länge aufweisen. Sie werden also bei einer normalen Agarose-Elektrophorese nur eine (eventuell etwas verbreiterte) Bande ergeben und die dahinter stehende Diversität unterschiedlicher Sequenzen nicht erkennen lassen. Interessiert man sich aber gerade für die Diversität an einem Standort, sei es die taxonomische Diversität oder die Diversität zum Beispiel eines Abbau- oder Resistenzgens, dann muss man gerade die Heterogenität des oberflächlich homogen erscheinenden PCR-Produktes analysieren können.

Eine Möglichkeit zur Untersuchung der Unterschiedlichkeit der in einem PCR-Produkt vorkommenden Sequenzen, ist die Klonierung des PCR-Produktes in einen Vektor und das **Anlegen einer Klonbank.** Hierbei wird im Prinzip jedes der bei der PCR entstandenen Moleküle in ein anderes Vektormolekül ligiert und anschließend in eine andere Bakterienzelle transformiert. Unterschiedliche Klone entsprechen also unterschiedlichen Molekülen im PCR-Produkt, die Moleküle werden voneinander getrennt (◘ Abb. 12.15). Durch eine anschließende **Sequenzierung** zahlreicher klonierter Abschnitte kann im Prinzip die Diversität der Sequenzen im PCR-Produkt, und damit die mutmaßliche Diversität am Standort, vollständig aufgeklärt werden. Gleichzeitig können die gefundenen Sequenzen durch Datenbankvergleich bekannten Sequenzen zugeordnet werden, was bei einer taxonomischen Untersuchung der 16S-rDNA zur Identifizierung der am Standort vorhandenen Organismen führt (sofern hinreichend ähnliche Sequenzen von identifizierten Organismen in der Datenbank erfasst sind).

Speziell bei einer Lebensgemeinschaft mit starker Dominanz einzelner Arten oder Gattungen kann der Fall eintreten, dass bei der Sequenzierung häufig dieselben oder extrem ähnliche Sequenzen erhalten werden. Dies würde bedeuten, dass bei der Charakterisierung der Lebensgemeinschaft unnötig hoher Aufwand und unnötig hohe Kosten entstehen. Um diesen Effekt in Grenzen zu halten, kann man die von dem PCR-Produkt erhaltenen Klone zunächst einer **ARDRA-Analyse** unterziehen, indem man die klonierten Abschnitte mit Restriktionsenzymen verdaut. Sequenziert werden dann ggf. nur noch einige Repräsentanten der unterschiedlichen ARDRA-Gruppen. Insgesamt liefert die Charakterisierung einer Klonbank je nach Größe gegebenenfalls sehr umfangreiche Informationen zum Vorkommen unterschiedlicher Mikroorganismen oder Gene am Standort. Gleichzeitig ist diese Strategie, trotz gewisser Einsparungsmöglichkeiten durch ARDRA, tendenziell am aufwändigsten.

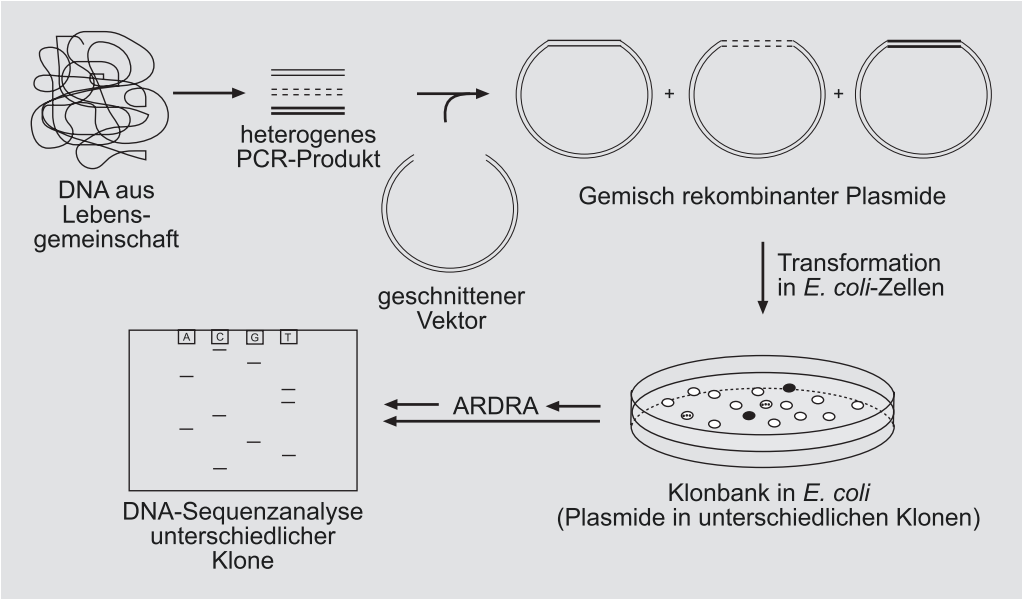


Abb. 12.15 Analyse der Diversität eines PCR-Produktes durch Anlegen einer Klonbank und Sequenzanalyse

Die neuen Hochdurchsatz-Sequenziertechniken erlauben es, einfacher als durch Klonbank-Analyse im Wesentlichen zu den gleichen Informationen zu kommen. Hier ist vor allem die sogenannte ***tag*-Pyrosequenzierung** zu nennen. Im Rahmen dieser Strategie werden die Primer zur Amplifizierung des Zielgens (in der Regel die 16S-rDNA) um zusätzliche Sequenzen, dem *tag,* verlängert. Diese erlauben es, die erhaltene Sequenzinformation einer Probe zuzuordnen. Dann werden hinreichend viele Moleküle des PCR-Produktes ohne vorherige Klonierung durch Pyrosequenzierung analysiert. Auch bei Sequenzierung mittels cyclisch reversibler Termination lässt sich ein hohes Maß an Sequenzinformationen gewinnen, wobei aber die Länge der einzelnen Sequenzstücke noch sehr viel geringer ist als bei der Pyrosequenzierung.

Neben den Sequenziertechniken erlauben elektrophoretische Fingerprint-Techniken Rückschlüsse auf die Zusammensetzung mikrobieller Gemeinschaften. Wichtig ist hierfür, dass sich durch spezielle elektrophoretische Techniken DNA-Moleküle ähnlicher Länge voneinander trennen lassen. Eine Möglichkeit ist die Analyse des ***single-strand conformational polymorphism* (SSCP).** Einzelstränge von DNA nehmen in Abhängigkeit von der Sequenz verschiedene Konformationen ein, die wiederum die Laufgeschwindigkeit im Elektrophorese-Gel beeinflussen. Die Sequenzdiversität eines PCR-Produktes äußert sich also in der Zahl der Banden, die man nach der Denaturierung auf einem SSCP-Gel erhält. Die Intensität der Banden liefert in begrenztem Maße (da die PCR keine wirklich quantitative Methode ist) Informationen über die Häufigkeit der zu den Banden führenden Sequenzen. Um die Zahl der elektrophoretisch zu trennenden Einzelstränge pro PCR-Produkt von zwei auf einen zu reduzieren und um Probleme durch ungewolltes Zusammenlagern zu umgehen, kann ein phosphorylierter PCR-Primer verwendet werden, der zu phosphorylierten Einzelsträngen führt, die dann selektiv mit einer Exonuclease abgebaut werden können. Eine Zuordnung von Banden zu bestimmten Sequenzen, und damit zum Beispiel bei 16S-rDNA-Analyse eine Identifizierung von Arten oder Gattungen, ist durch

den Vergleich mit Banden von PCR-Produkten entsprechender Reinkulturen oder durch Reinigung der DNA aus dem Gel, erneute Amplifizierung und anschließende Sequenzierung möglich.

Eine Trennung gleich langer DNA-Moleküle unterschiedlicher Sequenz ist auch durch Gradienten-Gelelektrophoresen möglich, in deren Verlauf der DNA-Doppelstrang weitgehend in Einzelstränge getrennt wird. Üblich sind zum einen die **denaturierende Gradienten-Gelelektrophorese (DGGE)** und zum zweiten die **Temperaturgradienten-Gelelektrophorese (TGGE).** Bei der DGGE wird in das Polyacrylamid-Gel ein ansteigender Gradient von Denaturierungsmitteln (Formamid und Harnstoff) einpolymerisiert. Bei der TGGE wird das Gel entweder einem räumlichen Temperaturgradienten ausgesetzt (von oben nach unten zunehmende Temperatur) oder das Gel wird im Verlauf der Elektrophorese zunehmend erwärmt (zeitlicher Gradient). Die steigende Konzentration an Denaturierungsmittel oder die steigende Temperatur führen dazu, dass die den DNA-Doppelstrang zusammen haltenden Wasserstoffbrücken-Bindungen sich lösen. Dies geschieht sequenzabhängig, und zwar zuerst in Abschnitten mit starkem Vorkommen an Adenin und Thymin (nur 2 H-Brücken) und später in Abschnitten, in denen Guanin und Cytosin überwiegen (3 H-Brücken). Das sequenzabhängige Aufschmelzen der DNA beeinflusst die Wanderungsgeschwindigkeit. Besonders stark reduziert wird die Wanderung bei Y-förmigen Strukturen, die entstehen, wenn der Doppelstrang weitgehend aufgespalten ist, aber an einem Ende noch zusammen hängt. Um die Ausbildung solcher Strukturen zu fördern, kann man bei der PCR durch Wahl eines entsprechenden Primers noch eine GC-Klammer anfügen. Auch bei DGGD und TGGE liefert die Zahl der Banden eine Aussage über die Sequenzdiversität des PCR-Produktes und die Intensität der Banden in beschränktem Maße eine Information zur Häufigkeit des Sequenztyps in der Probe. Auch bei DGGE und TGGE ist eine Zuordnung der Banden zu bekannten Sequenzen, also bei 16S-rDNA-Analysen eine Aussage zu Arten oder Gattungen, durch Vergleich mit Banden von PCR-Produkten von Reinkulturen möglich. Zusätzlich bietet sich hier die Möglichkeit, Banden aus dem Gel auszuschneiden, die DNA daraus zu reinigen und zu klonieren und dann eine Sequenzanalyse dieser Banden vorzunehmen.

Sowohl bei der SSCP als auch bei DGGD und TGGE ist eine Zuordnung von Banden zu bekannten Sequenzen wie erwähnt nur durch gleichzeitige Untersuchung entsprechender Reinkulturen oder durch nachträgliches Ausschneiden, Klonieren und Sequenzieren möglich. Dieses Problem wird bei einer weiteren elektrophoretischen Technik, der Analyse des **terminalen Restriktionsfragmentlängen-Polymorphismus (T-RFLP),** vermieden. Hier wird schon bei der PCR ein mit einem Fluoreszenzfarbstoff markierter Primer eingesetzt. Das PCR-Produkt wird, ähnlich wie bei ARDRA von Reinkulturen durch ein Restriktionsenzym, das relativ häufig schneidet, verdaut, und das Gemisch von Restriktionsfragmenten des mutmaßlich heterogenen PCR-Produktes wird in einem Polyacrylamid-Gel elektrophoretisch aufgetrennt (◘ Abb. 12.16). Bei der Messung des fluoreszierenden Lichtes nach Abscannen mit einem Laser werden nur die Banden der terminalen Restriktionsfragmente sichtbar, weil nur diese aufgrund des markierten Primers einen Fluoreszenzfarbstoff tragen. Die Länge dieser terminalen Restriktionsfragmente kann genau bestimmt werden und ist nur abhängig von der Sequenz, dem verwendeten Primer und dem verwendeten Restriktionsenzym. Deshalb kann man grundsätzlich anhand der Primersequenz und der Erkennungssequenz des Restriktionsenzyms für rRNA-Sequenzen in den Datenbanken berechnen, mit wie langen terminalen Restriktionsfragmenten zu rechnen ist. Man kann auch umgekehrt aus der experimentell bestimmten Länge des terminalen Fragments direkt (also ohne Auftragen von PCR-Produkten aus Reinkulturen und ohne anschließende

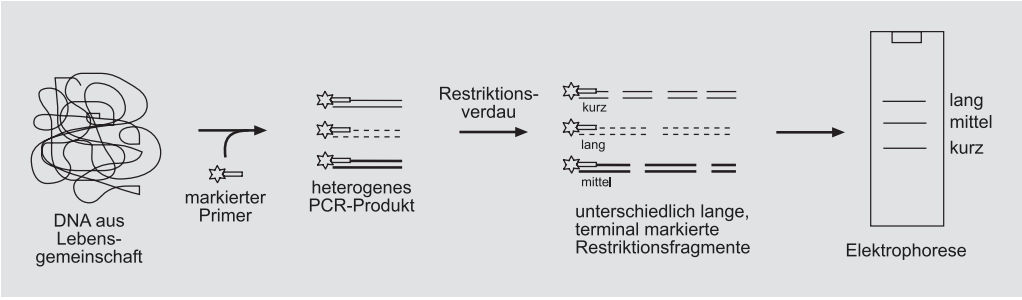


Abb. 12.16 Charakterisierung einer Lebensgemeinschaft durch Untersuchung des terminalen Restriktionsfragmentlängen-Polymorphismus (T-RFLP)

Sequenzierung) grundsätzlich Rückschlüsse ziehen, von welchen Organismen ein solches Fragment resultieren könnte. In der Praxis hat es sich allerdings auf Basis der Sequenz bewährt, die theoretisch zu erhaltenden Fragmentlängen durch experimentelle Analyse entsprechender Klone zu verifizieren. Im Unterschied zu ARDRA von Reinkulturen wird bei T-RFLP nur die Länge eines Fragmentes von jedem Organismus und nicht dessen ganzes Bandenmuster analysiert, weil die überlagerten Bandenmuster aller Organismen einer Lebensgemeinschaft viel zu komplex sein würden. Da bei T-RFLP im Vergleich zu ARDRA weniger Information ausgenutzt wird, ist die taxonomische Auflösung des T-RFLP geringer, was bedeutet, dass zum Beispiel eine Bande einer bestimmten Länge aus der rRNA mehrerer Arten resultieren kann, also ein eindeutiger Rückschluss von Fragmentlänge auf vorkommende Art nicht immer möglich ist.

Eine große Herausforderung ist es derzeit, nicht nur das Vorkommen bestimmter Mikroorganismen in Lebensgemeinschaften nachzuweisen und gegebenenfalls zu quantifizieren, sondern eine **Zuordnung der** für den jeweiligen Prozess entscheidenden **Aktivitäten zu bestimmten Mikroorganismen** vornehmen zu können.

- Eine mögliche Herangehensweise ist es, radioaktive Substrate einzusetzen und im Anschluss an eine Fluoreszenz-*in situ*-Hybridisierung (siehe oben) eine **Mikroautoradiographie** durchzuführen, um hierdurch den Einbau radioaktiver Isotope (^{14}C) in die Biomasse mit der Gegenwart bestimmter Taxa räumlich korrelieren zu können. Kürzlich wurde die Mikroautoradiographie auch in Kombination mit Microarrays zur Hybridisierung von rRNA in Form sogenannter *isotope arrays* erfolgreich verwendet.
- In anderen Strategien des Aktivitätsnachweises wird mit Substraten gearbeitet, die durch **stabile Isotope** (^{13}C) markiert sind. So kann der Einbau des Isotops in charakteristische Fettsäuren nachgewiesen werden. Auch ^{13}C-markierte DNA oder RNA kann durch Dichtegradienten-Zentrifugation getrennt von nicht markierter DNA beziehungsweise RNA gewonnen und analysiert werden, um nur die Organismen zu erfassen, die die markierte Verbindung umgesetzt haben (*stable isotope probing,* SIP).
- Aussagen zur Funktion bestimmter Taxa einer Lebensgemeinschaft ergeben sich auch aus Metatranskriptom-Analysen. Indem die zum Beispiel durch Hochdurchsatz-Sequenzierung mittels cyclisch reversibler Termination erhaltenen RNA-Sequenzen mit Datenbanken oder den in einer Lebensgemeinschaft vorkommenden Genomen verglichen werden, welche Taxa bestimmte Gene exprimieren.
- Analoges gilt für Metaproteom-Analysen. Die Kopplung von Flüssigkeitschromatographie mit massenspektrometrischen Methoden mit doppelter Fragmentierung

(MS-MS) erlaubt die Bestimmung von Peptidsequenzen und damit über Datenbankvergleich die Zuordnung aus der Umwelt isolierter Proteine zu bestimmten Organismen.

12.3 Metagenomik

Metagenomik (*Community genomics, environmental genomics* und *population genomics* sind Synonyme für dieselbe Arbeitsweise) ist ein umfassender genetischer Ansatz für die molekulare Untersuchung mikrobieller Gemeinschaften. Bei diesem Ansatz wird DNA aus Umweltproben isoliert und nach dem Zufallsprinzip sequenziert „Schrotschusssequenzierung". Früher wurde die DNA in einen passenden Vektor kloniert, die Klone in ein Wirtsbakterium transformiert und die entstandenen Transformanden gescreent. Die Klone können auf phylogenetische Marker oder „Festpunkte", wie 16S-rRNA und *recA,* oder auf andere konservierte Gene mittels Hybridisierung oder auf Expression von spezifischen Eigenschaften, wie Enzymaktivität oder Antibiotikaproduktion gescrennt werden. Jeder Ansatz hat seine Stärken und Grenzen. Gemeinsam haben diese Ansätze unser Wissen über die *„uncultured world"* bereichert und so Einblicke in die Gruppen der Prokaryoten erlaubt, die sonst unbekannt geblieben wären.

Die Umweltgenomik bietet der mikrobiellen Ökologie also einen neuen Ansatz, die Vielfalt der mikrobiellen Welt auf eine bisher nicht mögliche Weise zu erforschen. Die Metagenomik kann also Merkmale einer mikrobiellen Gemeinschaft offen legen, die von dem Einzelgenansatz verfehlt werden. Bei der metagenomischen Untersuchung von Prokaryoten in der Sargasso See wurde so eine enorme Vielfalt entdeckt, die zuvor bei Gemeinschaftsanalysen auf der Grundlage von 16S-rRNA-Analysen nicht erfasst worden war. Dies erklärt sich aus der Tatsache, dass nicht alle 16S-rRNA-Gene mit den in der PCR-Analyse verwendeten, universellen oder domänenspezifischen Primern erfasst werden. Gene, die nicht amplifiziert werden, bleiben natürlich unentdeckt. Die Umweltgenomik umgeht dieses Problem durch die Schrotschusssequenzierung der DNA der Gemeinschaft, ohne sie erst durch PCR zu amplifizieren. Es werden alle Gene sequenziert, ob sie nun amplifizierbar sind oder nicht.

Ein außergewöhnliches Potenzial von Metagenomik ist es, eine gemeinschaftsweite Abschätzung der metabolischen und biogeochemischen Funktion zu erlauben. Die Analyse von spezifischen Funktionen über alle Mitglieder einer Gemeinschaft hinweg kann ein integriertes Modell erzeugen, wie Organismen die Arbeitsteilung beim Erhalt des Ernährungs- und Energiehaushaltes der Gemeinschaft realisieren. Die Modelle können dann mit genetischen und chemischen Ansätzen geprüft werden.

Anfangs wurden nährstoffarme Ökosysteme durch umfangreiche Metagenomische Sequenzierung untersucht. Die mikrobielle Gesellschaft eines sauren Minenwassers ist ein Beispiel für die Analyse einer solchen Gemeinschaft. Später folgten nährstoffreiche, komplex Habitate, in denen unterschiedliche Nährstoffquellen, wie Pflanzenmaterial bei Böden und lipidreiche Knochen bei Walfriedhöfen der Tiefsee vorhanden waren. Die Festlegung des Ursprungs von DNA-Fragmenten und die Zuordnung zu Funktionen ist für solche Gemeinschaften, die phylogenetisch oder physiologisch sehr viel komplexer sind, sicherlich viel schwieriger.

12.3.1 Gemeinschaft eines sauren Minenwassers

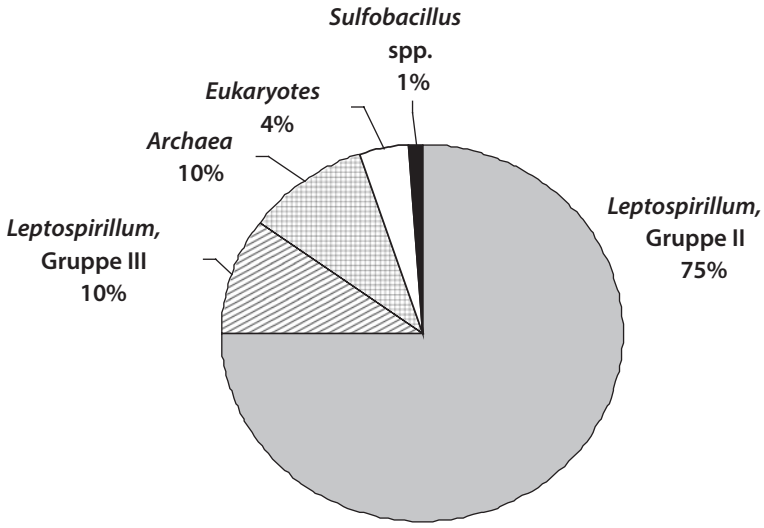
Die fast komplette Sequenzierung des Metagenoms der Gemeinschaft des sauren Abflusses der Richmond Mine in den Iron Mountain (California) ist als Beispiel einer gemeinschaftsweiten Bewertung der metabolischen und biogeochemischen Funktion zu nennen. Die mikrobielle Gemeinschaft bildet einen pinkfarbenen Biofilm, der auf

der Oberfläche des Minenwassers schwimmt, welches eines der extremsten Umweltbedingungen auf der Erde darstellt. Das Wasser unter dem Biofilm hat einen pH-Wert von 0,8 und enthält hohe Konzentrationen an Fe, Zn, Cu, and As. Die Lösung um das Biofilmwasser hat eine Temperatur von 42 °C und ist microaerob. Die Mine ist reich an Sulfiden wie Pyrit (FeS_2). Es gibt keine Quellen für Kohlenstoff und Stickstoff außer die der Luft.

Die Gemeinschaft wird dominiert von wenigen bakteriellen Genera, wie *Leptospirillum* und *Sulfobacillus*, und weniger durch *Acidimicrobium* und eine *Archaea*-Spezies. *Ferroplasma acidarmanus* ist in relativ geringer Menge vorhanden wie auch andere Mitglieder der Gruppe der *Thermoplasmatales.*

Die einfache Struktur der Gemeinschaft machte es möglich, die gesamte DNA zu klonieren und fast die gesamte Sequenz der Gemeinschaft mit hoher Abdeckung zu erhalten. Der GC-Gehalt von jedem Klon bildete einen guten Indikator seiner Herkunft, da sich der GC-Gehalt der Genome der dominanten Taxa in der Mine wesentlich unterschied (◘ Abb. 12.17).

Fast die kompletten Genome von *Leptospirillum* Gruppe II und *Ferroplasma* Typ II wurden rekonstruiert. Wesentliche Sequenzinformationen der anderen Mitglieder der Gemeinschaft wurden berichtet. Die metagenomische Sequenz erlaubt wichtige Schlussfolgerungen bezüglich der metabolischen Aktivitäten. Die *Leptospirillum* Gruppe III enthält Gene, die ähnlich zu denen sind, die bei der Stickstofffixierung fungieren. Dies deutet an, dass diese Gruppe die Gemeinschaft mit fixiertem Stickstoff versorgt. Dies war erstaunlich, da vorher vermutet worden war, dass die zahlenmäßig dominanten Mitglieder der Gemeinschaft, wie *Leptospirillum* Gruppe II, für die Stickstofffixierung verantwortlich wären. Es wurden jedoch keine solchen Gene für die Stickstofffixierung im *Leptospirillum* Gruppe II Genom gefunden. Die Organismen der Gruppe III gehören also zu einer Spezies, welche trotz geringer Anzahl eine unverzichtbare Rolle spielt, ohne die die Gemeinschaft nicht funktioniert. *Ferroplasma* Typ I und II Genome enthalten auch keine Gene, die im Zusammenhang mit der Stickstofffixierung stehen. Sie enthalten aber viele Transporter, die andeuten, dass sie Aminosäuren und andere Stickstoffverbindungen aus der Umwelt aufnehmen (◘ Abb. 12.18).



◘ **Abb. 12.17** Relative mikrobielle Häufigkeit ermittelt durch FISH. (Nach Tyson et al., 2004)

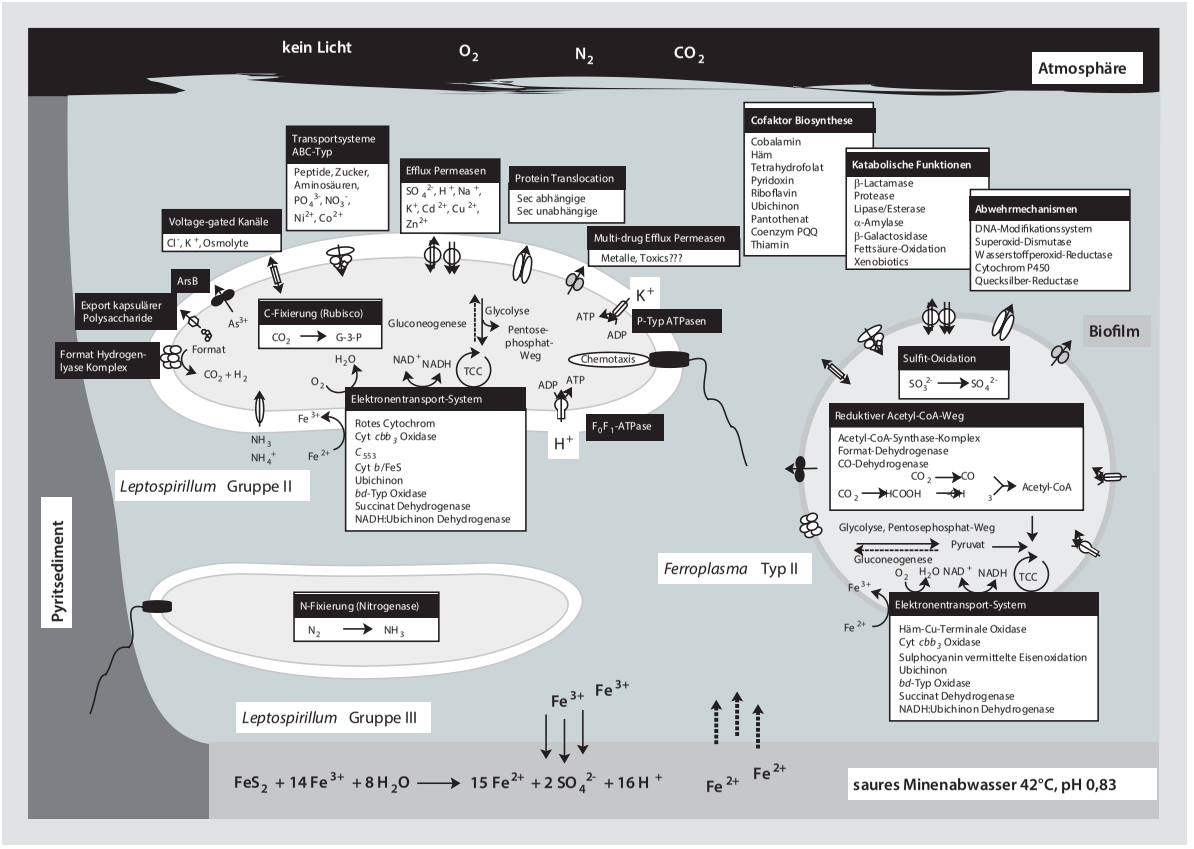


Abb. 12.18 Cartoons der Metabolismen sind nach der Annotation der 2180 OFRs, die im Genom der *Leptospirillum* Gruppe II (63 % mit vermeindlicher Funktion) identifiziert wurden, sowie den 1931 ORFs im *Ferroplasma* Type II Genom (58 % mit zugewiesener Funktion) erstellt worden. *Leptospirillum* Gruppe III ist zugefügt, um seine unverzichtbare Rolle in der Gemeinschaft zu dokumentieren, die Stickstofffixierung. Die Zellen sind in einem Biofilm gezeigt, der sich an der Oberfläche des sauren Minenwassers befindet. Die enge Kopplung von Eisenoxidation, Pyritauflösung und Säurebildung ist gezeigt. Rubisco, Ribulose-1,5-Bisphosphat-Carboxylase/Oxygenase, THF, Tetrahydro-folat (verändert und ergänzt nach Tyson et al., 2004)

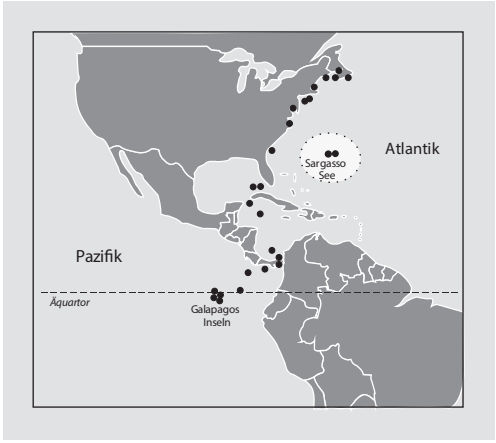


Abb. 12.19 Verlauf der Sorcerer II **G**lobal **O**cean **S**ampling Expedition (GOS). Probenahmepunkte sind gezeigt

Energie scheint von *Ferroplasma* wie auch *Leptospirillum* spp. durch Eisenoxidation erzeugt zu werden. Die Genome der beiden Gruppen enthalten Elektronentransportketten, die sich beträchtlich voneinander unterscheiden. Die Genome der *Leptospirillum* Gruppe II und III kodieren für mögliche Cytochrome, die typischerweise eine hohe Affinität zu Sauerstoff haben. Die Cytochrome können eine Rolle bei der Energieerzeugung wie auch dem Erhalt eines niedrigen Sauerstoff-Partialdruckes spielen, wodurch der sauerstoff-sensitive Nitrogenase-Komplex der *Leptospirillum* Gruppe III geschützt ist.

Alle Genome im sauren Minenabfluss sind reich an Genen, die mit der Beseitigung von möglichen toxischen Elementen aus der Zelle verbunden sind. Protonen-Effluxsysteme sind wichtig für die Energiegewinnung und auch für den Erhalt eines neutralen innerzellulären pH-Wertes verantwortlich. Metallresistenzfaktoren pumpen Metalle aus den Zellen, sodass ein nicht-toxisches Niveau innerhalb der Zellen existiert.

12.3.2 Gemeinschaft der Sargasso See

Die nordwestliche Sargasso See vor der Küste der Bermuda-Inseln im Atlantik ist eine der am besten untersuchten Regionen der Ozeane (siehe Abb. 12.19.). Der Golfstrom bildet die westlichen und nördlichen Grenzen dieser Region und bietet eine starke physikalische Grenze, die den oligotrophen offenen Ozean von dem nährstoffreichen Wasser des U.S. Kontinentalsockels trennt. Die Sargasso See ist also ein nährstoffarmes Gebiet, das von Meeresbiologen häufig mit einer Wüste verglichen wird.

In dieser Region tritt jeden Winter die Bildung von subtropischem Auftriebswasser auf, wenn die Kaltfronten über ihr die saisonale Sprungsschicht auflösen und ein konvektives Mischen bewirken, sodass gemischte Schichten bis zur Tiefe von 150 bis 300 m resultieren. Die Zuführung von nährstoffreichem Tiefenwasser, welche dem Zusammenbruch der saisonalen Sprungsschichten in die gut beleuchteten Oberflächenwasser folgt, führt zum massenhaften Wachstum von Einzelzell-Phytoplankton, einschließlich der beiden Cyanobakterien, *Synechococcus* und *Prochlorococcus,* die numerisch die photosynthetische Biomasse in der Sargasso See dominieren.

Eine der umfangreichsten mikrobiellen Metagenomuntersuchungen im Ozean war die Schrotschusssequenzierung der Mikroorganismen der Sargasso See (Venter et al., 2004). Aus 170 bis 200 L Oberflächenwasser wurde genomische DNA von Filtern mit der Porengröße 0,1 bis 3,0 µm extrahiert. Genombibliotheken mit Insert-Größen von 2 bis 6 kb wurden hergestellt und die erzeugten Plasmidklone von beiden Enden her sequenziert.

Die Sargasso See ist im Vergleich zu dem abgeschlossenen System des sauren Minenwassers ein großräumiges und komplexes Ökosystem. Die In- und Outputs sind also sehr viel schwieriger zu quantifizieren. Die Phylogenie der Mitglieder der Gemeinschaft ist bisher nicht ausgiebig und sorgfältig untersucht worden.

Basierend auf den Sequenz-Verwandtschaften und den einmaligen rRNA Gen-Zählungen deuten die Analysen an, dass die DNA-Fragmente von mindestens 1800 genomischen Spezies stammen, wobei dies 148 bisher unbekannte bakterielle phylogenetische Typen beinhaltet (Venter et al., 2004).

In der Studie wurden etwa 2 Mio. Sequenzstücke erzeugt, die über 1,6 Mrd. Basenpaare Roh-DNA-Sequenzen enthielten. Venter et al. behaupteten, dass 1,2 Mio. neue Gene entdeckt worden seien. Die Zahl ist erstaunlich, da in der SwissProt Datenbank 2004 nur Einträge von etwa 140.000 Proteinen zu finden waren.

Verblüffende Rückschlüsse konnten aufgrund der ungeheuren Größe des Datensatzes gezogen werden. Die Autoren ordneten 794.061 Gene einer konservierten hypothetischen Proteingruppe zu, welche Gene beinhaltet, denen eine Funktion nicht zweifelsfrei zugeordnet werden konnte. Die nächste, weit verbreitete Gruppe bildeten 69.718 Gene, die wahrscheinlich Proteine kodieren, die in der Energiegewinnung fungieren. Innerhalb der 1,2 Mio. möglichen Protein-kodierenden Gene wurden 782 neue Rhodopsin-ähnliche Photorezeptoren, die lichtgetriebenen Protonenpumpen bestimmter Proteobakterien, identifiziert. Damit erhöht sich die Anzahl der sequenzierten Proteorhodopsin-Gene um das 10-fache und bestärkte damit die Bedeutung dieses Typs von Phototrophie in der oberen Meereszone. Es zeigte sich eine Verknüpfung der Rhodopsin-Gene mit solchen Genen, die phylogenetische Zugehörigkeit anbieten, wie Gene, die Untereinheiten der RNA Polymerase kodieren. Die Proteorhodopsine sind also über Taxa verteilt, von denen bisher nicht bekannt war, dass sie lichtnutzende Funktionen besitzen, inklusive des Bacteroidetes-Phylum. Da man bisher noch keine Kulturen dieser Organismen erhalten konnte, sind die Zusammenhänge zwischen dieser Form des Stoffwechsels und den speziellen Stammesgeschichten vorher nicht vermutet worden (◘ Tab. 12.4).

In einer Umgebung wie der Sargasso See, von der eigentlich angenommen wurde, dass sie artenarm ist, wurde bei dieser metagenomischen Untersuchung eine enorme Vielfalt entdeckt, die zuvor bei Gemeinschaftsanalysen auf der Grundlage von 16S-rRNA-Analysen nicht erfasst worden war.

Weiter wurden in der Sargosso See-Studie in manchen Fällen innerhalb der Genome phylogenetischer Gruppen Gene für spezifische Stoffwechselleistungen gefunden, die vorher unbekannt waren. So wurde etwa das Gen für die Ammoniakmonooxygenase – das Schlüsselenzym Ammoniak-oxidierender Bakterien – in den Genomgerüsten von Archaea entdeckt. Obwohl Ammoniak-oxidierende Archaea noch nie beschrieben worden sind, hat die Umweltgenomik aufgezeigt, dass diese mit großer Sicherheit existieren.

Eine weitere erstaunliche Beobachtung ist, dass viele Genome der Sargasso See-Gene Ähnlichkeit zu solchen aufwiesen, die in der Phosphataufnahme oder der Verwertung von Polyphosphaten und Pyrophosphat fungieren, welche in dem extrem phosphatlimitierten Ökosystem notwendig sind. Das Verständnis über die Nährstoffzyklen wird durch die Rekonstruktion der Genome und funktionsspezifische Analysen anwachsen.

Merkmale einer mikrobiellen Gemeinschaft, die von dem Einzelgenansatz verfehlt werden, können durch Metagenomik offengelegt werden. Die Umweltgenomik kann zudem neben vielen anderen Dingen neue Gene in bekannten Organismen und bekannte Gene in neuen Organismen nachweisen. Es gibt aber auch mögliche **Missinterpretationen bei einer Metagenomik.** So wurde eine spezifische Gruppe von Mikroorganismen bei der Sargosso See-Studie identifiziert. Ein Organismus, sehr wahrscheinlich ein Mitglied des Genus *Burkholderia,* hat eine 21-fache Abdeckung und beinhaltet 38,5 % der Sequenzdaten in einem der vier Wasserproben. *Burkholderia* ist typisch für terrestrische Umweltproben und der Nachweis der Spezies im Meer mit solch hoher Frequenz führte dazu, dass die Autoren vermuteten, dass terrestrische oder Küsten-Mikroorganismen eine bedeutende Rolle in marinen mikrobiellen Gemeinschaften spielen. Diese Interpretation wurde jedoch angezweifelt und das starke Vorkommen von *Burkholderia*-ähnlichen Sequenzen in einer Probe auf eine mögliche Kontamination der Original-Wasserprobe in der Venter et al. (2004) Studie zurückgeführt. Solch eine Enthüllung zeigt auf, dass man extreme Vorsicht walten lassen muss, wenn man mikrobielle Metagenomanalysen durchführt. Nichtsdestotrotz, zeigt die Rekonstruktion von kompletten

Tab. 12.4 Genzuordnung nach den Kategorien *The Institute for Genomic Research* (TIGR)

The Institute for Genomic Research (TIGR) Kategorien	Zahl der Gene
Aminosäurebiosynthese	37.118
Biosynthese von Cofaktoren, prosthetischen Gruppen und Carriern	25.905
Zellhülle	27.883
Zellulare Prozesse	17.260
Zentraler Intermediärmetabolismus	13.639
DNA-Metabolismus	25.346
Energiemetabolismus	69.718
Fettsäure- und Phospholipidmetabolismus	18.558
Funktionen zu mobilen und extrachromosomalen Elementen	1061
Proteinverbleib	28.768
Proteinsynthese	48.012
Purine, Pyrimidine, Nucleoside und Nucleotide	19.912
Regulatorische Funktionen	8392
Signaltransduktion	4817
Transkription	12.756
Transport- und Bindeproteine	49.185
Unbekannte Funktion	38.067
Verschiedenes	1864
Konservierte, hypothetische	794.061
Gesamtzahl der zugeordneten Kategorien	1.242.230
Gesamtzahl der Gene	1.214.207

Zu beachten ist, dass 28.023 Gene mehr als einer Kategorie zugeordnet wurden. 23 Funktionskategorien der erwarteten Gene umfassen die als COGs (Cluster von orthologen Gruppen), bekannt Lebensvorgänge wie: „Informationsspeicherung und –verarbeitung", „zelluläre Prozesse" und „Stoffwechsel"

Genomen, dass die Schrotschusssequenzierung von DNA aus mikrobiellen Gemeinschaften der Umwelt ein kraftvoller Ansatz bei zukünftigen Untersuchungen zur mikrobiellen Ökologie ist.

12.3.3 Die Global Ocean Sampling Expedition

Eine metagenomische Studie wurde als Teil der Sorcerer II Global Ocean Sampling Expedition durchgeführt. Marine, planktonische Mikroorganismen wurden aus Proben in Oberflächenwasser analysiert, die über mehrere tausend km vom Nordatlantik durch den Panama Canal und endend im Südpazifik genommen worden waren. Eine riesige Datenfülle von 7,7 Mio. Sequenzstücken (6,3 Mrd. bp) wurde erzeugt.

Da PCR verschiedene systematische Fehler einbauen kann, wurden die 16S-rRNA Gene direkt aus dem ursprünglichen GOS gewonnen. Insgesamt wurden 4125 gesamte oder Teile der 16S-rRNA-Gene identifiziert. Die Zusammenlagerung dieser Sequenzen bei 97 % Identität ergab insgesamt 811 deutliche Ribotypen. Etwa die Hälfte (48 %) der GOS-Ribotypen konnte Ribotypen zugeordnet werden, die in öffentlichen Datenbanken vorlagen.

Das bedeutet, dass mehr als die Hälfte der Ribotypen in dem GOS-Datensatz als „neu" anzusprechen sind. Insgesamt zeigt die taxonomische Verteilung der durch Schrotschusssequenzierung gesammelten GOS-Ribotypen Übereinstimmung mit den früher publizierten PCR-basierten Studien von marinen Habitaten.

Ein kleiner Anteil der GOS-Ribotypen (16 %) unterscheidet sich um mehr als 10 % von den öffentlich verfügbaren 16S-rRNA-Gensequenzen, das heißt sie sind neu auf der Familien-Ebene.

Eine Erhebung der mikrobiellen Ribotypen erlaubte es, die Weite der Abstammung zu identifizieren und ihren Beitrag zum GOS-Datensatz abzuschätzen. Von den 811 Ribotypen enthalten 60 mehr als eine 8-fache Absicherung der 16S-rRNA-Gene. Gemeinsam tragen diese 60 Ribotypen zu 73 % der gesamten 16S-rRNA-Gensequenzdaten bei. Bis auf einen wurden die 60 Ribotypen schon früher nachgewiesen, wobei nur ein paar nahe Verwandte in kompletten oder nahezu kompletten Genomsequenzierungsprojekten vorhanden sind.

Einige andere verbreitete 16S-rRNA-Gensequenzen gehören zu bekannten Umwelt-Ribotypen von denen es keine kultivierten Stellvertreter gibt (zum Beispiel SAR86, *Roseobacter* NAC-1–2 und andere Zweige von SAR11 als der der *Pelagibacter ubique* beinhaltet). Interessanterweise sind *Archaea* fast abwesend auf der Liste der dominanten Organismen in diesen Proben nahe der Wasseroberfläche. Die Verteilung der Ribotypen lässt eindeutige mikrobielle Gemeinschaften erkennen. Nur eine Handvoll der Ribotypen scheint allgemein verbreitet vorzukommen. Diese sind dominiert von Verwandten von SAR11 und SAR86.

SAR 11
SAR11 ist der zahlenmäßig dominierende Mikroorganismus in der Ozeanoberfläche, der als *Pelagibacter ubique* SAR11 Bakterien umbenannt wurde. Er macht 35 % der gesamten Prokaryoten im Oberflächenwasser des Ozeans aus. Bisher ist wenig über seine Beteiligung an biogeochemischen Kreisläufen des Meeres bekannt. Frühe Studien berichteten, dass SAR11-Bakterien sehr klein sind und sie nur wenige Ribosomen haben. Dies deutet an, dass SAR11-Bakterien nur niedrige Stoffwechselaktivitäten haben und sie trotz ihrer Verbreitung nur eine geringere Rolle im Fluss von gelösten organischen Stoffen spielen.

Viele der Ribotypen, die in einer oder mehreren Proben dominieren, scheinen in einem der isolierten marinen Oberflächenhabitate vorzukommen. Zum Beispiel sind mehrere SAR11, SAR86 und *Alphaproteobacteria* wie auch die *Acidimicrobidae*-Gruppe, im Oberflächenwasser weitverbreitet, während eine zweite Nische durch tropische Proben repräsentiert wird, die einige verschiedene SAR86, *Synechococcus* und *Prochlorococcus,* und die *Rhodospirillaceae*-Gruppe enthält. Andere Ribotypen, verwandt mit *Roseobacter* RCA, SAR11 und *Gammaproteobacteria* sind in den Proben der gemäßigten Breiten verbreitet. Sie sind aber nicht in den tropischen oder Sargasso See-Proben beobachtet worden.

Es überrascht nicht, dass Proben aus nicht-mariner Umwelt, Brackwasser und Fraktionen aus Filterung mit größerer Porenweite unterschiedliche charakteristische Ribotypen hatten (◘ Tab. 12.5).

Tab. 12.5 Taxonomische Zuordnung der GOS Proben aufgrund von 16S-rDNA Daten mittels Schrotschusssequenzierung

Phylum oder Classa	Anteile (Werte sind Mittelwerte aller Proben)
Alphaproteobacteria	0,32
Nicht-klassifizierte *Proteobacteria*	0,155
Gammaproteobacteria	0,132
Bacteroidetes	0,13
Cyanobacteria	0,079
Firmicutes	0,075
Actinobacteria	0,046
Marine Gruppe A	0,022
Betaproteobacteria	0,017
OP11	0,008
Nicht-klassifizierte *Bacteria*	0,008
Deltaproteobacteria	0,005
Planctomycetes	0,002
Epsilonproteobacteria	0,001

„candidate division" OP11 (Hugenholtz et al., 1998)

Mikrobielle Gemeinschaften, ein Überblick

Einige metagenomische Sequenzierungen sowohl von nährstoffarmen Ökosystemen als auch von nährstoffreichen, komplexen Habitaten sind in Tab. 12.6 zusammengefasst. Wenn man sich anschaut, welche Organismen die verschiedenen Ökosysteme dominieren, so sieht man deutliche Unterschiede im Besatz mit *Archaea, Eukarya, Prophagen, Bacteria* und *Virus* (Abb. 12.20).

Gemeinschaft Menschlicher Darm

Alle Pflanzen und Tiere einschließlich des Menschen sind mikrobiell besiedelt und enthalten zehnmal mehr Bakterien als eigene Zellen und etwa 100–150 mal mehr bakterielle Gene als eigene Gene. Die neuen Sequenzier-Technologien haben es möglich gemacht, einen quantitativen wie qualitativen Einblick in die uns besiedelnden Bakterien zu erhalten. Der menschliche Darm beherbergt schätzungsweise 10 bis 100×10^{12} Bakterien, die hunderte, wenn nicht tausende von verschiedenen Arten repräsentieren (Turnbaugh et al., 2007). Tab. 12.7 zeigt, welche Organismen sich und wo im menschlichen Darm aufhalten. Ferner wird ihr Metabolismus angesprochen. Eigenschaften des Menschen wurden erlangt durch den Erwerb der mikrobiellen Symbionten wie die Fähigkeit eine größere Menge an pflanzlichen Polysacchariden abzubauen. Die mikrobielle Fermentation stellt etwa 10 % der täglichen Energie der westlichen Ernährung zur Verfügung. 16S-rRNA-Sequenz-basierte Methoden machen deutlich, dass zwei bakterielle Abteilungen, *Bacteroidetes*

und *Firmicutes,* über 90 % der bekannten phylogenetischen Kategorien ausmachen und die mikrobielle Population des distalen Darms dominieren. *Bacteriodetes* sind gramnegative obligat anaerobe Bakterien; bei den *Firmicutes* handelt es sich um grampositive Bakterien mit den vorherrschenden Gattungen *Streptococcus, Lactobacillus, Bacillus* und *Clostridium.*
Trotz der Tatsache, dass ein signifikanter Teil der Darmbakterien noch nicht kultiviert worden ist, sind derzeit über 1000 verschiedene Mikrobenarten, die im menschlichen Gastrointestinaltrakt vorkommen, identifiziert worden. Die 1.057 Spezies im Darm beinhalten Eukarya (92), Archaea (8) und Bakterien (957) und basieren auf den phylogenetischen Untersuchungen der Sequenzen der RNA-Gene der kleinen Untereinheit der Ribosomen.
Die in 150 Jahren gesammelten detaillierten physiologischen und genetischen Informationen von Reinkulturen, die aus dem Darm isoliert worden waren, wurden den Metagenom-Daten zugeordnet (Rajilić-Stojanović & de Vos, 2014).
Im Rahmen einer Studie wurden 1135 Stuhlproben von niederländischen Teilnehmern untersucht. Dabei wurden insgesamt 126 Faktoren ausmacht, die Einfluss auf die Zusammensetzung des Mikrobioms haben. Dazu gehören 60 Ernährungsfaktoren, 12 Krankheiten, 19 Medikamente und vier Faktoren, die mit dem Rauchen zusammenhängen. Unser Mikrobiom dient als eine Art Fingerabdruck, der alle möglichen Arten von Signalen der Gesundheit widerspiegelt. Es wurde festgestellt, dass Frauen zu einer größeren mikrobiellen Diversität neigen als Männer und ältere Menschen mehr als Jüngere (Zhernakova et al., 2016).

Tab. 12.6 Beispiele für Analysen von mikrobiellen Gemeinschaften mittels metagenomischer Sequenzierung

Ökosysteme	Literatur
Nährstoffarme	
Sargasso See	Venter et al. (2004)
Global Ocean Sampling	Rusch et al. (2007)
Plankton der Chesapeake Bay	Bench et al. (2007)
Biofilm des sauren Minenwassers	Tyson et al. (2004)
Mikrobielles Ökosystem einer tiefen Mine	Edwards et al. (2006)
Städtische Innenraumluft	Tringe et al. (2008)
Nährstoffreiche	
Menschlicher Gastrointestinaltrakt	Gill et al. (2006), Qin et al. (2010), Walter und Ley (2011), Zhang et al. (2006)
Böden	Fierer et al. (2007), Riesenfeld et al. (2004), Rondon et al. (2000)
Wurm, ohne Mund, Darm und Nephridia	Woyke et al. (2006)
Termitendickdarm	Warnecke et al. (2007)
Tiefsee Walkadaver	Smith & Baco (2003), Tringe et al. (2005)

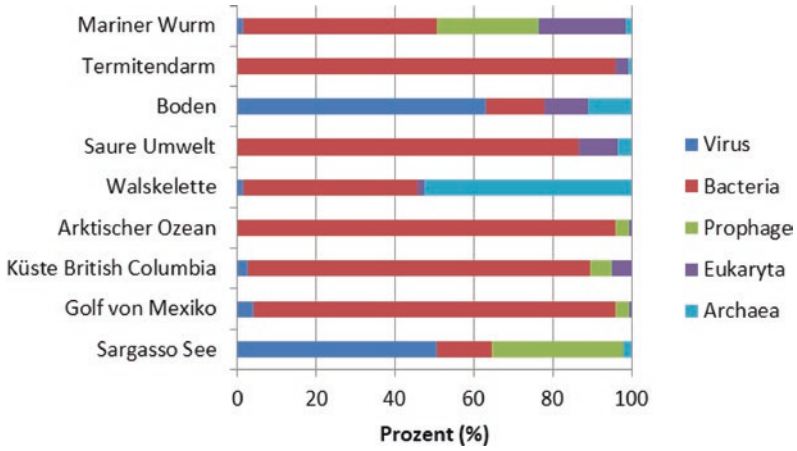


Abb. 12.20 Phylogenetische Zusammensetzung einer Vielzahl von Gemeinschaften in der Umwelt. Die Ergebnisse sind Durchschnittswerte von insgesamt 700 Mbp. Wie man sehen kann, ist die Zusammensetzung sehr verschieden zwischen den geographischen und nischen-spezifischen Ökosystemen. (Mit Daten von Vieites et al., 2009)

Tab. 12.7 Genomgrößen, Habitate und Metabolismus von Bakterien des menschlichen Darms (Nach Qin et al., 2010)

Organismus	Habitat	Stoffwechselaktivität	Genomgröße (Mb)
Bacteroides thetaiotaomicron	Dickdarm	Saccharolyse	6,3
Bacteroides vulgatus	Dickdarm	Saccharolyse	5,2
Parabacteroides distasonis	Dickdarm	Saccharolyse	4,8
Escherichia coli	Dünndarm, Dickdarm	Fermentation von einfachen Zuckern und Aminosäuren	4,5
Roseburia intestinalis	Dickdarm	Saccharolyse, Butyratbildner	4,2
Eubacterium rectale	Dickdarm	Saccharolyse, Butyratbildner	3,4
Faecalibacterium prausnitzii	Dickdarm	Saccharolyse, Butyratbildner	3,1
Bifidobacterium adolescentis	Dickdarm	Dietische Kohlenhydrate	2,1
Lactobacillus reuteri	Dünndarm	Wirtsspezifische Fermentation von einfachen Zuckern und 1,2-Propandiol	2,0
Methanobrevibacter smithii	Dickdarm	Methanbildner	1,9
Helicobacter pylori	Magen	Verbrauch von einfachen Zuckern und Aminosäuren	<1,67

12.3.4 Sequenzdaten und Funktionalität – eine kritische Sicht

Die gewaltige Aufgabe von Metagenomik ist es, einen Zugang zu der enormen Biodiversität der mikrobiellen Welt zu schaffen, sie zu analysieren und auszuschöpfen. Die Grenzen der Technik müssen aber verdeutlicht werden.

Ein großer Engpass bei Fortschritten ist die große Anzahl von irreführenden Zuordnungen in gegenwärtigen Datenbanken. Viele falsche oder fehlerhafte Annotationen werden verewigt und haben damit große Auswirkungen. Ohne experimentelle Absicherung, das heißt Plausibilitätsprüfung, können Fehlinterpretationen nicht korrigiert werden. Datenbanken sind nur so brauchbar wie die Qualität der Daten, die sie beinhalten. Bioinformatik ist nur so gut, wie die Information, die in die Computer eingegeben worden ist.

Generell ist ein Mangel an funktionaler Analyse mit ausreichender Qualität der rasch anwachsenden Zahl genomischer Sequenzen und Gene festzustellen.

Fortschritte der mikrobiellen Wissenschaften sind nicht nur von der Verfügbarkeit von innovativen Sequenzierungsplattformen abhängig. Sie müssen auch auf Sequenz-unabhängigen Werkzeugen beruhen, um Einblicke in das Funktionieren mikrobieller Gemeinschaften zu bekommen. Die Gründe dafür sind klar: Jedes Einzelzell- oder Umweltgenomprojekt fügt eine große Anzahl „mutmaßlicher" Gene hinzu, deren Funktionen häufig unbekannt und im besseren Fall aus Sequenzvergleichen abgeleitet worden sind. Weiterhin können sogar die besten Zuordnungen nur Hypothesen der Funktionalität und Substratspektren der Proteine liefern. Experimentelle Untersuchungen der klassischen Disziplinen wie Physiologie und Biochemie sind notwendig. Sequenzdaten werden kaum die Spezifität von Enzymen abschätzen lassen.

Sinnvolles aus Umweltsequenzdaten zu entnehmen ist zudem häufig aufgrund folgender Tatsache schwierig: eine bedeutende Menge der *open reading frames* kann nicht charakterisiert werden, da keine ähnlichen Sequenzen in Datenbanken vorhanden sind.

Testen Sie Ihr Wissen

Beschreiben Sie die Grundlagen der Bakterienidentifizierung bei Nutzung von DNA/RNA.

Aus welchen grundlegenden Prozessen in Organismen wurde die PCR abgeleitet? Gibt es dort auch Primer?

Warum betreibt man den komplexen Temperaturzyklus bei der PCR? Was haben thermophile Organismen mit der PCR zu tun?

Welchen Trick hat Sanger für die DNA-Sequenzierung beigetragen?

Was versteht man unter Hybridisierung, was unter einer Gensonde?

Was ist ein „Alignment"? Worüber gibt es Auskunft?

Sie sind konfrontiert mit dem Begriff „RT-PCR". Ist damit eindeutig klar, was gemeint ist?

Welches Messsignal wird bei der Pyrosequenzierung genutzt?

Diskutieren Sie die Unterschiede zwischen Pyrosequenzierung und Sanger-Methode.

Nennen Sie mehrere Möglichkeiten, wie bei der *real-time* PCR ein Fluoreszenz-Signal erzeugt werden kann?

Was versteht man unter einer Brücken-Amplifikation? Bei welcher Technik spielt sie eine Rolle?

Warum erlaubt die PCR nicht wirklich quantitative Analysen?

Nennen Sie mehrere Möglichkeiten, um ausgehend von dem PCR-Produkt der 16S-rDNA aus einer mikrobiellen Lebensgemeinschaft zu Signalen zu kommen, die zum Beispiel für Arten oder Gattungen charakteristisch sind!

Nennen Sie zwei Möglichkeiten der Hochdurchsatz-Sequenzierung!

Die Umweltgenomik umfasst die Schrotschusssequenzierung und Analyse der kollektiven Genome von Organismen, die in einer mikrobiellen Gemeinschaft anwesend sind. Was ist ein Metagenom?

Literatur

Amann, R. I., Ludwig, W., Schleifer, K. H. 1995. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. Microbiol. Rev. 59:143–169.

Bench, S. R., Hanson, T. E., Williamson, K. E., Ghosh, D., Radosovich, M., Wang, K., Wommack, K. E. 2007. Metagenomic characterization of Chesapeake Bay virioplankton. Appl. Environ. Microbiol. 23: 629–7641.

Edwards, R. A., Rodriguez-Brito, B., Wegley, L., Haynes, M., Breitbart, M., Peterson, D. M., Saar, M. O., Alexander, S., Alexander, Jr E. C., Rohwer, F. 2006. Using pyrosequencing to shed light on deep mine microbial ecology. BMC Genomics 7:57 ► https://doi.org/10.1186/1471-2164-7-57.

Fierer, N., Breitbart, M., Nulton, J., Salamon, P., Lozupone, C., Jones, R., Robeson, M., Edwards, R. A., Felts, B., Rayhawk, S., Knight, R., Rohwer, F., Jackson, R. B. 2007. Metagenomic and small-subunit rRNA analyses reveal the genetic diversity of bacteria, archaea, fungi, and viruses in soil. Appl. Environ. Microbiol. 73:7059–7066.

Gill, S. R., Pop, M., Deboy, R. T., Eckburg, P. B., Turnbaugh, P. J., Samuel, B. S., Gordon, J. I., Relman, D. A., Fraser-Liggett, C. M., Nelson, K. E. 2006. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome. Science 312:1355–1359.

Hugenholtz, P., Goebel, B. M., Pace, N. R. 1998. Impact of culture-independent studies on the emerging phylogenetic view of bacterial diversity J. Bacteriol. 180:4765–4774.

Nelson, D. L., Cox, M. M. 2005. Lehninger Principles of Biochemistry, 4th ed. W. H. Freeman & Company, New York.

Qin, J., Li, R., Raes, J., Arumugam, M., Burgdorf, K. und 84 weitere Autoren. 2010. A human gutmicrobial gene catalogue established by metagenomic sequencing. Nature 464:59–65.

Rajilić-Stojanović, M.,. de Vos, W. M. 2014. The First 1,000 Cultured Species of the Human Gastrointestinal Microbiota. FEMS Microbiol. Rev.► https://doi.org/10.1111/1574-6976.12075.

Riesenfeld, C. S., Goodman, R. M., Handelsman, J. 2004. Uncultured soil bacteria are a reservoir of new antibiotic resistance genes. Environ. Microbiol. 6:981–989.

Rondon, M. R., August, P. R., Bettermann, A. D., Brady, S. F., Grossman, T. H., Liles, M. R., Loiacono, K. A., Lynch, B. A., MacNeil, I. A., Minor, C., Tiong, C. L., Gilman, M., Osburne, M. S., Clardy, J., Handelsman, J. Goodman, R. M. 2000. Cloning the soil metagenome: a strategy for accessing the genetic and functional diversity of uncultured microorganisms. Appl. Environ. Microbiol. 66:2541–2547.

Rusch, D. B., Halpern, A. L., Sutton, G., Heidelberg, K. B., Williamson, S., Yooseph, S., Wu, D., Eisen, J. A., Hoffman, J. M., Remington, K., Beeson, K., Tran, B., Smith, H., Baden-Tillson, H., Stewart, C., Thorpe, J., Freeman, J., Andrews-Pfannkoch, C., Venter, J. E., Li, K., Kravitz, S., Heidelberg, J. F., Utterback, T., Rogers, Y.-H., Falcón, L. I., Souza, V., Bonilla-Rosso, G., Eguiarte, L. E., Karl, D. M., Sathyendranath, S., Platt, T., Bermingham, E., Gallardo, V., Tamayo-Castillo, G., Ferrari, M. R., Strausberg, R. L., Nealson, K., Friedman, R., Frazier, M., Venter, J. C. 2007. The Sorcerer II Global Ocean Sampling expedition: Northwest Atlantic through eastern tropical Pacific. PLoS Biol 5(3): e77. 0398–0431 ► https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0050077.

Smith, C.R., Baco, A.R. 2003. Ecology of whale falls at the deep-sea floor. In: Oceanography and Marine Biology: an Annual Review. (Gibson, R. N., Atkinson, R. J. A., eds., Taylor & Francis 41:311–354.

Tringe, S. G., von Mering, C., Kobayashi, A., Salamov, A. A., Chen, K., Chang, H. W., Podar, M., Short, J. M., Mathur, E. J., Detter, J. C., Bork, P., Hugenholtz, P., Rubin, E. M. 2005. Comparative metagenomics of microbial communities. Science 308:554–557.

Tringe, S. G., Zhang, T., Liu, X., Yu, Y., Lee, W. H., Yap, J., Yao, F., Suan, S. T., Ing, S., Haynes, M., Rohwer, F., Wei, C. L., Tan, P., Bristow, J., Rubin, E. M., Ruan, Y. 2008. The Airborne Metagenome in an Indoor Urban Environment. PLoS ONE 3(4): e1862. ► https://doi.org/10.1371/journal.pone.0001862.

Turnbaugh, P. J., Ley, R. E., Hamady, M. Fraser-Liggett, C., Knight, R., Gordon, J. I. 2007. The human microbiome project. Nature 449:804–810.

Tyson, G. W., Chapman, J., Hugenholtz, P., Allen, E. E., Ram, R. J., Richardson, P. M., Solovyev, V. V., Rubin, E. M., Rokhsar, D. S., Banfield, J. F. 2004. Community structure and metabolism through reconstruction of microbial genomes from the environment. Nature 428:37–43.

Venter, J. C., Remington, K., Heidelberg, J. F., Halpern, A. L., Rusch, D., Eisen, J. A., Wu, D., Paulsen, I., Nelson, K. E., Nelson, W., Fouts, D. E., Levy, S., Knap, A. H., Lomas, M. W., Nealson, K., White, O., Peterson, J., Hoffman, J., Parsons, R., Baden-Tillson, H., Pfannkoch, C., Rogers, Y. H., Smith, H. O. 2004. Environmental genome shotgun sequencing of the Sargasso Sea. Science 304:66–74.

Vieites, J. M., Guazzaroni, M.-E., Beloqui, A., Golyshin, P. N., Ferrer M. 2009. Metagenomics approaches in systems microbiology. FEMS Microbiol. Rev. 33:236–255.

Walter, J., Ley, R. 2011. The Human Gut Microbiome: Ecology and recent evolutionary changes. Annu. Rev. Microbiol. 65:411–429.

Warnecke, F., Luginbühl, P., Ivanova, N., Ghassemian, M., Richardson, T. H., Stege, J. T., Cayouette, M.,

McHardy, A. C., Djordjevic, G., Aboushadi, N., Sorek, R., Tringe, S. G., Podar, M., Garcia Martin, H., Kunin, V., Dalevi, D., Madejska, J., Kirton, E., Platt, D., Szeto, E., Salamov, A., Barry, K., Mikhailova, N., Kyrpides, N. C., Matson, E. G., Ottesen, E. A., Zhang, X., Hernández, M., Murillo, C., Acosta, L. G., Rigoutsos, I., Tamayo, G., Green, B. D.,. Chang, C, Rubin, E. M., Mathur, E. J., Robertson, D. E., Hugenholtz, P., Leadbetter, J. R. 2007. Metagenomic and functional analysis of hindgut microbiota of a wood-feeding higher termite. Nature 450:560–565.

Woyke, T., Teeling, H., Ivanova, N.N., Huntemann, M., Richter, M., Gloeckner, F. O., Boffelli, D., Anderson, I. J., Barry, K. W., Shapiro, H. J., Szeto, E., Kyrpides, N. C., Mussmann, M., Amann, R., Bergin, C., Ruehland, C., Rubin, E. M., Dubilier, N. 2006. Symbiosis insights through metagenomic analysis of a microbial consortium. Nature 443:950–955.

Zhang, T., Breitbart, M., Lee, W. H., Run, J. Q., Wei, C. L., Soh, S. W., Hibberd, M. L., Liu, E. T., Rohwer, F., Ruan, Y. 2006. RNA viral community in human feces: prevalence of plant pathogenic viruses. PLoS Biol 4: e3.

Zhernakova, A., Kurilshikov, A., Bonder, M. J., Tigchelaar, E. F., Schirmer, M., Vatanen, T., Mujagic, Z., Vila, A. V., Falony, G., Vieira-Silva, S., Wang, J., Imhann, F., Brandsma, E., Jankipersadsing, S. A., Joossens, M., Cenit, M. C., Deelen, P., Swertz, M. A, Weersma, R. K, Feskens, E. J., Netea, M. G., Gevers, D., Jonkers, D., Franke, L., Aulchenko, Y. S., Huttenhower, C., Raes, J., Hofker, M. H., Xavier, R. J., Wijmenga, C., Fu, J. 2016. Population-based metagenomics analysis reveals markers for gut microbiome composition and diversity. *Science* 352:565–569.

12

Weiterführende Literatur

Akkermans, A. D. L., van Elsas, J. D., de Bruijn, F. J. 1995. Molecular Microbial Ecology Manual. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, London.

Béjà, O., Aravind, L., Koonin, E. V., Suzuki, M. T., Hadd, A., Nguyen, L. P., Jovanovich, S. B., Gates, C. M., Feldman, R. A., Spudich, J. L., Spudich, E. N., DeLong, E. F. 2000. Bacterial rhodopsin: Evidence for a new type of phototrophy in the sea. Science 289:1902–1906.

Daniel, R. 2005. The metagenomics of soil. Nat. Rev. Microbiol. 3:470–478.

DeLong, E. F. 2005. Microbial community genomics in the ocean. Nat. Rev. Microbiol. 3:459–469.

DeLong, E. F. 2005. Microbial community genomics in the ocean. Nature Reviews. Microbiology 3:459–469.

DeLong, E. F., Preston, C. M., Mincer, T., Rich, V., Hallam, S. J., Frigaard, N. U., Martinez, A., Sullivan, M. B., Edwards, R., Brito, B. R., Chisholm, S. W., Karl, D. M. 2006. Community genomics among stratified microbial assemblages in the ocean's interior. Science 311:496–503.

Deutschbauer, A. M., Chivian, D., Arkin, A. P. 2006. Genomics for environmental microbiology. Curr. Opin. Biotechnol. 17:229–235.

Ehrenreich, A. 2006. DNA microarray technology for the microbiologist: an overview. Appl. Microbiol. Biotechnol. 73:255–273.

Frigaard, N. U., Martinez, A. Mincer, T. J., DeLong, E. F. 2006. Proteorhodopsin lateral gene transfer between marine planktonic bacteria and archaea. Nature 439:847–850.

Garcia-Martinez, J., Rodriguez-Valera, F. 2000. Microdiversity of uncultured marine prokaryotes: The SAR11 cluster and the marine Archaea of Group I. Molec. Ecol. 9:935–948.

Gentry, T. J., Wickham, G. S., Schadt, C. W., He, Z., Zhou, J. 2006. Microarray applications in microbial ecology research. Microbial Ecol. 52:159–175.

Giovannoni, S. J., Britschgi, T. B., Moyer, C. L., Field, K. G. 1990. Genetic diversity in Sargasso Sea bacterioplankton. Nature 345:60–63.

Gómez-Consarnau, L., González, J. M., Coll-Lladó, M., Gourdon, P., Pascher, T., Neutze, R. Pedrós-Alió, C., Pinhassi, J. 2007. Light stimulates growth of proteorhodopsin-containing marine *Flavobacteria*. Nature 445:210–213.

Guazzaroni, M.-E., Golyshin, P. N., Ferrer, M. 2010. Analysis of Complex Microbial Communities through Metagenomic Survey. *In:* Metagenomics. Theory, Methods and Applications. (Diana Marco, ed.) Caister Academic Press, Norfolk, UK, p. 55–77.

Handelsman, J. 2004. Metagenomics: application of genomics to uncultured microorganisms. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 68:669–685.

Hoefs, J. 2004. Stable Isotope Geochemistry. 5. Aufl. Springer, Berlin.

Lesk, A. M. 2003. Bioinformatik. Eine Einführung. Spektrum, Heidelberg, Berlin.

Liu, W.-T., Zhu, L. 2005. Environmental microbiology-on-a-chip and its future impacts. Trends Biotechnol. 23:174–179.

Martiny, A.C., Coleman, M. L., Chisholm, S. W. 2006. Phosphate acquisition genes in *Prochlorococcus* ecotypes: Evidence for genome-wide adaptation. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103:12552–12557.

Metzker, M. L. 2010. Sequencing technologies – the next generation. Nat. Rev. Genet. 11:31–46.

Ram, R. J., VerBerkmoes, N. C., Thelen, M. P., Tyson, G. W., Baker, B. J., Blake, R. C. 2nd, Shah, M., Hettich, R. L., Banfield, J. F. 2005. Community proteomics of a natural microbial biofilm. Science 308:1915–1920.

Rittmann, B. E., Hausner, M., Löffler, F., Love, N. G., Muyzer, G., Okabe, S., Oerther, D. B., Peccia, J., Raskin, L., Wagner, M. 2006. A vista for microbial ecology and environmental biotechnology. Environ. Sci. Technol. 40:1096–1103.

Sessitsch, A., Hackl, E., Wenzl, P., Kilian, A., Kostic, T., Stralis-Pavese, N., Tankouo Sandjong, B., Bodrossy, L. 2006. Diagnostic microbial microarrays in soil ecology. New Phytologist 171:719–736.

Sogin, M. L., Morrison, H. G., Huber, J. A., Welch, D. M., Huse, S. M., Neal, P. R., Arrieta, J. M., Herndl, G. J. 2006. Microbial diversity in the deep sea and the underexplored "rare biosphere". Proc. Natl. Acad. Sci. USA 103:12115–12120.

Torsvik, V., Daae, F. L., Sandaa, R. A., Ovreas, L. 1998. Novel techniques for analysing microbial diversity in natural and perturbed environments. J. Biotechnol. 64:53–62.

Torsvik, V., Ovreas, L., Thingstad, T. F. 2002. Prokaryotic diversity—magnitude, dynamics, and controlling factors. Science 296:1064–1066.

Torsvik, V., Ovreas, L. 2002. Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. Curr. Opin. Microbiol. 5:240–245.

Wagner, M. 2004. Deciphering functions of uncultured microorganisms. ASM News 70:63–70.

Wagner, M., Smidt, H., Loy, A., Zhou, J. 2007. Unravelling microbial communities with DNA-microarrays: Challenges and future directions. Microbial Ecol. 53:498–506.

Wilmes, P., Simmons, S. L., Denef, V. J., Banfield, J. F. 2009. The dynamic genetic repertoire of microbial communities. FEMS Microbiol. Rev. 33:109–132.

Xu, J. 2006. Microbial ecology in the age of genomics and metagenomics: concepts, tools, and recent advances. Molec. Ecol. 15:1713–1731.

Zhou, J. 2003. Microarrays for bacterial detection and microbial community analysis. Curr. Opin. Microbiol. 6:288–294.

Schäden an anorganischen Materialien durch mikrobielle Aktivitäten, Biokorrosion

13.1 Eisenkorrosion – 486

13.2 Betonkorrosion – 489

13.3 Gebäudekorrosion/Schädigung von Stein – 490

Literatur – 490

© Springer-Verlag GmbH Deutschland, ein Teil von Springer Nature 2020
W. Reineke und M. Schlömann, *Umweltmikrobiologie,* https://doi.org/10.1007/978-3-662-59655-5_13

13.1 Eisenkorrosion

Das technisch bedeutsamste Metall Eisen (Fe^0) korrodiert ohne Schutzanstrich oder ohne Legierung mit anderen, teureren Metallen im wässrigen Milieu als Folge chemischer, aber auch biologischer Abläufe.

Der Sauerstoff der Luft oxidiert das feste metallische Eisen in nasser Umgebung fortschreitend zu bröseligen, wasserhaltigen Oxiden, wobei – chemisch gesehen – das Metall dreiwertig positiv wird. Bei der Korrosion an der Luft reagieren Elektronen aus dem metallischen Eisen mit Sauerstoff und führen unter Beteiligung von Wasser zu Hydroxylionen (OH^-). Diese bilden mit dem freigesetzten zweiwertigen Eisen (Fe^{2+}) unter weiterer Mitwirkung von Sauerstoff Rost, ein kompliziert aufgebautes wasserhaltiges Oxid des dreiwertigen Eisens. Die Korrosion mit Luftsauerstoff ist, nach derzeitigem Kenntnisstand, ein überwiegend chemisches (abiotisches) Phänomen (◘ Abb. 13.1, oben links).

Es sind zahlreiche Möglichkeiten vorgeschlagen worden, mit denen Mikroorganismen die Korrosion von Eisen beeinflussen können. In oxischer Umgebung kommt mikrobielle Korrosion typischerweise durch Koloniebildung und mikrobiellen O_2-Verbrauch an der Eisenoberflächen vor, sodass an diesen Stellen Materialverlust auslöst werden kann („Lochfraß"). Zusätzliche Auflösung von schützenden Rostablagerungen durch aerobe eisenoxidierende Mikroorganismen können die Raten der Korrosion zudem beeinflussen.

Auch unter Ausschluss von Sauerstoff ist Eisen nicht beliebig beständig, sondern wird von Wasser allein angegriffen. Dabei entstehen flockige Formen des Fe^{2+} und Wasserstoff. Diese Korrosion unter Luftausschluss ist – im Vergleich zum Rosten an der Luft – sehr langsam. Lange wurde angenommen, dass der Verbrauch des sich auf Eisen in Wasser langsam bildenden Wasserstoffes, oft als „kathodischer Wasserstoff" bezeichnet, durch sulfatreduzierende Bakterien die Auflösung des Metalls im Wasser bewirkt (◘ Abb. 13.1, oben rechts).

In sauerstofffreien Umgebungen wie Kühlwasserkreisläufen oder an vergrabenen Pipelines korrodiert Eisen mitunter auch sehr schnell als Folge mikrobieller Aktivität. Auch Metallgeräte bei der Erdölförderung, aber auch Aufbewahrungstanks werden zerstört. Hierfür hat sich der technische Begriff mikrobiell beeinflusste Korrosion (*engl.* microbially influenced corrosion, MIC) etabliert. Die wirtschaftlichen Kosten der resultierenden Materialzerstörung sind enorm.

Unter anoxischen Bedingungen oder in Systemen mit nur temporärem Eindringen von O_2 ist die mikrobielle Korrosion insgesamt stark ausgeprägt. Dabei wird die Korrosion durch Produkte der Vergärung von Inhaltsstoffen zum Beispiel häuslicher Abwässer durch deren organische Säuren und auch Schwefelwasserstoff oder andere korrosive Schwefelspezies verursacht.

Die meisten Studien haben sich auf die korrosiven Wirkungen von sulfatreduzierenden Bakterien (SRB) (siehe ► Abschn. 8.1), aber auch anderen physiologischen Gruppen wie thiosulfatreduzierende, nitratreduzierende und acetogene Bakterien fokussiert. Methanogene Archaea wurden ebenfalls mit der Eisenkorrosion in Verbindung gebracht. Dennoch ist es die physiologische Gruppe der SRB, die eine Schlüsselrolle bei der anaeroben Korrosion von Eisen spielt und die in vielen natürlichen wie auch technischen wässrigen Ökosystemem weit verbreitet ist. SRB gewinnen ihre Energie für das Wachstum durch die Reduktion von Sulfat zu Schwefelwasserstoff mit Elektronen, die sie durch den Abbau von organischen Stoffen oder aus molekularem Wasserstoff – normalen Fermentationsprodukten im Boden, Sedimenten und andere anoxischen Habitaten erhalten.

Die angenommene Schlüsselfunktion der SRB in der Biokorrosion beruht auf den folgenden drei Beobachtungen:

1. Eisen in anoxischen Umgebungen wie marinen Sedimenten, die Sulfat, das heißt den Elektronenakzeptor der SRB enthalten, ist besonders anfällig

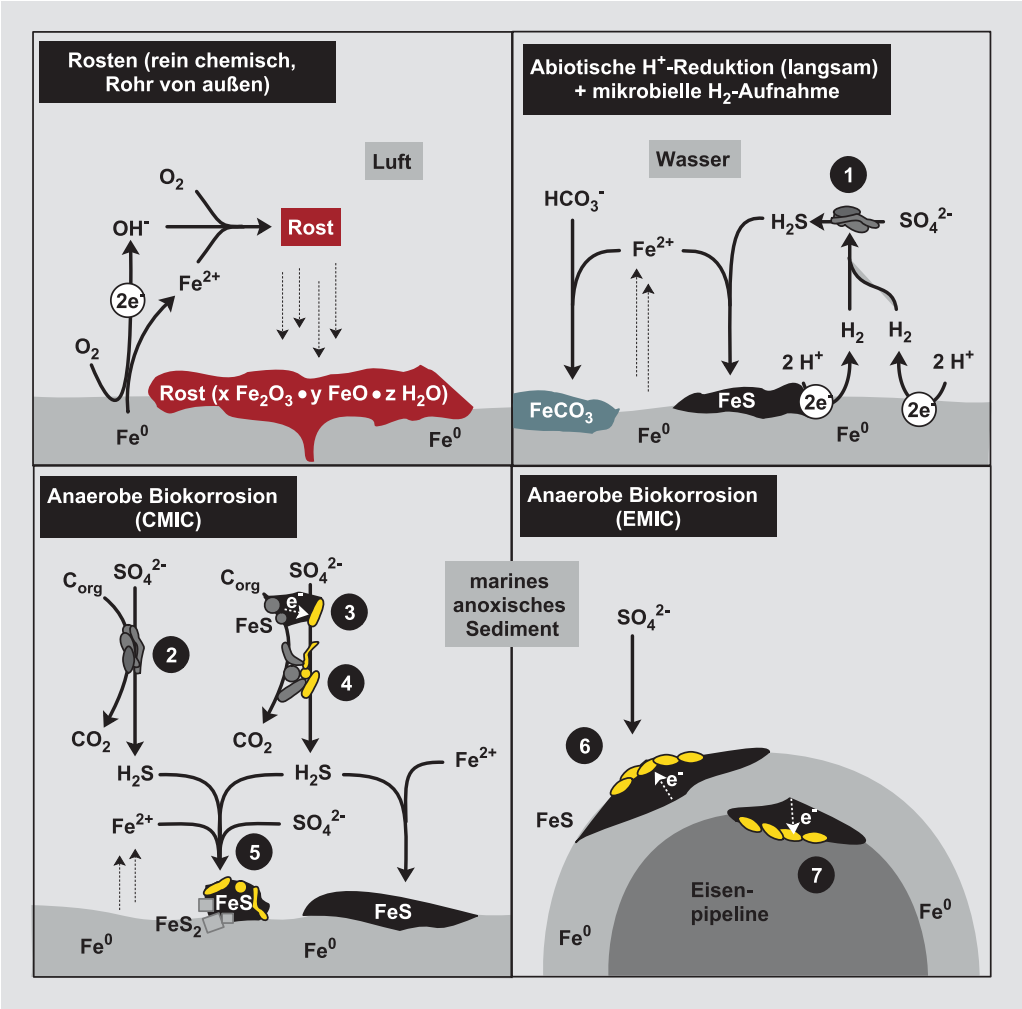


Abb. 13.1 Schematische Darstellung der verschiedenen Arten von Eisenkorrosion bei neutralem pH. Es sind abiotische und biotische Reaktionen gezeigt. Alle abgebildeten anaeroben Prozesse können gleichzeitig an Metalloberflächen auftreten. Sie unterscheiden sich aber in den Raten und relativen Beiträge zu Korrosion. Die in anoxischen Habitaten dargestellten biotischen Reaktionen neigen dazu, viel schneller als die abiotischen Korrosionsreaktionen abzulaufen. **1.** Langsame, kinetisch behinderte Reduktion von H^+-Ionen zu H_2 an Eisenoberflächen. Der Verbrauch von H_2 durch die SRB beschleunigt die Geschwindigkeit der H_2-Bildung nicht. **2.** Herkömmliche organotrophe SRB. **3.** SRB Interaktion über elektrisch leitendes Eisensulfid mit elektronenabgebenden organotrophen anaeroben Mikroorganismen. **4.** SRB Interaktion in direktem Kontakt mit elektronenabgebenden organotrophen anaeroben Mikroorganismen. **5.** Spekulative Möglichkeit der Pyritization von FeS ($FeS + H_2S \rightarrow FeS_2 + 2\,H^+ + 2e^-$) als direkte Elektronenquelle für die Sulfatreduktion. **6.** Speziell angepasste lithotrophe SRB entziehen Elektronen aus metallischem Eisen als Elektronenquelle über elektrisch leitfähiges Eisensulfid (EMIC) an der Außenfläche einer Rohrleitung. **7.** Speziell angepasste lithotrophe SRB entziehen Elektronen aus metallischem Eisen als Elektronenquelle über elektrisch leitfähiges Eisensulfid (EMIC) innerhalb einer Pipeline. Zu beachten ist, dass CMIC quantitativ von der Verfügbarkeit von biologisch abbaubaren organischen Substanzen abhängt. Links oben: x, y, z = positive Verhältniszahlen

für mikrobielle Korrosion. Besonders gravierende Ausmaße der Korrosion findet man in den sulfathaltigen Gewässern und Sedimenten.
2. SRB beziehungsweise deren charakteristisches Korrosionsprodukt FeS sind ubiquitär auf anaerob korrodiertem Eisen gefunden worden, das heißt sie sind immer mit schweren Korrosionsschäden assoziiert.
3. Mit Raten von bis zu 0,9 mm Fe^0 pro Jahr korrodieren im Labor gezüchtete SRB-Kulturen Eisen mit Raten, die auch schwere Fälle von Korrosion erklären. Felddaten weisen auf die herausragende Rolle von SRB in der anaeroben Eisenkorrosion hin, während Laboruntersuchungen plausible mechanistische Erklärungen liefern.

Der beobachteten Materialzerstörung durch die sulfatreduzierenden Bakterien werden üblicherweise drei sich ergänzenden Wirkungsmechanismen zugeschrieben:
1. Durch SRB gebildetes Sulfid (H_2S, HS^-) besitzt hohe Reaktivität gegenüber Eisen.
2. Man schreibt dem daraus resultierenden FeS eine oberflächenkatalytische Wirkung zu, welche die Reduktion von Protonen (aus Wasser) zu molekularem Wasserstoff beschleunigt.
3. Man vermutet eine Beschleunigung der Korrosion durch die mikrobielle Oxidation des kathodischen Wasserstoffes am Eisen oder an den Eisensulfiden.

Kürzlich wurde an spezialisierten, lithotrophen Isolaten aus Anreicherungskulturen mit metallischem Eisen als einzigem Elektronendonor ein weiterer Mechanismus entdeckt. Hierbei handelt es sich um die direkte Elektronenaufnahme vom Metall durch SRB. Diese lithotrophen Stämme korrodiert Eisen massiv und bilden dabei elektrisch leitfähige, mineralische Krusten auf dem Metall. Ihre Wirkung wird durch die Etablierung eines galvanischen Elements erklärt, wobei Eisen die Anode darstellt, während die Zellen die kathodische Reaktion katalysieren und damit direkt die Rate der Eisenauflösung beeinflussen.

Der Elektronenfluss verläuft entsprechend vom Metall ($4\ Fe^0 \rightarrow 4\ Fe^{2+} + 8\ e^-$) durch die überwiegend mineralische Korrosionskruste zu den mineral-assoziierten SRB ($8\ e^- + SO_4^{2-} + 10\ H^+ \rightarrow H_2S + 4\ H_2O$).

Man geht also heute davon aus, dass die Sulfatreduzierer durch die direkte Verwertung von metallischem Eisen als Elektronendonor die anaerobe Korrosion des Eisens bewirken und so Metallgeräte bei der Erdölförderung, aber auch Pipelines und Aufbewahrungstanks zerstören. Die dabei freigesetzten Fe^{2+}-Ionen reagiert mit dem gebildeten H_2S zu unlöslichem FeS, der Rest präzipitiert mit gelöstem Bicarbonat als schwerlösliches $FeCO_3$.

Reaktionsschema der mikrobiellen Eisenkorrosion:

$$4\ Fe + SO_4^{2-} + 3\ HCO_3^- + 5\ H^+ \rightarrow$$
$$FeS + 3\ FeCO_3 + 4\ H_2O\ (\Delta G^{0'} = -347\ kJ/mol)$$

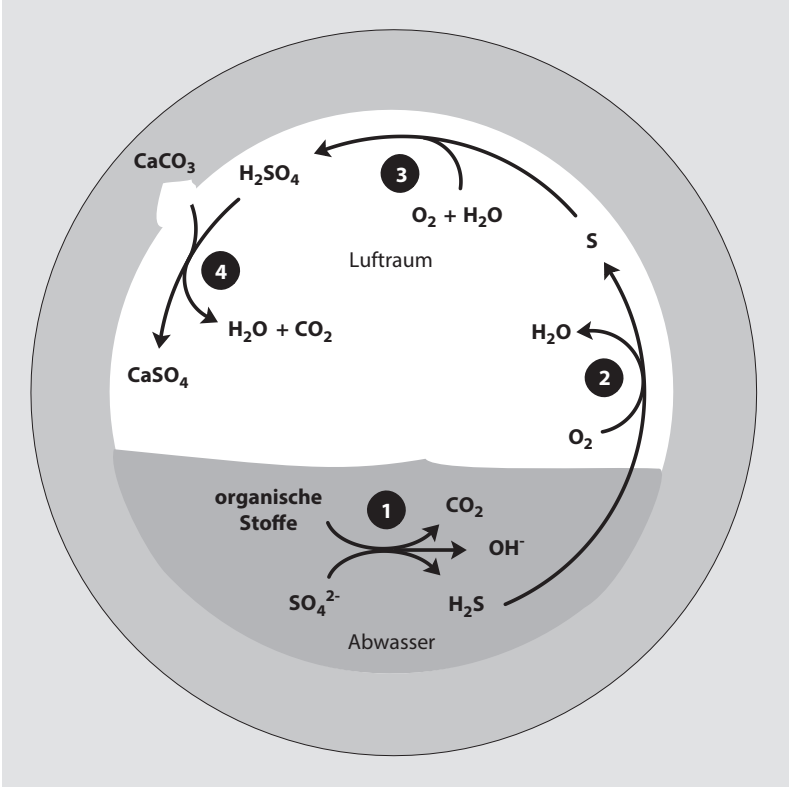
Bei entsprechend angepassten Kultivierungsbedingungen konnten technisch hoch relevante Raten der bioelektrischen Korrosion gezeigt werden. Die Korrosion von Eisen durch direkte, mikrobielle Elektronenaufnahme wird als elektrisch mikrobiell beeinflusste Korrosion benannt (*engl.* electrical microbially influenced corrosion, EMIC). Diese ist mechanistisch grundsätzlich verschieden von der Materialzerstörung, die aus der chemischen Reaktion biogenen Schwefelwasserstoffes mit Eisen resultiert (*engl.* chemical microbially influenced corrosion, CMIC).

Im Rahmen einer Studie wurde der relative Einfluss der beiden Mechanismen, den indirekten Effekten und direkten Wechselwirkungen, auf die Korrosion von Eisen in einem natürlichen sulfathaltigen Ökosystem untersucht. Die vorsichtige Beprobung und die chemische Analyse der Korrosionsprodukte von im Wattenmeer vergrabenen Stahlcoupons erlaubte eine quantitative Aussage zu dieser Fragestellung. Überraschenderweise war die mikrobielle Korrosion unter diesen Bedingungen ausschließlich

bioelektrischer Natur, das heißt EMIC stellte die alleinige Ursache für den beobachteten Korrosionsschaden dar.

13.2 Betonkorrosion

Acidithiobacillus thiooxidans ist maßgeblich an der Korrosion von Betonrohren beteiligt, die häufig für die unterirdische Abwasserkanalisation verwendet werden. Bei dieser Korrosion wirken zwei Reaktionen des Schwefelkreislaufes zusammen, die dissimilatorische Sulfatreduktion und die Schwefeloxidation. Daneben spielt auch die Sulfidbildung aus dem anaeroben Proteinabbau eine Rolle. Vor allem die Sulfatreduzierer bilden H_2S in den teilweise gefüllten Abwasserrohren, der in der Luftphase direkt oder nach chemischer und biologischer Oxidation zu elementarem Schwefel durch *Thiobacillus*-Arten weiter zu Schwefelsäure oxidiert wird. Die Schwefelsäure führt zur Auflösung des $CaCO_3$. Die Folge sind Brüche im oberen Bereich der Rohre (◘ Abb. 13.2). Bei Abwasserrohren setzt man Beton mit Plastikauskleidung ein, soweit nicht durch konstruktive Möglichkeiten (schneller Abwasserfluss und Belüftung) die H_2S-Bildung vermindert werden kann.



◘ **Abb. 13.2** Bakterielle Korrosion von Betonrohren der Abwasserleitungen.
Reaktionen, die zur Auflösung der Betonwandung im freiliegenden Teil von Abwasserrohren führen: (1) Bakterielle Vergärung organischer Substanz und Sulfatreduktion. (2) Chemische oder biologische Oxidation von H_2S. (3) Schwefeloxidation durch Thiobacillen. (4) Auflösung von $CaCO_3$

13.3 Gebäudekorrosion/ Schädigung von Stein

Umweltprobleme, die mit der Nitrifikation (siehe ► Abschn. 7.3) zusammenhängen, ergeben sich aus dem vermehrten Eintrag von Stickstoffverbindungen in die Biosphäre. Die natürliche Nitrifikation bewirkt durch die Salpetersäurebildung den Aufschluss von Mineralien, zum Beispiel die Freisetzung von Kalium, Calcium und Phosphat. Der Prozess führt zur Korrosion von Bauwerken aus Sandstein und Zement. Einige Nitrifikanten, zum Beispiel *Nitrosovibrio* als vorherrschende Arten von Nitritoxidierern auf Gebäuden, besiedeln bis zur Tiefe von mehreren Zentimetern poröse Sandsteine. Diese endolithische Lebensweise wird durch Ammoniumemissionen möglich, die vor allem aus der Massentierhaltung von Schweinen und Geflügel stammen. Durch die Säurebildung kommt es zur Zerstörung des Sandsteingefüges, wie am Kölner Dom und anderen historischen Bauwerken nachgewiesen werden konnte (siehe ◘ Abb. 13.3).

Besonders gute Entwicklungsbedingungen finden Nitrifikanten auf Kalkgestein, Kalkmörtel oder Beton, wenn die Baumaterialien Ausdünstungen aus Ställen oder Abwasseranlagen ausgesetzt und zusätzlich feucht sind. Hat die Nitrifikation erst einmal begonnen, so sollte mit der Absenkung des pH-Wertes Ammoniak verstärkt „eingefangen" werden. Ein solches Einfangen des Substrats käme einer Selbststimulation des Nitrifizierungsprozesses gleich.

Inwieweit Nitrifikanten an der Korrosion von Gebäuden beteiligt sind, wenn keine auffallenden Ammoniakquellen in unmittelbarer Nähe sind, wird untersucht.

◘ **Abb. 13.3** Einfluss des Verwitterungprozesses auf die Engelsstatue am Peters-Portal des Kölner Domes. (Aus Warscheid und Braams 2000). Köln, Dom, Westbau, Südportal, Engelsfigur, Zustand 1880 © Hohe Domkirche Köln, Dombauhütte Köln, Dom, Westbau, Südportal, Detailansicht: Engelsfigur, Zustand 1992 © Hohe Domkirche Köln, Dombauhütte

Literatur

Warscheid, T., Braams, J. 2000. Biodeterioration of stone: a review. Int. Biodet. Biodegrad. 46:343–368.

Weiterführende Literatur

Diercks, M., Sand, W., Block, E. 1991. Microbial corrosion of concrete. Experientia 47:514–516.

Dinh, H. T., Kuever, J., Mussmann, M., Hassel, A. W., Stratmann, M., Widdel, F. 2004. Iron corrosion by novel anaerobic microorganisms. Nature 427:829–832.

Sand, W., Block, E. 1991. Biodeterioration of mineral materials by microorganisms – biogenic sulfuric and nitric acid corrosion of concrete and natural stone. Geomicrobiological J. 9:129–138.

Widdel, F. 1990. Mikrobielle Korrosion. Jahrbuch der Biotechnologie 3:277–318.

Biologische Abwasserreinigung

14.1 Entstehung und Zusammensetzung von Abwässern – 492

14.2 Abwasserreinigung in mechanisch-biologischen Kläranlagen mit aerober Stufe – 495

14.3 Biologische Phosphateliminierung – 502

14.4 Stickstoffeliminierung bei der Abwasserreinigung – 506

14.5 Anaerobe Schlammbehandlung, direkte anaerobe Abwasserreinigung und Biogasgewinnung – 510

14.6 Reinigung von Industrieabwässern – 514

14.7 Naturnahe Abwasserbehandlungsverfahren – 515

Literatur – 516

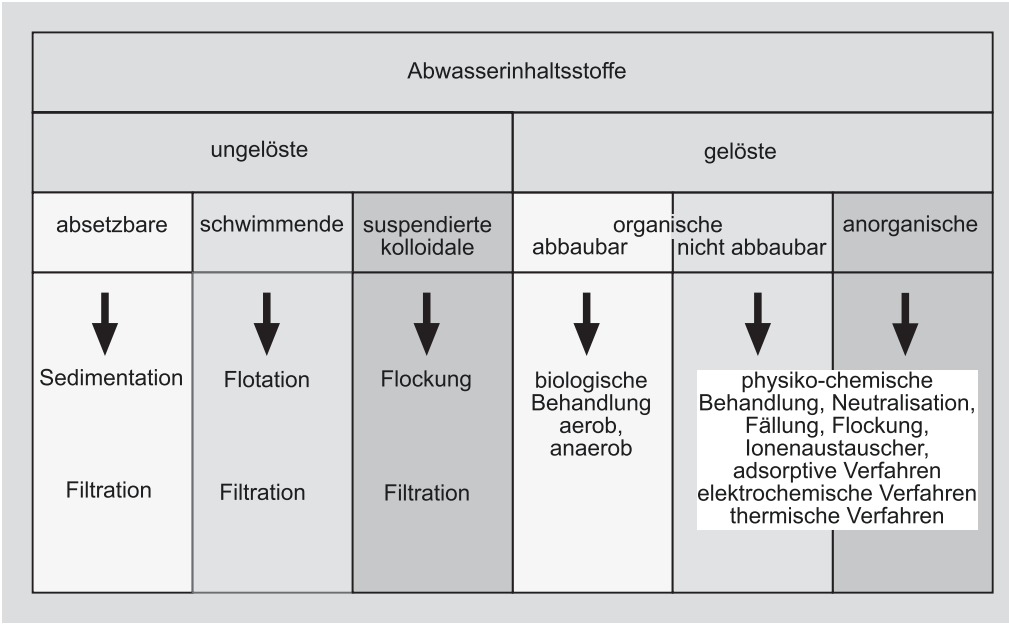
© Springer-Verlag GmbH Deutschland, ein Teil von Springer Nature 2020
W. Reineke und M. Schlömann, *Umweltmikrobiologie,* https://doi.org/10.1007/978-3-662-59655-5_14

14.1 Entstehung und Zusammensetzung von Abwässern

Das Wasserhaushaltsgesetz regelt die mittel- oder unmittelbare Nutzung der Gewässer, woraus sich die Anforderungen an das Einleiten von Abwasser in ein Gewässer ergeben. **Abwasser** ist „durch Gebrauch verändertes abfließendes Wasser und jedes in die Kanalisation gelangende Wasser“ (DIN 4045) – also auch Regenwasser. Zu unterscheiden sind Indirekt- und Direkteinleiter: **Indirekteinleiter** sind Abwasserproduzenten, deren Abwässer zusammen mit anderen (zum Beispiel den häuslichen) Abwässern in eine öffentliche (kommunale) Kläranlage gelangen. **Direkteinleiter** leiten ihre Abwässer – wie die kommunale Kläranlage – nach einer entsprechenden Reinigung direkt in ein Gewässer ein. In groben Zügen kann man **kommunales Abwasser,** die verschiedenen **Industrieabwasserarten** und **Mischabwässer** unterscheiden.

Unter den **Bestandteilen** im Abwasser unterscheidet man zunächst **ungelöste** von **gelösten Stoffen.** Die ungelösten (insgesamt filtrierbaren) Stoffe können je nach Teilchengröße nochmals in **absetzbare** und **nicht absetzbare Stoffe** unterteilt werden. Zu den nicht absetzbaren Stoffen gehören „schwimmende“, sehr fein verteilte Partikel sowie suspendierte beziehungsweise kolloidale Teilchen, die analytisch mittels Ultrafiltration abtrennbar sind. Die Anteile an gelösten Stoffen werden in **organische, abbaubare** sowie **organische, nicht (oder schwer) abbaubare** und **anorganische Stoffe** unterschieden (◘ Abb. 14.1).

Sieht man von extrem einseitig zusammengesetzten Industrieabwässern ab, so kann Abwasser in seiner qualitativen und quantitativen Zusammensetzung durch Einzelparameter (zum Beispiel Fett, Zucker, Chloride) nicht ausreichend charakterisiert werden. Man hat daher versucht, die Summe der im Abwasser enthaltenen organischen Schmutzstoffe indirekt dadurch zu bestimmen, dass man sie zum Beispiel unter definierten Bedingungen oxidiert und die Menge des dafür benötigten Oxidationsmittels erfasst. Typische **Summenparameter** für Abwasser sind unter anderen:



◘ **Abb. 14.1** Zusammensetzung von Abwasser und dessen mögliche Behandlung

- Als Maß für die mikrobiell abbaubaren organischen Stoffe dient der **Biochemische Sauerstoffbedarf (BSB).** Der BSB_5 ist die Menge Sauerstoff in mg/L, die für den biologischen Abbau im Dunkeln bei 20 °C nach 5 Tagen verbraucht worden ist. Die Methodik simuliert den Abbauprozess, der bei der Einleitung von Schmutzstoffen in Gewässer erfolgt, die ausreichend Mikroorganismen enthalten. Bei dieser Standardmethode werden nicht alle Stoffe, sondern nur die leicht abbaubaren Komponenten erfasst. Das sind Zucker, Proteine und Aminosäuren, organische Säuren und Lipide. Die vollständige Oxidation der Gewichtseinheit von 1 g dieser Stoffe erfordert verschiedene Sauerstoffmengen (theoretischer Sauerstoffbedarf, ThSB). Bei der Veratmung von 1 Mol Glucose werden 6 mol Sauerstoff verbraucht, was in Gewichtseinheiten bedeutet, dass beim Abbau von 1 g Glucose 1,07 g O_2 benötigt werden. Bei oxidierteren Substraten liegen die theoretischen Werte für vollständige Oxidation unter eins, bei reduzierten Substraten über eins (g O_2/g Substanz): Essigsäure 0,94; Proteine 1,46; Buttersäure 1,82; Triglyceride 2,85; Phenol 2,39; Methan 4. Da kommunale Abwässer vor allem Kohlenhydrate und Proteine enthalten, lässt sich daraus ein Umrechnungsfaktor von BSB_5 auf abbaubare organische Substanz von etwa 1,3 ableiten. Sauerstoff wird allerdings nicht nur bei der Oxidation organischer Stoffe verbraucht, sondern zusätzlich noch für die Oxidation des aus dem Proteinabbau anfallenden Ammoniums zu Nitrat (Nitrifikation). Die BSB_5-Werte liegen für Wässer beziehungsweise Abwässer verschiedener Herkunft unterschiedlich hoch (◘ Tab. 14.1).
- Nicht alle organischen Inhaltsstoffe von Abwasser sind mikrobiell abbaubar. Um möglichst alle organischen Stoffe zu ermitteln, die im Abwasser vorliegen, wird der **Chemische Sauerstoffbedarf (CSB)** bestimmt. Bei der Bestimmung des **CSB** mit Hilfe der chemischen Oxidation durch Kaliumdichromat werden entweder die Menge des verbrauchten Oxidationsmittels oder die daraus errechnete äquivalente Sauerstoff-Menge (g O_2/L) angegeben. Der CSB-Wert liegt höher als der BSB_5-Wert, da er neben den leicht abbaubaren Verbindungen auch die schwer abbaubaren Naturstoffe und die Xenobiotika umfasst. Bei kommunalen Abwässern liegt das Verhältnis von CSB:BSB um 1,5–2, bei Industrieabwässern häufig über zwei.
- Der **DOC (dissolved organic carbon)** oder gelöster organisch gebundener Kohlenstoff bildet zusammen mit dem ungelösten organisch gebundenen Kohlenstoff **(particulate organic carbon, POC)** und dem flüchtigen organisch gebundenen Kohlenstoff **(volatile organic carbon, VOC)** den organisch gebundenen Gesamtkohlenstoff **(total organic carbon, TOC).** Zur Bestimmung des DOC werden die gelösten organischen Verbindungen nach Filtration vollständig oxidiert und das resultierende Kohlendioxid in neueren Verfahren mittels Infrarotspektroskopie bestimmt. Als Ergebnis erhält man die Konzentration des Elementes Kohlenstoff, der in organisch gebundener Form vorliegt. Für natürliche Wässer liegen die DOC-Werte im Bereich von einigen Milligramm pro Liter. Typische Werte sind für Grundwasser 0,7, für Flüsse 2–10 und für Sümpfe/Moore 10–60 mg/L.

◘ Tab. 14.1 BSB_5-Werte verschiedener Abwässer. (Daten Fritsche, W. 1998. Umwelt-Mikrobiologie. Gustav Fischer Verlag, Jena)

Abwasser/Wasser	BSB_5-Werte (mg O_2/L)
Kommunale Abwässer	300–430
Biologisch gereinigtes Abwasser	15–40
Reines Flusswasser	1–3
Molkereien und Brauereien	500–2000
Industrielle Tierproduktion (Gülle)	10.000–25.000

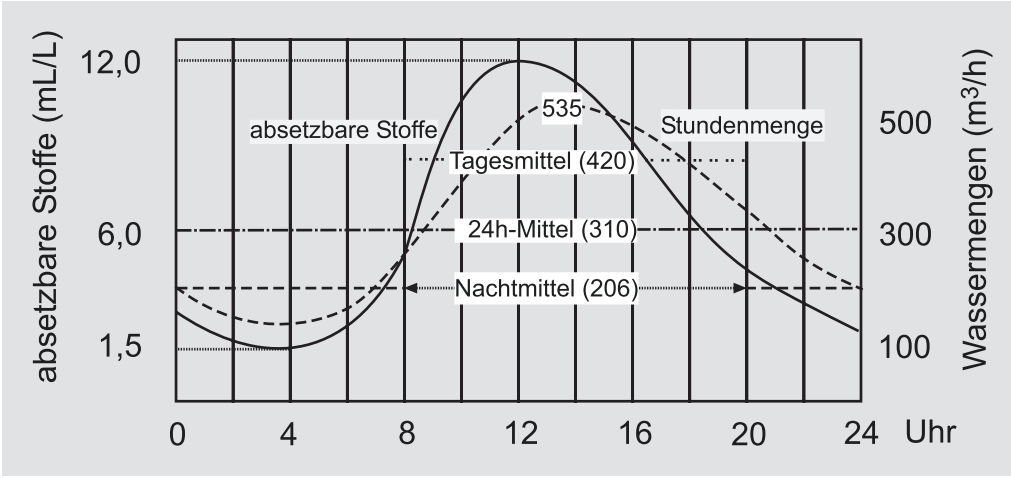


Abb. 14.2 Schwankungen der Abwassermenge und der darin enthaltenen absetzbaren Stoffe einer Stadt von 50.000 Einwohner im Laufe eines Tages. (Nach Imhoff und Imhoff, 1993)

Erfahrungsgemäß macht das Element Kohlenstoff etwa einen Gewichtsanteil von 50 % der organischen Verbindungen aus. Bei einem DOC von 15 mg/L liegen in der Probe also etwa 30 mg/L organischer Verbindungen vor.

- Der Summenparameter **AOX** erfasst die **„adsorbierbaren organischen Halogenverbindungen"** im Wasser (X steht in der Chemie für die Halogene Fluor, Chlor, Brom und Iod). Bei der analytischen Bestimmung des AOX werden die betreffenden Verbindungen an Aktivkohle adsorbiert. Die Kohle wird dann verbrannt und die entstandenen Halogensäuren durch Fällung mit Silberionen und dem dadurch verursachten Stromverbrauch gemessen. Der AOX erfasst damit den Großteil aller chlor-, brom- und iodorganischen Substanzen, die in einer Probe enthalten sind. Bei der Bewertung der Messgröße AOX muss beachtet werden, dass bestimmte polare Chlorverbindungen nur schlecht an Aktivkohle adsorbieren und damit nur teilweise erfasst werden.

Unter **Kommunal-Abwasser** versteht man das in Haushalten, kommunalen Einrichtungen (Schulen, Krankenhäuser) und dem Kleingewerbe (Schlachtereien, Wäschereien, Gaststätten) innerhalb einer Gemeinde anfallende Abwasser inklusive des in die Kanalisation gelangenden Niederschlagswassers. Im Tagesverlauf zeigt sowohl die **Abwassermenge** je Einwohner als auch die **Zusammensetzung** und **Konzentration** der Schmutzstoff charakteristische Schwankungen (Abb. 14.2). Auch in Abhängigkeit vom Wochentag (Werktag-Feiertag), der Jahreszeit (Saisonbetrieb, Urlaubszeit) und den Betriebsverhältnissen bei Gewerbe und Industrie ändern sich Menge und Zusammensetzung des Abwassers. So kann durch unkontrollierbare und nicht vorhersehbare Ereignisse (zum Beispiel „Betriebspannen" in Betrieben, Gewitterregen nach langer Trockenzeit) das Substratangebot kurzfristig um ein Mehrfaches ansteigen (Belastungsstöße) oder sich das Volumen und damit die Konzentration und Verweilzeit in der Anlage ändern. Es ist daher weder qualitativ noch quantitativ ein gleichmäßiges Substratangebot für die in der Kläranlage enthaltenen Organismen gegeben. Häusliche Abwässer enthalten vor allem organische Stoffe, die aus Harn, Fäzes, aus Spül-, Putz- und Waschwasser stammen. Abwässer besitzen ein breites Spektrum an verschiedenen Inhaltsstoffen: von den von Mikroorganismen gut abbaubaren organischen Stoffen (Kohlenhydrate, Eiweißstoffe, Fette), Harnstoff aus den Exkrementen über

Salze und Sand bis zu in Abwasserreinigungsanlagen störend wirkenden Stoffen wie Tensiden (aus Waschmitteln).

Der **Einwohnerwert** EW (früher Einwohnergleichwert EGW) stellt eine Rechengröße für die Abwasserreinigung dar. Er ist ein Maß für die Belastung gewerblich-industriell genutzten Abwassers mit organisch abbaubaren Stoffen – gemessen als BSB_5, das angibt, welcher Einwohnerzahl diese Belastung entspricht. Er dient also zum Vergleich von industriellem, gewerblichem und häuslichem Abwasser und wird unter anderem als Maß für die Berechnung der Größe von Kläranlagen (Abwasserreinigung) benutzt. Ein Einwohnerwert entspricht der täglich von einem Einwohner in das Abwasser abgegebenen Menge an organischen Schadstoffen. Der Wert dieser Schmutzmenge beträgt in Deutschland im Mittel 60–65 g BSB_5 je Einwohner und Tag. Nach einem durchschnittlichen Abwasseranfall von 150–200 L (pro Einwohner und Tag) errechnet sich daraus ein BSB_5 in unbehandeltem Abwasser von 300–430 mg/L.

Unter **Industrie-Abwasser** versteht man das Abwasser, das in Industrie- und Gewerbebetrieben im Zusammenhang mit den Produktionsprozessen anfällt. Menge und Zusammensetzung werden daher durch die **Art der Rohprodukte** und **Verarbeitungsverfahren** bestimmt. Prinzipiell sind die Abwässer aller Betriebe, die **pflanzliche** oder **tierische** Stoffe verarbeiten, einer biologischen Reinigung zugänglich, wie zum Beispiel Nahrungsmittel-Industrien, Brennereien, Papierfabriken, Gerbereien, Wollwäschereien (siehe ◘ Tab. 14.2). Aber auch organisch verunreinigte Abwässer aus der **chemischen** Industrie können durch biologische Verfahren gereinigt werden.

14.2 Abwasserreinigung in mechanisch-biologischen Kläranlagen mit aerober Stufe

Eine **Abwasserreinigungsanlage** ist eine Anlage zur Behandlung von Abwasser (Eliminierung der Inhaltsstoffe) mit dem Ziel, die Schadwirkung zu vermindern. Als wichtiges ökologisches Glied im Stoffkreislauf hat eine Abwasserreinigungsanlage also die Aufgabe, dem Vorfluter (einem natürlichem Fließgewässer, Bach, Fluss) ein Wasser vergleichbarer Qualität und dem Boden einen humusartigen Schlamm zurückzugeben. Das Abwasser muss also so weit gereinigt werden, dass die Gewässer nach der Einleitung für Fischerei und Erholung genutzt werden können und sich möglichst naturnahe aquatische Ökosysteme entwickeln. Dies bedeutet auch, dass die Vermeidung der Eutrophierung der Gewässer einschließlich der Meere eine zentrale Aufgabe der Abwasserreinigung ist.

Die verschiedenen Reinigungsprozesse einer üblichen Kläranlage lassen sich häufig in drei **Stufen** zusammenfassen (◘ Abb. 14.3):

◘ **Tab. 14.2** Abwasserfracht aus verschiedenen Industriezweigen. (Verändert nach Präve et al., 1994)

Betrieb	Abwasserfracht (Einwohnerwerte)	Bei Verarbeitung beziehungsweise Produktion von
Brauerei	150–350	1000 L Bier
Molkerei (ohne Käserei)	100–200	1000 L Milch
Stärkefabrik	500–900	1 t Mais oder Weizen
Wollwäscherei	2000–4500	1 t Wolle
Papierfabrik (Abhängigkeit von der Papierqualität)	200–2000	1 t Papier
Schlachthof	3000	100 Schweine

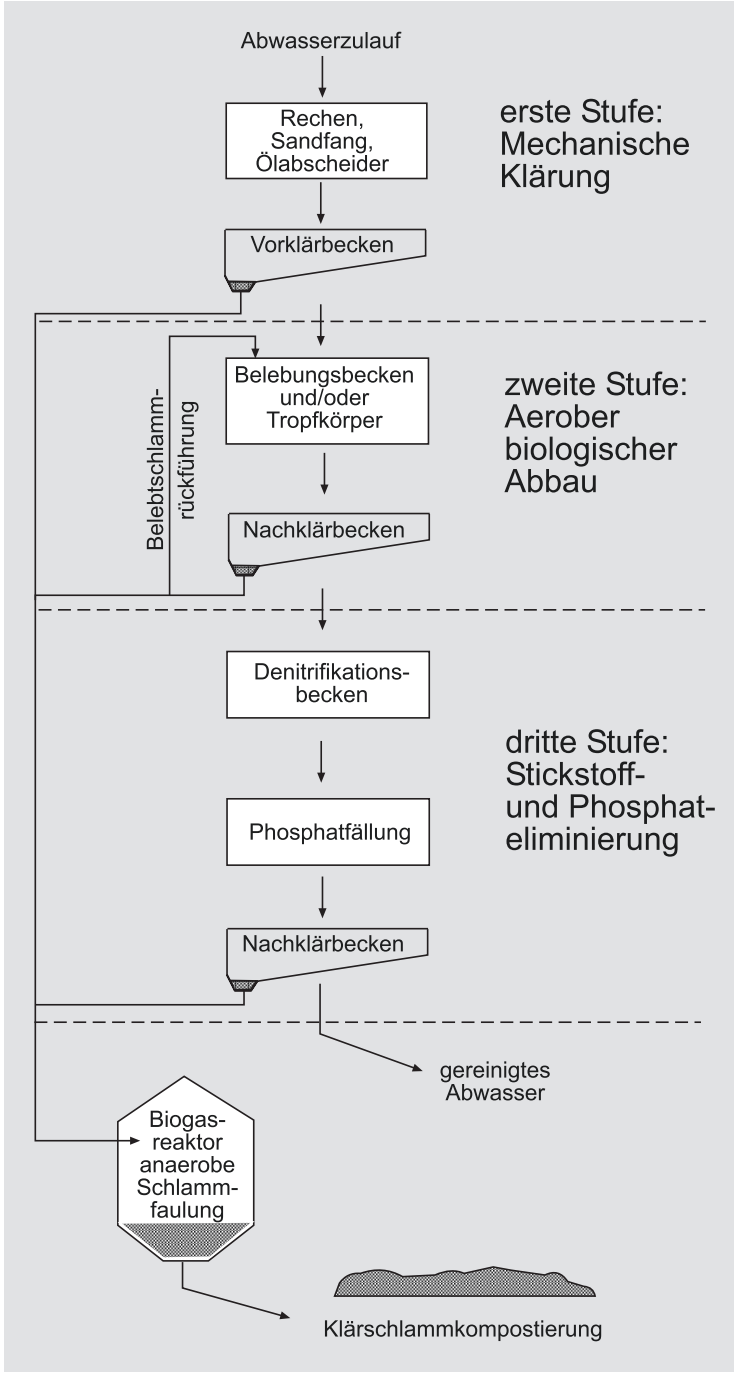


Abb. 14.3 Aufbau einer dreistufigen kommunalen Kläranlage mit anschließender Schlammfaulung und Biogasgewinnung

- eine mechanische Reinigung,
- eine aerobe biologische Reinigung sowie
- eine Nachbehandlung zur Reduktion der beim Abbau anfallenden anorganischen Mineralisierungsprodukte Ammonium, Nitrat und Phosphat. Dieser Schritt ist heute oft in die 2. Stufe integriert.

An diese drei Stufen schließt sich häufig noch eine **Behandlung** des in den drei Stufen anfallenden **Schlammes** durch aerobe Kompostierung oder anaerobe Faulung an. Der Schlamm kann somit zur Biogas-Gewinnung dienen, bei geringem Schadstoffgehalt auch zur Bodenverbesserung. Ansonsten muss er nach Entwässerung durch Klärschlammdeponierung oder -verbrennung entsorgt werden.

In der 1. Stufe erfolgt eine **mechanische Reinigung** durch **Rechen** zur Grobreinigung von Holzstücken, Blättern und Geweberesten sowie durch einen **Sandfang,** bei dem durch verringerte Fließgeschwindigkeit erreicht wird, dass mit dem Wasser eingeschwemmter Sand oder andere körnige mineralische Stoffe durch Absetzen in Langsandfängen oder Rundbecken aus dem Wasser entfernt werden. Fette und Öle werden aufgrund des leichteren spezifischen Gewichtes in **Ölabscheidern** abgetrennt. Die **Vorklärung** beginnt in einem Absetzbecken, wo bei deutlich verlangsamter Strömung sich absetzbare (sedimentierbare) Schmutzstoffe während einer Verweilzeit von mehreren Stunden am Boden abscheiden. Hier werden bereits 30 bis 35 % organischer Substanz zurückgehalten. Der anfallende Schlamm wird einer zentralen Nachbehandlung durch anaerobe Faulung oder Kompostierung zugeführt. Es verbleiben zwei Drittel an organischer Schmutzfracht als gelöste oder fein verteilte (suspendierte beziehungsweise kolloidal verteilte) Stoffe, die überwiegend dem aeroben Abbau der im Wasser bereits vorhandenen Bakterien zugänglich sind. Dieser Überstand wird der zweiten Stufe zugeleitet.

In der 2. Stufe erfolgen in der Regel die **aeroben biologischen Abbauprozesse.** Bei höher belasteten Abwässern wird der Abbau organischer Stoffe durch Sauerstoff limitiert. Der für den Substratabbau durch Atmung erforderliche Sauerstoffbedarf ist beträchtlich. Die Veratmung von 1 g Glucose erfordert wie oben angesprochen etwa 1 g Sauerstoff. Da Mikroorganismen gelösten Sauerstoff benötigen, die Löslichkeit des Sauerstoffs in Wasser jedoch sehr gering ist (8,9 mg O_2/L bei 20 °C bei Normaldruck), tritt sehr schnell Sauerstoffmangel ein, wenn nicht dauernd Sauerstoff durch Belüftung nachgelöst wird. Das Kernstück jeder aeroben Abwasserreinigungsanlage ist daher ein effektives Belüftungssystem, und die **Art der Luftzufuhr** bestimmt die Technologie der aeroben Abwasserreinigung, wobei hier die Belebtschlamm-, die Tropfkörper- und die Scheibentauchkörper-Verfahren erwähnt werden sollen (◘ Abb. 14.4).

Die drei erwähnten Verfahren unterscheiden sich grundlegend in den Mikroorganismen und ihrem Wachstumsverhalten beziehungsweise ihrer Lokalisation. Beim Belebtschlammverfahren befinden sich die abbauenden Mikroorganismen in Flocken in **Suspension.** Sie entsprechen also im Wesentlichen den planktonischen Organismen im See oder im Fluss (wobei letztere allerdings nicht wie die Belebtschlammorganismen im Nachklärbecken sedimentieren). Beim Tropfkörper oder Scheibentauchkörper dagegen bilden die abbauenden Mikroorganismen einen **Biofilm** auf einer festen Oberfläche. Dies entspricht dem Wachstumsverhalten benthischer Mikroorganismen (Periphyton) auf Steinen oder Pflanzen im Gewässer.

Das am weitesten verbreitete Verfahren ist das Belebungs- oder **Belebtschlammverfahren.** Entsprechend dem Prinzip einer **kontinuierlichen Kultur** werden die Mikroorganismen im Belebungsbecken ständig mit neuem Substrat versorgt, und aufgrund des Nährstoffangebotes sowie reichlicher Zufuhr von Sauerstoff vermehren sich die Bakterien, es entsteht Biomasse. Allerdings ist, von wenigen hochkonzentrierten Industrieabwasser-Arten abgesehen, die Substratkonzentration

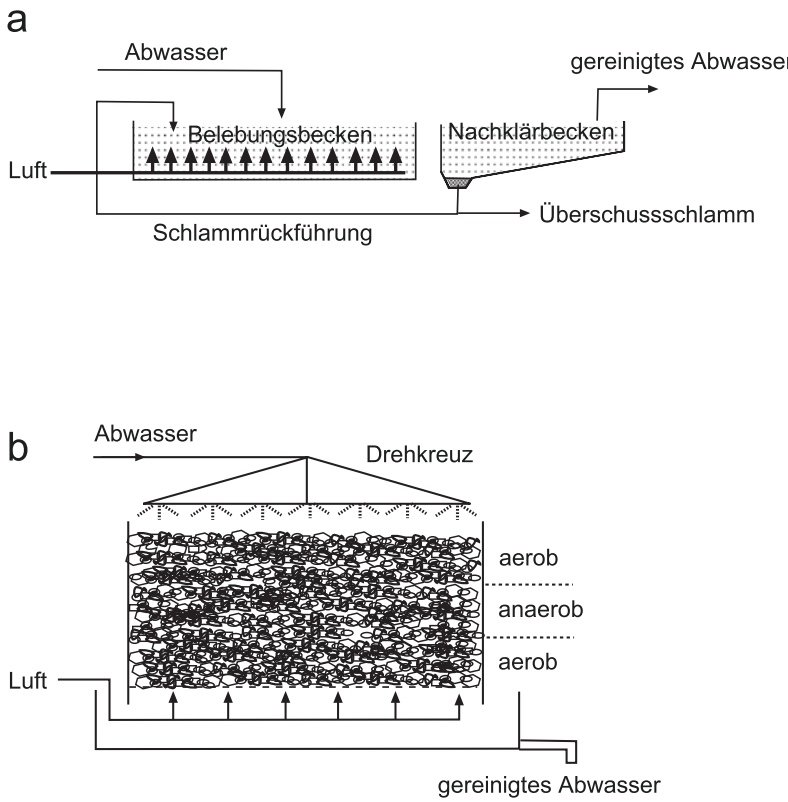


Abb. 14.4 Typen aerober Abwasserreinigungsreaktoren. **a** Belebungsbecken, **b** Tropfkörper

im Abwasser so gering und die Durchflussrate so hoch, dass in einem durchflossenen Klärbecken die Auswaschrate stets höher als die Wachstumsrate der Organismen ist. Die Verfahren müssen daher Möglichkeiten zur **Biomasse-Rückführung** beziehungsweise – Rückhaltung beinhalten. In einem nachgeschalteten nicht belüfteten Absetzbecken **(Nachklärbecken)** sedimentiert der belebte Schlamm und wird so vom gereinigten Abwasser getrennt. Dabei sollte eine lange Lagerzeit des belebten Schlammes in dieser anaeroben Phase vermieden werden. Ein Teil dieser Biomasse wird wieder in das Belebungsbecken zurückgeführt, um die abbauenden Organismen aufzukonzentrieren und die Abbauleistung dadurch zu erhöhen. Der Überschussschlamm wird in die zentrale Schlammaufbereitung geleitet. Belebungs- und Nachklärbecken bilden aufgrund der Notwendigkeit der Biomasse-Rückführung eine Einheit, deren Funktion nur dann gewährleistet ist, wenn die Absetzeigenschaften der belebten Schlammflocke deren Abtrennung und Eindickung im Nachklärbecken ermöglichen. Eine Biomassenanreicherung im Belebungsbecken kann auch durch den Einbau zusätzlicher Aufwuchsflächen erreicht werden, zum Beispiel Festbetten aus Kunststoffelementen oder Schaumstoffwürfel, womit Prinzipien der Biofilm-Reaktoren (vergleiche Tropfkörper) übernommen werden.

Für die Reinigung ist ein enger Kontakt zwischen Abwasser, Belebtschlamm-Flocken und Sauerstoff durch eine ausreichende **Umwälzung** im Becken erforderlich. Die **Belüftung** erfolgt entweder durch Druckluft oder durch Oberflächen-Belüfter. Die notwendige Umwälzung kann dabei schon durch

die Belüftung erreicht oder auch getrennt realisiert werden. An Stelle von Luft kann auch technisch reiner Sauerstoff zur Begasung des Abwassers verwendet werden. Besonders bei geruchsintensiven Abwässern (Tierkörperverwertung, Fischverarbeitung) bietet die **Sauerstoffbegasung** Vorteile durch den geringen Abgasstrom.

Nach der Art der Beschickung und Gestaltung des Belebungsbeckens (2–4 m Tiefe) unterscheidet man zwischen dem **total durchmischten Becken** mit gleichmäßiger Belastung des Belebtschlammes und dem „klassischen", **längsdurchströmten Becken,** in dem sich ein abfallender Belastungsgradient vom Zulauf zum Ablauf hin ausbildet. Durch verteilte Abwasserzuführung (Stufenbelastung) kann jedoch auch eine gleichmäßigere Belastung erreicht werden. In den **Kaskaden-Becken** wird dagegen ein Wechsel zwischen hoher Belastung in der ersten Stufe und schwacher Belastung in den folgenden absichtlich erzwungen. Als weitere Varianten sind die 2-stufigen Belebungsanlagen mit getrennten Schlammkreisläufen zu nennen, wobei auch Kombinationen zwischen Tropfkörper- und Belebungsverfahren möglich sind.

In kommunalen Kläranlagen liegt die **Konzentration** des zulaufenden Substrates um einen Wert von 400 mg BSB_5/L, der Ablauf um 30 mg BSB_5/L. Durch die Abbauprozesse geht der Gelöstsauerstoff von 8,9 auf 2 mg O_2/L zurück. Dieser Gehalt gewährleistet noch einen steten aeroben Abbauprozess. Der Belebtschlammgehalt liegt in der Größenordnung von 3 g BSB_5/L. Die Generationszeiten der Mikroorganismen der Belebtschlammflocken betragen 1–10 Tage. Für die Steuerung und Bemessung von Anlagen ist das **Schlammalter,** die mittlere Aufenthaltszeit der Mikroorganismen im Belebungsbecken, eine entscheidende Größe, von der die Restverschmutzung wesentlich abhängt.

Im Belebungsbecken erfolgt der mikrobielle Umsatz der organischen Schmutzstoffe zu anorganischen Endprodukten beziehungsweise deren Inkorporation in den belebten Schlamm. Die Mikroorganismen schwimmen zum großen Teil nicht einfach als Einzelzellen im wässrigen Medium herum, sondern sind in **Belebtschlammflocken** von 50–300 μm eingebettet. Es handelt sich um Biozönosen wechselnder Zusammensetzung, die von einer gemeinsamen Schleimmatrix umgeben sind. Etwa 70 % der Flocken sind organische Komponenten, der verbleibende Anteil sind anorganische Einlagerungen, zum Beispiel von Tonen, von SiO_2, von Calciumcarbonaten und von Eisenoxiden (Fe_2O_3). Schon mit traditionellen, kulturabhängigen Methoden hatte man mehrere hundert Arten von Mikroorganismen im Belebtschlamm und insofern eine recht beachtliche **Diversität** nachweisen können. Mittlerweile wurden auch mehrere Studien mit molekularökologischen Methoden durchgeführt. Noch ist man von einer vollständigen Beschreibung der im Belebtschlamm vorkommenden Diversität recht weit entfernt, doch immerhin gibt es einige Einblicke. Besonders häufig wurden *Proteobacteria* im Belebtschlamm nachgewiesen, und unter diesen dominieren besonders die *Betaproteobacteria.* Innerhalb dieser Gruppe wurden *Zoogloea ramigera* (eine Art bei der die Einzelzellen durch Schleim zusammengehalten werden) sowie Mitglieder der Gattungen *Alcaligenes, Azoarcus* und *Brachymonas* als quantitativ wichtig beschrieben. Andere wichtige Gruppen scheinen die *Alphaproteobacteria* besonders mit *Sphingomonas*-Arten, *Gammaproteobacteria, Epsilonproteobacteria* mit *Arcobacter* sp. sowie die *Bacteroidetes* (CFB-Gruppe), die *Chloroflexi,* die *Nitrospirae* und die *Planctomycetes* zu sein. Auch zahlreiche **Protozoen** kommen im Belebtschlamm vor. Da verschiedene Protozoen-Arten unterschiedliche Belastungen und Sauerstoffkonzentrationen bevorzugen und da sie schon einfach durch mikroskopische Untersuchungen zu differenzieren sind, werden sie auch zur Beurteilung des Schlammzustandes herangezogen. Für die Funktion einer Belebtschlammanlage ist es wichtig, dass der Schlamm im Nachklärbecken gut sedimentiert. Wenn dieser Vorgang durch verstärkte Entwicklung von

fadenförmig wachsenden Bakterien gestört wird, kommt es zur Bildung von **Blähschlamm.** Das bei der Atmung gebildete CO_2 treibt die größeren Flocken an die Oberfläche der Belebungsbecken, vermindert dadurch die Abbauleistungen und erschwert die Sedimentation. Unter den filamentösen Bakterien im Abwasser spielen die physiologisch vielseitigen *Thiotrix* sp. (zu *Gammaroteobacteria*) und der schon lange bekannte scheidenbildende „Abwasserpilz" *Sphaerotilus natans* (zu *Betaproteobacteria*) eine Rolle, aber auch andere *Proteobacteria* und Vertreter verschiedener anderer Phyla wie *Actinobacteria, Bacteroidetes* oder *Planctomycetes.* Die modernen Möglichkeiten der Bakterienidentifizierung erlauben es, die Gründe für die Entstehung von Blähschlamm besser zu verstehen und sollten dazu beitragen, solche Probleme künftig leichter zu vermeiden.

An Stelle oder neben dem Belebungsverfahren werden auch **Tropfkörper** eingesetzt, die sich von Bodenfiltern (Rieselfelder) ableiten lassen (◘ Abb. 14.4b). Es handelt sich um **Festbettreaktoren,** die mit Trägermaterialien wie Schlacken, Lava-Tuffen oder Kunststoffen gefüllt sind. Die zuerst genannten **Füllmaterialien** weisen bei einer Korngröße von 40–80 mm sowohl eine große spezifische Oberfläche (90–100 m^2/m^3) als auch einen großen Hohlraumanteil (40–60 %) auf, wodurch eine gute Reinigungsleistung bei guter Durchlüftung möglich ist. In neuerer Zeit hat man auch geformte Kunststoffeinbauteile entwickelt, die noch größere Oberflächen (bis 250 m^2/m^3) und Hohlraumanteile (bis 95 %) ermöglichen. Der Tropfkörper selbst besteht aus einem ca. 2,80–4,20 m hohen Zylinder, dessen Durchmesser von der Abwassermenge und BSB_5-Fracht und der gewählten Raumbelastung bestimmt wird. Über der Körpersohle ist in ca. 0,5 m Abstand ein Rost aus Betonfertigteilen oder ähnlich angebracht, auf dem das Tropfkörperfüllmaterial aufgelagert ist. Die Seitenwände sind mit Öffnungen versehen, durch die eine Luftzirkulation durch den Tropfkörper ermöglicht wird.

Um eine Verstopfung des Tropfkörpers durch die im Rohabwasser enthaltenen Schlammstoffe zu verhindern, ist hier eine vorgeschaltete mechanische Reinigungsstufe (Rechen, Sandfang, Absetzbecken) besonders wichtig. Das Abwasser wird mit Hilfe von **Drehsprengern** möglichst gleichmäßig auf der Oberfläche verteilt und rieselt in 20 bis 60 min über den Tropfkörper. Die Mikroorganismen siedeln als schleimiger Rasen **(Biofilm)** auf den Trägermaterialien und werden durch das zulaufende Abwasser mit Substraten versorgt. Auf der Sohle des Hohlbodens sammelt sich das durch den Körper getropfte Abwasser mit den ausgespülten Teilen des Tropfkörperrasens und fließt zum Nachklärbecken ab.

Die **Belüftung** der Tropfkörper erfolgt auf natürlichem Wege, a) durch das gleichmäßige Verrieseln des Abwassers durch den Drehsprenger und b) durch die Temperaturunterschiede der Innen- und Außenluft. Die Luft im Tropfkörper nimmt die Abwassertemperatur an (Wärme aus den Stoffwechselprozessen), das heißt sie ist im Sommer kälter und im Winter wärmer als die Außenluft. Entsprechend wird der Körper abwärts bzw. aufwärts durchströmt (Schornsteineffekt). Voraussetzung für eine gute Durchlüftung ist ein ausreichendes Hohlraumvolumen im gesamten Körper. In besonderen Fällen kann der Tropfkörper abgedeckt und künstlich belüftet werden, was zum Beispiel zum Schutz naher Wohngebiete gegen Geruchsbelästigung und Tropfkörperfliegen notwendig sein kann.

In den Tropfkörpern entwickeln sich entsprechend der verschiedenen Milieubedingungen Lebensgemeinschaften aus **Bakterien, Pilzen, Protozoen, Kleinkrebsen, Würmern** und **Insekten-Larven.** Auf der belichteten Oberfläche können auch **Blau- und Grünalgen** wachsen. Entsprechend des sich von der Oberfläche zur Tropfkörpersohle hin ändernden Nährstoff- und Sauerstoffangebotes ist eine vertikale **Schichtung** der Biozönose festzustellen. Weiter gibt es insbesondere bei größeren Biofilmdicken (bis zu ca. 1 cm) auch eine Schichtung von der Biofilmoberfläche zum Trägermaterial:

Während die Organismen an der Oberfläche gut mit Nährstoffen und Sauerstoff versorgt sind, reichen Diffusionsvorgänge und Strudelbewegungen der Organismen nicht aus, um auch in tieferen Schichten eine gute Versorgung zu gewährleisten. Hier kann es deshalb zu Nährstoffmangel und anaeroben Verhältnissen kommen, was wiederum ein Absterben der Zellen und eine Ablösung von Teilen des Biofilms zur Folge hat. In der oberen aeroben Zone bildet sich eine Biozönose aus, die an hohe Substratkonzentrationen adaptiert ist und besonders schnell wächst. Hier kommt es immer wieder zur Ablösung von Zellen. In der unteren, ebenfalls aeroben Zone finden langsamere oxidative Prozesse wie die Nitrifikation von NH_4^+ zu NO_3^- statt. Daneben können in tieferen Schichten anaerobe Bedingungen auftreten, die zur Vergärung von Abwasserinhaltsstoffen und zur Bildung reduzierter Abbauprodukte führen.

Neben der geschilderten Selbstregulation der Biofilmdicke durch Absterben tiefer liegender Schichten tragen zwei weitere Faktoren wesentlich dazu bei, dass die Tropfkörper nicht verstopfen:

- Der Biofilm aus Bakterien und Pilzen wird von Protozoen, Nematoden und Insektenlarven **abgeweidet.** Dieser Prozess findet vor allem in den oberen Zonen statt, in denen es durch gute Substrat- und Sauerstoffversorgung zu einer besonders starken Biofilm-Zunahme kommt.
- Wesentlich sind auch die Abwassermenge und die von ihr ausgehende **Spülwirkung.** Sie muss bei hoher BSB_5-Raumbelastung durch die Rückführung von gereinigtem Abwasser so hoch gehalten werden, dass überschüssige Biomasse sofort ausgespült wird (Spültropfkörper).

In Abhängigkeit von der BSB_5-Raumbelastung und der Wassermenge ergeben sich Unterschiede der Lebensgemeinschaft sowie der Reinigungswirkung und Schlammproduktion. In **schwachbelasteten** Tropfkörpern haften fast alle Mikroorganismen auf den Oberflächen der Füllstoffe. Der gebildete Tropfkörperrasen wird nur langsam ausgespült. In diesen Tropfkörpern erfolgt neben einer sehr weitgehenden BSB_5-Elimination meist auch eine Nitrifikation des Ammoniums. Die organischen Schlammteile werden schon im Tropfkörper weitgehend abgebaut. Der ausgespülte Schlamm ist dadurch in seiner Menge vermindert, er ist relativ wasserarm und wenig faulfähig. Bei **hochbelasteten** Tropfkörpern findet hingegen eine Ausspülung von Organismen statt, sodass sich langsam wachsende Bakterienarten wie Nitrifikanten zumindest in der oberen Zone nicht mehr stabil ansiedeln können. Der Tropfkörper dient in diesem Fall nur der Abwasserreinigung und hat nicht mehr die Aufgabe der Schlammbehandlung, sodass eine Nachklärung erforderlich ist. Der ausgespülte Schlamm ist noch faulfähig und wasserreich.

Tropfkörper haben im Vergleich zu den Belebungsverfahren den Vorteil, dass sie eine hoch differenzierte Biozönose besitzen, die zu einer weitgehenden Mineralisierung ohne großen Belebtschlammanfall führt. Nachteile sind die **geringeren Möglichkeiten zur Prozesssteuerung,** zum Beispiel bei stoßweisem Anfall von toxischen Substanzen, da der Verdünnungseffekt fehlt. Mit den zunehmenden Möglichkeiten der Mess- und Regelungstechnik und der notwendigen Eliminierung von Stickstoff und Phosphor geht daher der Trend zu Belebungsverfahren.

Im Gegensatz zum klassischen Tropfkörper, bei dem die Biomasse fixiert ist, und das Abwasser bewegt wird, gibt es Biofilmverfahren, bei denen die Biomasse durch das Abwasser bewegt wird. Eine Sonderform sind die **Scheibentauchkörper.** Hierbei handelt es sich um runde Scheiben von mehreren Metern Durchmesser, die im Abstand von etwa 10 cm auf einer Welle angebracht sind. Die Scheiben stellen die Aufwuchsfläche für Mikroorganismen dar. Die langsam rotierenden Scheibenpakete tauchen zur Hälfte in das Abwasser ein. Durch langsame Umdrehungen der Walze taucht die auf den Scheiben befindliche Biomasse abwechselnd in Abwasser und Luft, wodurch eine

abwechselnde Versorgung der Organismen mit Substrat und Sauerstoff erfolgt.

14.3 Biologische Phosphateliminierung

Phosphor wird von den Organismen als lebensnotwendiger Nährstoff im Baustoff- und Energiestoffwechsel benötigt und daher als Phosphat aus der Umgebung aufgenommen. Phosphate müssen aus dem Abwasser entfernt werden, um eine **Eutrophierung** der Gewässer zu **vermeiden.** Phosphate führen zur zeitweiligen Massenentwicklung von Algen und Cyanobakterien (Algenblüten), 1 g P reichen für etwa 100 g Biomasse-Trockensubstanz. Für Cyanobakterien ist Phosphor das Element, welches das Wachstum limitiert, zumal viele Arten durch die Fähigkeit zur Luftstickstoffbindung nicht auf gebundenen Stickstoff angewiesen sind. Phosphor liegt im Abwasser vor allem als Phosphat vor, das aus dem Abbau von Nukleinsäuren der Nahrungsstoffe und aus Waschmitteln stammt. Es fallen etwa 3 g Phosphor pro Einwohner und Tag an, zwei Drittel gehen auf **Nahrungsmittel,** ein Drittel auf **Waschmittel** zurück. Der Anteil der Phosphate aus Waschmitteln ist in den letzten Jahren stark zurückgegangen, da die zur Enthärtung des Wassers den Tensiden zugesetzten Phosphate durch umweltgemäßere Mittel wie Zeolithe (Natrium-Aluminium-Silikate) und Natriumcitrat ersetzt worden sind (phosphatarme und phosphatfreie Waschmittel). Da der Phosphatanteil aus der menschlichen Ernährung konstant bleibt, ist jedoch weiterhin eine Phosphateliminierung notwendig. Für ein aerobes Wachstum beträgt ein ausgewogenes Verhältnis von C:N:P theoretisch etwa 100:14:3. Im vorgeklärten häuslichen und kommunalen Abwasser ist das Verhältnis etwa 60:12:3, sodass der P-Gehalt des Abwassers die für ein normales Wachstum des Belebtschlammes oder Biofilmes benötigte Menge deutlich übersteigt. Die Mikroorganismen der Abwasserreinigung assimilieren deshalb nur etwa 30 % des im Abwasser vorliegenden Phosphates. Im Ablauf des Belebungsbeckens sind noch 10–20 mg/L Gesamt-Phosphor enthalten. Die Richtlinie der EU (91/271/EWG) schreibt vor, dass der P-Gehalt (Gesamtphosphor) bei mehr als 100.000 Einwohnerwerten unter 1 mg/L liegen soll.

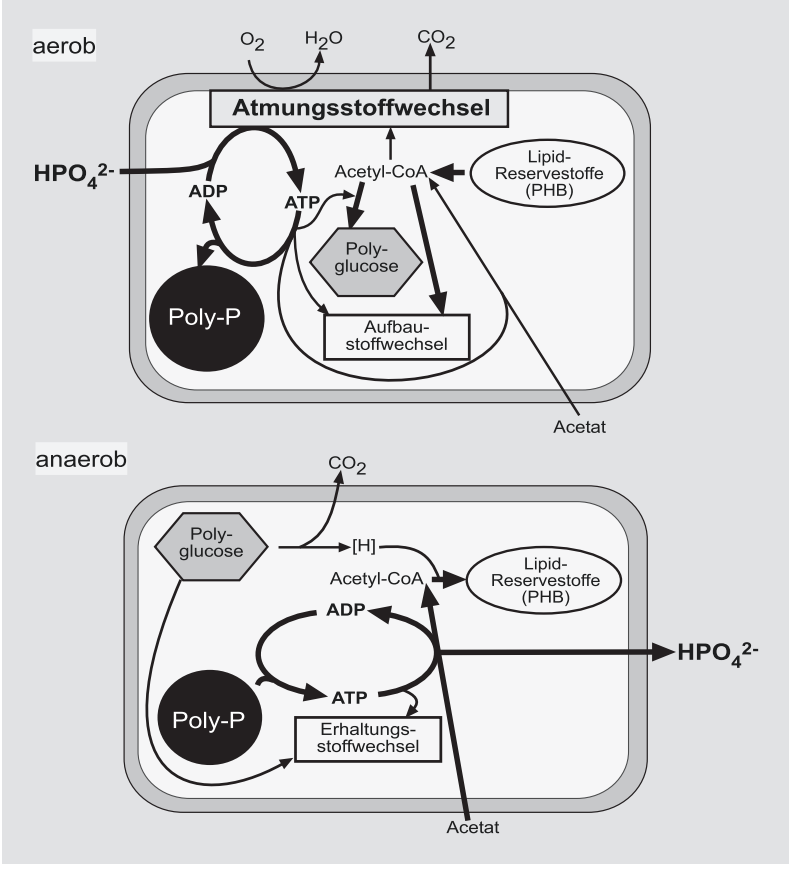
Im Rahmen der **chemischen Phosphateliminierung** können Phosphationen durch Fällung mit Hilfe von Fe^{3+}- bzw. Al^{3+}-Ionen aus dem Wasser entfernt werden. Die Fällung kann an drei verschiedenen Stellen einer Abwasserreinigungsanlage erfolgen. Wird das Fällungsmittel bereits im Bereich des belüfteten Sandfanges oder direkt im Zulauf zum Vorklärbecken zugesetzt, so wird der eingeleitete Phosphatanteil (ohne das beim weiteren Abbau frei werdende Phosphat) zusammen mit organischen Stoffen ausgefällt. Bei der Simultanfällung wird das Fällungsmittel im Bereich des Belebungsbeckens zugesetzt. Die Flockenabscheidung erfolgt in der Nachklärung. Die Absetzeigenschaften des Belebtschlammes werden bei diesem am weitesten verbreiteten und betriebssicheren Verfahren verbessert. Es wird eine mittlere Konzentration im Ablauf von etwa 1 mg/L Gesamt-P erreicht. Beim 3. Verfahren, der Nachfällung, ist ein eigenes Fällungs- und Absetzbecken erforderlich. Es stellt die wirksamste, die Biologie nicht störende, aber auch die teuerste Verfahrensvariante dar. Die Dosierung des Fällungsmittels erfolgt an Stellen mit hoher Turbulenz. In den Zonen geringerer Turbulenz ist dann das Flockenwachstum begünstigt. Durch die Kombination von Fällung und Flockungsfiltration werden Ablaufwerte zwischen 0,2 und 0,3 mg/L erreicht. Die chemische Phosphateliminierung durch Fällung mit Eisen- und Aluminiumsalzen (Chloride, Sulfate) ist durch die Kosten der Fällungsmittel teuer, führt zur Aufsalzung des gereinigten Wassers und zur Metallbelastung durch den anfallenden Schlamm.

Aufgrund der erwähnten Nachteile der etablierten chemischen Verfahren gewinnen daneben Prozesse der **biologischen**

Phosphateliminierung zunehmende Bedeutung. Die Grundlage der biologischen Eliminierung größerer Mengen an Phosphat durch normale Assimilation (**EBPR,** engl. *enhanced biological phosphorus removal,* weitgehende biologische Phosphorentfernung) ist die Fähigkeit einiger Bakterien, Phosphat als **Polyphosphat** zu speichern.

Die **polyphosphatakkumulierenden Organismen** (PAO) sind obligate Aerobier und werden durch einen Wechsel von anaeroben und aeroben Bedingungen im Abwasser angereichert. In ihnen laufen die folgenden Prozesse ab:

- In der **belüfteten Stufe** werden anaerob gespeicherte Lipidreservestoffe und leicht abbaubare exogene Substrate, zum Beispiel die Gärendprodukte aus der anaeroben Stufe und leicht abbaubare organische Stoffe aus dem Zulauf, als Energie- und Kohlenstoffquelle zum Wachstum genutzt (◘ Abb. 14.5). Durch Verwertung der endogenen Speicherstoffe können sich die Zellen schnell an das aerobe Milieu anpassen und sofort mit Atmungsstoffwechsel und Wachstum beginnen. Der Energiegewinn aus der Veratmung der endogenen und exogenen Substrate dient



◘ **Abb. 14.5** Schematische Darstellung des Stoffwechsels obligat aerober, polyphosphatspeichernder Bakterien unter aeroben und anaeroben Bedingungen. Poly-P, Polyphosphat; PHB, Poly-β-hydroxybuttersäure; [H], Reduktionsäquivalente. (Verändert nach Lemmer et al., 1996)

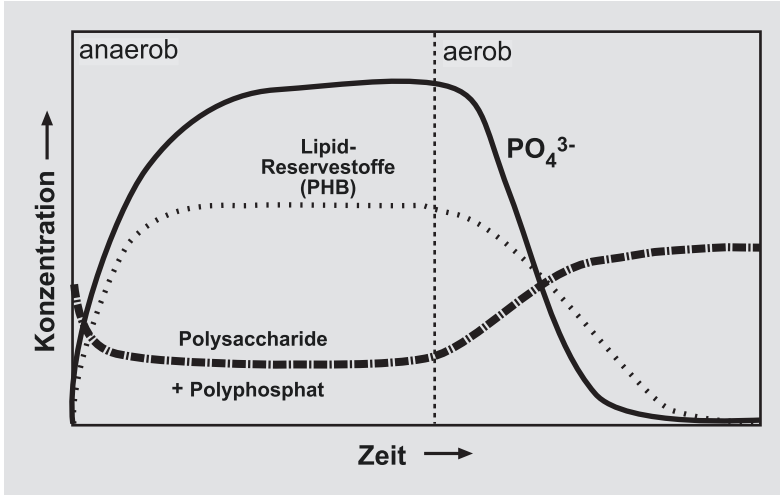


Abb. 14.6 Schematische Darstellung der stofflichen Veränderungen an Phosphor und Kohlenstoff beim Ablauf der biologischen Phosphateliminierung. (Verändert nach Blackall et al., 2002)

gleichzeitig zur Aufnahme von Phosphat, seiner **Speicherung als Polyphosphat** und der Synthese von Polyglucose (glycogenähnlich).

- In der **anaeroben Stufe** der Kläranlage (sauerstoff- und nitratfreie Zone) finden verschiedene Stoffwechselvorgänge statt, die für die spätere erhöhte Phosphorentfernung aus dem Abwasser in der belüfteten Zone wichtig sind (Abb. 14.5). Durch den Gärungsstoffwechsel fakultativ anaerober Bakterien werden überwiegend kurzkettige, organische Säuren gebildet (zum Beispiel Acetat und Propionat). Diese werden von den polyphosphatspeichernden Bakterien aufgenommen, umgewandelt und als Lipidreservestoffe (zum Beispiel Poly-β-hydroxybuttersäure, PHB) gespeichert. Die Energie zu deren Synthese stammt aus den zuvor, unter aeroben Bedingungen, gespeicherten Polyphosphaten, wobei Phosphat also teilweise wieder aus den Zellen freigesetzt wird. Die Polyphosphate dienen den Zellen wahrscheinlich auch als Energiequelle zum Überleben im anaeroben Milieu.

Die Organismen verfügen also über drei Arten von Speicherstoffen, die relativ reduzierte Poly-β-hydroxybuttersäure, die in Form großer Einschlüsse in der Zelle abgelagert wird, die kleinen Granula von Polyphosphat, die ursprünglich als Volutin bezeichnet wurden, sowie die relativ oxidierte Polyglucose (glycogenähnlich). Durch die Speicherung organischer Reservestoffe unter anaeroben Bedingungen scheinen die obligat aeroben, polyphosphatspeichernden Bakterien Wachstumsvorteile gegenüber den anderen obligaten Aerobiern zu haben, die aerob für ihre Synthesen ausschließlich auf exogene Substrate angewiesen sind. Wahrscheinlich sind diese stoffwechselphysiologischen Eigenschaften dafür verantwortlich, dass die polyphosphatspeichernden Bakterien sich bei entsprechender anaerob-aerober Verfahrensweise im Belebtschlamm anreichern. Abb. 14.6 zeigt schematisch die stofflichen Veränderungen beim Wechsel von anaeroben zu aeroben Bedingungen.

Acinetobacter calcoaceticus wurde schon lange als ein typischer Vertreter der polyphosphatakkumulierenden Organismen genannt. Aufgrund von molekularbiologischen Untersuchungen hat man jedoch festgestellt, dass andere Bakterien wie der zu den *Betaproteobacteria* gehörende ***Accumulibacter phosphatis*** eine bedeutendere Rolle bei

dem Prozess der weitgehenden biologischen Phosphorentfernung spielen.

Andere sogenannte **glycogen-nicht-polyphosphatakkumulierende Organismen** (GAO) wurden neben den PAO in den Kläranlagen entdeckt. Die GAO besitzen bezüglich des Kohlenstoffes einen den PAO vergleichbaren Stoffwechsel und konkurrieren mit den PAO um die unter anaeroben Bedingungen gebildeten organischen Verbindungen. Die GAO geben aber während des anaerob-aeroben Zyklus weder den Phosphor ab, noch akkumulieren sie ihn, wie es die PAO machen. Man nimmt an, dass die gesamte Energie für die GAO während der anaeroben Phase durch die Glycolyse des gespeicherten Glycogens bereitgestellt wird. Es gehört also zu den Problemen für den Betreiber einer Kläranlage, wie die GAO auszuschließen und die PAO zu fördern sind, da die identischen Bedingungen (anaerob-aerober Kreislauf von Biomasse) beide Typen von Organismen selektieren, wobei die GAO dem Prozess der Phosphoreliminierung durch Konkurrenz um die organischen Verbindungen entgegen laufen.

Die Effektivität des EBPR wird dennoch deutlich, wenn man den folgenden Vergleich zieht: Während der P-Gehalt eines typischen Belebtschlammes bei 1,5–2 % P pro Trockenmasse liegt, werden durch den EBPR 4–5 % und in Laborsystemen sogar bis zu 15 % erreicht.

Zwei Verfahrensprinzipien zur biologischen Phosphateliminierung werden eingesetzt, Hauptstrom- und Nebenstromverfahren. Beim

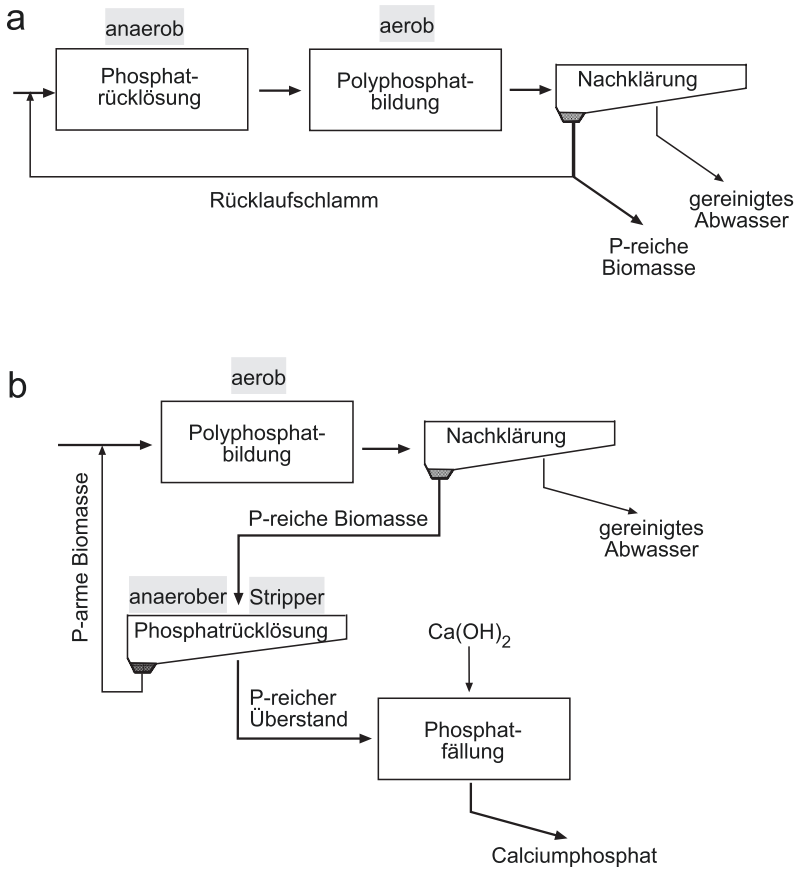


Abb. 14.7 Verfahrensvarianten der biologischen Phosphateliminierung. **a** A/O-Verfahren, **b** Phostripverfahren

Hauptstromverfahren wird der als Polyphosphat gespeicherte Phosphor mit der Zellbiomasse entfernt. Eine einfache Variante ist das in ◘ Abb. 14.7a dargestellte A/O-Verfahren. Es wird in einer Kaskade von Becken, die dem Belebungsbecken nachgeschaltet sind, durchgeführt. Vorher muss der Stickstoff eliminiert worden sein, da Nitrat die Prozesse stört. In der vorgeschalteten anaeroben Stufe werden durch Gärungsorganismen organische Säuren gebildet, aus denen polyphosphatakkumulierende Organismen PHB bilden. Gleichzeitig findet ein Abbau von Polyphosphat statt, der zur Phosphatrücklösung führt. In der anschließenden aeroben Stufe wird Polyphosphat wieder synthetisiert. Dieser phosphorreiche Belebtschlamm wird weitgehend entfernt, ein geringer Teil wird zurückgeführt.

Beim **Nebenstromverfahren** wird die Biomasse, die viel Polyphosphat enthält, in einen Nebenstrom geleitet. Darin befindet sich ein als Stripper bezeichnetes anaerobes Becken, in dem Phosphat zurückgelöst wird. Die phosphatarme Biomasse wird anschließend wieder in den Hauptstrom zurückgeführt, während das aufkonzentrierte Phosphat aus der Lösung mit $Ca(OH)_2$ gefällt wird. Das anfallende Calciumphosphat kann als Dünger eingesetzt werden. ◘ Abb. 14.7b zeigt im unteren Teil das Fließschema für das **Phostripverfahren,** die verbreitetste Variante des Nebenstromverfahrens. Es ist die Kombination eines biologischen Anreicherungsverfahrens mit einem chemischen Fällungsprozess.

14.4 Stickstoffeliminierung bei der Abwasserreinigung

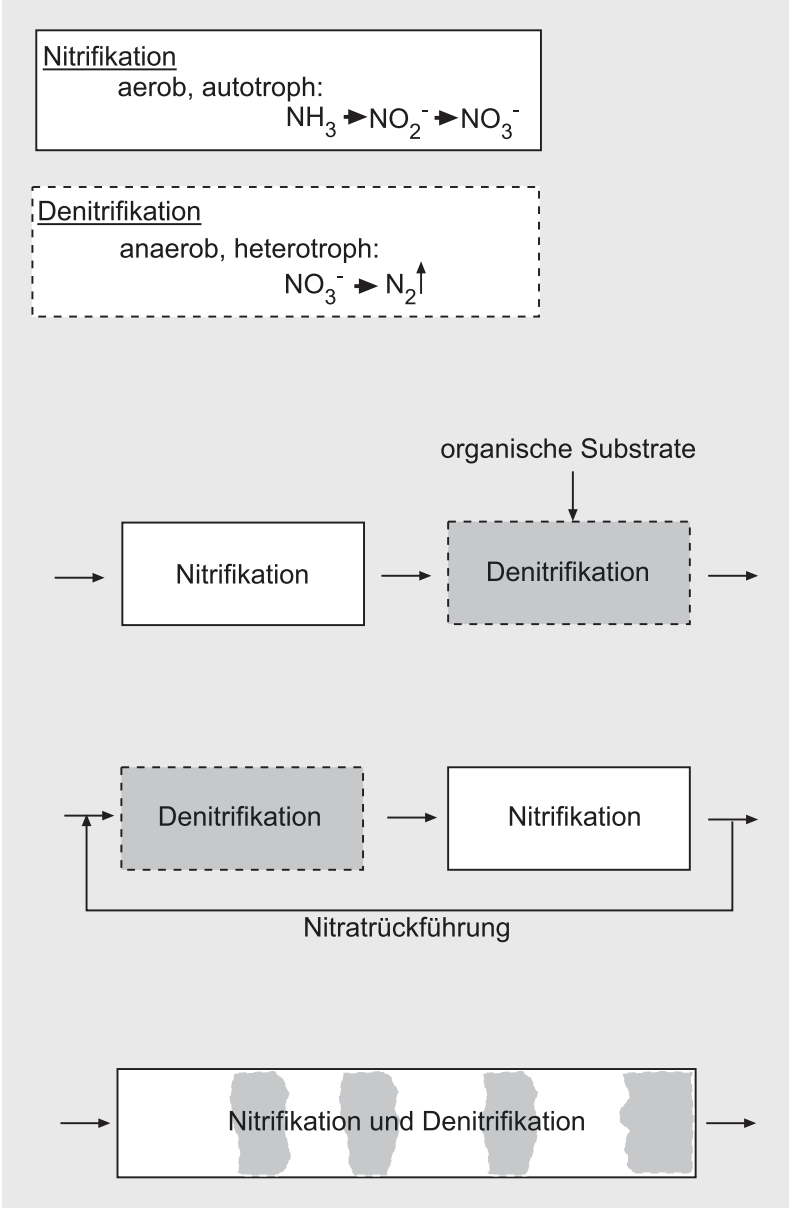
Häusliche und kommunale Abwässer enthalten bis zu 30 mg Ammonium/L, dessen Gehalte sich infolge des Abbaus organischer stickstoffhaltiger Stoffe während der Abwasserbehandlung weiter erhöhen. Da NH_4^+ sowohl ein Fischgift darstellt, als auch durch die Oxidation zum NO_3^- in Gewässern (Nitrifikation) zu einer hohen Sauerstoffzehrung führt, muss es in einer Abwasserbehandlungsanlage oxidiert und das gebildete NO_3^- möglichst auch als N_2 entfernt werden.

Die anorganischen Verbindungen tragen zur Eutrophierung der Gewässer bei. Kommunale Abwässer haben niedrigeres C:N-Verhältnis von 100:20. Da sich das in Zellen angetroffene C:N-Verhältnis hingegen auf 100:10 bis 100:15 beläuft, geht nur ein Teil des Stickstoffes in die Bildung der Belebtschlamm-Biomasse ein und wird damit aus dem Abwasser entfernt.

Die **Eliminierung der Stickstoffverbindungen** kann beim Belebungsverfahren durch den gekoppelten Einsatz von Nitrifikations- und Denitrifikationsprozessen (vergleiche Kap. 7) erreicht werden. Stickstoff ist im Abwasser in der Regel in reduzierter Form (NH_4^+) neben organischen Verbindungen enthalten. Deshalb muss Ammonium zunächst durch **Nitrifikanten** zu Nitrat oxidiert werden. Im Belebungsbecken bildet sich daher eine Mischbiozönose zwischen organo-heterotrophen Bakterien und den litho-autotrophen Nitrifikanten aus. Als **Ammoniumoxidierer** unter den Nitrifikanten sind in Abwasserreinigungsanlagen offenbar insbesondere die *Nitrosomonas europaea/Nitrosomonas eutropha*-Gruppe, die *Nitrosomonas marina*-Verwandtschaft und die *Nitrosococcus mobilis*-Gruppe von Bedeutung. Unter den **Nitritoxidierern** scheinen in vielen Anlagen nicht kultivierte Vertreter der Gattung *Nitrospira* aufgrund höherer Affinität zu NO_2^- und O_2 gegenüber den früher als wichtig erachteten *Nitrobacter*-Arten zu dominieren. Verfahrenstechnisch liegt ein zentraler Engpass der biologischen Stickstoffeliminierung in den **geringen Wachstumsraten der Nitrifikanten**. Deshalb muss das **Schlammalter** (Verweilzeit der Biomasse im System) so hoch gewählt werden, dass auch den relativ langsam wachsenden Nitrifikanten eine Präsenz in der Mischbiozönose ermöglicht wird.

Ein zweites zentrales Problem der biologischen Stickstoffeliminierung liegt bei der **Denitrifikation,** und zwar in der **Bereitstellung der H-Donoren** in Form biologisch

abbaubarer Substrate. Die Dentrifikation von NO_3^- zu N_2 setzt die Nitrifikation der reduzierten N-Verbindungen voraus. Da diese simultan mit dem aeroben Abbau der organischen Verbindungen im Belebungsbecken erfolgt, stehen anschließend keine H-Donoren für eine schnelle und vollständige Denitrifikation des gebildeten Nitrates mehr zur Verfügung. Die Denitrifikation, eine Form der anaeroben Atmung, erfordert aber organische Stoffe. Diese Tatsache hat zu folgenden Verfahrensmöglichkeiten geführt (◘ Abb. 14.8):



◘ **Abb. 14.8** Verschiedene Verfahrenskombinationen von Nitrifikations- und Denitrifikationsprozessen

- Bei der früher dominierenden **nachgeschalteten Denitrifikation** werden dem Wasser aus einer Nitrifikationsstufe in einem nicht belüfteten Becken organische Stoffe, zum Beispiel Methanol, als H-Donor zugesetzt. Diese teure und aufwändige Anordnung wurde durch moderne Verfahren der vorgeschalteten und der simultanen Denitrifikation abgelöst.
- Bei der **vorgeschalteten Denitrifikation** wird das im Belebungsbecken gebildete Nitrat durch Rezirkulation von Wasser aus der Nitrifikation zusammen mit dem Rücklaufschlamm aus dem Nachklärbecken in ein vorgeschaltetes anoxisches Denitrifikationsbecken beziehungsweise in den Anfangsbereich des Belebungsbeckens befördert, wo die höchste Konzentration an organischen Stoffen vorliegt. Indem man nicht belüftet, erhält man die für die Denitrifikation erforderlichen anaeroben Bedingungen. In diesen Fällen spricht man von anoxischen Bedingungen, da zwar kein Sauerstoff, wohl aber Nitrat oder Nitrit als Elektronenakzeptoren vorliegen. Nitrat kann nur entsprechend der Rücklauf-/Rezirkulationsverhältnisse reduziert werden. Der Denitrifikation sind hier also durch die hydraulische Belastung wie auch den nicht beabsichtigten Eintrag von Sauerstoff in die Denitrifikationszone Grenzen gesetzt.
- Bei der **simultanen Denitrifikation** passiert der Abwasserstrom nacheinander unbelüftete und belüftete Zonen, Denitrifikation und Nitrifikation erfolgen in einem Becken. Die Wechsel zwischen aeroben und anoxischen Phasen im Belebungsbecken werden durch Unterbrechung der Belüftung oder Wechsel von aeroben und anoxischen Zonen in einem Kreislaufbecken durch versetzte Belüftung erreicht.

Ein grundsätzliches **Defizit der herkömmlichen Verfahren** zur Entfernung von Stickstoff aus dem Abwasser ist, dass das **Ammonium** zunächst unter erheblichem Sauerstoffverbrauch zu Nitrat oxidiert wird, und dieses dann erneut reduziert werden muss (◘ Abb. 14.9a). Sofern wie bei der nachgeschalteten Denitrifikation hierzu extra organische Verbindungen als Elektronendonoren zum Wasser zugegeben werden, erhöht sich durch die hohe Oxidationsstufe des Nitrats auch hiervon der Verbrauch. Beides erhöht die Kosten der Wasserreinigung. Günstiger wäre es im Hinblick auf den Verbrauch an Elektronenakzeptor und -donor eigentlich, wenn das Ammonium nur bis zum Nitrit oxidiert und schon dann zum molekularen Stickstoff reduziert würde (◘ Abb. 14.9b). Noch vorteilhafter wäre es, vor allem bei ammoniumreichen Abwässern, wenn das Ammonium selbst als Elektronendonor fungieren könnte. Der direkt zum N_2 oxidierte Teil müsste dann gar nicht weiter aufoxidiert werden, zudem könnten die Elektronendonoren weitgehend eingespart werden (◘ Abb. 14.9c, d). Neuere Untersuchungen zur Mikrobiologie und Verfahrenstechnik der Stickstofftransformationen zeigen, dass solche im Hinblick auf die Redoxverhältnisse **vorteilhafteren Verfahren** grundsätzlich möglich sind.

Der Verbrauch an Sauerstoff und Elektronendonor lässt sich schon einschränken, wenn es gelingt, nur eine **partielle Nitrifikation** durchzuführen und diese mit einer **konventionellen Denitrifikation** (wenngleich mit Nitrit als erstem Elektronenakzeptor) zu koppeln (◘ Abb. 14.9b). Eine partielle Nitrifikation kann realisiert werden, indem man die Nitrifikation bei relativ hohen Temperaturen (>26 °C) und relativ kurzen Verweilzeiten ohne Schlammrückführung laufen lässt. Die Ammoniumoxidierer wachsen bei höheren Temperaturen schneller als die Nitritoxidierer und werden nicht ausgewaschen, während die Nitritoxidierer aufgrund der fehlenden Schlammrückführung ausgewaschen werden. Zusätzlich werden Nitritoxidierer bei limitierenden O_2-Konzentrationen und Überschuss an Ammonium gehemmt und können nicht

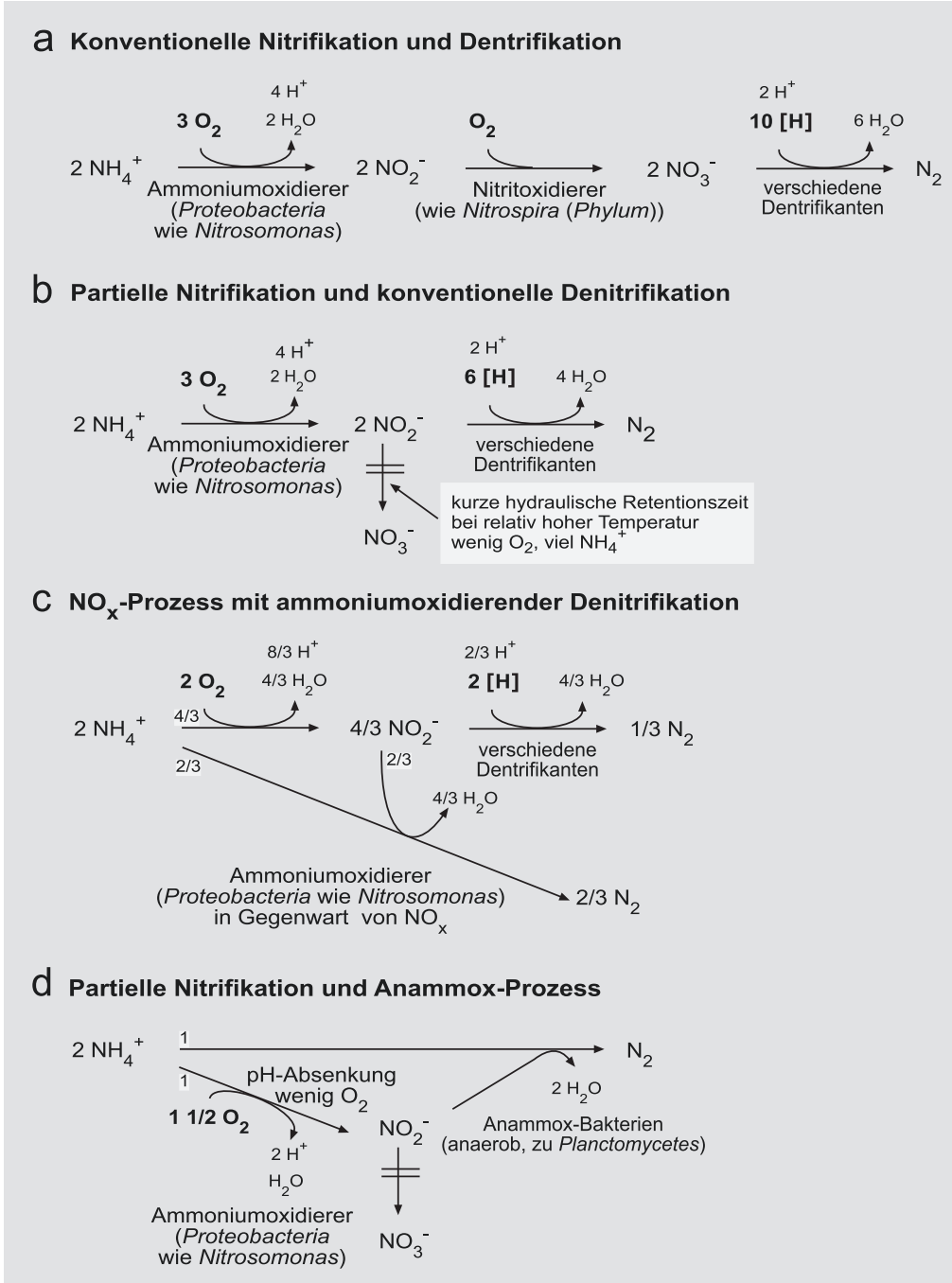


Abb. 14.9 Schematischer Ablauf, beteiligte Mikroorganismen und Verbrauch an O_2 sowie Reduktionsäquivalenten bei konventionellen (**a**) und verschiedenen alternativen (**b**–**d**) Verfahren zur Entfernung von Ammonium aus dem Abwasser. Zur besseren Vergleichbarkeit beziehen sich alle Zahlen auf die Oxidation von zwei Ammoniumionen zu einem Stickstoffmolekül. Die Werte für den Verbrauch an O_2 und Reduktionsäquivalenten ([H]) sind jeweils hervorgehoben

wachsen, was auch Verfahren ohne erhöhte Temperatur ermöglichen könnte.

Es wurde festgestellt, dass herkömmliche proteobakterielle Ammoniakoxidierer nicht nur unter anaeroben Bedingungen, sondern sogar unter aeroben denitrifizieren können, sofern die mutmaßlich regulatorisch wirksamen (und gleichzeitig für Nitritoxidierer toxischen) Stickoxide NO oder NO_2 vorhanden sind. Diesen Effekt kann man nutzen, um im Vergleich zu herkömmlichen Verfahren noch größere Mengen an O_2 und Elektronendonor bei der Stickstoffentfernung einzusparen (◘ Abb. 14.9c). Die proteobakteriellen, mit *Nitrosomonas* verwandten Ammoniumoxidierer bewirken beim sogenannten **NO_X-Prozess** unter Einfluss von NO_X zum einen eine **partielle Nitrifikation** des Ammoniums zum Nitrit. Zum anderen wird ein Teil des Nitrits dann als Elektronenakzeptor für eine **ammoniumoxidierende Denitrifikation** genutzt. Ein anderer Teil des Nitrits muss immer noch durch eine herkömmliche **Denitrifikation** zu N_2 reduziert werden, wobei allerdings der Verbrauch an Elektronendonor deutlich reduziert ist.

Die auch theoretisch maximale Reduktion des Verbrauches an O_2 und Elektronendonoren wird erreicht durch eine Kopplung von partieller **Nitrifikation** und dem **Anammoxprozess** (◘ Abb. 14.9d). Die Ammoniumoxidation zu Nitrit durch herkömmliche proteobakterielle Ammoniumoxidierer wird durch Sauerstofflimitation und Ermöglichung einer durch die Säurebildung eintretenden pH-Absenkung auf 50 % begrenzt. Unter anaeroben Bedingungen und bei Fehlen eines anderen Elektronendonors setzen sich dann **an**aerob **amm**onium**ox**idierende Bakterien durch. Diese Anammox-Bakterien gehören zu den Planctomyceten und gewinnen Energie durch eine **ammoniumoxidierende Denitrifikation** (► Abschn. 7.4). Da die Anammox-Bakterien sehr langsam wachsen, haben entsprechende Anlagen derzeit noch eine extrem lange Anlaufzeit. Außerdem ist eine ausreichende Schlammrückführung besonders wichtig.

14.5 Anaerobe Schlammbehandlung, direkte anaerobe Abwasserreinigung und Biogasgewinnung

Bei den verschiedenen Schritten der Abwasserreinigung fällt in den Klärbecken **Schlamm** an, der reich an organischen Stoffen ist. Bei der ersten mechanischen Stufe sind es partikuläre Schmutzstoffe (Primärschlamm), bei den folgenden Stufen die Bakterienflocken mit adsorbierten Schmutzstoffen. Pro Einwohnerwert (60–65 g BSB_5 je Einwohner und Tag) fallen in einer Kläranlage etwa 10 g Schlammtrockenmasse an, der Anteil organischer Stoffe liegt bei 70 %. Der Schlamm ist sehr reich an Wasser (etwa 90 %), da die bakteriellen Schleimstoffe (extrazelluläre Polysaccharide) Wasser binden. **Ziel der Schlammbehandlung** ist die Verwertung und Beseitigung des Schlammes. Dabei sollen keine Geruchsbelästigungen auftreten (Desodorierung) und die Endprodukte sollen hygienisch unbedenklich sein (Hygienisierung). **Angewandte Verfahren** sind neben der Verbrennung und Deponierung die Kompostierung (► Abschn. 17.2) sowie die anaerobe Faulung in Verbindung mit Biogasgewinnung.

Die anaerobe **Schlammfaulung** in Verbindung mit der Biogasgewinnung ist das attraktivste Verfahren, da es die Abfallbeseitigung mit einer Energiegewinnung verbindet. Dieses Verfahren erfordert allerdings relativ aufwändige Anlagen, die Faultürme oder Faulbehälter. Bei modernen Kläranlagen fallen sie als große birnenförmige oder zylindrische Bauten ins Auge, meist in mehrfacher Ausführung. Die großen Dimensionen gehen darauf zurück, dass der Faulungsprozess langsam verläuft. Da die Verweilzeit des Schlammes mehrere Wochen beträgt, bemüht man sich sehr, den Prozess zu beschleunigen.

Die mikrobiologische Grundlage der Schlammfaulung ist die in ► Abschn. 4.5.1 behandelte **methanogene Nahrungskette** (◘ Abb. 4.23). Vier Stoffwechseltypen wirken

dabei zusammen: Primäre Gärungsorganismen setzen die Ausgangssubstrate zu organischen Säuren und Alkoholen sowie H_2 und CO_2 um. Acetogene Bakterien gewinnen Energie durch Bildung von Acetat aus dem gebildeten H_2 und CO_2. Methanogene Archaea bilden Methan aus dem Acetat oder verbrauchen direkt H_2 und CO_2. Ein wichtiges Bindeglied in dieser Nahrungskette sind schließlich als vierter Typ die sekundären Gärer, die die zunächst gebildeten organischen Säuren und Alkohole unter Freisetzung von H_2 weiter zu Acetat oder CO_2 oxidieren. Diese Reaktionen sind unter Normalbedingungen häufig endergon. Deshalb können solche Organismen nur wachsen, wenn der gebildete Wasserstoff ständig durch acetogene oder methanogene Mikroorganismen entfernt wird. Die Assoziationen sind dabei sehr eng, unter anderem treten symbiotische Beziehungen des Interspezies-Wasserstofftransfers auf. Um diese **syntrophen Beziehungen** zu gewährleisten, ist ein enger Kontakt zwischen den beteiligten Mikroorganisnen notwendig, der nicht durch starke Turbulenzen in den Reaktoren gestört werden darf. Eine weitere Voraussetzung für eine effektive Schlammfaulung ist der stete Verbrauch der in den ersten Reaktionen gebildeten **Säuren.** Sowohl bei den Gärungen als auch bei der Acetogenese entstehen organische Säuren. Häufen sie sich an, so wird die im neutralen pH-Bereich optimal verlaufende Methanogenese gehemmt. Mit der Abnahme des pH-Wertes liegen die organischen Säuren zunehmend in der undissoziierten und stärker hemmenden Form vor. Die Einhaltung eines optimalen pH-Wertes in den Reaktoren wird mit Hilfe von Pufferbehältern erreicht.

Die Organismen in der methanogenen Nahrungskette gewinnen aus den jeweiligen Stoffumsetzungen nur wenig Energie, sehr viel weniger als beispielsweise aerob lebende Organismen. Deshalb wird wenig Biomasse gebildet, beziehungsweise für die Biomassebildung sehr viel organisches Material zum jeweiligen Stoffwechselprodukt umgesetzt. Bei der anaeroben Schlammfaulung werden von den eingesetzten Verbindungen etwa 10 % assimiliert und 80–90 % zu Biogas umgesetzt. Diese **Kohlenstoffbilanz** der Schlammfaulung ist in doppelter Hinsicht von Vorteil. Erstens fallen aufgrund der geringen Neubildung an Biomasse letztlich nur **geringe Mengen an gefaultem Klärschlamm** an. Obwohl der ausgefaulte Schlamm im Prinzip als Dünger einsetzbar ist, bereitet die Klärschlammverwertung, abhängig auch von der Schadstoffbelastung (siehe unten), besonders in Ballungsgebieten schwer lösbare Probleme. Zweitens wird der weitaus **größere Teil** des organischen Materials zu **Biogas** umgesetzt, welches eine vielseitig einsetzbare Energiequelle darstellt. Biogas ist ein Gemisch aus 60–70 % Methan, 30–40 % CO_2 und geringen Mengen von H_2S und NH_3.

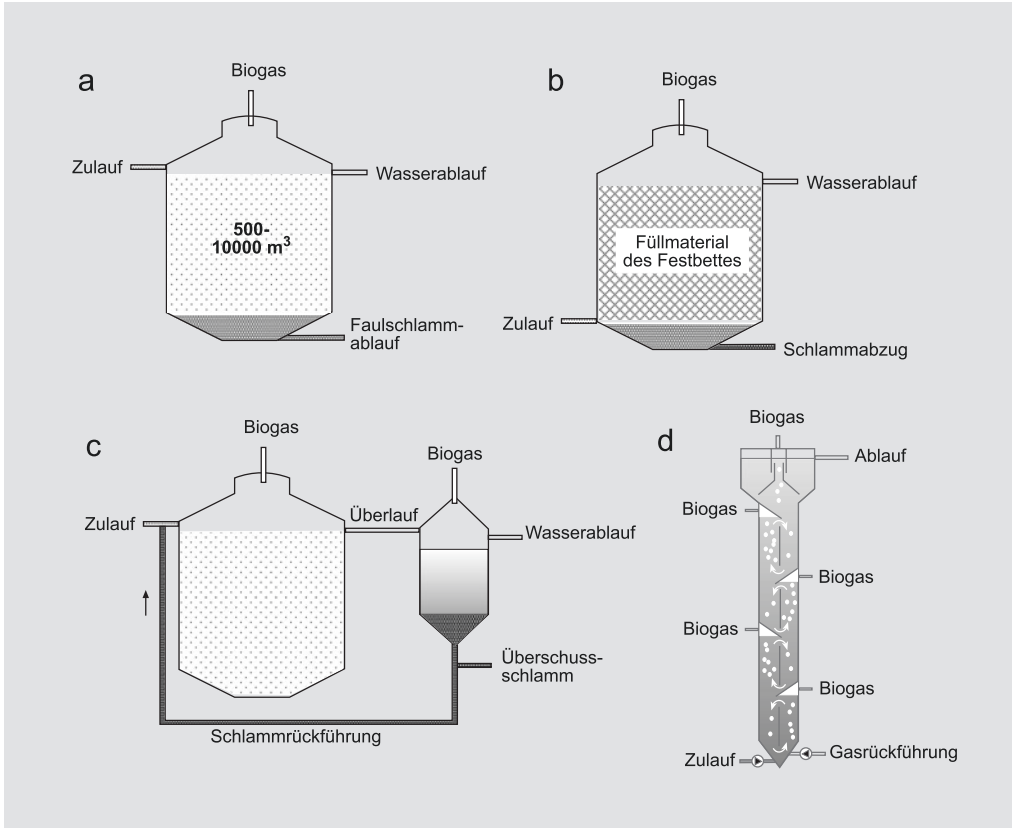
Aus energetischer Sicht ist die **Biogasbildung** ein sehr effektiver Prozess. Über 80 % der in der organischen Substanz enthaltenen Energie geht in Methan über. Aus 1 kg orga-

Biogas (Gülzower Fachgespräche, 2003)

- Biogas erfreut sich als Energiequelle gerade im landwirtschaftlichen Bereich eines enormen Zuspruches. So arbeiteten in Deutschland 2003 mehr als 2000 Biogasanlagen mit einer installierten elektrischen Leistung von über 250 Megawatt. In den landwirtschaftlichen Biogasanlagen wird nur ein Drittel der Brennstoffenergie zu Strom konvertiert. Die restlichen 2/3 fallen als Wärme an, die nur selten in nennenswertem Umfang genutzt wird.
- Dennoch ist heute das Potenzial der Energiegewinnung aus Biogas bei Weitem nicht ausgereizt. Neue Optionen von Biogas für die Zukunft sind a) Nutzung in Brennstoffzellen oder Mikrogasturbinen, b) Einspeisung in öffentliche Gasnetze oder c) Nutzung als Kraftstoff.
- Wichtiges zu lösendes Problem ist die Gasreinigung.

nischer Substanz entsteht bis zu 1m^3 Biogas, welches dem Energiegehalt von 0,5 L Erdöl entspricht. Der Heizwert des Biogases beträgt 20.000–25.000 kJ/m^3, also etwa die Hälfte des Heizwertes von Erdgas. Die notwendige Gasreinigung (Trocknung und Entfernung von H_2S) reduziert die erzielbare Energie. Bedenkt man, dass große Mengen an Abwasser und damit Klärschlamm aus der Landwirtschaft und der Lebensmittelindustrie anfallen, so ergeben sich dadurch ins Gewicht fallende alternative Energiequellen aus Abwässern und Abfällen. So fallen pro Milchkuh etwa pro Tag etwa 45 L Gülle mit 5 kg Trockensubstanz an, aus der etwa 3m^3 Biogas gebildet werden. In den heute üblichen Biogasreaktoren wird pro 1m^3 Reaktorvolumen und Tag etwa 1m^3 Biogas gebildet, die Verweilzeit liegt zwischen 10 und 30 Tagen.

Die Konstruktion der **Biogasreaktoren** (◘ Abb. 14.10) muss neben anfallenden Mengen und möglichem technischem Aufwand immer auch den geringen Wachstumsraten der an der Methanogenese beteiligten Mikroorganismen Rechnung tragen. Um eine Intensivierung der Schlammfaulung und Biogasbildung zu erreichen, wird die einmal gebildete Biomasse in hoher Konzentration möglichst lange genutzt. Hierzu ist, wie unter ► Abschn. 14.2 bereits für aerobe Anlagen besprochen, eine **Anreicherung und Rückführung der Bakterienbiomasse** erforderlich. Gleichzeitig werden die Zellen mit den verschiedenen Stoffwechsel-



◘ **Abb. 14.10** Verfahrensvarianten der Biogaserzeugung. **a** Faulturm mit homogener Schlammverteilung durch Umwälzung, **b** anaerober Festbettreaktor, in dem die Bakterien auf Füllmaterial wachsen, **c** Kontaktverfahren mit Abtrennung der Biomasse in einem Absetzbehälter und Rückführung der Biomasse, **d** Biogas-Turmreaktor mit frei suspendierter Biomasse

leistungen in **funktionellen Assoziationen** zusammengehalten. Da eine Aggregation der Zellen zu sedimentierenden Flocken schwer erreichbar ist, können inerte Partikel wie Sand zur Besiedelung zugesetzt werden. Dadurch wird erreicht, dass die Biomasse sedimentiert und nicht ausgewaschen wird. Die sich ausbildenden Schlammbetten werden von unten durchströmt und dadurch in der Schwebe gehalten **(Fließbettreaktor)**. **Festbettreaktoren** werden vollständig mit Trägermaterialien wie Kunststoff-Füllkörpern beschickt, die ein möglichst geringes Gewicht und eine hohe Besiedlungsfläche besitzen. Beim **Biogas-Turmreaktor** (Pilot-Anlagen: 20 m Höhe, 1 m Durchmesser, Volumen: 15m^3) liegt die Biomasse granulär oder pelletförmig vor. Das Biogas wird seitlich durch Einbauten kontrolliert abgezogen, um kritische Gasbelastung im oberen Bereich zu vermeiden. Die Einbauten wie auch ein im Reaktorkopf angebrachter Sedimenter sichern den Biomasserückhalt.

Die Schlammfaulung wird überwiegend bei 30–37 °C (mesophiler Bereich) durchgeführt. Zur Einhaltung dieser mikrobiell erforderlichen optimalen Temperaturen sind den Faultürmen Wärme(aus-)tauscher vorgeschaltet beziehungsweise innen eingebaut. Auch thermophile Verfahren (50–55 °C) sind in der Erprobung.

Der neben dem Biogas anfallende **ausgefaulte Klärschlamm** ist leicht entwässerbar. Sofern er keine hohen Schadstoffkonzentrationen enthält, kann er als stickstoffreicher organischer Dünger eingesetzt werden. Problematisch sind unter anderem die Gehalte an toxischen Schwermetallen sowie Dioxinen und Furanen. So hat Klärschlamm aus Ballungsgebieten häufig Cadmium- und Quecksilbergehalte von mehr als 10 mg/kg. Nach der derzeitigen deutschen Klärschlammverordnung liegen die Grenzwerte für Cadmium bei 1,5 und für Quecksilber bei 1 mg/kg Trockensubstanz. Für weitere Schwermetalle liegen die Grenzwerte höher, für Blei 100, Kupfer 60, Nickel 50, Chrom 100 und Zink 200 mg/kg Klärschlamm Trockensubstanz. Der Einsatz höher belasteter Klärschlämme in der Landwirtschaft ist verboten. Ein beträchtlicher Teil des anfallenden Klärschlammes muss daher deponiert oder verbrannt werden.

Die aerobe Abwasserreinigung ist ein sehr aufwändiger Prozess, da die Belüftung viel Energie erfordert und relativ hohe Kosten verursacht. Bei der anaeroben Behandlung fällt dagegen Energie in Form von Biogas an. Eine **direkte anaerobe Abwasserreinigung** ist dann attraktiv, wenn es gelingt, den Prozess stabil und mit hoher Durchsatzrate durchzuführen. Eine wesentliche Voraussetzung dafür sind **hochbelastete Abwässer,** wie sie in der Lebensmittelindustrie und Landwirtschaft anfallen. Im Prinzip stellt auch der bisher besprochene frische Klärschlamm solch ein konzentriertes Abwasser dar. Abwässer mit einem Gehalt von 1–100 g/L organische Stoffe können direkt anaerob gereinigt werden. Abwässer von Zucker- und Stärkefabriken, Molkereien und Brauereien sowie von Schlachthöfen haben Konzentrationen von 1–10 g/L, bei Klärschlamm und Gülle liegen die Werte bei 10–100 g/L an organischen Stoffen.

Abwasserinhaltsstoffe wie Kohlenhydrate, Eiweiße und Fette werden durch die Mikroorganismen der methanogenen Nahrungskette gut verwertet, Lignin hingegen nicht. Hemmend im Abwasser wirken höhere Konzentrationen an Schwermetallen, chlorierten organischen Lösungsmittel (zum Beispiel Chloroform), Cyanide und Schwefelwasserstoff. Der durch Sulfatreduktion aus Sulfat gebildete Schwefelwasserstoff entfaltet vor allem in undissoziierter Form (bei sauren pH-Werten) seine hemmende Wirkung. Anderseits kann er jedoch auch zur Schwermetallentgiftung durch Sulfidbildung beitragen.

Durch die in ◘ Abb. 14.10 dargestellten Verfahren, bei denen die bakterielle Biomasse im Reaktor zurückgehalten wird, werden hohe Zelldichten (um 50 g/L) erreicht,

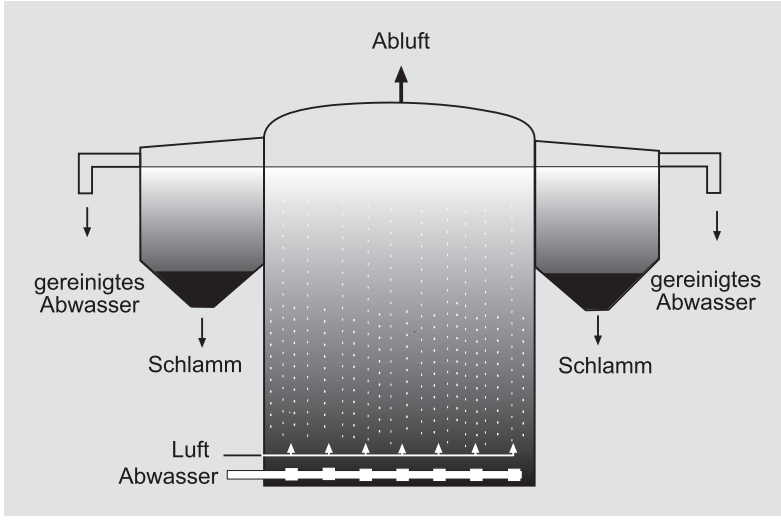
die im kontinuierlichen Betrieb bei Verweilzeiten von 10–24 h zu einem Reinigungsgrad des Abwassers von 80–90 % führen. Der Reinigungsgrad hängt deutlich von der Zusammensetzung des Abwassers ab, sodass eine Nachbehandlung erforderlich sein kann.

14.6 Reinigung von Industrieabwässern

Industrielle Abwässer sind vielfach höher belastet als kommunale Abwässer. Der Gehalt organischer Stoffe liegt bei 2–3 g/L, ein Teil davon ist schwer abbaubar. Das hat zur Entwicklung von wesentlich wirksameren Belebungsverfahren in Form der Biohoch-Reaktoren oder Turmbiologie geführt (◘ Abb. 14.11). Das sind geschlossene Bioreaktoren von 20–30 m Höhe und mehr als 10.000m^3 Volumen. Die hohen Wassersäulen erhöhen den O_2-Sättigungswert, bei 8 m Wassertiefe beträgt er 17, bei 20 m Wassertiefe 28 mg O_2/L. Damit steigt die Sauerstoffausbeute, die eingeleitete Luft wird wesentlich effektiver als bei flachen, offenen Becken für Abbauprozesse genutzt. Durch spezielle Konstruktionen am Boden des Turmreaktors wird der eingeleitete Abwasserstrom mit dem Luftstrom vermischt und der Stofftransfer beschleunigt. Die aufströmenden und zirkulierenden Abwasserströme tragen die Belebtflocken nach oben, wo sie in dem ringförmig um die Turmreaktoren angeordneten Absatzbecken sedimentieren und auch zum Teil wieder in den Belebungsraum zurückgeführt werden. Moderne Anlagen großer Chemiekonzerne erreichen durch diese Intensiv-Technologie mit mehreren Reaktoren die Reinigung von 100.000 m^3 Abwasser/Tag mit 160t BSB_5/Tag. Die geschlossenen Anlagen verhindern, dass gasförmige Abfallstoffe in die Atmosphäre gelangen.

Während man früher die Ansicht vertrat, dass konzentrierte Abwässer der chemischen Industrie vor der biologischen Reinigung mit Kommunalabwasser „verdünnt" werden müssen, haben die Erfahrungen gezeigt, dass es oft wirtschaftlicher ist, eine getrennte Reinigung durchzuführen.

In der chemischen Industrie wird heute vermieden, a) große Mengen verdünnten Abwassers zu erzeugen und b) Ströme der verschiedensten Abwässer aus den Produktionsanlagen in einer Gemeinschaftsanlage zu vereinigen, da Gemische generell schwerer zu



◘ **Abb. 14.11** Biohoch-Reaktor oder Turmbiologie

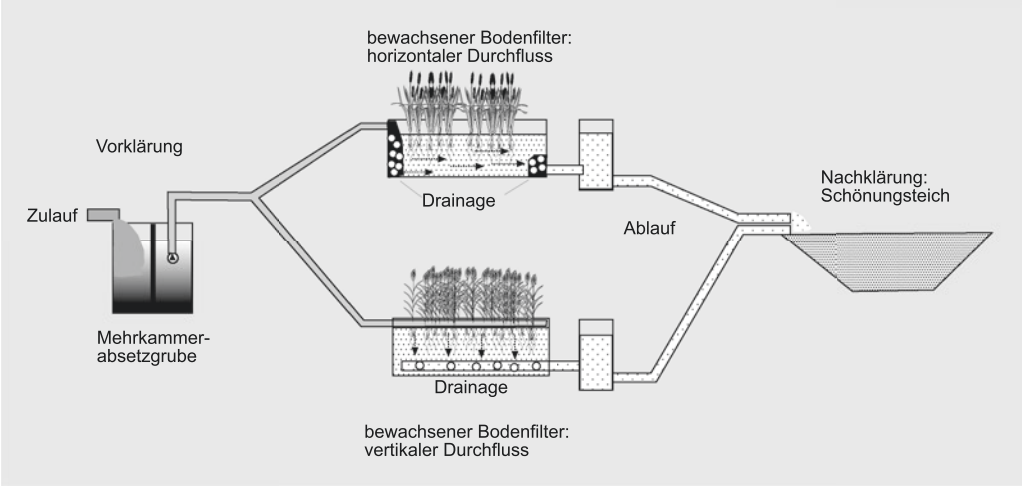
reinigen sind. Es werden stattdessen konzentrierte Abwässer jedes Produktionsstromes einzeln in dezentralen Reinigungsanlagen gereinigt. Da solche Abwässer zum Teil sehr toxisch sind, also nicht „biologiefähig", werden häufig physiko-chemische Methoden eingesetzt.

14.7 Naturnahe Abwasserbehandlungsverfahren

Neben den HighTech-Anlagen der Turmbiologie haben auch einfache Technologien eine Zukunft. Solche naturnahen Abwasserbehandlungsverfahren kommen in Deutschland jedoch bisher selten vor. Sie eignen sich aufgrund des zum Teil hohen Flächenbedarfes (5–10 m^2/EW bei einer Pflanzenkläranlage), der niedrigen hydraulischen Belastung, Biomassekonzentration und Oxidationsgeschwindigkeit sowie des geringen Betriebs- und Energieaufwandes besonders als dezentrale Lösungen für Außenbereiche mit kleineren Anschlussgrößen (bis zu 1000 EW).

Bei Pflanzenkläranlagen wird das Abwasser zwecks Behandlung einem mit ausgewählten Sumpfpflanzen (Helophyten wie Schilf: *Phragmites australis;* Flechtbinsen: *Schoeneplectus lacustris* und auch Rohrkolben: *Typha latifolia*) bewachsenen, sandig-kiesigem Bodenkörper zugeführt. Der Bodenkörper wird horizontal oder vertikal durch- beziehungsweise überströmt. Die Reinigungsvorgänge beruhen vorwiegend auf der Tätigkeit der angesiedelten Mikroorganismen. Die Sumpfpflanzen sind nur indirekt an der Reinigungsleistung beteiligt. Ihre Leistung liegt darin, dass sie günstige Bedingungen für die abbauenden Bakterien schaffen. Dazu gehört zum Beispiel der Transport von Sauerstoff durch die Wurzeln in den Boden und die Aufrechterhaltung der hydraulischen Durchlässigkeit des Bodens durch das Wurzelwachstum. Im Wurzelraum sind aerobe aber auch anaerobe Zonen, sodass sich eine komplexe Biozönose mit vielfältigen Abbauleistungen entwickelt (◘ Abb. 14.12).

Durch eine jährliche Ernte der oberirdischen Pflanzenteile können etwa 5 % der N- und P-Fracht aus dem System entfernt werden. Aufgrund der relativ langsamen Entwicklung der ober- und unterirdischen Pflanzenteile bedarf eine Pflanzenkläranlage einer Einfahrphase von mindestens einer Vegetationsperiode. Die volle Entwicklung dauert aber wesentlich länger.



◘ **Abb. 14.12** Schema von Pflanzenkläranlagen. Oben horizontale, unten vertikale Durchströmung. (Verändert nach UBA, 2003)

Testen Sie Ihr Wissen

Was besagen die Summenparameter BSB, CSB, DOC, TOC, AOX?
Was ist ein Einwohnerwert?
Was ist ein Vorfluter?
Beschreiben Sie eine gewöhnliche Kläranlage mit hren Teilschritten.
Vergleichen Sie die Reinigung von Abwasser im Belebungsbecken und durch Tropfkörper. Stellen Sie die jeweiligen Vor- und Nachteile heraus.
Warum wird häufig Schlammrückführung betrieben?
Was ist Blähschlamm?
Wie müssen die Bedingungen sein, damit durch „Polyphosphat akkumulierende Organismen" eine Phosphateliminierung aus Abwasser gelingt?
Durch welchen Metabolismus lässt sich leicht die Stickstoffbelastung eines Abwassers beseitigen? Sie haben die aerobe Stufe der Abwasserreinigung betrieben und wollen anschließend N-Beseitigung durchführen: Welche Probleme haben Sie bei dieser Reihenfolge?
Was versteht man unter dem Anammox-Prozess?
Vergleichen Sie die Biomasse-Bildung im aeroben und anaeroben Teil einer Kläranlage. Wieviel von den anfallenden Verbindungen wird bei der Schlammfaulung assimiliert und wieviel zu Biogas umgesetzt? Wie setzt sich Biogas zusammen?
Welchen Sinn macht der Einsatz von hohen Reaktoren bei der Reinigung von Industrieabwasser?
Wie funktioniert eine Pflanzenkläranlage? Wo lässt sie sich einsetzen?

Literatur

Bever, J., Stein, A., Teichmann, H. 2002. Weitergehende Abwasserreinigung, 4. Aufl. Oldenbourg Industrieverlag, München.

Blackall, L. L., Crocetti, G. R., Saunders, A. M., Bond, P. L. 2002. A review and update of the microbiology of enhanced biological phosphorus removal in wastewater treatment plants. Ant. v. Leeuwenhoek 81:681–691.

EU-Richtlinie Phosphat: ► http://europa.eu.int/eur-lex/en/consleg/pdf/1991/en_1991L0271_do_001.pdf.

Fritsche, W. 1998. Umwelt-Mikrobiologie. Gustav Fischer Verlag, Jena.

Imhoff, K., Imhoff, K. R. 1993. Taschenbuch der Stadtentwässerung. 28. Aufl., Oldenbourg Verlag, München, Wien.

Klärschlammverordnung: ► http://bundesrecht.juris.de/bundesrecht/abfkl_rv_1992/gesamt.pdf.

Lemmer, H., Griebe, T., Flemming, H.-C. 1996. Ökologie der Abwasserorganismen. Springer-Verlag. Heidelberg.

Mudrack, K., Kunst, S. 1994. Biologie der Abwasserreinigung. Gustav Fischer, Stuttgart, Jena, New York.

Präve, P., Faust, U., Sittig, W., Sukatsch, D. A. 1994. Handbuch der Biotechnologie, 4. Aufl., Oldenbourg Verlag, München, Wien.

Schmidt, I., Sliekers, O., Schmid, M., Bock, E., Fuerst, J., Kuenen, J. G., Jetten M. S. M., Strous, M. 2003. New concepts of microbial treatment processes for the nitrogen removal in wastewater. FEMS Microbiol. Rev. 27:481–492.

UBA. 2003. Wanderausstellung „Nachhaltige und rationelle Nutzung von Wasser und Energie – Beispiele aus Deutschland" Pflanzenkläranlage. ► http://www.umweltbundesamt.de/wah20/4-2.htm.

Wagner, M., Loy, A., Nogueira, R., Purkhold, U., Lee, N., Daims, H. 2002. Microbial community composition and function in wastewater treatment plants. Ant. v. Leeuwenhoek 81:665–680.

Workshop „Aufbereitung von Biogas" Gülzower Fachgespräch Band 21, 17./18. Juni 2003, FAL Braunschweig.

Biologische Abluftreinigung

15.1 Probleme mit Abluftströmen – 518

15.2 Mikrobielle Abluftreinigung, allgemeine Grundlagen – 521

15.3 Abluftreinigungssysteme: Biofilter – 526

15.4 Abluftreinigungssysteme: Biowäscher – 529

15.5 Abluftreinigungssysteme: Tropfkörper-Wäscher – 535

15.6 Abluftreinigungssysteme: Membranreaktoren – 537

15.7 Auswahlkriterien für Verfahrenswahl – 537

Literatur – 540

© Springer-Verlag GmbH Deutschland, ein Teil von Springer Nature 2020
W. Reineke und M. Schlömann, *Umweltmikrobiologie,* https://doi.org/10.1007/978-3-662-59655-5_15

„Die **Technische Anleitung Luft** dient dem **Schutz** der Allgemeinheit und der Nachbarschaft vor schädlichen Umwelteinwirkungen durch Luftverunreinigungen und der **Vorsorge** gegen schädliche Umwelteinwirkungen durch Luftverunreinigungen, um ein hohes Schutzniveau für die Umwelt insgesamt zu erreichen."

Der **Schutz** vor schädlichen Umwelteinwirkungen durch Geruchsimmissionen wird in der TA-Luft nicht geregelt; dagegen wird die **Vorsorge** gegen schädliche Umwelteinwirkungen durch Geruchsemissionen in dieser Verwaltungsvorschrift geregelt.

Die Reinigung von Abgas-/Abluftströmen, die gas- und aerosolförmige luftverunreinigende Stoffe enthalten, muss also durchgeführt werden.

15.1 Probleme mit Abluftströmen

Ein bedeutendes Problem stellen **geruchsintensive Abluftströme** dar. So treten Geruchsstoffe in der Abluft aus **Kompostierungsanlagen, Kläranlagen,** der **Tierhaltung** und **Lebensmittelproduktion** auf. Dabei sind Amine, Amide, Indol, Skatol (3-Methylindol), Ammoniak, Schwefelwasserstoff, Dimethylsulfid, Mercaptane, Buttersäure, n-Butanol, Isobutanol, 2-Butanon, Essigsäurebutylester und Butylenglykol zu nennen. Diese Stoffe zeichnen sich dadurch aus, dass ihre Geruchsschwelle, das heißt die kleinste Stoffmenge, die von den meisten Menschen noch wahrgenommen werden kann, sehr niedrig liegt. In Bezug auf Trinkwasserbelastungen werden Geruchsschwellen für unterschiedliche Substanzen als deren Konzentration pro Liter Wasser angegeben. Die ◘ Tab. 15.1 und 15.2 machen deutlich, dass für einige Stoffe schon Mengen von $\mu g/m^3$ in der Luft beziehungsweise ng/L im Trinkwasser zur Belästigung führen, während andere erst im hohen Bereich von mg/m^3 beziehungsweise µg/L wahrgenommen werden.

Geruchseinheit ist die Einheit der Geruchsstoffmenge

Eine Geruchseinheit (GE) entspricht der Stoffmenge eines Geruchsstoffes oder Geruchsstoffgemisches, die – bei 20 °C und 1013 Pa in 1 m^3 Neutralluft verteilt – entsprechend der Definition der Geruchsschwelle gerade eben eine Geruchswahrnehmung auslöst.

Die Europäische Norm (EN 13725:2003) definiert eine Methode zur objektiven Bestimmung der Geruchsstoffkonzentration einer gasförmigen Probe durch Anwendung der dynamischen Olfaktometrie mit Personen als Prüfern und zur Bestimmung der Emissionsströme von Geruchsstoffen aus Punktquellen, Flächenquellen mit definiertem Volumenstrom und Flächenquellen ohne definiertem Volumenstrom.
DIN EN 13 725:2003-07 Luftbeschaffenheit; Bestimmung der Geruchsstoffkonzentration mit dynamischer Olfaktometrie; Deutsche Fassung EN 13725:2003. Beuth Verlag, Berlin.

Aus der Landwirtschaft und den Verbrennungsprozessen der Energiewirtschaft stammen **anorganische Stoffe.**

Flüchtige organische Verbindungen gelangen aus einem breiten Spektrum von Emissionsquellen der Industrie, des Gewerbes, der Kommunen und der Landwirtschaft in die Luft.

Im **industriellen Bereich** fallen vor allem organische **Lösemittel** als luftverunreinigende Stoffe an. Eine Auswahl bringt folgende Aufstellung:

1. Kohlenwasserstoffe: Methan, Ethen, Pentan, Hexan, Cyclohexan, Heptan.
2. Aldehyde und Ketone: Formaldehyd, Aceton.

Tab. 15.1 Geruchsschwellenwerte von Stoffgruppen und Einzelkomponenten in Luft

Stoffgruppen:Stoff	mg/m³	Stoffgruppen:Stoff	mg/m³
Aromatische Kohlenwasserstoffe		– *Carbonsäureester*	
Benzol	16,2	Essigsäureethylester	22,0
Toluol	7,6	Essigsäurebutylester	0,03
1,3,5-Trimethylbenzol	2,0	Essigsäurepentylester	0,4
Isopropylbenzol	0,04	Methacrylsäuremethylester	0,2
Sauerstoffhaltige Verbindungen		Acrylsäureethylester	0,002
– *Alkohole*		– *Phenole*	
Methanol	5,3	Phenol	0,2
Ethanol	19,1	Cresole	0,004
Isopropanol	7,5	**Schwefelhaltige Verbindungen**	
Isobutanol	2,2		
n-Butanol	0,4	Methylmercaptan	0,04
n-Amylalkohol	0,7	Ethylmercaptan	0,003
Isoamylalkohol	0,2	Schwefelkohlenstoff	0,6
2-Ethylhexanol	0,4	Schwefelwasserstoff	0,003
		Stickstoffhaltige Verbindungen	
– *Ether*		Ammoniak	1,9
Diisopropylether	0,04	Dimethylamin	0,09
– *Aldehyde*		Trimethylamin	0,0005
Formaldehyd	0,1	Diethylamin	0,06
Acetaldehyd	0,4	Triethylamin	0,4
– *Ketone*		Dibutylamin	1,4
Aceton	48,0	Pyridin	0,07
Methylethylketon	6,0	2,4-Toluylendiisocyanat	14,4
– *Carbonsäuren*		Nitrobenzol	0,03
Ameisensäure	1,9	**Halogenkohlenwasserstoffe**	
Essigsäure	2,5		
Propionsäure	0,2	Dichlormethan	706,0
Buttersäure	0,004	Tetrachlormethan	640,0
		Trichlorethen	109,0
		Tetrachlorethen	34,0
		Chlorbenzol	0,9

3. Aromaten: Benzol, Toluol, Xylol, Phenol, Styrol, Naphthalin.
4. Chloraliphaten: Dichlormethan, Dichlorethan, Trichlorethan.
5. Chloraromaten: Chlorbenzol, 2-Chlortoluol.

Die mengenmäßige Freisetzung solcher Verbindungen über die Abluft wird vielfach unterschätzt. Wie Berechnungen ergeben, werden in Europa pro Jahr etwa 1360000t Benzol, 1650000t Toluol und 50000t Styrol emittiert (Aus Fritsche, 1998).

Tab. 15.2 Geruchsschwellenkonzentration (GSK) in Wasser

Stoffgruppen:Stoff	GSK (µg/L)	Stoffgruppen:Stoff	GSK (µg/L)
Aromatische Kohlenwasserstoffe		**Stickstoffhaltige Verbindungen**	
Benzol	2000	Trimethylamin	0,4–1
Naphthalin	500	Pyridin	100
Sauerstoffhaltige Verbindungen		Indol	300
– *Alkohole*		3-Methylindol	3
Geosmin (bicyclischer Alkohol)	0,006	Nitrophenol	10.000
Menthol (monocyclischer Monoterpen-Alkohol)	6	**Halogenkohlenwasserstoffe**	
– *Ketone*		Tetrachlorethen	300
Aceton	5000	Chlorphenole	10
– *Carbonsäuren*		Trichloranisole	0,0002–0,003
Buttersäure	50	Chlorbenzol	100
– *Phenole*		Dichlorbenzole	10–30
Phenol	1000	Trichlorbenzole	5–50
Schwefelhaltige Verbindungen		Tetrachlorbenzole	20–400
Dimethylsulfid (Thioether)	0,03–1	Pentachlorbenzol	60
Thiophenol	1	Hexachlorbenzol	3000
Schwefelwasserstoff	10–20		

Im Zusammenhang mit Geruchsbelästigungen gibt es häufig Befürchtungen, dass durch **Bioaerosole gesundheitliche Beeinträchtigungen** verursacht werden.

Bioaerosole sind luftgetragene Partikel biologischer Herkunft (DIN EN 13098). **Umweltmedizinisch** relevant sind Bakterien, Pilze, Viren und Pollen. Sie können entweder Partikel bilden oder an Partikeln anhaften. Weiterhin besteht die Möglichkeit, dass an Partikeln auch nur Bruchstücke von Bakterien, Pilzen, Viren oder Pollen oder deren Stoffwechselprodukte anhaften.

Als mögliche Quellen von Bioaerosolen sind Abfallverwertungs- und Entsorgungsanlagen (wie beispielsweise Abfallsortieranlagen, Umladestationen, Altholzaufbereitungsanlagen, Kompostieranlagen, Vergärungsanlagen, Deponien), Anlagen zur Herstellung von landwirtschaftlichen Erzeugnissen, Nahrungs-, Genuss- und Futtermitteln (zum Beispiel Tierhaltungen, Schlachtbetriebe, Tierkörperbeseitigungsanlagen), Kläranlagen, Biologische Abluftreinigungen (zum Beispiel Biofilter), Biogasanlagen und Kühltürme zu nennen.

Nach geltender Rechtslage – § 5 Abs. 1 Nr. 2 Bundes-Immissionsschutzgesetz (BImSchG) – und unter Vorsorgegesichtspunkten ist es derzeit allenfalls wünschenswert, jede Erhöhung von Immissionskonzentrationen gegenüber Hintergrundwerten zu vermeiden.

Die VDI Richtlinienserie bietet die Grundlage für die Messung und Beurteilung von Bioaerosol-Immissionen

- **VDI 4250** Blatt 1–3 (Bioaerosole und biologische Agenzien) beschreibt die **Wirkung** mikrobieller Luftverunreinigungen auf den Menschen
- **VDI 4251** Blatt 1–3 (Erfassen luftgetragener Mikroorganismen und Viren in der Außenluft) legt die Bedingungen fest, die bei der **Planung von Immissionsmessungen** mikrobieller Luftverunreinigungen berücksichtigt werden müssen
- **VDI 4252** (Erfassen luftgetragener Mikroorganismen und Viren in der Außenluft) beschreibt die verschiedenen Verfahren zur **Probenahme** von Bioaerosolen und legt die Anforderungen an die Durchführung der Immissionsmessungen fest
- **VDI 4253** (Bioaerosole und biologische Agenzien – Laboranalytik) legt die Bedingungen für die Anzucht und Detektion von Mikroorganismen sowie für die **Analyse** von Viren fest und baut auf der in VDI 4252 beschriebenen Probenahme auf
- **VDI 4254** (Bioaerosole und biologische Agenzien – Laboranalytik) beschäftigt sich mit der **Analyse von gasförmigen Luftverunreinigungen** mikrobieller Herkunft wie Microbial Volatile Organic Compounds (MVOC), Endotoxine, Mycotoxine und Glucane
- **VDI 4255** Blatt 1–3 (Bioaerosole und biologische Agenzien – Emissionsquellen und –minderungsmaßnahmen) stellt die unterschiedlichen **Emissionsquellen** mikrobieller Luftverunreinigungen dar und beschreibt Verfahren zur Minderung dieser Emissionen
- **VDI 4256** (Bioaerosole und biologische Agenzien – Ermittlung von Verfahrenskenngrößen) legt die **statistischen Kenngrößen** fest, die für die Beschreibung und Vergleichbarkeit der Verfahren notwendig sind
- **VDI 4257** (Bioaerosole und biologische Agenzien – Messen von Emissionen) beschreibt die Planung, die Durchführung und die verschiedenen Verfahren der **Emissionsmessung** von mikrobiellen Luftverunreinigungen
- **VDI 4258** (Bioaerosole und biologische Agenzien – Messen von Emissionen) wird die Herstellung von Prüfaerosolen zur Validierung von Messverfahren beschreiben

Für den **Abfallbereich** gelten folgende **anlagenbezogene Leitparameter:** *Aspergillus* spp., *Aspergillus fumigatus* (für Kompostieranlagen), *Penicillium* spp.

Für die **Tierhaltung/Nahrungsmittelerzeugung** gelten folgende **anlagenbezogene Leitparameter:** *Staphylococcus aureus,* Staphylokokken, Enterokokken, Enterobacteriaceen, Endotoxine bei Tierställen (◘ Tab. 15.3).

Als **Infektiöse Agenzien** sind zum Beispiel *Legionella pneumophila* aus Kühltürmen von Relevanz.

15.2 Mikrobielle Abluftreinigung, allgemeine Grundlagen

Es gibt vielfältige Bestrebungen, Luftverunreinigungen zu verhindern, die Abluft zu reinigen und sogar einige Stoffe der Abluft zurückzugewinnen. Zur **Abluftreinigung** von dampf- und gasförmigen Schadstoffen kommen grundsätzlich adsorptive, absorptive, thermische, katalytische und biologische Verfahren in Frage.

Tab. 15.3 Herkunft und Leitparameter von Bioaerosolen in der Abfallwirtschaft und der Landwirtschaft (VDI 4251 Blatt 1, VDI; 4250 Blatt 1-E 2009, neue Tabelle als VDI 4250 Blatt 3)

Bereich	Anlagenart	Anlagenbezogene und schutzgutbezogene, umweltmedizinisch relevante Messparameter Leitparameter
Verwertung und Beseitigung von Abfällen und sonstigen Stoffen (Entsorgungsanlagen)	Wertstoffsortieranlagen Gewerbeabfallsortieranlagen	*Penicillium* spp., *Aspergillus* spp.
	Verwertung getrennt erfasster/ aussortierter Wertstoffe (Metalle, Kunststoffe)	*Penicillium* spp., *Aspergillus* spp.
	Altholzaufbereitungsanlagen	*Penicillium* spp., *Aspergillus* spp.
	Kompostierungsanlagen Erden- und Humuswerke	*Penicillium* spp., A*spergillus* spp., thermotolerante Pilze
Nahrungs-, Genuss- und Futtermittel, landwirtschaftliche Erzeugnisse	Tierhaltung	Staphylokokken, S*taphylococcus aureus,* Enterobacteriaceen, Intestinale Enterkokken
	Güllelagerung und – verarbeitung, Kottrocknung	Enterobacteriaceen, Intestinale Enterkokken
	Schlachtbetriebe	Staphylokokken, *Staphylococcus aureus,* Enterobacteriaceen, Intestinale Enterkokken
	Tierkörperbeseitigungsanlagen	Staphylokokken, *Staphylococcus aureus,* Enterobacteriaceen, Intestinale Enterkokken

- Liegen die Stoffkonzentrationen über einigen Gramm pro m^3 Abluft, so können sie durch **physikalische** und **chemische Prozesse** wirksam entfernt und eventuell zurückgewonnen werden.
- Geringe Konzentrationen im Bereich unter 1 g/m^3 sind durch die genannten Methoden schwer zu entfernen. Besonders schwierig ist es, große Abluftmengen von Stoffgemischen in geringer Konzentration zu reinigen. Für diese Belange werden die unten genauer dargestellten biologischen Verfahren in zunehmendem Maße eingesetzt.

Eine entscheidende Voraussetzung für eine biologische Abluftreinigung ist die **mikrobiologische Abbaubarkeit** der potenziellen Schadstoffe. Die Liste der biologisch eliminierbaren Abluftinhaltstoffe ist lang. Im Prinzip sind alle der oben ausgewählten organischen Verbindungen (siehe Seite XX) mikrobiell metabolisierbar. Für einige ist die mikrobiologische Abbaubarkeit im großtechnischen Maßstab einer Abluftreinigung aber noch nicht nachgewiesen worden. So sind aliphatische und aromatische Kohlenwasserstoffe Wachstumssubstrate für eine Reihe von Mikroorganismen. Halogenierte Kohlenwasserstoffe können zum Teil produktiv und sonst oft cometabolisch, also in Gegenwart eines Wachstumssubstrates, transformiert werden. Stoffe, die nur sehr langsam abgebaut werden, lassen sich mittels biologischer Reinigung jedoch nicht befriedigend aus Abluft entfernen.

Bei den Mikroorganismen handelt es sich in der Regel um **ubiquitäre Mikroorganismen.** Sie haben die Fähigkeit, sich in einem weiten Rahmen an veränderte Nährstoffangebote

anpassen zu können. In der Regel sind viele verschiedene Mikroorganismenarten an den Abbauvorgängen beteiligt. Ein verändertes Substratangebot führt zu Veränderungen in der Zusammensetzung, ohne dass die Leistungsfähigkeit des Systems dadurch beeinflusst wird. Spontane Änderungen der Abgaszusammensetzung sind ungünstig für biologische Systeme.

Die natürliche Selektion von **Abbauspezialisten** für bestimmte Substrate erfolgt in Abluftreinigungsanlagen zuweilen langsam, sodass eine **Beimpfung mit Spezialkulturen** angebracht sein kann.

Flüchtige Substrate können von Mikroorganismen erst abgebaut werden, wenn sie in gelöster Form an die Zellen gelangen. Daher ist eine zweite zentrale Voraussetzung für biologische Abluftreinigung, dass die abzubauenden Stoffe eine **ausreichende Wasserlöslichkeit** besitzen müssen. Als Kenngröße dient die Henry-Konstante aus dem Henryschen Gesetz (vgl. ► Abschn. 5.1.2).

◘ Tab. 15.4 gibt für eine Vielzahl von Verbindungen, deren biologische Eliminierung aus Abluftströmen untersucht worden ist, die Henry-Konstanten an. ◘ Tab. 15.5 macht deutlich, dass die verschiedenen Verfahren – Biofilter-, Bioriesel bett- und Biowäscher-Verfahren – unterschiedliche Grenzen bei der Möglichkeit einer Reinigung im Bezug auf die Henry-Konstante haben.

Für die Effektivität einer Abluftreinigung ist es wesentlich, dass der **Stofftransport von der Gas- zur Flüssigkeitsphase** mit hoher Rate erfolgt. Das betrifft sowohl die abzubauenden Stoffe als auch den Sauerstoff. Es muss also eine möglichst große Kontaktfläche zwischen Gasphase und flüssiger Phase geschaffen werden, um den schnellen und intensiven Austausch zu gewährleisten. Selbst wenn der Abbau in Biofilmen auf festen Füllstoffen erfolgt, wie bei Biofiltern und Tropfkörpern, befindet sich zwischen der Gas- und Festphase ein Wasserfilm, in dem die Mikroorganismen wachsen. Dieser Stofftransport über Phasengrenzflächen hängt von der Austauschfläche ab (bei Biofiltern vom Porenvolumen, der Partikelgröße und der Struktur des Füllmaterials). Die Anwesenheit von Wasser als vermittelndes Agens ist also eine Grundvoraussetzung. Ferner ist eine ausreichend hohe Wasserversorgung elementar für die Funktion der Abbauprozesse. Damit kommt dem Thema Wasserhaushalt/Stofftransport im Filtermaterial eine besondere Bedeutung zu.

Der bevorzugte Arbeitsbereich liegt im sogenannten mesophilen Temperaturbereich (etwa 20 bis 40 °C).

Die Biomasse im Biofilm ist von der Konzentration der abbaubaren Schadstoffe, der Sauerstoffzufuhr und den zum Wachstum notwendigen Stickstoff- und Phosphorquellen abhängig. Bei Biofiltern können diese Substrate aus den organischen Füllstoffen wie Kompost oder Rinde stammen. In anderen Fällen kann ein Zusatz von Nährsalzen notwendig sein. Erfolgt eine Auswaschung von Zellen, so ist Rückführung von Biomasse förderlich. Wenn mehr Substrat in den Biofilm diffundiert, als enzymatisch umgesetzt wird, tritt kein ausreichender Abbau ein.

Eine dauerhaft optimale Leistungsfähigkeit der Mikroorganismen ist nur dann gewährleistet, wenn die Milieubedingungen in Bezug auf Faktoren wie mesophiler Temperaturbereich, ausreichende Wasserversorgung, neutraler bis schwach saurer pH-Wertbereich und ausgeglichenes Nährstoffangebot innerhalb bestimmter Grenzen eingehalten werden. Da Mikroorganismen von Änderungen ihrer Lebensbedingungen beeinflusst werden, ist bei Inbetriebnahme oder bei Veränderungen der Betriebszustände einer Anlage in der Regel mit Anpassungszeiten zu rechnen.

◘ Tab. 15.4 gibt einen Überblick über die Abgasarten und/oder die Stoffe, die bisher mit Biofilteranlagen und Bioriesel bettreaktoren behandelt worden sind.

Nachfolgend werden die verschiedenen Abluftreinigungstypen näher beschrieben.

Tab. 15.4 Eignung von Biofiltern (VDI 3477) und Bioriesel-bettreaktoren (VDI 3478, Blatt 2) zur Elimination von Stoffen/Stoffgruppen aus Abluftströmen sowie die Henry-Konstante

Stoffe/Henry-Konstante (Pa m^3/mol)[a]	Eignung des Verfahrens	
	VDI 3477	VDI 3478 Blatt 2
Aliphatische Kohlenwasserstoffe		
– *gesättigte aliphatische KW*		
Methan/72000	0	–
Pentan/130000	–	–
Hexan/17000	–	0
Längerkettige KW		?
– *ungesättigte aliphatische KW*		
Acetylen/2500		–
längerkettige KW		?
– *cyclische aliphatische KW*		
Cyclohexan/18000		0
Aromatische Kohlenwasserstoffe		
Benzol/510	0	0
Toluol/680	0	+
Xylol/580	0	+
Ethylbenzol/790	0	
Styrol/270	0	+
Naphthalin/51	0	?
Sauerstoffhaltige Verbindungen		
– *Alkohole*		
Methanol/0,58	+	+
Ethanol/0,64	+	+
Isopropanol/0,84	+	
Butanol/0,78	+	+
Glykol/0,006		+
Diglykol		+
Butylglykol		+
– *Ether*		
Tetrahydrofuran/5,9		?
Diethylether/110		?
Dioxan/0,59		?
– *Aldehyde*		
Formaldehyd/0,03	+	+
Acetaldehyd/6,0	+	+

Stoffe/Henry-Konstante (Pa m^3/mol)[a]	Eignung des Verfahrens	
	VDI 3477	VDI 3478 Blatt 2
– *Ketone*		
Aceton/3,8	+	+
Methylethylketon/3,5	+	
Methylisobutylketon/46	+	+
– *Carbonsäuren*		
Buttersäure/0,05	+	
– *Carbonsäureester*		
Essigsäureethylester/13	+	+
Essigsäurebutylester/21	+	+
Methacrylsäuremethylester	+	+
Glykolsäureester		+
– *Phenole*		
Phenol/0,04	+	+
Cresole/0,25	+	+
Schwefelhaltige Verbindungen		
Sulfide (Thioether)	0	?
Schwefelheterocyclen	0	?
Mercaptane/140	0	+
Schwefelkohlenstoff/2300	-	+
Schwefelwasserstoff/1000	0	+
Stickstoffhaltige Verbindungen		
Ammoniak/5,7	0	+
Amide	+	?
Amine	+	+
Stickstoffheterocyclen		?
Isocyanate		?
Nitroverbindungen	0	?
Nitrile	+	?
Isonitrile	0	?
Halogenkohlenwasserstoffe		
Dichlormethan/1000		+
1,2-Dichlorethan/630		+
1,1,1-Trichlorethan/1900		–
Vinylchlorid (Chlorethen)/2700		0
Trichlorethen/920		0
Tetrachlorethen/1800		–
Chlorphenole/0,84		+

+ gut geeignet; 0 bedingt geeignet; – nicht geeignet; ? keine gesicherten Erkenntnisse im großtechnischen Maßstab

[a]Sander, 2015

Tab. 15.5 Vergleich der hauptsächlichen Technologien der biologischen Abluftreinigung

Charakteristika	Biofilter	Bioriesel bettreaktor	Biowäscher
Reaktordesign	Einzelreaktor	Einzelreaktor	Zwei Reaktoren
Einrichtungs- und Betriebskosten	Niedrig	Vergleichsweise höher	Vergleichsweise höher
Träger	Organisch oder synthetisch	Synthetisch	Kein Träger
Flächenbedarf	Große Flächen sind notwendig	Kompakte Anlage	Kleines Volumen der Anlage
Mobile Phase	Gas	Flüssigkeit	Flüssigkeit
Flächenausdehnung	Hoch	Niedrig	Niedrig
Prozesskontrolle	Begrenzte Prozesskontrolle	Begrenzte Prozesskontrolle	Gute Prozesskontrolle
Gasflussrate	100–150 m^3/m^2 h	100–1000 m^3/m^2 h	3000–4000 m^3/m^2 h
Betrieb	Einfache Inbetriebsetzung und Betrieb	Relativ komplizierte Inbetriebsetzung	Relativ komplizierte Inbetriebsetzung
Betriebsstabilität	Kanalbildung des Luftflusses normal	Kanalbildung des Wasserflusses normal	Hohe Betriebsstabilität
Druckabfall	Mittel bis hoch	Mittel bis hoch	Niedrig
Konzentration der Zielverbindung	<1 g/m^3	<0,5 g/m^3	<5 g/m^3 (1 g/m^3, VDI3478, Blatt 1: 2011–03, Abschn. 1)
Geeignet für Verbindungen mit Henry-Konstante	<2500 Pa m^3/mol	<250 Pa m^3/mol	<25 Pa m^3/mol
Nährstoffe	Nährstoffe können nur mit aufwendigem Verfahren zugesetzt werden	Zugabe und Kontrolle von Nährstoffen ist möglich	Zugabe und Kontrolle von Nährstoffen ist möglich
Biomasse	Fixierte Biomasse	Fixierte Biomasse	Suspendierte Biomasse
Verstopfung der Packung	Verstopfungsprobleme	Verstopfungsprobleme	Keine Verstopfungsprobleme
Schlammüberschuss	Keine solchen Probleme	Beseitigung ist notwendig	Beseitigung ist notwendig

In Fällen, die mit **einem** System von Abluftreinigungsanlage allein unter verfahrenstechnischen, ökonomischen oder ökologischen Gesichtspunkten **nicht** sicher beherrschbar sind, werden Kombinationen aus biologischer Abgasreinigung **und** anderen Verfahren zur Abgasbehandlung eingesetzt.

Normalerweise werden Vergleichsanlagen und/oder die Ergebnisse von Pilotversuchen zur Auslegung herangezogen. Generell gilt, dass die Eignung von Abluftreinigungsanlagen durch langfristige vorherige Pilotversuche (mindestens drei Monate) getestet werden muss.

Systeme der biologischen Abluftreinigung

Die Richtlinien VDI 3477 und VDI 3478 Blatt 1 und Blatt 2 beschreiben den Stand der Technik bei der biologischen Abgasreinigung mithilfe der vielfach bewährten Systeme **Biofilter, Biowäscher** und **Bioriesel**bett**treaktor** (**Tropfkörper).** Die Unterschiede sind teilweise gering beziehungsweise die Übergänge fließend.
Wo biologische Abluftreinigungsverfahren einsetzbar sind, stellen sie meist eine einfache, kostengünstige und betriebssichere Alternative zu „herkömmlichen" chemischen oder physikalischen Verfahren dar.

Chemische Verfahren sind etwa saure oder alkalische Wäscher, zum Beispiel mit Schwefelsäure oder Natronlauge als Make-up-Chemikalie. Alternative **physikalische Verfahren** sind unter anderem Adsorption an Aktivkohle, UV-, Ionisations- oder Ozon-Oxidationsanlagen.
Beim **Biofilter** werden Abluftinhaltstoffe am Biofiltermaterial sorbiert, diffundieren in die wässrige Phase und werden dort umbeziehungsweise abgebaut. Der Filter regeneriert sich so durch biologische Aktivität.
Beim **Biowäscher** werden die Abluftinhaltstoffe direkt in der Wasserphase gelöst. Die Regeneration des Waschmediums erfolgt durch die Aktivität von Mikroorganismen, welche meist in einem vom Wäscher getrennten Apparat angesiedelt sind.
Finden Absorption und Regeneration im selben Apparat (=Reaktor) statt, so spricht man im Allgemeinen von der **Tropfkörper**anlage oder vom **Bioriesel**bett**treaktor.**
Im **Bioriesel**bett**reaktor** wird ein Film gebildet, während im **Wäscher** die Mikroorganismen in der Waschflüssigkeit suspendiert sind.

15.3 Abluftreinigungssysteme: Biofilter

Biofilter sind Systeme mit einer festen Matrix, auf der die Mikroorganismen im Biofilm wachsen. Sie sind das einfachste Konzept einer biologischen Abluftreinigung, weil Schadstoffabsorption durch die wässrige Phase und deren mikrobielle Regeneration sowohl örtlich als auch zeitlich gekoppelt ohne Bewegung großer Wassermengen ablaufen. Sie können über mehrere Jahre im Einsatz bleiben.

Die zu reinigende Abluft wird von unten nach oben mit 0,02 bis 0,1 m/s an dem ein- oder mehrstufig angeordneten Filterbett vorbeigeleitet (einschichtige und mehrschichtige Biofilter). So werden die wasserlöslichen Schadstoffe in die an der Oberfläche des Filtermaterials herrschende wässrige Phase transportiert und gelangen so zu den Mikroorganismen.

Abluftreinigungsanlagen in der Tierhaltung

Die Abluftreinigungsanlagen in der Tierhaltung sind generell technisch einfacher konstruiert als Anlagen für industrielle Anwendungen. Die Konzentrationen an Geruchsstoffen und anderen Spurengasen in der Abluft aus Tierhaltungsanlagen sind anders als bei vielen industriellen Prozessen vergleichsweise gering. Die hohen Luftraten, die zur Abfuhr von Wärme, Kohlenstoffdioxid und Feuchtigkeit sowie zur Einhaltung der Tierschutz-Nutztierhaltungs-verordnung notwendig sind, führen zu den niedrigen Konzentrationswerten.
In der konventionellen Mastschweinehaltung können die Luftraten je nach Tiergewicht, Tages- und Jahreszeit zwischen 7 und 100 m^3/(Tier·h) variieren, in der Masthähnchenhaltung zwischen 0,3 und 4,5 m^3/($kg_{Lebendgewicht}$·h). Im Sommer können bei Ende der Mast in Mastschweineställen mit 1500 Tieren Luftraten von bis

zu 150.000 m^3/h auftreten, bei einem Masthähnchenstall mit 40.000 Tieren und einem Gewicht von ca. 1,7 kg bis zu 300.000 m^3/h. Abluftreinigungsanlagen in der Tierhaltung müssen für schnell wechselnde Betriebsbedingungen ausgelegt werden und über eine große Elastizität verfügen. Bedingt durch die Lüftungssteuerung nach der Differenz zwischen Außen- und Stallinnentemperatur können sich sowohl die Kontaktzeit als auch die Schadgas- oder Partikelkonzentrationen schnell ändern. Trotz vergleichsweise geringer Schadgaskonzentrationen müssen also Abluftreinigungsanlagen auch bei großen Emissionsmassenströmen zufriedenstellende Wirkungsgrade erzielen. Die allgemeinen Anforderungen an die Reinigungsleistung sind in dem Prüfrahmen „Abluftreinigungssysteme für Tierhaltungsanlagen" so festgelegt, dass 70 % der Gesamtstaub- und Ammoniakfracht abgeschieden werden müssen. Ferner darf im Reingas die Geruchsstoffkonzentration in keiner Probe über 300 GE/m^3 liegen, da sonst mit Rohgasgeruch zu rechnen ist. Abluftreinigungssysteme für Schweinehaltung, die nach dem Cloppenburger Leitfaden beziehungsweise dem DLG-Prüfrahmen getestet worden sind, halten die genannten Reinigungsanforderungen bei ordnungsgemäßer Betriebsweise sicher ein. In der Geflügelhaltung besteht hingegen hinsichtlich der Geruchsminderung noch erheblicher Forschungsbedarf.

VDI 3477:2014–08 Biologische Abgasreinigung; Biofilter. Berlin: Beuth Verlag.
DLG-Prüfbericht 5944: Zweistufige Abluftreinigungsanlage. Groß-Umstadt, 2010.
Hahne, J. 2013: Biofilter in der Tierhaltung. Gefahrstoffe – Reinhaltung der Luft 73:187–191.
DLG-Testzentrum Technik und Betriebsmittel: Prüfrahmen Abluftreinigungssysteme für Tierhaltungsanlagen, Groß-Umstadt, jeweils in aktueller Fassung.

Biofilter sind offene oder geschlossene Festbettreaktoren, die mit Schüttschichten teilweise gemischter organischer Stoffe (Laub, Erde, Reisig-, Holz- und Rindenhäcksel, Wurzelholz, Komposte aus Bioabfall, Baumrinden oder Komposte sonstigen Ursprungs, Fasertorf und Heidekraut, sowie deren Mischungen untereinander oder mit sonstigen strukturierenden Materialien) gefüllt sind. Den organischen Grundmaterialien werden zur Strukturverbesserung und als Stützmaterial Kunststoffe wie Styropor oder auch anorganische Materialien mit großer innerer Oberfläche und entsprechendem Mikroorganismenbesatz wie Blähton oder Vulkanschlacken zugesetzt. In Einzelfällen wird Aktivkohle beigemischt.

Die organischen Materialien haben sich bei den Biofiltern durchgesetzt, weil sie bereits von Natur aus eine hohe Besiedelungsdichte und eine große Vielfalt an Mikroorganismen aufweisen.

Die organischen Materialien werden mit den inerten Stoffen gemischt, um die Struktur und das Standzeitverhalten zu verbessern. Die positiven Effekte beider Materialien ergänzen sich in diesem Fall. Als Filtermaterial werden auch spezielle Schaumglas- und Kunststoffprodukte hergestellt.

Die Filtermaterialien müssen folgende Bedingungen erfüllen:

- **Große wirksame Oberfläche** für den Stoffaustausch und die Besiedlung mit Mikroorganismen. Die große Oberfläche und der geringe Wassergehalt der Biofilter macht sie für die Behandlung von weniger hydrophilen Schadstoffen nutzbar.
- **Hohe Porosität und Homogenität,** um eine gute und gleichmäßige Durchströmung zu gewährleisten (etwa 50 % Luftraum). Die Kosten für den Betrieb der Ventilatoren werden aufgrund der großen Porosität und dem damit verbunden limitierten Druckverlust in Grenzen gehalten.
- **Hohe Wasserhaltefähigkeit,** um der Austrocknung entgegenzuwirken. Da die Wärme, die durch die biologische Reaktion erzeugt wird, sowie der niedrige Feuchtigkeitsgehalt der Eingangsluft die Rate des Wasserverlustes bestimmt, ist eine Befeuchtung notwendig.
- **Schwere Abbaubarkeit,** damit möglichst lange Standzeiten der Filter erreicht werden.

An den Oberflächen der Füllkörper bildet sich ein Wasser- und Biofilm, an dem der biologische Abbau von abzuscheidenden Rohgasinhaltsstoffen erfolgt. Gleichzeitig dienen die organischen Stoffe der Schüttschichten als Nährstoffe für die Mikroorganismen. Das hat zur Folge, dass die Struktur mit der Zeit zerstört und das Filtermaterial selber abgebaut wird. Es gibt die Tendenz zur erhöhten Lachgasbildung durch Ammoniakeintrag bei verrottetem Filtermaterial bei der Stallluftreinigung. Ab einem gewissen Abbau muss dieses deshalb erneuert werden.

Die mikrobiellen Abbauvorgänge von organischen Kohlenstoffverbindungen laufen im neutralen bis schwach sauren pH-Wertbereich ungestört ab. Die Wirkung von Abbauprodukten oder – nebenprodukten wird in der Regel im Filtermaterial gepuffert. Die Abweichung hin zu extremen pH-Werten kann bei speziellen Anwendungen, zum Beispiel Schwefelwasserstoff-Elimination (pH-Wert 1 bis 2), toleriert werden.

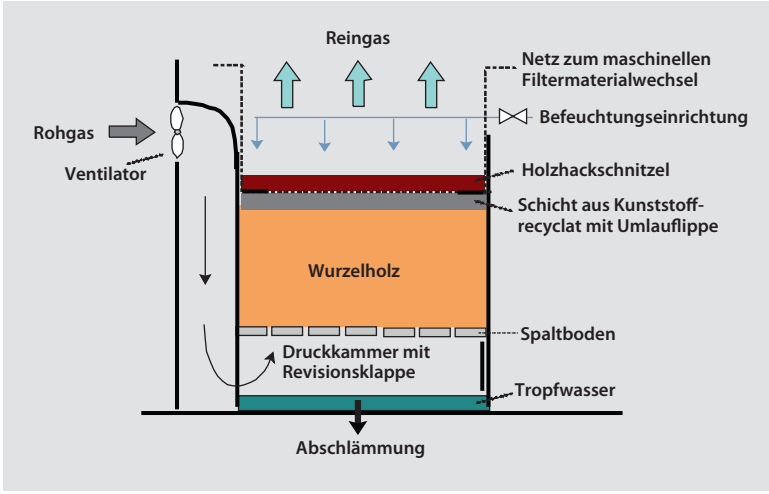
Für die maximale Leistungsfähigkeit muss auch das Nährstoffangebot ausgeglichen sein. Neben Kohlenstoff benötigt der Mikroorganismus Stickstoff, Phosphat, Schwefel sowie Spurenelemente.

Nach der Anordnung des Filtermaterials unterscheidet man Flächenfilter und Hochfilter (Etagenfilter, Wabenfilter, Turmfilter) in offener und geschlossener Bauweise, die zum Teil aus containerförmigen Einheiten modulartig zusammensetzbar sind.

Großflächige offene Biofilter werden vor allem für geruchsintensive Abluftinhaltsstoffe betrieben, wie sie zum Beispiel bei der Müllkompostierung anfallen. Die Filterfläche liegt in Größenordnungen von 500–1000 m^2. Die strukturellen Eigenschaften des Aufbaus determiniert die Schichthöhe des gepackten Filters, welche üblicherweise 1–2 m beträgt.

Es werden Abgasvolumina von 1000–70.000 m^3 pro Stunde mit einem Wirkungsgrad von 80–95 % gereinigt. Für organische Lösungsmittel setzt man in zunehmendem Maße geschlossene Systeme in Form von Containern ein. Sie ermöglichen eine bessere Steuerung der Prozesse (Luftfeuchtigkeit, Temperatur) und die Analyse der Reinigungsleistungen. Die Organismendichte liegt bei 10^9 Keimen pro g Füllmaterial.

In **mehrschichtigen Biofiltern** (◘ Abb. 15.1) besteht die unterste Lage aus kreuzweise mit offenen Zwischenräumen aufgeschichteten Holzbrettern und die oberste Schicht aus



◘ **Abb. 15.1** Schema eines von der Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft (DLG) anerkannten Biofilters zur Geruchs- und Gesamtstaubabscheidung bei einstreulosen Schweinehaltungen

Holzhackschnitzeln. Die mittlere Lage besteht aus Kunststoffgranulat. Eine Staubabscheidung erfolgt in diesem System hauptsächlich in der untersten Schicht des Biofilters. Ein Befeuchten der Stallabluft erfolgt über das Tropfwasser in der Druckkammer und über die feuchten Bretter der untersten Lage. Mit Düsen wird periodisch Wasser auf die oberste Lage gespritzt. Dadurch wird das Filtermaterial befeuchtet und gleichzeitig soll ein geregeltes Auswaschen von Abbauprodukten aus dem Filter sichergestellt werden.

Biofilter und Biowäscher werden erfolgreich in den in ◘ Tab. 15.6 aufgeführten Anlagen eingesetzt. Trotz der zahlreichen praktischen Anwendungsfälle von Biofiltern sollte der Einsatz auch künftig in Fällen, in denen bisher keine übertragbare Erfahrung vorliegt, durch Versuche überprüft werden. Darüber hinaus empfiehlt sich ein Vergleich mit anderen Abluftreinigungsverfahren.

Bezüglich **Reduzierung von Bioaerosolen** hat man Biofilter (Flächenfilter) geprüft, die hinsichtlich der Geruchsminderung von verschiedenen Kompostierungsanlagen konzipiert und ausgelegt worden sind. Die Messungen der kompostierungsspezifischen Parameter (Pilze, 20 °C; thermotolerante Pilze, 45 °C, *Aspergillus fumigatus,* 45 °C; Bakterien, 37 °C; thermophile Actinomyceten, 50 °C) ergab im Reingas der Biofilter geringere Konzentrationen als im unbehandelten Rohgas (Schilling, 2003).

15.4 Abluftreinigungssysteme: Biowäscher

Soweit es sich um den eigentlichen Waschvorgang handelt, entsprechen **Biowäscher** (engl. *biosrubber*) in Aufbau und Wirkungsweise den allgemeinen Grundlagen der physikalischen Absorption (◘ Abb. 15.2). Die Besonderheit des Prozesses liegt darin, dass die im Absorbens gelösten Schadstoffe durch die Stoffwechseltätigkeit von Mikroorganismen abgebaut werden. Im Gegensatz zu den Biofiltern befinden sich die Mikroorganismen im Biowäscher in einer Suspension. Bei Biowäschern erfolgt die Auswaschung und Absorption der flüchtigen Luftinhaltsstoffe im oberen Teil von zylinderförmigen Anlagen. Dem unten eingeleiteten Rohgas (typische Gasgeschwindigkeiten sind 1–3 m/s in gepackten Wäschern) strömt versprühte Lösung von oben entgegen, die in der Absorptionszone (Siebböden oder Füllkörperkolonnen) die Inhaltsstoffe aufnimmt. Der Gas-Flüssigkeits-Massentransferbereich ist so gestaltet, dass die Massenübertragung von der Luft in die flüssige Phase begünstigt wird, wobei die Größe der Anlage reduziert wird und ein geringer Druckabfall resultiert. Der kleine spezifische Gas-Flüssigkeits-Massentransferbereich schränkt die Verwendung von Biowäschern auf Schadstoffe mit niedrigen Henry-Konstante (<25 Pa m^3/mol) ein. Die Inhaltsstoffe werden vorwiegend im separaten Teil der Anlage abgebaut, die einem Belebungsbecken der Abwasserreinigung (vergleiche ► Abschn. 14.2) entspricht. Die Konzentration von Nährstoffen und der pH-Wert werden ständig kontrolliert, um das mikrobielle Wachstum und eine hohe Aktivität zu gewährleisten. Beim Abbau findet eine Regeneration der Waschlösung statt, die wiederholt umgepumpt wird. Mikroorganismen befinden sich in hoher Dichte in der umlaufenden Waschlösung.

Die überschüssige Biomasse und auch Nebenprodukte werden kontinuierlich aus dem System entfernt.

Die Biowäscher werden in der Praxis meist zweistufig angelegt, um die Effektivität und Sicherheit der Reinigungseffekte zu gewährleisten. Es ist auch eine Ankopplung an bestehende Kläranlagen möglich.

Die Anlagen haben im Vergleich zu den Biofiltern aufgrund höherer Organismendichte (die Biomassekonzentration liegt bei rund 5–8 g/L) größere Abbauleistungen pro Reaktorvolumen. Bei wechselndem Anfall von Abluft sind sie störanfälliger und besitzen nicht die den Biofiltern eigene Pufferkapazität. Der Betrieb erfordert eine zusätzliche Belüftung (◘ Tab. 15.7).

Tab. 15.6 Einsatzmöglichkeiten von Biofiltern (F) und Biowäschern (W) zur Abgasreinigung (nach VDI 3477 und 3478, Blatt 1), geordnet nach Branchen

Anlagenarten	Geruch	Aliphatische Kohlenwasserstoffe	Aromatische Kohlenwasserstoffe	Sauerstoffhaltige Verbindungen	Schwefelhaltige Verbindungen	Stickstoffhaltige Verbindungen	Halogenkohlenwasserstoffe	Ätherische Öle	Schwefelwasserstoff	Ammoniak
Nahrungs- und Genussmittelproduktion										
Aromaextraktion	F							F		
Bratfischherstellung	F			F	F	F			F	
Cerealienherstellung	W			W						
Friteusen	F W	F W		F W						
Geschmacksstoffherstellung	F									
Hefefermentation	F W			F W	F W					
Kaffeerösterei	F W			F W	F W	F W		F W		
Kakaorösterei	F W			F W	F W	F W		F W		W
Krautverarbeitung	W			W						
Ölmühlen	F				F					
Schlachthöfe	F			F	F	F			F	F
Tabakverarbeitung	F W		F W	F W		F W				F W
Tierhaltung	F			F	F	F			F	F
Würzeherstellung	F W				F W					
Zuckerfabrik	F	F								

(Fortsetzung)

Tab. 15.6 (Fortsetzung)

Anlagenarten	Geruch	Aliphatische Kohlenwasserstoffe	Aromatische Kohlenwasserstoffe	Sauerstoffhaltige Verbindungen	Schwefelhaltige Verbindungen	Stickstoffhaltige Verbindungen	Halogenkohlenwasserstoffe	Ätherische Öle	Schwefelwasserstoff	Ammoniak
Verwertung von Reststoffen/Abfällen										
Bierhefetrocknung	F			F		F				
Fettschmelzen	F			F	F	F			F	F
Fischmehlfabriken	F W			F W	F W	F W		F W	F W	F W
Gelatineherstellung	F			F	F					
Knochenverarbeitung	F			F	F	F			F	F
Kompostierung	F W	F W		F W	F W	F W	F W		F W	F
Kottrocknung	F	F		F	F	F			F	F
Tierkörperverwertung	F			F	F	F	F		F	F
Entsorgung										
Abfalllagerung und -aufbereitung	F W	F W	W	W	F W	F W	F W		F W	F W
Deponiegasentsorgung	F			F	F				F	
Kläranlagen, industrielle	F W	F W	F W	F W	F W	F W	F W	F W	F W	F W
Kläranlagen, kommunale	F W	F W	F W	F W	F W	F W	F	W	F W	F W
Klärschlammtrocknung	F	F	F	F	F	F	F		F	F

(Fortsetzung)

Tab. 15.6 (Fortsetzung)

Anlagenarten	Geruch	Aliphatische Kohlenwasserstoffe	Aromatische Kohlenwasserstoffe	Sauerstoffhaltige Verbindungen	Schwefelhaltige Verbindungen	Stickstoffhaltige Verbindungen	Halogenkohlenwasserstoffe	Ätherische Öle	Schwefelwasserstoff	Ammoniak
Chemische Erzeugnisse										
Essenzenherstellung	F	F		F						
Herstellung und Verarbeitung von Farben und Lacken	F W	F W	F W	F W						F
Fotofilmherstellung	W	F W		F W						
Imprägniermittelherstellung und -verarbeitung	F W			F W		F W				
Klebstoffherstellung	F W			F W						
Kunststoffverarbeitung	F W	F W	F W	F W		F W				
Leimherstellung	F			F						
Öle und Fette, technische	F	F	F		F		F			
Polymerbetonherstellung				F	F					
Polyesterherstellung					F	F				
Tanklager	F	F	F							

(Fortsetzung)

Tab. 15.6 (Fortsetzung)

Anlagenarten	Geruch	Aliphatische Kohlenwasserstoffe	Aromatische Kohlenwasserstoffe	Sauerstoffhaltige Verbindungen	Schwefelhaltige Verbindungen	Stickstoffhaltige Verbindungen	Halogenkohlenwasserstoffe	Ätherische Öle	Schwefelwasserstoff	Ammoniak
Sonstige										
Beschichtungsanlagen	W	W	W	W						
Bitumenverarbeitung	F	F	F	F						
Druckereien	F W	F W	F W	F W						
Gießereien	F W	F W	F W	F W						F W
Gummiverarbeitung	W		W	W	W					
Halbleiterverarbeitung	W	W								
Holzwerkstoffherstellung z. B. Spanplatten-, Hartfaserplattenherstellung (Pressenabluft MDF)	F W	F W	F W	F W						
Lösemittelreinigungsanlagen	W	W	W	W						
Pharmazie, Fermentation von Arzneien	W	W		W						
Reibbelagherstellung	W	W	W	W		W				
Schleifpapierherstellung	W		W	W						

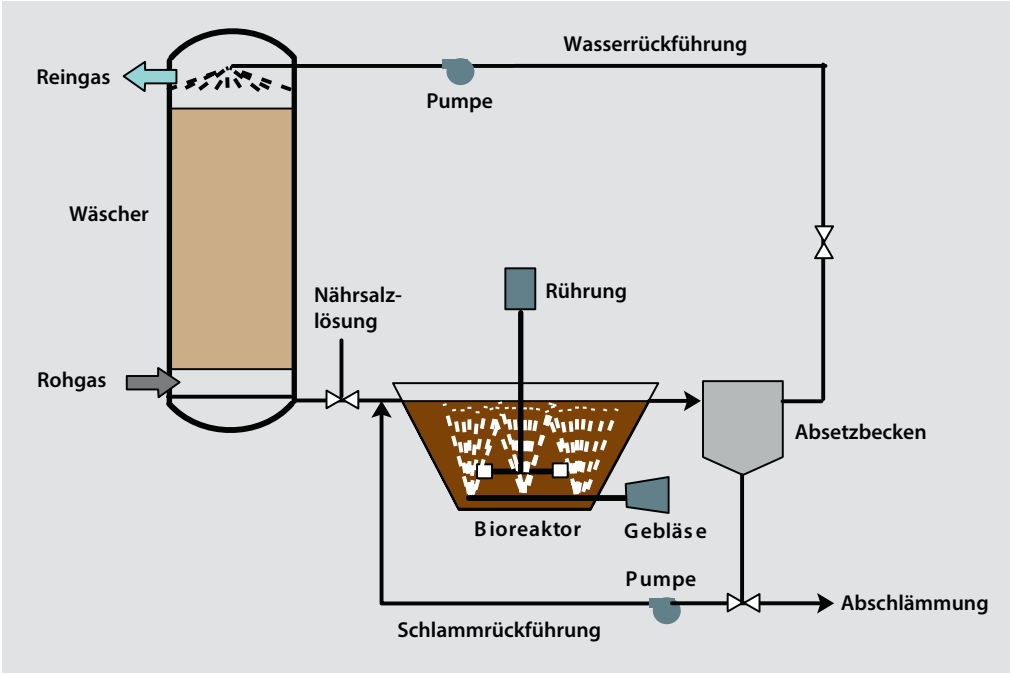


Abb. 15.2 Schema eines Biowäscher-Systems

Tab. 15.7 Vorteile/Nachteile von Biowäschern bei der Stallluftreinigung

Vorteile	Nachteile
– Geringer Platzbedarf – Geringe Druckdifferenz – Guter Abbau von Gerüchen – Hohe Luftdurchsatzrate pro m^2 Filterfläche – Störungen lassen sich in der Regel rasch beheben Mit einer geregelten Abschlemmrate und geregeltem pH Bereich im Umlaufwasser ergeben sich weiter Vorteile: – Langzeitstabilität – Auch für höhere Stoffkonzentrationen geeignet – Sehr guter Abbau von Ammoniak – Geringe Lachgasbildung	– Lachgasbildung bei ungenügender Abschlämmrate – Abbauminderung durch schwankenden pH im Umlaufwasser – Verstopfungsgefahr – Beschränkter Abbau von Geruch bei niedrigen Geruchsstoffkonzentrationen – Für hohe Ammoniakminderungsraten von deutlich über 50 % sind hohe Abschlämmraten erforderlich, was zu Engpässen bei der Güllelagerkapazität führen kann

Häufigste Fehler bei biologischen Abluftreinigungsanlagen nach einer Studie zur Reinigung von Stallabluft

Die Gründe für nachfolgende Fehler bei biologischen Abluftreinigungsanlagen in der Landwirtschaft liegen oft an mangelnden Kenntnissen der Betreiber und Anlagelieferanten.

Häufigste Fehler bei Biofiltern

- Aus Spargründen (Wasserverbrauch/Energie) wird eine Befeuchtungsanlage einfach abgestellt oder gar nicht installiert.
- Aufgrund falsch dimensionierter Lüftung oder ungeeigneter Luftführung kommt es zu einer ungleichmäßigen Anströmung des Filters und somit zu Filterdurchbrüchen.
- Filtermaterial ist sehr alt oder bereits verrottet.

Häufigste Fehler bei Biowäschern

- Biowäscher werden mit zu geringen Abschlämmraten betrieben.

Häufigste Fehler bei Biofiltern und Biowäschern

- Aus Kostengründen werden Anlagen zu knapp dimensioniert.
- Die Ventilatorenleistung ist zu klein zur Überwindung des Strömungswiderstands der Abluftreinigungsanlage bei der für den Stall erforderlichen Sommerlüftungsrate.
- Dem pH-Wert im Filtermaterial, im Sumpf eines Biofilters oder im Waschwasser eines Biowäschers wird keine Beachtung geschenkt. Eine entsprechende Störung wird oft nicht bemerkt.

15.5 Abluftreinigungssysteme: Tropfkörper-Wäscher

Beim **Tropfkörper-Wäscher oder** Bioriesel**bettverfahren** (engl. *biotrickling filter*) handelt es sich um ein eigenständiges Verfahren der biologischen Abluftreinigung, bei dem es allerdings in mehrerer Hinsicht zu Überschneidungen mit den beiden anderen biologischen Abluftreinigungstechniken Biofilter und Biowäscher kommt. Die Tropfkörper-Variante wurde aus der biologischen Abwasserreinigung übernommen, wo sie seit nahezu 100 Jahren unter der gleichen Bezeichnung zu den Standardmethoden gehört. In seinem apparativen Aufbau gleicht der Tropfkörper einem Biowäscher mit Füllkörpern. Das Wasser hat neben seiner lösenden Funktion die Aufgabe eines Spülmediums, um den Bakterienfilm, der sich als Biofilm auf den Füllkörperoberflächen bildet, dünn und damit aktiv zu halten. Die Organismen müssen also auf dem Material gut haften. Um die für die Mikroorganismen unabdingbare Feuchte bereitzustellen, wird die Füllkörperpackung regelmäßig mit einem Flüssigkeitsfilm übersprüht, dem je nach Bedarf Stickstoff- oder Phosphorkomponenten zugegeben werden. Zur Konstanthaltung des pH-Wertes ist in den Kreislauf des Berieselungswassers eine pH-Steuerung integriert. Die Berieselung wird so ausgelegt, dass dem Feuchtefilm keine auswaschende Wirkung zugeschrieben werden kann.

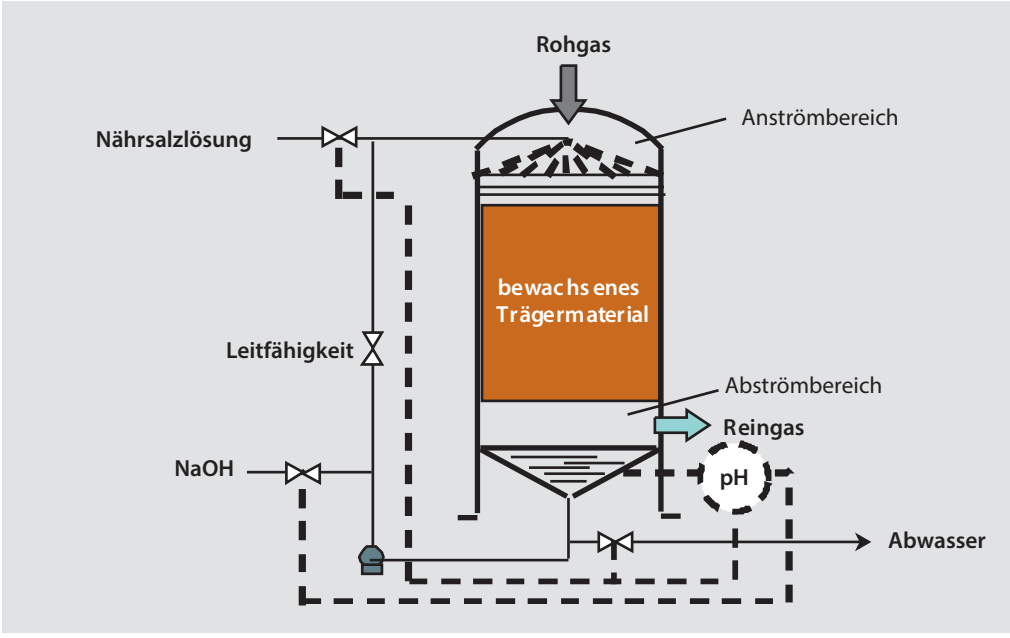
Beim Herabrieseln über den biologischen Rasen wird das schadstoffaufnehmende Wasser gleichzeitig regeneriert, das heißt Absorption und Regeneration sind wie beim Biofilter zeitlich und örtlich gekoppelt. Wie beim Biowäscher kann das Wasser seine Transportfunktion nur dann optimal erfüllen, wenn es möglichst gleichmäßig alle Bereiche der mit biologischem Rasen überzogenen Füllkörper durchrieselt. Als Trägerstoffe werden inerte Materialien, zum Beispiel Lavaschlacke, eingesetzt. Das Rohgas wird in die aufgesprühte und im Kreislauf geführte Waschlösung eingeleitet. Die Kontaktzeit zwischen Gas und Flüssigkeit muss bei gut löslichen und gut abbaubaren Verbindungen zwischen 5 und 20 s liegen,

während sie bei schwer löslichen und schwer abbaubaren Komponenten, je nach Eingangskonzentration, wesentlich länger dauert. Ausgewaschene Biomasse kann dem zurückgeführten Waschwasser wieder zugegeben werden. Die Abluft durchfließt das offene System, während die Waschlösung zirkuliert (◘ Abb. 15.3).

Ein Biorieselbettreaktor, der nur fixierte Mikroorganismen oder Mikroorganismenagglomerate enthält, ist sicherlich ein Grenzfall. Ein technischer Biorieselbettreaktor enthält in gewissem Grad auch agglomerierte Mikroorganismen, die im Wasser suspendiert sind. Der Anteil hängt u. a. von der Konstruktion des Biorieselbettreaktors und den verwendeten Materialien – insbesondere der Oberflächenstruktur – ab. Die suspendierten Mikroorganismen bauen ebenfalls Schadstoffe, die in der Flüssigkeit gelöst sind, ab und können damit zur Erhöhung der Reaktionsgeschwindigkeit und zur Verbesserung der Abscheideleistung des Biorieselbettreaktors beitragen.

Die Wasserphase muss erneuert werden, wenn ihre Leitfähigkeit einen bestimmten Wert erreicht hat (üblicherweise ca. 1000 mS/m). Die maximale Leitfähigkeit ist technologiespezifisch (Mikroorganismenstämme) und kann im Einzelfall weit über 1000 mS/m liegen.

Die Regenerierung erfolgt üblicherweise kontinuierlich durch Abschlämmung des Kreislaufwassers und Auffüllen mit Frischwasser. Je



◘ **Abb. 15.3** Schema eines Tropfkörper-Wäscher-Systems. Die Auslegungen beim Einsatz sind: Rohgas: 100–1000 m^3/m^2h und <1,5 g/m^3; Höhe: 0,5–3 m, Druckdifferenz 50–250 Pa/m; Abwasser: 0,1–1 m^3/h; Leitfähigkeit: <5 mS/cm; Beregnungsflüssigkeit: 0,1–0,5 m^3/m^2h

nach Schadstoffanfall (Staub, Fett, Aufsalzen) ist es unter Umständen nötig, die Abschlämmrate zu erhöhen. Üblicherweise wird diese im Probebetrieb festgelegt. Übliche Werte für die Abschlämmrate liegen bei einer Umlaufmenge von 70 m^3/h im 24-h-Betrieb bei 200 bis 1000 L.

Tab. 15.8 listet die im großtechnischen Maßstab erfolgreich betriebenen Biorieselbettanlagen für verschiedene Branchen auf.

15.6 Abluftreinigungssysteme: Membranreaktoren

Eine noch in der Entwicklung befindliche Technik für die Reinigung von relativ schwer wasserlöslichen Luftverunreinigungen, zum Beispiel Dichlorethan, Benzol oder Xylol, sind **Membranreaktoren.** Membranen können aus sehr unterschiedlicher Materialien aufgebaut sein und unterschiedliche chemische (Löslichkeit und Selektivität) und physikalische Eigenschaften (mechanische Festigkeit, Porengröße, Dicke und Porosität) besitzen. In semi-permeablen hydrophoben Membranen, wie z. B. Latex oder Silikon, ist die Massentransfergeschwindigkeit von der Löslichkeit und Diffusionsfähigkeit des Schadstoffes abhängig (Abb. 15.4).

Bei diesen Verfahren wird die zu reinigende Abluft durch Hohlfasern aus Polydimethylsiloxan, Teflon, Polypropylen, Polytetrafluorethylen (PTFE) und verschiedenen Verbundwerkstoffen geleitet, die außen von Nährlösung mit Mikroorganismen umflossen werden. Sie haben Porengrößen von 0,1–1,0 µm, kleine Durchmesser (200–400 µm ID), und sind gewöhnlich in Bündeln in Reaktoren gepackt, welche zwischen 30 und 100 cm^2/cm^3 enthalten. Die Membranreaktoren enthalten die sehr große Zahl (zum Beispiel 1000) von Hohlfasern, um eine große Austauschfläche zu erreichen.

Die lipophilen Stoffe werden in der Hohlfasermembran gelöst und an der Außenseite der Membran von den Mikroorganismen abgebaut.

Ein wesentliches Kennzeichen der Membranbioreaktoren ist die Tatsache, dass die Abluft und die Biomasse physikalisch voneinander getrennt sind, welches eine biologische Abluftreinigung auch in bestimmten Anwendungen, wie beispielsweise Innenraumluft möglich macht.

Nährlösung mit den Mikroorganismen wird umgepumpt, um die Zellen mit Sauerstoff zu versorgen und die Abbauprodukte (CO_2) abzuleiten (Tab. 15.9).

15.7 Auswahlkriterien für Verfahrenswahl

Für eine Entscheidung zwischen den drei beschriebenen etablierten Verfahrensvarianten lassen sich im Wesentlichen folgende **Kriterien** heranziehen (siehe Tab. 15.5): Biofilter benötigen wegen der geringen Durchströmungsgeschwindigkeit ein größeres Bauvolumen, das als Flächen- oder Hochfilter realisiert werden kann. Bezüglich der Anschaffungs- und Betriebskosten besitzen Biofilter Vorteile gegenüber Biowäschern und Tropfkörpern, da ihr apparativ-maschineller Aufwand sowie die messtechnische Überwachung geringer sind, keine Chemikalien benötigt werden und keine großen Wassermengen umzupumpen sind. Biofilter sind so eine preiswerte und wirksame Methode der Geruchsbekämpfung in der Landwirtschaft. Durch die Möglichkeit, den pH-Wert zu regulieren sowie Nährstoffe zu dosieren und damit den mikrobiellen Abbau gezielt zu beeinflussen, sind Biowäscher und Tropfkörper flexibler einsetzbar. Die Überbrückung von Stillstandszeiten ist beim Biofilter einfacher, da das als Nährboden dienende Filtermaterial lediglich zu belüften und feucht zu halten ist, während bei Biowäschern und Tropfkörpern auch Nährstoffe zu dosieren sind, um die Biomasse zu erhalten. Während beim Biofilter keine Reaktionsprodukte regelmäßig zu entsorgen sind, fallen bei Biowäschern und Tropfkörpern geringe Mengen

Tab. 15.8 Anwendungsbeispiele für großtechnische Biorieselbettanlagen, geordnet nach Branchen

Branche	Abzuscheidender Rohgasinhaltsstoff
Nahrungs- und Genussmittelproduktion	
Tabakindustrie	Geruch
Nahrungsmittelherstellung	Geruch
Zuckerindustrie	Geruch, Schwefelwasserstoff
Schlachthöfe	Geruch
Entsorgung	
Bioabfallkompostwerke	Geruch
Bioabfallvergärungsanlagen	Geruch
Altpapierverwertung	Geruch, Schwefelwasserstoff
Kommunale Kläranlagen	Schwefelwasserstoff
Brauereikläranlagen	Geruch, Schwefelwasserstoff, Mercaptane
Industriekläranlagen	Geruch, Toluol, Xylol, Isobutanol, Aceton, Schwefelwasserstoff
Recycling	Aceton
Deponiegasreinigung	Schwefelwasserstoff
Bodensanierung	Benzine, Hochsieder
Druck und Farbe	
Druckfarbenherstellung	Toluol, Ethylacetat, Ethanol
Lackverarbeitung	Aceton, Methylisobutylketon, Ethanol, Ethylacetat, Butylacetat
Flexodruck, Tiefdruck	Ethanol, Ethylacetat, Industrial Methylated Spirit (Propanol, Methanol, Ethanol), Hexan, Benzin, Heptan, Isopropanol, Methylethylketon
Siebdruck	Aromaten, Ketone, Acetate
Beschichtungsindustrie	Formaldehyd, Butylacetat, Propanol, Ethanol, Aceton
Sonstiges	
Schuhproduktion	Toluol, Hexan, Methylethylketon, Aceton
Zellstoffindustrie	Schwefelkohlenstoff, Schwefelwasserstoff
Pharmaindustrie	Geruch
Herstellung von Klebstoffen, Waschmitteln u. Ä.	Dimethylchlormethan, Toluol, Xylol, Ethylacetat
Herstellung von Pflanzen-schutz- und Düngemitteln	Toluol, Xylol, Dichlorethan, Isopropanol, Methanol, Methylisobutylketon, Pyrrolidon
Halbleiterindustrie	Propylenglykolmonoethyletheracetat, n-Methylpyrrolidon, n-Butylacetat, Aceton, Xylol, Isobutylacetat, Methylethylketon, Benzin, Methoxyethanol, Mesitylen, Ethylacetat

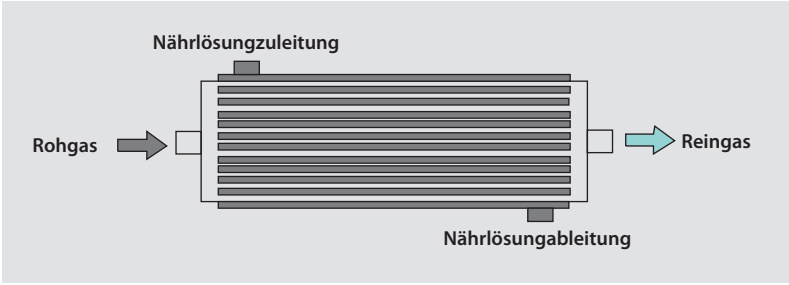


Abb. 15.4 Schema eines Membranreaktors

Tab. 15.9 Vergleich der Grenzen von Membranbiofiltern und konventionellen Biofiltern (Seite 196, M.W. Fitch)

Charakteristika	Konventioneller Biofilter	Membranbiofilter
Verstopfung und Druckabfall	Hauptproblem. Dominierendes Thema der Biofiltration	Keine Verstopfung der Gasphase, im Einklang mit einem mäßigen Druckabfall
Kanalbildung, Überlaufen oder Schäumen	Wichtige Themen in Abhängigkeit vom Betrieb	Nicht vorhanden
Massentransfer	Direkt Gas–Biofilm	Wichtige Hindernisse der Membran und Flüssigphasen
Schadstoffe mit niedriger Wasserlöslichkeit	Schlechte Beseitigung aufgrund des Massentransfer	Gute Beseitigung
Nährstoffkontrolle	Potenziell schwierig	Einfach aufgrund der Trennung der Flüssig-Phase
Feuchtigkeitskontrolle	Erfordert die Befeuchtung der Gasphase	Gering oder vernachlässigbarer Sachverhalt; Kondensation wird manchmal auf der Gasseite der Membran beobachtet
Reaktion auf Stoßbelastung	Schlechte Antwort abhängig vom Nährstoffstatus	Schlechte Antwort
Maximale Schadstoffbelastung	50–300 g/m^3 h, 50–2,000 ppm_v	Membranflussgrenze kann die Behandlung einer enormen Belastungen ermöglichen
Saure Nebenprodukte	Erniedrigter pH, kann gelegentlich zur Zerstörung des Füllmaterials führen	Die pH-Kontrolle der flüssigen Phase ist einfach
Hohe Temperaturen	Begrenzt bis 80 °C	Mit einer externen Kühlschleife für Gas bis 150 °C möglich
Bedienung	Befeuchtung ist erforderlich, Ersatz des Füllmaterials ist in Abständen von 3–5 Jahren üblich	Periodische Zugabe von Nährlösung
Kapitalkosten	Niedrig	Hoch, das wichtigste Planungsproblem
Anwendung im großtechnischen Maßstab	Viele	Noch nicht bis 2005

an Überschussschlamm mit ca. 1 % organischer Trockensubstanz an.

Testen Sie Ihr Wissen

Welche grundsätzlichen Probleme gibt es mit Abluft?
Nennen Sie Quellen für Bioaerosole?
Beschreiben Sie Biofilter und Biowäscher. Nennen Sie jeweils die Vor- und Nachteile
Was sind Biorieselbettreaktoren?
Für welchen Konzentrationsbereich in g/m^3 Abluft ist die biologische Abluftreinigung mit den verschiedenen biologischen Systemen sinnvoll?
Welche Eigenschaften neben der biologischen Abbaubarkeit ist Voraussetzung für eine biologische Abluftreinigung?
Diskutieren Sie Bioaerosole und Legionellen in den Abluftfahnen von Kühltürmen (Ulm, Warstein etc.)

Literatur

DIN EN 13 725:2003-07 Luftbeschaffenheit; Bestimmung der Geruchsstoffkonzentration mit dynamischer Olfaktometrie; Berlin: Beuth Verlag

DLG-Prüfbericht 5944: Zweistufige Abluftreinigungsanlage. Groß-Umstadt, 2010

DLG-Testzentrum Technik und Betriebsmittel: Prüfrahmen Abluftreinigungssysteme für Tierhaltungsanlagen, Groß-Umstadt, jeweils in aktueller Fassung

Hahne, J. 2013. Biofilter in der Tierhaltung. Gefahrstoffe – Reinhaltung der Luft 73:187–191

Schilling, B. 2003. Emissionsminderung für Bioaerosole durch Biofilter. In: Mikroorganismen in der Umgebung von Abfallbehandlungsanlagen, Hessisches Landesamt für Umwelt und Geologie Wiesbaden

Weiterführende Literatur

Böhm, R.; R. Haumacher und W. Philipp: 2002. Ermittlung von Bioaerosolemissionen aus biologischen Behandlungsanlagen. Bericht zum Messprogramm. Institut für Umwelt- und Tierhygiene, Universität Hohenheim

Brunner, K. 2008. Aktualisierung 12. Juli 2010. Abluftreinigungsverfahren zur Minderung von Ammoniak- und Geruchsemissionen aus Intensivtierställen – Erfahrungen in der Schweiz und Perspektiven. Bericht: Im Auftrag des Bundesamtes für Umwelt, BAFU, Bern. ► www.bafu.admin.ch/luft/00632/00640/index.html?lang=de

Devinny, J. S., Deshusses, M. A., Webster, T. S. 1999. Biofiltration for Air Pollution Control. Lewis Publishers, Boca Raton, London, New York, Washington, D.C.

Dollnick, H. W., Thiele, V., Drawert, F. 1988. Olfaktometrie von Schwefelwasserstoff, n-Butanol, Isoamylalkohol, Propionsäure und Dibutylamin. Staub-Reinhalt. Luft 48:325–331

Fischer, K. 1997. Fremdstoffabbau in der Luft. *In:* Umweltbiotechnologie. J.C.G. Ottow, W. Bidlingmaier (Hrsg.) Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, S. 316–349

Fitch, M. W. 2005. Membrane bioreactor technology. *In:* Biotechnology for Odor and Air Pollution Control (Z. Shareefdeen, A. Singh, Eds.) Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, Germany, S. 195–212

Guth, Helmut, persönliche Mitteilung

Heller, D., Schilling, B. 2004. Messungen der Bioaerosolemissionen und -immissionen aus Kompostieranlagen des Landes Nordrhein-Westfalen. Zusammenfassung des LUA-Beitrages zur Fachveranstaltung „Mikroorganismen in der Umgebung von Bioabfallbehandlungsanlagen" im Bundesumweltministerium (BMU) am 30. September 2004

Hellman, T. M., Small, F. H. 1974. Characterization of odor properties of 101 petrochemicals using sensory methods. J. Air Poll. Contr. Assoc. 24:979–982

Herold, T.; M. Schlegelmilch; B. Dammann; J. Streese; R. Stegmann und A. Hensel: (2001) Keimrückhaltung bei der Behandlung von Intensivrotteabluft in einem kombinierten Biowäscher/Biofiltersystem. Gefahrstoffe – Reinhaltung der Luft 61, 255–260

Herr, C. 2012. Umweltmedizinische Bewertung von Bioaerosolen nach VDI4250 Blatt1; in Kommission Reinhaltung der Luft (KRdL)

Kommission Reinhaltung der Luft. 2012. Mikrobielle Luftverunreinigungen – Messen, Bewerten, Mindern, KRdL-Expertenforum 25.04.2012, Bonn, KRdL-Schriftenreihe 44. Hrsg.: Kommission Reinhaltung der Luft (KRdL) im VDI und DIN – Normenausschuss, Düsseldorf, April 2012

KRdL – Kommission Reinhaltung der Luft im VDI und DIN: Stand von Wissenschaft, Forschung und Technik zu siedlungshygienischen Aspekten der Abfallentsorgung und -verwertung. Schriftenreihe Band 30. Düsseldorf 1999. ISBN 3-932816-33-1

KRdL – Kommission Reinhaltung der Luft im VDI und DIN: KRdL-Expertenforum Mikrobielle Luftverunreinigungen. Schriftenreihe Band 35. Düsseldorf 2005. ISBN 3-931384-53-5

KRdL – Kommission Reinhaltung der Luft im VDI und DIN: 2. KRdL-Experten-Forum Mikrobielle Luftverunreinigungen. Schriftenreihe Band 39. Düsseldorf 2007. ISBN 3-931384-60-8

KRdL – Kommission Reinhaltung der Luft im VDI und DIN: KRdL-Expertenforum Mikrobielle Luftverunreinigungen – Messen, Bewerten, Mindern. Schriftenreihe Band 44. Düsseldorf 2012. ISBN 978-3-931384-74-6

KRdL – Kommission Reinhaltung der Luft im VDI und DIN: VDI-Expertenforum Bioaerosole in der Landwirtschaft – Bedeutung für Mensch und Umwelt. Schriftenreihe Band 48. Düsseldorf 2014. ISBN 978-3-931384-79-1

Kopmeyer, D. 2012. Anforderungen und Bewertung von Keimgutachten in der Genehmigungspraxis für Tierhaltungsanlagen im Landkreis Emsland; in Kommission Reinhaltung der Luft (KRdL)

Kölle, W. 2010. Wasseranalysen – richtig beurteilt. Grundlagen, Parameter, Wassertypen, Inhaltsstoffe, Grenzwerte nach Trinkwasserverordnung und EU-Trinkwasserrichtlinie. 3. aktualisierte und erweiterte Auflage. WILEY-VCH, Weinheim, S. 424–425

Kummer, V. 2006. Bioaerosole – Quellen und Maßnahmen zur Reduzierung. Auszug aus dem VDI-Bericht 1885 Neue Entwicklungen bei der Messung und Beurteilung der Luftqualität. Veranstaltung Bayer. Landesamt für Umwelt: Keimbelastung im Umkreis von biologischen Abfallbehandlungsanlagen (Augsburg 25.10.2006), S. 95–103

Kummer, V., Thiel, W. R. 2008. Bioaerosols – Sources and control measures. Int. J. Hyg. Environ. Health 211:299–307

Leonardos, G., Kendall, D., Barnard, N. 1969. Odor threshold determinations of 53 odorant chemicals. J. Air Poll. Contr. Assoc. 19:91–95

Müller, F. 2012. Keimgutachten im Landkreis Emsland – Erste Erfahrungen und Ergebnisse; in Kommission Reinhaltung der Luft (KRdL)

Rabe, R. und M. Becker: (2000) Emissionen von Pilzsporen aus Biofiltern von Kompostwerken. Gefahrstoffe – Reinhaltung der Luft 60, 168–170

Revah, S., Morgan-Sagastume, J. M. 2005. Methods of odor and VOC control. *In:* Biotechnology for Odor and Air Pollution Control (Z. Shareefdeen, A. Singh, Eds.) Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, Germany, S. 29–63

Sander, R. 2015. Compilation of Henry's law constants (version 4.0) for water as solvent. Atmos. Chem. Phys. 15, 4399–4981 ► https://doi.org/10.5194/acp-15-4399-2015

Schilling, B. 2002. Emissionsmessungen von Bioaerosolen aus Biofiltern. In: Biologische Abgasreinigung Gase, Gerüche, Keime, VDI-Berichte 1777. Düsseldorf: VDI Verlag

Schilling, B.; K.-J. Geueke und A. Gessner 2002. Messungen der Mikroorganismen-Emissionen aus Biofiltern bei Anlagen zur biologischen Abfallbehandlung, VDI-Berichte 1656. Düsseldorf: VDI Verlag

Seedorf, J. 2000. Bestimmung des Abscheideverhaltens von Bioaerosolen in einer biologischen Abluftreinigungsanlage. Gesundheitsingenieur 121, 3

Singh, A., Shareefden, Z., Ward, O. S. 2005. Bioscrubber technology. *In:* Biotechnology for Odor and Air Pollution Control (Z. Shareefdeen, A. Singh, Eds.) Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, Germany, S. 169–193

TA Luft. 2002. Erste Allgemeine Verwaltungsvorschrift zum Bundes–Immissionsschutzgesetz (Technische Anleitung zur Reinhaltung der Luft – TA Luft) GMBl. 2002, Heft 25 – 29, S. 511–605

Tesseraux, I. 2012. Bioaerosole in der Umgebung von Anlagen – gesundheitliche Bedeutung – Vorschläge zur Prävention, Vortrag in Erfurt am 11.05.2012, Landesanstalt für Umwelt, Messungen und Naturschutz, Baden-Württemberg

Tesseraux, I. 2012. Vorschläge zur Umsetzung im Immissionsschutz; in Kommission Reinhaltung der Luft (KRdL)

Tesseraux, I. 2013. Aktueller Sachstand VDI-Regelwerk zu Bioaerosolen. REFERAT 23 – Medienübergreifende Umweltbeobachtung, Klimawandel Fachsymposium „Emissionsminderung in der Tierhaltung" Hannover, 25. November 2013

van Dort, T., Koch, E. 2012. Bestimmung undBewertung landwirtschaftlich bedingter Emissionenund Immissionen in den Niederlanden und inNordrhein-Westfalen. Immissionsschutz 3:117–124

Winneke, G., Berresheim, H.-W., Kotalik, J., Kabata,A. 1988. Vergleichende olfaktometrische Untersuchungenzu Formaldehyd und Schwefelwasserstoff.Staub-Reinhalt. Luft 48:319–324

Technische Regeln

VDI 1000:2010-06 VDI-Richtlinienarbeit; Grundsätze und Anleitungen (VDI Guideline Work; Principles and procedures). Berlin: Beuth Verlag

VDI 2047 Blatt 2:2015-01 Rückkühlwerke; Sicherstellung des hygienegerechten Betriebs von Verdunstungskühlanlagen (VDI-Kühlturmregeln) (Open recooler systems; Securing hygienically sound operation of evaporative cooling systems (VDI Cooling Tower Code of Practice)). Berlin: Beuth Verlag

VDI 3475 Blatt 1:2003-01 Emissionsminderung; Biologische Abfallbehandlungsanlagen; Kompostierung und Vergärung; Anlagenkapazität mehr als ca. 6000 Mg/a (Emission control; Biological waste treatment facilities; Composting and anaerobic digestion; Plant capacities more than approx. 6000 Mg/a). Berlin: Beuth Verlag

VDI 3477: 2004-11 Biologische Abgasreinigung; Biofilter (Biological waste gas purification; Biofilters). Berlin: Beuth Verlag

VDI 3477:2004-11 Biologische Abgasreinigung; Biofilter. Berlin: Beuth Verlag

VDI 3477:2014-08 (Entwurf) Biologische Abgasreinigung; Biofilter. Berlin: Beuth Verlag
VDI 3478: 1996-07 Biologische Abgasreinigung; Biowäscher und Rieselbettreaktoren (Biological waste gas purification; Bioscrubbers and trickle bed reactors). Berlin: Beuth Verlag
VDI 3478 Blatt 1:2011-03 Biologische Abgasreinigung; Biowäscher. Berlin: Beuth Verlag
VDI 3478 Blatt 2:2008-04 (2014-07, inhaltlich überprüft weiterhin gültig) Biologische Abgasreinigung; Biorieselbettreaktoren. Berlin: Beuth Verlag
VDI 3880:2011-10 Olfaktometrie; Statische Probenahme (Olfactometry; Static sampling). Berlin: Beuth Verlag
VDI 4250 Bioaerosole und biologische Agenzien; Umwelt-medizinische Bewertung von Bioaerosol-Immissionen. Berlin: Beuth Verlag
VDI 4250 Blatt 1:2009-11 (Entwurf/ Draft) Bioaerosole und biologische Agenzien; Umweltmedizinische Bewertung von Bioaerosol-Immissionen; Wirkungen mikrobieller Luftverunreinigungen auf den Menschen (Bioaerosols and biological agents; Risk assessment of source related ambient air measurements in the scope of environmental health; Effects of bioaerosol pollution on human health). Berlin: Beuth Verlag
VDI 4250 Blatt 1:2011-11 (Entwurf/ Draft) Bioaerosole und biologische Agenzien; Umweltmedizinische Bewertung von Bioaerosol-Immissionen; Wirkungen mikrobieller Luftverunreinigungen auf den Menschen (Bioaerosols and biological agents; Risk assessment of source related ambient air measurements in the scope of environmental health; Effects of bioaerosol pollution on human health). Berlin: Beuth Verlag
VDI 4250 Blatt 1:2014-08 Bioaerosole und biologische Agenzien; Umweltmedizinische Bewertung von Bioaerosol-Immissionen; Wirkungen mikrobieller Luftverunreinigungen auf den Menschen (Bioaerosols and biological agents; Risk assessment of source related ambient air measurements in the scope of environmental health; Effects of bioaerosol pollution on human health). Berlin: Beuth Verlag
VDI 4250 Blatt 2:2014-05 (Entwurf/Draft) Bioaerosole und biologische Agenzien; Umweltmedizinische Bewertung von Bioaerosol-Immissionen; Risikobeurteilung von legionellenhaltigen Aerosolen (Bioaerosols and biological agents; Risk assessment of source-related ambient air measurements in the scope of environmental health; Risk assessment for legionella containing aerosols). Berlin: Beuth Verlag
VDI 4250 Blatt 3 (in Vorbereitung/in preparation) Bioaerosole und biologische Agenzien; Anlagenbezogene und schutzgutbezogene, umweltmedizinisch relevante Messparameter
VDI 4250 Blatt 3:2014-11 (Entwurf/Draft) Bioaerosole und biologische Agenzien; Anlagenbezogene umweltmedizinisch relevante Messparameter und grundlegende Beurteilungswerte (Bioaerosols and biological agents; Facility-specific and environmental health-related measurement parameters and basic recommendation values). Berlin: Beuth Verlag
VDI 4251 Erfassen luftgetragener Mikroorganismen und Viren in der Außenluft. Berlin: Beuth Verlag
VDI 4251 Blatt 1 : 2004-10 (Entwurf) Erfassen luftgetragener Mikroorganismen und Viren in der Außenluft; Planung von anlagenbezogenen Messungen; Immissionsbestimmung durch Fahnenmessungen (Measurement of airborne microorganisms and viruses in ambient air; Planning of plant-related measurements; Plume measurement of ambient air). Berlin: Beuth Verlag
VDI 4251 Blatt 1:2007-02 Erfassen luftgetragener Mikroorganismen und Viren in der Außenluft; Planung von anlagenbezogenen Immissionsmessungen; Fahnenmessung (Measurement of airborne microorganisms and viruses in ambient air; Planning of plant-related ambient air measurements; Plume measurement). Berlin: Beuth Verlag
VDI 4251 Blatt 2:2014-07 (Entwurf/Draft) Erfassen luftgetragener Mikroorganismen und Viren in der Außenluft; Planung von gebietstypischen Hintergrundmessungen (Measurement of airborne microorganisms and viruses in ambient air; Determination of area-specific background concentrations). Berlin: Beuth Verlag
VDI 4251 Blatt 2:2015-08 Erfassen luftgetragener Mikroorganismen und Viren in der Außenluft; Ermittlung gebietstypischer Hintergrundkonzentrationen (Measurement of airborne microorganisms and viruses in ambient air; Determination of area-specific background concentrations). Berlin: Beuth Verlag
VDI 4251 Blatt 3 Erfassen luftgetragener Mikroorganismen und Viren in der Außenluft; Anlagenbezogene Ausbreitungsmodellierung von Bioaerosolen (Measurement of airborne microorganisms and viruses in ambient air; Plant-related dispersion modelling for bioaerosols) (in Vorbereitung/in preparation)
VDI 4251 Blatt 3:2013-07 (Entwurf/Draft) Erfassen luftgetragener Mikroorganismen und Viren in der Außenluft; Anlagenbezogene Ausbreitungsmodellierung von Bioaerosolen (Measurement of airborne microorganisms and viruses in ambient air; Plant-related dispersion modelling for bioaerosols). Berlin: Beuth Verlag
VDI 4251 Blatt 3:2015-08 Erfassen luftgetragener Mikroorganismen und Viren in der Außenluft; Anlagenbezogene Ausbreitungsmodellierung von Bioaerosolen (Measurement of airborne

microorganisms and viruses in ambient air; Plant-related dispersion modelling for bioaerosols). Berlin: Beuth Verlag

VDI 4252 Erfassen luftgetragener Mikroorganismen und Viren in der Außenluft; Aktive Probenahme von Bioaerosolen (Measurement of airborne microorganisms and viruses in ambient air; Active sampling of bioaerosols). Berlin: Beuth Verlag

VDI 4252 Blatt 2:2004-06 Erfassen luftgetragener Mikroorga-nismen und Viren in der Außenluft; Aktive Probenahme von Bioaerosolen; Abscheidung von luftgetragenen Schimmelpilzen auf Gelatine/Polycarbonat-Filtern (Measurement of air-borne microorganisms and viruses in ambient air; Active sampling of bioaerosols; Separation of airborne mould on gelatine/polycarbonate filters). Berlin: Beuth Verlag

VDI 4252 Blatt 3:2008-08 Erfassen luftgetragener Mikroorganismen und Viren in der Außenluft; Aktive Probenahme von Bioaerosolen; Abscheidung von luftgetragenen Bakterien mit Impingern nach dem Prinzip der kritischen Düse (Measurement of airborne microorganisms and viruses in ambient air; Active sampling of bioaerosols; Separation of airborne bacteria with impingers using the principle of critical nozzle). Berlin: Beuth Verlag

VDI 4253 Erfassen luftgetragener Mikroorganismen und Viren in der Außenluft; Verfahren zum kulturellen Nachweis der Schimmelpilz-Konzentrationen in der Luft (Measurement of airborne microorganisms and viruses in ambient air; Culture based method for the determination of the concentration of mould in air). Berlin: Beuth Verlag

VDI 4253 Blatt 2:2004-06 Erfassen luftgetragener Mikroorganismen und Viren in der Außenluft; Verfahren zum kulturellen Nachweis der Schimmelpilz-Konzentration in der Luft; Indirektes Verfahren nach Filtrationsprobenahme auf Gelatine/Polycarbonat-Filtern (Measurement of airborne microorganisms and viruses in ambient air; Culture based method for the determination of the concentration of mould in air; Indirect method after sampling with gelatine/polycarbonate filters). Berlin: Beuth Verlag

VDI 4253 Blatt 3:2008-08 Erfassen luftgetragener Mikroorganismen und Viren in der Außenluft; Verfahren zum quantitativen kulturellen Nachweis von Bakterien in der Luft; Verfahren nach Abscheidung von Flüssigkeiten (Measurement of airborne microorganisms and viruses in ambient air; Culture based method for the quantitative determination of bacteria in air; Method after separation in liquids). Berlin: Beuth Verlag

VDI 4253 Blatt 4:2013-02 Erfassen luftgetragener Mikroorganismen und Viren in der Außenluft; Bestimmung der Gesamtzellzahl mittels Fluoreszenzanalyse nach Anfärbung mit DAPI (Measurement of airborne micro-organisms and viruses in ambient air; Determination of total cell count by fluorescence analyses after staining). Berlin: Beuth Verlag

VDI 4254 Erfassen luftgetragener Mikroorganismen und Viren in der Außenluft; Messen von Stoffwechselprodukten von Mikroorganismen; Messen von MVOC in der Außenluft (in Vorbereitung/in preparation)

VDI 4254 Blatt 1 Bioaerosole und biologische Agenzien; Messen von Stoffwechselprodukten von Mikroorganismen; Messen von MVOC in der Außenluft (in Vorbereitung)

VDI 4255 Bioaerosole und biologische Agenzien; Emissionsquellen und –minderungsmaßnahmen (Bioaerosols and biological agents; Sources of emissions and control measures). Berlin: Beuth Verlag

VDI 4255 Blatt 1:2005-10 Bioaerosole und biologische Agenzien; Emissionsquellen und -minderungsmaßnahmen; Übersicht (Bioaerosols and biological agents; Sources of emissions and control measures; Overview). Berlin: Beuth Verlag

VDI 4255 Blatt 2:2009-12 Bioaerosole und biologische Agenzien; Emissionsquellen und -minderungsmaßnahmen in der landwirtschaftlichen Nutztierhaltung; Übersicht (Bioaerosols and biological agents; Sources of emissions and control measures of livestock farming; Overview). Berlin: Beuth Verlag

VDI 4255 Blatt 3:2014-08 (Entwurf/Draft) Bioaerosole und biologische Agenzien; Emissionsfaktoren für Geflügelhaltung (Bioaerosols and biological agents; Emission factors for poultry). Berlin: Beuth Verlag

VDI 4256 Blatt 1: 2006-07 (Entwurf/Draft) Erfassen luftgetragener Mikroorganismen und Viren; Ermittlung von Verfahrenskenngrößen; Zählverfahren basierend auf kulturellem Nachweis (Determination of airborne microorganisms and viruses; Determination of performance characteristics; Counting methods based on detection by cultivation). Berlin: Beuth Verlag

VDI 4256 Blatt 1:2010-10 Bioaerosole und biologische Agenzien; Ermittlung von Verfahrenskenngrößen; Zählverfahren basierend auf kulturellem Nachweis (Bioaerosols and biological agents; Determination of performance characteristics; Culture-based counting methods). Berlin: Beuth Verlag

VDI 4257 Blatt 1:2010-12 (Entwurf/Draft) Bioaerosole und biologische Agenzien; Emissionsmessungen; Planung und Durchführung von Emissionsmessungen (Bioaerosols and biological agents; Emission measurements; Planning and performing emission measurements). Berlin Beuth Verlag

VDI 4257 Blatt 1:2013-05 Bioaerosole und biologische Agenzien; Messen von Emissionen; Planung und

Durchführung von Emissionsmessungen (Bioaerosols and biological agents; Emission measurements; Planning and performing emission measurements). Berlin: Beuth Verlag

VDI 4257 Blatt 2:2009-08 (Entwurf/Draft) Bioaerosolen und biologische Agenzien; Emissionsmessung; Probenahme von Bioaerosolen und Abscheidung in Flüssigkeiten (Bioaerosols and biological agents; Emission measurement; Sampling of bioaerosols and seperation in liquids). Berlin: Beuth Verlag

VDI 4257 Blatt 2:2011-09 Bioaerosolen und biologische Agenzien; Emissionsmessung; Probenahme von Bioaerosolen und Abscheidung in Flüssigkeiten (Bioaerosols and biological agents; Emission measurement; Sampling of bioaerosols and seperation in liquids). Berlin: Beuth Verlag

VDI 4258 Bioaerosole und biologische Agenzien; Herstellung von Biotestaerosolen (in Vorbereitung)

VDI 4285 Blatt 1:2005-06 Messtechnische Bestimmung der Emissionen diffuser Quellen; Grundlagen (Determination of diffusive emissions by measurement; Basic concepts). Berlin: Beuth Verlag

VDI 4258 Blatt 1:2015-03 (Entwurf/Draft) Bioaerosole und biologische Agenzien, Herstellung von Prüfbioaerosolen; Grundlagen und Anforderungen an Prüfbioaerosole (Bioaerosols and biological agents; generation of test bioaerosols; Basics and requirements for test bioaerosols). Berlin: Beuth Verlag

VDI 4258 Blatt 2 Bioaerosole und biologische Agenzien; Herstellung von Prüfbioaerosolen; Anforderungen an Prüfeinrichtungen (in Vorbereitung)

VDI 4258 Blatt 1:2015-03 (Entwurf/Draft) Bioaerosole und biologische Agenzien; Herstellung von Prüfbioaerosolen; Grundlagen und Anforderungen an Prüfbioaerosole (Bioaerosols and biological agents; Generation of test bioaerosols; Basics and requirements for test bioaerosols). Berlin: Beuth Verlag

Biologische Bodensanierung

16.1 Altlasten-Problematik – 546

16.2 Verfahren der biologischen Bodensanierung – 547

16.2.1 *Ex situ*-Verfahren – 551

16.2.2 *In situ*-Bodensanierung – 557

Weiterführende Literatur – 565

© Springer-Verlag GmbH Deutschland, ein Teil von Springer Nature 2020
W. Reineke und M. Schlömann, *Umweltmikrobiologie,* https://doi.org/10.1007/978-3-662-59655-5_16

16.1 Altlasten-Problematik

Erst in den siebziger Jahren des letzten Jahrhunderts wurden die Gefahren erkannt, die von den als Altlasten bezeichneten Bodenverunreinigungen ausgehen. Unter **Altlasten** versteht man Ablagerungen und Altstandorte mit Stoffen, von denen Gefährdungen für die Umwelt, besonders für die menschliche Gesundheit ausgehen oder zu erwarten sind. **Altablagerungen** sind verlassene oder stillgelegte Ablagerungsplätze für Abfälle und Produktionsrückstände, zum Beispiel „wilde" Müllkippen. Als **Altstandorte** werden stillgelegte Flächen und Anlagen bezeichnet, auf denen früher mit gefährlichen Stoffen umgegangen wurde. Die Problematik der Altlasten wird durch die Anzahl von mehr als 360.000 altlastenverdächtigen Flächen in der Bundesrepublik Deutschland verdeutlicht. Beispiele für Altstandorte und dort vorliegende Stoffgruppen sind in ◘ Tab. 16.1. angeführt.

Die Gefahren, die von Bodenbelastungen ausgehen, wurden lange vernachlässigt, da man die Selbstreinigungskräfte der Böden überschätzte und die Transferpfade vom Boden in das Grundwasser und in die Nahrungskette ungenügend kannte. Aber auch nachdem diese Gefahren erkannt worden waren, ist es in verantwortungsloser Weise zu Ablagerungen und Verfüllungen mit gefährlichen Stoffen gekommen, um die Entsorgungskosten zu umgehen. Erst gegenwärtig werden mit den Regelungen zum Bodenschutz und dem Kreislauf-Wirtschafts- und Abfallgesetz die Grundlagen dafür geschaffen, dass zu den Hinterlassenschaften der industriellen Entwicklung und der ungeordneten Abfallbeseitigung keine „Neulasten" hinzukommen. Der Wert des Bodens für die Funktion der Ökosysteme als Filter- und Puffersystem für die Stoffkreisläufe wird aber noch immer nicht in der ganzen Tragweite erkannt, wie die anhaltende Versiegelung und Bebauung zeigen.

Heute und in der Zukunft geht es darum, die Gefahren, die von Altlasten ausgehen, zu erkennen und, soweit erforderlich, die Böden zu sanieren. Unter dem Begriff **Bodensanierung** fasst man alle Maßnahmen zusammen, die dazu führen, dass der Boden so weit gereinigt wird, dass für Schutzgüter wie Grundwasser, Oberflächenwasser, Boden und Luft keine Gefahren ausgehen. Auch durch die besten und aufwendigsten Maßnahmen wird es nicht möglich sein, den ursprünglichen unbelasteten Zustand wieder herzustellen. Das unterstreicht noch einmal die Notwendigkeit des vorsorgenden Umweltschutzes: Vermeiden ist stets kostengünstiger als Sanieren.

Welche **Sanierungsziele** sind zu erreichen? Die stoff- und konzentrationsbezogenen Kriterien für die Beurteilung von Verunreinigungen in Umweltmedien sind umstritten. Nutzungsbezogene Kriterien werden verstärkt diskutiert.

◘ **Tab. 16.1** Verbreitete Altlastenstandorte und die dort vorkommenden Hauptschadstoffe

Altlasten	Schadstoffgruppen
Mineralölverarbeitung und – Lagerung, Tankstellen	Aliphatische und aromatische Kohlenwasserstoffe
Gaswerke, Kokereien	Phenole, PAK
Güterbahnhöfe, Flugplätze	Aliphatische und aromatische Kohlenwasserstoffe
Chemikalien- und Pflanzenschutzmittel-Produktion	Chlorkohlenwasserstoffe, PCB
Munitionsfabriken	Nitroaromaten wie TNT
Chemische Reinigungen	Tri- und Tetrachlorethen
Metallverarbeitung	Schwermetalle, Cyanide
Ungeordnete Deponien, Müllplätze	Schwermetalle, Sulfate, Nitrate

Eine Fläche, die nach der Sanierung als Kinderspielplatz oder für Sport- und Freizeitzwecke genutzt werden soll, muss sauberer sein als zukünftige Parkplätze oder Industrie- und Gewerbeflächen. Es ist jedoch schwierig, Nutzungsarten für lange Zeiträume festzulegen. Daher sind in den Niederlanden für eine größere Zahl von organischen und anorganischen Schadstoffen Referenz- und Prüfwerte festgelegt worden, die eine wichtige Grundlage für Grenzwerte darstellen. Diese Werte sind in der **Niederländischen Liste** (novelliert 1994) zusammengefasst worden, sie beinhaltet sowohl Werte für Boden als auch für Grundwasser. In der ◘ Tab. 16.2 sind einige Werte aus der Liste aufgeführt, um die Herangehensweise zu verdeutlichen. In dem Tabellenwerk wird zwischen den Kategorien Referenz- und Interventionswerten unterschieden. Referenzwerte sind Einzel- oder Durchschnittswerte, die auf Flächen außerhalb des Einwirkungsbereiches von Altlasten ermittelt wurden und etwa den natürlichen Werten entsprechen (Hintergrundkonzentration). Die Interventionswerte signalisieren bei Überschreitung das Vorliegen einer ernsthaften Bodenkontamination. Als Rechtsfolge ergibt sich die Pflicht zur Durchführung einer nutzungsabhängigen aktuellen Risikoabschätzung und die sich daraus ergebende Festlegung der Sanierungsdringlichkeit (0–4 beziehungsweise 4–21 Jahre). Die Interventionswerte basieren auf human- und ökotoxikologischen Kriterien sowie der dem Standardszenario „Wohnen mit Garten" zugrundeliegenden Expositionsfaktoren für einen Standardboden. Die Interventionswerte gelten als überschritten, wenn ein Mindestvolumen von >25 m^3 Boden beziehungsweise >100 m^3 porenwassergesättigter Boden/Aquifer betroffen ist.

16.2 Verfahren der biologischen Bodensanierung

Biologische Bodensanierung scheint auf den ersten Blick etwas Paradoxes zu sein: Mikroorganismen sollen Schadstoffe beseitigen, deren biologischer Abbau schon Jahre oder Jahrzehnte unterblieben ist oder sehr langsam ablief. Zu fragen ist also, warum der Abbau prinzipiell abbaubarer Verbindungen an manchen Standorten unterbleibt oder stark verlangsamt abläuft. Nach den vorliegenden Erfahrungen sind **Hauptgründe für unterbleibenden oder zu langsamen Abbau** je nach Standort und Verbindung:

- Da Sauerstoff bei den schnell ablaufenden aeroben Prozessen sowohl als Reagenz in den Oxygenase-Reaktionen (vergleiche ► Abschn. 6.1) als auch als Elektronenakzeptor benötigt wird, ist oft ein **Mangel an Sauerstoff** das Hauptproblem. Dies kann sich beim **Fehlen alternativer Elektronenakzeptoren** besonders auswirken.
- Ein anderes großes Problem ist die **mangelnde Bioverfügbarkeit** vieler Schadstoffe. Diese kann aus schlechter Wasserlöslichkeit der Verbindung resultieren. Gerade im Boden spielt auch die Sorption der Schadstoffe an Bodenbestandteile eine entscheidende Rolle. Sowohl hydrophobe Bindungen an organisches Material sind von Bedeutung als auch die Sorption polarer Stoffe an Huminsäuren oder Tone. Bei feinkörnigem Material mit relativ großen Oberflächen spielen Sorptionsprozesse eine besonders große Rolle. Auch das Alter einer Verschmutzung kann über die im Zeitverlauf stattfindende Diffusion von Schadstoffen in kleinste Poren oder eine Sequestrierung in der Huminstoffmatrix zur Reduktion der Bioverfügbarkeit beitragen.
- Am Standort können **Nährstoffe** wie Stickstoff oder Phosphor limitierend sein.
- Biologische Aktivität ist oft hoch bei **pH**-Werten des Bodens zwischen 6 und 8. Stark hiervon abweichende pH-Werte können sich hemmend auf Aktivität und damit den Schadstoffabbau auswirken.
- Für reduktive oder cometabolische Prozesse (► Abschn. 6.2) kann auch ein **Elektronendonor** oder ein **Auxiliarsubstrat** fehlen.

Tab. 16.2 Referenz- und Interventionswerte für Boden- und Grundwasserverunreinigungen zum Schutz des Menschen und der Ökosysteme (Altlasten Spektrum, 3/95, 165–166)

Substanz	Boden/Sediment (mg/kg Trockenmasse)		Grundwasser (µg/L)	
	Referenzwerte	Interventionswerte	Referenzwerte	Interventionswerte
Metalle				
Arsen	29	55	10	60
Cadmium	0,8	12	0,4	6
Chrom	100	380	1	30
Kobalt	20	240	20	100
Kupfer	36	190	15	75
Quecksilber	0,3	10	0,05	0,3
Blei	85	530	15	75
Nickel	35	210	15	75
Aromatische Verbindungen				
Benzol	0,05 (d)	1	0,2	30
Ethylbenzol	0,05 (d)	50	0,2	150
Toluol	0,5 (d)	130	0,2	1000
Xylole	0,5 (d)	25	0,2	70
Phenol	0,05 (d)	40	0,2	2000
Polycyclische Aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK)				
Naphthalin	–	–	0,1	70
Anthracen	–	–	0,02	5
Phenanthren	–	–	0,02	5
Fluoranthen	–	–	0,005	1
Chrysen	–	–	0,002	0,05
Benzo(a)pyren	–	–	0,001	0,05
PAK (Summe von 10)	1	40	–	–
Chlorierte Kohlenwasserstoffe				
Tetrachlorethen	0,01	4	0,01 (d)	10
Trichlorethen	0,001	60	0,01 (d)	500
Vinylchlorid	–	0,1	0,01 (d)	0,7
Tetrachlormethan	0,001	1	0,01 (d)	10
Trichlormethan	0,001	10	0,01 (d)	400
Dichlormethan	–	20	0,01	1000
Chlorbenzole (Summe)	–	30	–	–

(Fortsetzung)

Tab. 16.2 (Fortsetzung)

Substanz	Boden/Sediment (mg/kg Trockenmasse)		Grundwasser (µg/L)	
	Referenzwerte	Interventionswerte	Referenzwerte	Interventionswerte
Monochlorbenzol	–	–	0,01 (d)	180
Dichlorbenzole (Summe)	0,01	–	0,01 (d)	50
Trichlorbenzole (Summe)	0,01	–	0,01 (d)	10
Chlorphenole (Summe)	–	10	–	–
Monochlorphenole (Summe)	0,0025		0,25	100
Dichlorphenole (Summe)	0,003		0,08	30
PCB (Summe von 17)	0,02	1	0,01 (d)	0,01
Pestizide				
Aldrin, Dieldrin, Endrin (Summe)		4		0,1
α-HCH	0,0025			
β-HCH	0,001			
γ-HCH	0,05 µg/kg		0,02 ng/L	
Carbaryl		5	0,01 (d)	0,1
Atrazin	0,05 µg/kg	6	0,0075	150
Sonstige Verbindungen				
Pyridin	0,1	1	0,5	3
Styrol	0,1	100	0,5	300
Phthalate (Summe)	0,1	60	0,5	5
Mineralöl (Summe)	50	5000	50	600

Standardboden: 10 % org. Substanz, 25 % Ton
(d) Bestimmungsgrenze; wenn keine Werte angegeben sind, so sind die Chemikalien mit den gängigen Methoden nicht erfassbar

- Die **Toxizität** des in Frage stehenden Schadstoffes oder von Begleitstoffen wie Schwermetallen oder Bioziden kann die mikrobielle Aktivität hemmen.
- Normalerweise setzt man bei der Bodensanierung auf die Aktivität der im Boden schon vorkommenden Bakterien und Pilze. Speziell bei Verbindungen, die der Natur fremd sind (Xenobiotika) oder die sehr selten oder normalerweise in niedriger Konzentration vorkommen, kann eine zu **geringe Zahl abbauender Mikroorganismen** ein entscheidendes Problem sein. Hier spielen auch der Zeitfaktor und möglicherweise ablaufende genetische Adaptationsprozesse (► Abschn. 6.2 und 10.1.2) eine wesentliche Rolle.

Biologische **Sanierungsverfahren** zielen generell darauf ab, alle oder die jeweils wichtigsten dieser Mängel auszugleichen und damit einen Abbau oder auch eine Immobilisierung zu ermöglichen oder zu beschleunigen. Ein **vollständiger biologischer Abbau** liegt vor, wenn die organischen Schadstoffe einerseits zu mineralischen Endprodukten (Kohlendioxid, Chlorid), andererseits in Biomasse umgesetzt werden. Auch ein **unvollständiger biologischer Abbau** lässt sich zur Reinigung kontaminierter Böden nutzen, indem die Schadstoffe entweder in unschädliche Metabolite (Zwischenprodukte) umgewandelt oder durch Einbaureaktionen im Boden festgelegt werden (**Immobilisierung/Humifizierung).**

Biologische Bodensanierungsverfahren werden in ***ex situ***-Techniken (mit Bodenaushub) und ***in situ***-Techniken (ohne Bodenaushub) eingeteilt, wobei *ex situ*-Sanierungen je nach Ort der Behandlungsanlage als *on site*- (am Sanierungsort) oder *off site*-Verfahren (außerhalb des Sanierungsortes) zur Anwendung kommen.

Während die *ex situ*- und *in situ*-Verfahren darauf ausgerichtet sind, Abbau- oder Immobilisierungsprozesse zu kontrollieren und zu beschleunigen, setzt eine andere Strategie lediglich auf **„Natural Attenuation"** (NA), also darauf, dass natürlicherweise ablaufende Abbau- und Rückhalteprozesse die Ausbreitung von Schadstoffen in der ungesättigten und gesättigten Bodenzone verlangsamen können. Die mit dem Begriff „Natural Attenuation" gekennzeichnete Verringerung der Schadstoffbelastung eines kontaminierten Systems unter natürlichen Bedingungen kann mit einer Verminderung von Masse, Toxizität, Mobilität, Volumen oder Konzentration der Schadstoffe im Boden oder Grundwasser einhergehen. In Verbindung mit einer Langzeitüberwachung der identifizierten Schadstoffe können Natural Attenuation-Prozesse nach Meinung der EPA (Environmental Protection Agency der USA) als Sanierungsstrategien eingesetzt werden. Für diese Vorgehensweise wurde der Begriff **„Monitored Natural Attenuation"** (MNA) vorgeschlagen.

Während sich der Begriff „Natural Attenuation" ausschließlich auf die unbeeinflusste Nutzung natürlicher Rückhalte- und Reinigungsprozesse im Untergrund bezieht, wird die Anwendung von Verfahren zur Stimulierung von Selbstreinigungsprozessen als **„Enhanced Natural Attenuation"** bezeichnet. Diese Strategie zielt auf die Nutzbarmachung des natürlichen Schadstoffabbaus durch eine Verstärkung, Optimierung beziehungsweise Beschleunigung von Selbstreinigungsprozessen ab, indem durch einfache technische Maßnahmen die physikalischen oder chemischen Bedingungen am Ort des Schadstoffabbaus verändert werden. Da dies begrifflich nicht klar von *in situ*-Verfahren zu trennen ist, wird die Enhanced Natural Attenuation-Strategie hier nicht gesondert aufgeführt.

16

Vielfach verwendete Abkürzungen bei der Bodensanierung

BTEX - Benzol, Toluol, Ethylbenzol, Xylole (Mineralölkohlenwasserstoffe)

cDCE - *cis*-1,2-Dichlorethen

DNAPL - *dense non aquous phase liquids*

HCH - Hexachlorcyclohexan (Lindan)

LCKW - Leichtflüchtige chlorierte Kohlenwasserstoffe (C_1/C_2-Alkane/Alkene mit Siedepunkten <150° C)

MKW - Mineralölkohlenwasserstoffe

MNA - *Monitored Natural Attenuation*

MTBE - Methyl-tert-butylether

NA - *Natural Attenuation*

ORC - *Oxygen Release Compounds*

PAK - polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe

PCB - polychlorierte Biphenyle

PER, PCE - Tetrachlorethen

RDX, HMX - *Royal Demolition Explosive*

TCE - Trichlorethen

TNT - Trinitrotoluol

TPH - *Total Petroleum Hydrocarbons*

VC - Vinylchlorid (=Chlorethen)

VOCs - *volatile organic compounds*

16.2.1 *Ex situ*-Verfahren

Alle *ex situ*-Verfahren ermöglichen eine im Vergleich zu den *in situ*-Verfahren relativ **intensive Bearbeitung** des belasteten Bodens.

- Mikrobielle Aktivitäten können durch Belüftung, Nährstoffzufuhr und gegebenenfalls pH-Anpassung gefördert werden.
- Eine Homogenisierung führt zur Erhöhung der Bioverfügbarkeit der Schadstoffe und kann durch gleichmäßigere Verteilung auch Toxizitätsprobleme senken.
- Gegebenenfalls kann durch Zugabe von Spezialkulturen ein Mangel an abbauenden Bakterien kompensiert werden.

Neben solchen verfahrenstechnischen Aspekten haben *ex situ*-Verfahren im Vergleich zu *in situ*-Verfahren den Vorteil, dass das kontaminierte Gelände sehr schnell für eine neue Nutzung zur Verfügung steht. Gleichzeitig setzen sie voraus, dass eine *ex situ*-Lösung vom Umfang (kontaminierte Fläche, Tiefe der Kontamination) her noch praktikabel und finanzierbar ist.

Bei *ex situ*-Verfahren erfolgt zu Beginn der Bearbeitung eine mechanische **Bodenvorbehandlung.** So können Störstoffe wie Kunststoffe, grober Bauschutt und Metalle entfernt oder grobe Partikel bei Bedarf mittels eines Brechers auf die notwendige Korngröße zerkleinert werden. Hierdurch wird die angestrebte Homogenisierung erreicht. Zur weiteren Bearbeitung werden vor allem Mietentechnik und Reaktorverfahren eingesetzt.

16.2.1.1 Mietentechnik

Unter dem Begriff „Mietentechnik" werden Verfahren verstanden, die in Form von angelegten Bodenmieten zu einem biologischen Abbau von Schadstoffen führen. Bei den Mieten, in der Regel als Boden- oder Regenerationsmieten bezeichnet, handelt es sich um Haufwerke unterschiedlicher Form und Größe, zu denen die Böden aufgeschüttet werden. Je nach Form der Bodenmiete wird zwischen Tafel-(Rechteck-)mieten, trapez- und pyramidenförmigen Mieten unterschieden. Die Höhe der Bodenmieten beträgt bis zu 3 m, in Ausnahmefällen werden Hochmieten mit über 3 m Höhe angelegt. Die Durchführung der Mietentechnik erfolgt auf abgedichtetem Untergrund in Hallen oder Zelten. Unter den Begriffen „Biobeete" beziehungsweise „Beetverfahren" kommen auch flache Mietenverfahren zum Einsatz.

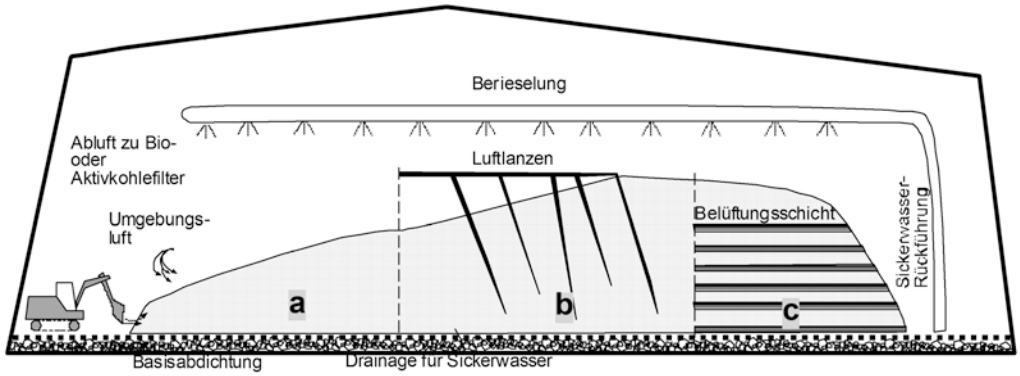
Die oben angesprochenen Limitierungen mikrobiellen Abbaus werden zum Teil schon bei der mechanischen **Bodenvorbehandlung** reduziert. So kommt es hierdurch zur **Homogenisierung** und Auflockerung des Materials mit positiven Effekten im Hinblick auf Bioverfügbarkeit der Schadstoffe und Sauerstoffversorgung. Die Bodenvorbehandlung wird in der Regel mit der Einarbeitung von Nährstoffen sowie Struktur- und Zuschlagstoffen kombiniert. Zu den wichtigsten **Nährstoffen** gehören organische und anorganische Stickstoff- und Phosphorverbindungen. Diese sollten zum einen in ausreichenden Gehalten vorliegen und zum anderen auf ein günstiges Verhältnis der Nährstoffgehalte untereinander eingestellt werden. Das sogenannte C:N:P-Verhältnis sollte zwischen 100:15:2 bis 100:10:1 (Gewichtseinheiten) liegen. Unter **Struktur- und Zuschlagstoffen** sind Stoffe zu verstehen, die dem Boden zu Beginn der Behandlung zugesetzt werden und dabei zu einer lockeren Bodenstruktur und guten Durchlüftung führen. Zum Einsatz kommen Rindenprodukte (Rindenmulch, Rindenhumus, Borke), Stroh, Komposte. Die Zugabe dieser Stoffe erhöht außerdem den organischen Anteil des Bodens und fördert so dessen biologische Aktivität. Auch eine **Beimpfung** mit Spezialkulturen oder Organismen, die zuvor vom Standort isoliert wurden, kann im Rahmen der Vorbehandlung durchgeführt werden.

Mietentechniken sind in der Regel aerobe Verfahren und die Durchlüftung wird schon durch die erwähnte Auflockerung sowie die

Struktur- und Zuschlagstoffe verbessert. Je nach Art der zusätzlichen **Sauerstoffversorgung** unterscheidet man zwischen passiver und aktiver Belüftung. Eine **passive Belüftung** von Bodenmieten wird durch einen schichtenförmigen Mietenaufbau erreicht, bestehend aus einer wechselnden Abfolge aus Boden- und Belüftungsschichten (◘ Abb. 16.1c). In den Belüftungsschichten werden grobe Strukturstoffe wie Holzhackschnitzel eingesetzt und auf diese Weise eine Versorgung der Bodenschichten mit Luftsauerstoff über passive Diffusion erreicht. Die Nachlieferung des Luftsauerstoffs wird zudem verbessert, wenn sich der Mietenkörper durch die biologische Aktivität erwärmt (Kamineffekt).

Zu der **aktiven Belüftung** von Bodenmieten gehören die Zwangsbelüftung und die dynamische Belüftung. Bei der **Zwangsbelüftung** wird mit Hilfe technischer Einbauten oder Maßnahmen eine Versorgung der Bodenmiete mit Luftsauerstoff erreicht. Zur Anwendung kommen Siebböden, Drainrohre oder Luftlanzen (◘ Abb. 16.1b). Je nach Anordnung der Gebläsevorrichtungen unterscheidet man zwischen Druck- und Saugbelüftung. Bei Vorliegen leicht-flüchtiger Komponenten (zum Beispiel BTEX-Aromaten, kurzkettige Aliphaten, LCKW) bietet die Saugbelüftung den Vorteil, dass Emissionen vermieden werden, wenn der Sauganlage ein Abluftfilter nachgeschaltet wird. Eine **dynamische Belüftung** wird durch regelmäßiges Wenden beziehungsweise Umsetzen der Bodenmieten erreicht. Dabei wird der Boden mit Hilfe von Wende- und Umsetzmaschinen aufgenommen, zu einer neuen Miete aufgeschichtet und so die Umgebungsluft in die Bodenmiete eingetragen.

Eine wesentliche Voraussetzung für biologische Aktivitäten im Boden ist ein optimaler **Wassergehalt.** Je nach Art der Bewässerung von Bodenmieten unterscheidet man zwischen Trockenmieten (Trockenrotteverfahren) und Nassmieten (Mieten mit Prozesswasserkreislauf). Bei Trockenmieten wird zu Beginn der Behandlung ein Wassergehalt bis zu etwa 30 Gew.-% eingestellt, der der natürlichen Bodenfeuchte entspricht, sodass kein freies Wasser während des Betriebes anfällt. Um eine Austrocknung der Miete im Verlauf der Behandlung zu verhindern, erfolgt eine regelmäßige Überprüfung und gegebenenfalls Einstellung des Wassergehaltes. Bei Nassmieten erfolgt während des Betriebes eine Bewässerung mit Berieselungseinrichtungen. Dabei fällt freies Prozesswasser an, welches je nach Belastung gereinigt werden muss und dann erneut zur Verrieselung verwendet werden kann (Prozesswasserkreislauf). Bedingt durch die notwendigen Einbauten, wie zum Beispiel Drainagerohre oder Drainschichten, handelt es sich bei Nassmieten um statische Mieten.



◘ **Abb. 16.1** Schematischer Aufbau einer Bodenmiete mit **a** dynamischer Belüftung, **b** passiver Belüftung beziehungsweise **c** Zwangsbelüftung

Die Mietentechnik zielt auf die Behandlung aerob abbaubarer Schadstoffe ab, unabhängig davon, welche Art der Belüftung gewählt wird. Eine Ausnahme stellen modifizierte Mietenverfahren dar, die durch Menge und Zusammensetzung der Zuschlagstoffe eine anaerobe beziehungsweise zweistufige (**anaerobe – aerobe) Verfahrensführung** erlauben. Durch den hohen Anteil leicht verwertbarer, organischer Zuschlagstoffe führen diese zu einer biologischen Sauerstoffzehrung innerhalb der Bodenmiete, sodass sich im Mietenkörper rasch anaerobe Verhältnisse einstellen. Anaerob-aerobe Mietenverfahren wurden bei der biologischen Behandlung sprengstoffkontaminierter Böden im technischen Maßstab erprobt.

Die durch geringe Wasserlöslichkeit sowie die Sorption an organische Substanz und/oder an den Tonanteil im Boden **eingeschränkte Bioverfügbarkeit** von Schadstoffen kann in Bodenmieten letztlich nur begrenzt verbessert werden. Wegen ihres hohen Sorptionsvermögens in Bezug auf die Schadstoffe und gleichzeitig schlechte Durchlüftung eignen sich insbesondere lehmige und tonige Böden nur mit Einschränkungen für die Mietentechnik. Generell ist die Korngrößenverteilung des Bodens ein wichtiger Parameter für die biologische Bodenbehandlung. Ein hoher Anteil organischer Substanz im Boden bindet lipophile Schadstoffe und schränkt so die Bioverfügbarkeit ein. Ist die Bioverfügbarkeit der Schadstoffe niedrig, kann der Einsatz von Stoffen mit lösungsvermittelnden Eigenschaften (zum Beispiel Tenside, Emulgatoren) sinnvoll sein.

Mietenverfahren finden überwiegend **Anwendung** bei Bodenkontaminationen mit Mineralöl-Kohlenwasserstoffen (MKW) und BTEX-Aromaten. Dies ist auf die große Verbreitung von Kontaminationen durch Mineralölprodukte (Benzin, Diesel, Heizöle) zurückzuführen, beruht aber auch auf der guten biologischen Abbaubarkeit dieser Stoffgruppen. Vereinzelt kommen Mietenverfahren auch bei Polycyclischen Aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK) zum Einsatz, allerdings vorwiegend dann, wenn ausschließlich oder überwiegend niedrigkondensierte PAK (2- bis 4-Ring-Verbindungen) vorliegen. Weitere Stoffklassen wie Phenolverbindungen, nitrierte und chlorierte Kohlenwasserstoffe werden nur in seltenen Fällen mit dem Mietenverfahren behandelt.

In der Praxis werden Mietenverfahren nicht nur als alleinige Sanierungstechnik, sondern auch in **Kombination** mit nicht-biologischen Verfahren eingesetzt. Am häufigsten sind Kombinationen aus biologischer Mietentechnik und thermischer Bodenbehandlung. Dabei werden hochkontaminierte Bodenbereiche einer thermischen Behandlung zugeführt (zum Beispiel bei Vorliegen von Mineralölen in flüssiger Phase), während geringer belastete Bodenchargen mit der Mietentechnik behandelt werden. Auch eine Kombination mit Bodenwaschverfahren kann sinnvoll sein (vergleiche auch ► Abschn. 16.2.1.3).

16.2.1.2 Landfarming

Unter **Landfarming** versteht man die Behandlung von kontaminierten Böden mit landwirtschaftlichen Geräten wie Pflug und Fräse, um den Boden aufzulockern, zu belüften und Nähr- und Zuschlagstoffe zuzusetzen. Auf diese Weise lassen sich großflächig kontaminierte Böden *in situ* und nach Aushub auf gesonderten Lagerflächen behandeln. Bei dieser einfachen Methode besteht die Gefahr der Auswaschung mobilisierter Schadstoffe und die der Verflüchtigung. In Deutschland wird daher der kontaminierte Boden auf eine Basisabdichtung wie Folie aufgebracht, um die Auswaschung zu verhindern. Der Bodenaushub wird in einer Art flacher Wanne breitflächig ausgebreitet, die Schichthöhe beträgt etwa 0,4 m. Bei dieser Schichthöhe ist eine Behandlung mit traditionellen landwirtschaftlichen Techniken möglich. Die Beete werden in der Regel nach oben nicht abgedichtet, sodass sie Witterungseinflüssen ausgesetzt sind und eine Emission durch ausgasende Schadstoffe

erfolgen kann. Außerdem ist der Flächenbedarf sehr groß, für 1000 m^3 Boden sind etwa 3000 m^2 erforderlich. Der Einsatz des Landfarming erfolgt daher in Deutschland selten.

16.2.1.3 Reaktorverfahren

Technologien, die in geschlossenen Systemen zu einem biologischen Schadstoffabbau führen, sind die Reaktorverfahren. Der biologische Abbau von Schadstoffen in Bioreaktoren wird analog der Mietentechnik dadurch erreicht, dass Faktoren aufgehoben werden, die den Abbau begrenzen. In Bioreaktoren lässt sich dieses Ziel **schneller und effektiver als in Bodenmieten** erreichen, weil ein wesentlich höherer Durchmischungsgrad von Boden und Zusatzstoffen erreicht werden kann und weil ein geschlossenes System besser kontrollierbar und steuerbar ist. Die höhere Durchmischung bewirkt eine bessere Bioverfügbarkeit der Schadstoffe, und eine rasche Egalisierung der Schadstoffgehalte kann dazu beitragen, toxische Effekte durch lokal hohe Konzentrationen zu reduzieren. Die Sauerstoffversorgung ist in höherem Maße gewährleistet. Sofern Nährstoffgaben erforderlich sind, lassen sich durch den hohen Homogenisierungsgrad in Bioreaktoren lokale Nährstoffdefizite ausgleichen. Als weitere Additive können bei Bioreaktoren organische Co-Substrate, Puffersubstanzen, redoxaktive Substanzen, Komplexbildner, Detergenzien und Lösungsvermittler zum Einsatz kommen. Hierdurch werden auch Schadstoffe mit geringer Wasserlöslichkeit einer Behandlung zugänglich, und mehrstufige, zum Beispiel anaerob-aerob-Verfahren wie zum Abbau von höher chlorierten Kohlenwasserstoffen (► Abschn. 6.2) oder Sprengstoffen (► Abschn. 6.3) lassen sich leichter realisieren. Im Falle einer Beimpfung von Bioreaktoren mit Mikroorganismen (beispielsweise mit Belebt- oder Faulschlämmen oder mit vorgezogenen Kulturen von Mikroorganismen) bieten Bioreaktoren als geschlossene Systeme den Vorteil, dass zugesetzte Kulturen besser kontrollierbar sind und sich die erforderlichen Wachstumsbedingungen zur Etablierung zugesetzter Mikroorganismen besser einstellen lassen. Durch die geschlossene Bauweise kann bei Schadstoffen mit hoher Flüchtigkeit sichergestellt werden, dass die Stoffe in der Gasphase des Reaktors verbleiben beziehungsweise gezielt abgesaugt und über Abluftfilter gereinigt werden.

Insgesamt führen Bioreaktoren im Vergleich zur konventionellen aeroben Mietentechnik zu einer deutlichen Erweiterung des Spektrums behandelbarer Schadstoffe und Böden. Das Spektrum erfolgreich behandelter Schadstoffe reicht von MKW und BTEX über niedrigkondensierte PAK bis hin zu hochchlorierten Kohlenwasserstoffen (Chlorethene, Chlorphenole) und sprengstofftypischen Verbindungen. Gleichzeitig haben Reaktorverfahren den Nachteil, dass sie mit deutlich höheren Kosten als Mietenverfahren einhergehen.

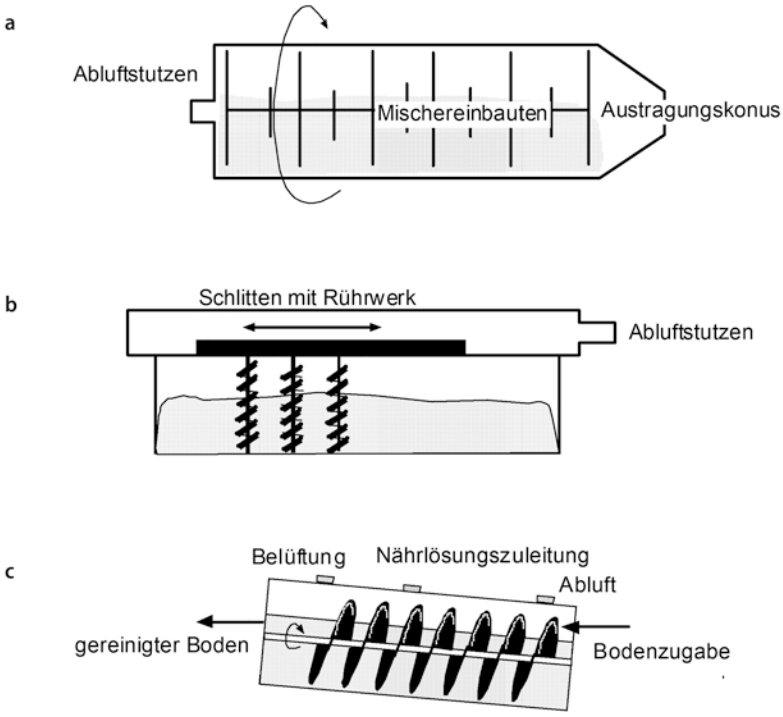
Bioreaktoren für die Reinigung kontaminierter Böden können sehr unterschiedlich aufgebaut sein. Je nach Wassergehalt des zu behandelnden Bodens wird zwischen Feststoff- und Suspensionsreaktoren unterschieden. Trotz der Vielfältigkeit gibt es gemeinsame Grundelemente:

- Reaktorbehälter zur Aufnahme des Bodens (beziehungsweise der Bodensuspension).
- Mischaggregate zur Homogenisierung des Bodens und Verteilung von Zusatzstoffen.
- Begasungseinrichtungen zur Versorgung mit Sauerstoff, gegebenenfalls auch mit Inertgasen.
- Abluftfilter zur Reinigung kontaminierter Prozessabluft.
- Dosiereinrichtungen für die Zugabe von Additiven (Nährstoffe, Elektronenakzeptoren und -donoren, pH-aktive Substanzen).
- Temperiereinrichtungen zur Erzeugung und Kontrolle der gewünschten Temperatur.

In **Feststoffreaktoren** werden erdfeuchte Böden behandelt, sodass kein freies Wasser in Form von Prozesswässern auftritt. Der Feuchtegehalt beträgt dabei in der Regel zwischen 50 und

70 % der maximalen Wasserhaltekapazität der zu behandelnden Böden. Die Einstellung des Wassergehaltes hat entscheidenden Einfluss auf die biologische Aktivität. Bei geringen Feuchtigkeiten (unter 50 % der maximalen Wasserhaltekapazität) steht den schadstoffabbauenden Mikroorganismen nicht genügend Wasser zur Verfügung, während bei hohen Feuchtigkeiten die Sauerstoffversorgung limitiert ist. Bei Feststoffreaktoren sorgen Mischaggregate für einen regelmäßigen oder sogar kontinuierlichen Kontakt des Bodens mit Sauerstoff. Bei feinkörnigen/bindigen Böden ist die Sauerstoffversorgung der Mikroorganismen durch die Bildung unerwünschter Bodenpellets behindert.

Die **Einteilung von Feststoffreaktoren** erfolgt nach dem jeweiligen Bauprinzip. Zur Anwendung kommen zum einen **Drehtrommel-** beziehungsweise **Drehrohrreaktoren** (◘ Abb. 16.2a). Die Reaktoren bestehen aus einer Drehtrommel mit fest eingebauten Mischeinrichtungen und können ein Fassungsvermögen bis zu 100 m^3 haben. Drehtrommelanlagen lassen sich sowohl chargenweise (Batch-Betrieb) als auch kontinuierlich betreiben. Im Gegensatz zu Drehtrommelanlagen verfügen Wannen- und Röhrenreaktoren über ein festes (statisches) Reaktorgehäuse und mobile Mischeinrichtungen. **Wannenreaktoren** (◘ Abb. 16.2b) bestehen aus einzelnen Segmenten (modularer Aufbau) und lassen sich somit der erforderlichen Behandlungskapazität anpassen. Durch Deckelung der Segmente ist das System geschlossen. Ein Mischaggregat mit vertikal angeordneten Rührwellen durchläuft den gesamten Wannenreaktor und führt zu einem hohen Homogenisierungsgrad des Bodens. **Röhrenreaktoren** (◘ Abb. 16.2c)



◘ **Abb. 16.2** Schematische Darstellung von Feststoffreaktoren. **a** Drehrohrreaktor mit festen Mischeinbauten, **b** Wannenreaktor, **c** Röhrenreaktor mit Transportschnecke

verfügen dagegen über eine bewegliche Schnecke, die den Boden im Reaktor bewegt und dadurch homogenisiert. Als weiterer Reaktortyp kommen **Flachbettreaktoren** zum Einsatz. Sie bestehen aus einem oder mehreren flachen Containern, die stapelbar sind. Zur Homogenisierung des Bodens verfügen die einzelnen Container über mehrere parallele horizontale Rührwellen. Die Belüftung erfolgt über Begasungsschläuche am Containerboden. Optional lässt sich der zu behandelnde Boden zudem über einen Wasserkreislauf bewässern (Sprinkleranlage, gelochter Containerboden, Auffangwanne).

Im Gegensatz zu Feststoffreaktoren werden in Suspensions- **oder *slurry*-Reaktoren** durch Zugabe von Wasser oder wässrigen Medien Bodenschlämme eingesetzt. Suspensionsreaktoren werden meist mit Feststoffanteilen zwischen 30 und 50 Gew.-% betrieben. Verfahrenstechnisch bieten Bodensuspensionen im Vergleich zu Feststoffverfahren zwei wesentliche Vorteile. Erstens führen sie zu äußerst homogenen Gemischen, deren Behandlung entsprechend **gut kontrollierbar und steuerbar** ist, zum Beispiel im Hinblick auf kombinierte anaerob-aerob-Verfahren. Zweitens lassen sich in Suspensionsverfahren **feinkörnige, bindige und schlecht durchlässige Böden** beziehungsweise Bodenfraktionen biologisch reinigen, die als Feststoff nicht oder nur unzureichend behandelbar sind. Drittens sorgen Suspensionsreaktoren für einen permanenten Kontakt zwischen schadstoffbelasteten Bodenpartikeln und der umgebenden wässrigen Phase und **begünstigen** so den **Stoffübergang.** Viertens kann es in Suspensionsreaktoren auch zu einer **Auflösung** von festen Schadstoffmatrizes (Einschlüsse, Kristalle) kommen. Nachteilig erweist sich ein erhöhter Aufwand bei der Herstellung von Bodensuspensionen und bei der Entwässerung der Suspension nach erfolgter Behandlung. Die Bauprinzipien von Suspensionsreaktoren stammen im Wesentlichen aus der Abwassertechnik und damit verknüpften Schlammbehandlungsverfahren. Bei Suspensionsreaktoren erfolgt der Eintrag von Sauerstoff über Zuluftleitungen mit Gasverteilern, Injektionsdüsen oder Begasungsmembranen, wobei sowohl Druckluft als auch technischer Sauerstoff zum Einsatz kommen können. Prinzipiell ist auch der Eintrag von Sauerstoff über gelöste Sauerstoffträger wie Wasserstoffperoxid oder *oxygen release componds* (ORC, wirksamer Bestandteil Magnesiumperoxid, das sich in Sauerstoff und Magnesiumhydroxid spaltet) möglich.

Die **Einteilung von Suspensionsreaktoren** erfolgt nach dem jeweiligen Verfahrensprinzip, wobei allerdings auch Kombinationen in einem Reaktortyp vorliegen können. **Rührreaktoren** (◘ Abb. 16.3a) bestehen aus einem statischen Gehäuse und einem Rührsystem, das zum einen die Bodensuspension in Schwebe hält, zum anderen für eine gleichmäßige Verteilung der Luftzufuhr beziehungsweise der dosierten Zusatzstoffe in der Suspension sorgt. Neben Rührreaktoren werden für die Behandlung von Bodensuspensionen auch Schlaufenreaktoren und Wirbelschichtreaktoren eingesetzt. Um die Bodenpartikel in Schwebe zu halten und einen hohen Durchmischungsgrad mit den zugesetzten Additiven zu erzielen, erfolgt eine Kreislaufführung der Suspension. Bei **Schlaufenreaktoren** (◘ Abb. 16.3b) entsteht das Strömungsbild einer Schlaufe, bedingt durch den Einbau eines konzentrischen Leitrohres im Reaktorinneren. Bei **Wirbelschichtreaktoren** (◘ Abb. 16.3c) dagegen wird eine Kreislaufführung erreicht, indem die Suspension aus dem oberen Teil des Reaktors (Reaktorkopf) abgezogen und über eine Pumpe unten wieder zugeführt wird. Befinden sich am Boden von Schlaufen- oder Wirbelschichtreaktoren Belüftungseinrichtungen, lässt sich ein Absetzen von Bodenpartikeln durch aufsteigende Luft-(Gas-)blasen vermeiden (Airlift-Prinzip).

Einen wichtigen Einfluss auf die **Auswahl** des Reaktorverfahrens hat die **Bodentextur** der zu behandelnden Böden:

- Feststoffreaktoren sind vorwiegend für grobkörnige und wenig bindige Böden geeignet; nur bei diesen ist eine ausreichende Durchlässigkeit der Böden (Sauerstoffversorgung) gewährleistet.

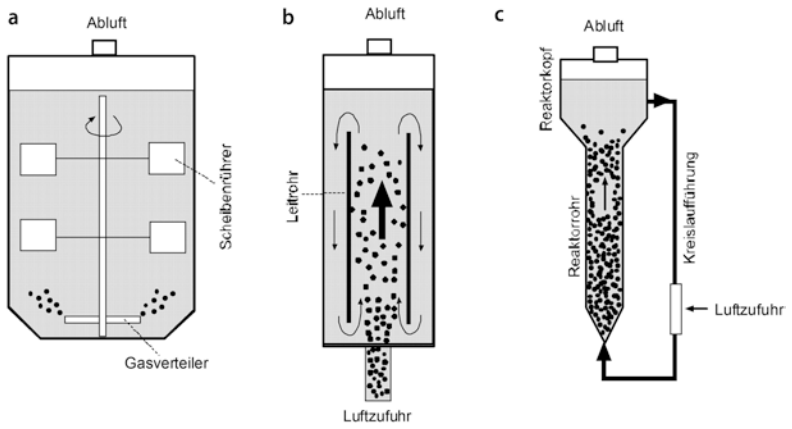


Abb. 16.3 Schematische Darstellung von Suspensionsreaktoren zur Bodenbehandlung. **a** Rührkesselreaktor, **b** Airlift-Schlaufenreaktor, **c** Wirbelschichtreaktor

- Suspensionsreaktoren dagegen zielen primär auf die Behandlung feinkörniger Böden oder Bodenfraktionen ab. Grobfraktionen werden abgetrennt und können gesondert behandelt werden. Feinkörnige Bodenpartikel lassen sich durch verschiedene Systeme (Rührwerk, Airlift, Flüssigkeitsumwälzung) in Schwebe halten, was zu einem optimalen Kontakt zum umgebenden Medium führt. Dies wiederum ist die Voraussetzung zur Desorption der Schadstoffe, die nach Übergang in die wässrige Phase für Mikroorganismen verfügbar sind.

Die Entwicklung von Bioreaktoren in der Bodensanierung geht zunehmend in Richtung Suspensions-(slurry-)Verfahren. Dies ist darin begründet, dass Suspensionsverfahren den Anwendungsbereich der biologischen Bodensanierung in Richtung feinkörniger Böden erweitern. Feststoffreaktoren, die sich primär zur Reinigung gut durchlässiger, grobkörniger Böden eignen, befinden sich dagegen in Konkurrenz zu anderen Sanierungsverfahren wie der Bodenwäsche.

Im technischen beziehungsweise großtechnischen Maßstab finden Suspensionsreaktoren derzeit vereinzelt Anwendung in Kombination mit Bodenwaschverfahren. Dabei wird der kontaminierte Boden zunächst in einer Waschanlage aufgeschlossen und anschließend in verschiedene Korngrößenklassen separiert. Die kontaminierten Fein- und Feinstkornfraktionen werden in Suspensionsreaktoren biologisch behandelt. Die Behandlung von Feinstfraktionen (Korngrößen unter 5 µm) mit Hilfe von Bioreaktoren ist von großem Interesse. Generell steht der Einsatz von Bioreaktoren zur Behandlung belasteter Fein- und Feinstfraktionen aus der Bodenwäsche jedoch in starker Konkurrenz zur üblichen Entsorgung dieser Reststoffe durch Deponierung.

16.2.2 *In situ*-Bodensanierung

Unter biologischer *in situ*-Bodensanierung sind Verfahren zu verstehen, bei denen der kontaminierte Boden (ungesättigte Bodenzone) oder der kontaminierte Grundwasserleiter (gesättigte Bodenzone) in seiner natürlichen Lage verbleibt. Ein Aushub des kontaminierten Bodens findet nicht statt. Im Idealfall ist der Untergrund als überdimensionaler „Reaktor" anzusehen, in dem der biologische Sanierungsprozess abläuft.

Solche Verfahren kommen insbesondere dann in Frage, wenn das Ausmaß der Schadensfälle aufgrund der betroffenen Fläche oder Tiefe der Kontamination so groß ist, dass eine *ex situ*-Sanierung zu aufwändig und teuer wird. Bei begrenzteren Schäden finden *in situ*-Verfahren dort Anwendung, wo die Zugänglichkeit kontaminierter Bodenbereiche eingeschränkt ist. Dieses ist der Fall, wenn sich auf dem kontaminierten Standort Gebäude, Anlagen, Kanalsysteme, Rohrleitungen oder andere infrastrukturelle Einrichtungen befinden, die geschützt werden müssen.

In situ-Verfahren beruhen sowohl auf physikalischen, chemischen als auch auf biologischen Prozessen. Physikalische und chemische Prozesse führen zu einer Entfernung, Umwandlung oder Immobilisierung (Fällung, Sorption) der Schadstoffe im Untergrund. Biologische Prozesse können nicht nur abbaubare Schadstoffe eliminieren, sondern auch physikalisch-chemische Prozesse initiieren oder unterstützen. Umgekehrt treten biologische Abbaureaktionen als „Sekundäreffekte" beim Einsatz physikalischer oder chemischer Verfahren auf. Insofern handelt es sich bei biologischen *in situ*-Verfahren eher um Verfahrenskombinationen. Die den Abbau limitierenden Faktoren wie ein Mangel an Nährstoffen oder Sauerstoff müssen dazu aufgehoben werden.

Grundsätzlich erfordern *in situ*-Verfahren umfangreiche **Informationen über den kontaminierten Standort.** Für die Behandlung der ungesättigten Zone ist die Kenntnis von **Bodeneigenschaften** wie Bodenstruktur (Aggregierung, Vorhandensein von Makroporen), Bodentextur (Korngrößenverteilung), Porosität/Lagerungsdichte, Wassergehalt und Gehalt an organischer Substanz von Bedeutung. Durch diese Faktoren wird einerseits die Luftdurchlässigkeit, andererseits das Sorptionsverhalten des Bodens beeinflusst. Belüftungsverfahren für die ungesättigte Bodenzone erfordern eine ausreichende Luftdurchlässigkeit im gesamten zu dekontaminierenden Bodenkörper. Für die Behandlung der gesättigten Bodenzone ist das Verständnis des **hydrogeologischen Systems** von Bedeutung. Die Kenntnis der horizontalen/vertikalen Schichtenabfolge, die hydraulische Durchlässigkeit der wasserführenden Schichten, die geo- und hydrochemischen Milieubedingungen im Grundwasser und potentielle Sorbenzien (Ton, organische Substanz) ist also notwendig.

Die Einsatzmöglichkeit biologischer *in situ*-Verfahren hängt auch von den **Eigenschaften der Schadstoffe** ab. Schadstoffe mit stark eingeschränkter Wasserlöslichkeit und Bioverfügbarkeit, wie zum Beispiel Teerverunreinigungen, kommen kaum in Frage. Auch physikalische und chemische Eigenschaften wie Dampfdruck, Sättigungskonzentration, Mobilität, Verteilungsgleichgewicht zwischen Gas- und Wasserphase, Möglichkeit der Bildung explosionsfähiger Gasgemische müssen bei der Planung biologischer *in situ*-Verfahren berücksichtigt werden.

Schwermetalle spielen insgesamt eine Sonderrolle bei *in situ*-Verfahren, da sie keinem Abbau unterliegen. Eine Rolle bei einer Sanierung können hier verschiedene Phytoremediationsverfahren spielen. Durch Zuschlagsstoffe und Verfahrensführung lässt sich in manchen Fällen aber auch die Mobilität der Metalle beeinflussen, was im Prinzip zu einer Sanierung durch kontrollierte Laugung oder durch gezielte Immobilisierung genutzt werden kann.

Von großer Bedeutung ist die **Verteilung der Schadstoffe** im Untergrund, insbesondere die Frage, ob oberflächennahe Bereiche, tiefer liegende, aber nicht wassergesättigte oder wassergesättigte Zonen betroffen sind. Zudem führen extrem inhomogene Kontaminationsverteilungen im Untergrund zu einem uneinheitlichen Abbau, was sich darin äußern kann, dass Schadstoffherde nur langsam von den Rändern her abgebaut werden.

Als Sanierungsbereiche für *in situ*-Verfahren kommen die verschiedenen Bodenzonen in Frage, wobei eine Einteilung der *in situ*-Verfahren nach dem Prinzip der jeweils eingesetzten Technik erfolgt:

- Die oberflächennahe ungesättigte Bodenzone kann mit Phytoremediationsverfahren und Bodenluft-Absaugung behandelt werden.
- Tiefere Bereiche der ungesättigten Bodenzone werden wird mit Infiltrations- und Belüftungsverfahren erreicht.
- In der gesättigten Bodenzone sind ebenfalls Infiltrations- und Belüftungsverfahren weit verbreitet.

16.2.2.1 Phytoremediation

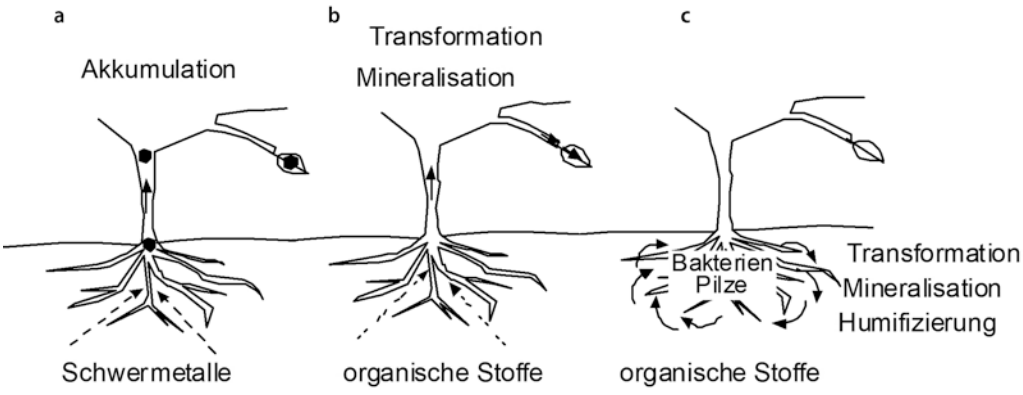
Bei der Phytoremediation werden höhere Pflanzen zur Reinigung kontaminierter Böden eingesetzt (◘ Abb. 16.4). Die Verfahren zielen naturgemäß auf die Dekontamination oberflächennaher Bodenverunreinigungen ab. Phytoremediationsverfahren lassen sich sowohl auf Kontaminationen mit organischen als auch mit anorganischen Schadstoffen (Schwermetallen) anwenden. Bei der Reinigung kontaminierter Bodenoberfächen mit Pflanzen spielen verschiedene Prozesse eine Rolle.

Am häufigsten werden Pflanzen zur **Phytoextraktion** von Schadstoffen eingesetzt. Bei Verunreinigungen mit Schwermetallen führt die Phytoextraktion zum Entzug der Schadstoffe aus dem Boden, indem die Schwermetalle von den Pflanzen aufgenommen und akkumuliert werden. Hier kommen insbesondere Pflanzen mit hohen Akkumulationsleistungen, sogenannte Hyperakkumulatoren, zum Einsatz. Die Pflanzen nehmen dabei den löslichen und damit mobilen Anteil von Schwermetallen im Boden auf. Nach Akkumulation der Schwermetalle in den Pflanzen werden diese geerntet, und die kontaminierte pflanzliche Biomasse muss dann entsorgt werden (zum Beispiel durch thermische Verfahren). Die Pflanzen sollten einschließlich ihrer Wurzeln geerntet werden, weil sich Schwermetalle nach der Aufnahme insbesondere im Wurzelgewebe anreichern. Auch bei guten Anreicherungsfaktoren ist mit teilweise extrem langen Sanierungszeiten zu rechnen.

Bei der Aufnahme organischer Schadstoffe durch Pflanzen kann es zu einer **Phytodegradation** oder **Phytotransformation** kommen, also einem Abbau der Verbindungen im Pflanzengewebe.

Prinzipiell kann es bei der Behandlung leichtflüchtiger Schadstoffe im Boden auch zu einer **Phytovolatilisierung** kommen, das heißt die Schadstoffe gelangen in die Pflanze und werden möglicherweise nach einer Transformation über Transpirationsprozesse in die Atmosphäre emittiert (◘ Tab. 16.3).

Der Abbau organischer Schadstoffe in der Rhizosphäre, dem Wurzelbereich der Pflanze, ist eine weitere Möglichkeit von Phytoremediationsverfahren (**Rhizosphären-Degradation).** Die Abbauprozesse werden entweder durch



◘ **Abb. 16.4** Schematische Darstellung von Phytoremediationsverfahren. **a** Phytoextraktion, **b** Phytodegradation und **c** Rhizosphären-Degradation

Tab. 16.3 Phytoremediations-Varianten mit den verwendeten Pflanzen nach (► www.gwrtac.org/pdf/phyto_e_2002.pdf)

Anwendung	Kontaminationen	Typische Pflanzen
Phytoextraktion	Metalle: Pb, Cd, Zn, Ni, Cu	Senf *(Brassica juncea)* Sonnenblume (*Helianthus* spp.) *Thlaspi carulescens*[a]
Phytotransformation	Chlorierte Aliphaten: TCE MTBE Munitionsabfälle: TNT, RDX, HMX Herbizide	Pappel, Weide Gräser (Roggen, Schwingel, Bermudagras, Hirse, Riedgras) Leguminosen (Klee, Luzerne, Bohne)
Phytovolatilisierung	Metalle: Se, As, Hg VOCs	Senf *(Brassica juncea)* Grundwasserabhängige Bäume
Rhizosphären-Degradation	Abbaubare Organika: BTEX, TPH, PAKs Pestizide	Gräser mit faserigen Wurzeln (Bermudagras Weizen, Schwingel, Roggen) Freisetzer von Phenolen (Maulbeerbaum, Apfel, Organge) Grundwasserabhängige Bäume
Phytostabilisierung	Metalle: Pb, Cd, Zn, As, Cu, Cr, Se, U Hydrophobe Organika	Gräser mit faserigen Wurzeln für die Kontrolle der Erosion

[a]kleinwüchsig, wenig Biomasse
RDX (Cyclo-1,3,5-trimethylen-2,4,6-trinitramin), HMX (1,3,5,7-Tetranitro-1,3,5,7-tetraazocyclooctan), TPH (total petroleum hydrocarbons)

die in den Wurzelexsudaten vorhandenen Enzyme (zum Beispiel Peroxidasen), durch die zusätzlichen Kohlenstoffquellen oder durch vergesellschaftete Rhizosphärenorganismen (Bodenbakterien, Bodenpilze, Mykorrhiza-Pilze) bewirkt. Wurzelbereiche zeichnen sich durch wesentlich höhere mikrobielle Aktivitäten als der wurzelfreie Boden aus. Die Funktion der Pflanze ist dabei die Bereitstellung der Wurzelstruktur und der Versorgung der Bodenorganismen mit Sauerstoff und Nährstoffen durch die Wurzelexsudate.

Bepflanzungen tragen darüber hinaus auch zur Verminderung der Schadstoffausbreitung bei **(Phytostabilisierung).** Durch die Reduzierung der Sickerwasserbildung mittels Transpiration der Pflanzen wird dem unkontrollierten Auswaschen von Schadstoffen (Leaching) entgegengewirkt. Der Bewuchs vermindert auch die Erosion der Böden.

16.2.2.2 Infiltrationsverfahren („*pump and treat*"-Technologie)

Bei den Infiltrationsverfahren werden Additive über Verrieselung, Lanzen und Brunnen in die tieferen Bodenzonen infiltriert, die geeignet sind, den biologischen Abbau zu stimulieren beziehungsweise limitierende Bedingungen für einen Schadstoffabbau im Untergrund aufzuheben. Dazu können folgende Additive zum Einsatz kommen:

- Zu den wichtigsten **Nährstoffen** im Boden gehören Stickstoff- und Phosphorverbindungen, die dem kontaminierten Bodenbereich bei entsprechenden Mangelbedingungen zugeführt werden, um das mikrobielle Wachstum anzuregen.
- **Co-Substrate** werden zugegeben, um einen cometabolischen Fremdstoffabbau zu initiieren. So ist bekannt, dass der Schadstoff Trichlorethen (TRI) unter

aeroben Bedingungen nur bei Anwesenheit spezifischer Kohlenstoffquellen abgebaut wird.

- Als **Elektronenakzeptoren** werden gelöster Sauerstoff (O_2) oder seine Vorstufen Wasserstoffperoxid (H_2O_2) und Ozon (O_3) infiltriert. Weiterhin werden in jüngster Zeit sogenannte Oxygen Release Compounds beziehungsweise Oxygen Releasing Materials wie Magnesiumperoxid eingesetzt, die durch Zerfall zu einer Freisetzung von Sauerstoff führen. Molekularer Sauerstoff ist auch Substrat für Oxygenasen, wichtigen Reaktionen im aeroben Abbau vieler Kohlenwasserstoffe. Neben Verbindungen, die zu einer Freisetzung von Sauerstoff führen, kommen auch andere Elektronenakzeptoren wie Nitrate (Kalium- und Ammoniumnitrat [KNO_3, NH_4NO_3]) zum Einsatz.
- Eine Modifizierung der Milieubedingungen kann auch durch Zuführung von **Elektronendonoren** erreicht werden. Dabei handelt es sich um leicht verwertbare Substrate, die eine Sauerstoffzehrung bewirken oder Wasserstoff (in Form von sogenannten Reduktionsäqivalenten) freisetzen. Schadstoffe wie höher chlorierte Kohlenwasserstoffe, die nur unter anaeroben Bedingungen oder einer Abfolge aus anaeroben und aeroben Bedingungen abbaubar sind, lassen sich auf diese Weise umsetzen.
- **Puffersubstanzen** (Säuren, Laugen) können zur pH-Regulierung eingesetzt werden.
- **Detergenzien** dienen der Erhöhung der Bioverfügbarkeit.
- Um einen Schadstoffabbau im Untergrund zu erreichen oder zu beschleunigen, können auch **Mikroorganismen** zugesetzt werden.

Beim Zusatz von Additiven für *in situ*-Verfahren ist generell zu berücksichtigen, dass neben den dargestellten Wirkungen **unerwünschte Nebeneffekte** auftreten können. So kann der Eintrag von Sauerstoffverbindungen zu einer Oxidation und Ausfällung von Eisen-, Mangan- und anderen Metallverbindungen im Untergrund führen, was zu technischen Problemen führen kann (Verockerung von Sanierungsbrunnen). Bei dem Einsatz von Nitrat als Additiv für *in situ*-Verfahren besteht die Gefahr einer Grundwasserverunreinigung. Ebenso sollten Nährstoffe, Elektronendonoren und Detergenzien generell sorgfältig dosiert werden, um zusätzliche Belastungen des Grundwassers zu vermeiden. Übermäßiges Bakterienwachstum durch Nährstoffzugaben kann zur Verstopfung der Porenräume führen („Bioclogging"). Bei der Zugabe von Mikroorganismen ist eine gleichmäßige Verbreitung wegen deren Tendenz zur Sorption an Oberflächen und zur Biofilmbildung innerhalb des Kontaminationskörpers häufig nicht erreichbar. Zudem befinden sich zugesetzte Mikroorganismen in Konkurrenz zur autochthonen Mikroflora.

Bei Infiltrationsverfahren wird das benötigte Wasser zuvor aus dem Aquifer entnommen. Es kann je nach Lage der Kontamination wenig bis stark verunreinigt sein, kann und muss normalerweise vor der Infiltration einer **Wasserreinigung** am Ort unterzogen werden. Abbauprozesse finden also zum einen im Boden oder Aquifer selbst statt, zum anderen aber auch in Wasserreinigungsanlagen am Standort. Welcher Effekt überwiegt, kann je nach Art und Lage der Kontamination relativ zum Grundwasserspiegel verschieden sein. Solange Infiltrationsverfahren als alleinige Sanierungsverfahren angewendet werden, ergeben sich häufig relativ lange Sanierungszeiten.

Für die *in situ*-Sanierung durch **Infiltration der wasserungesättigten Bodenzone** wird aus dem Aquifer entnommenes, gegebenenfalls gereinigtes Wasser mit Additiven versetzt und in die ungesättigte Bodenzone infiltriert (◘ Abb. 16.5a). Die Infiltration erfolgt – je nach Ausdehnung der Kontamination – entweder über einzelne oder über ein Leitungssystem verbundene Filterrohre beziehungsweise Brunnen. Durch tiefenverstellbare Einsatzrohre lässt sich der

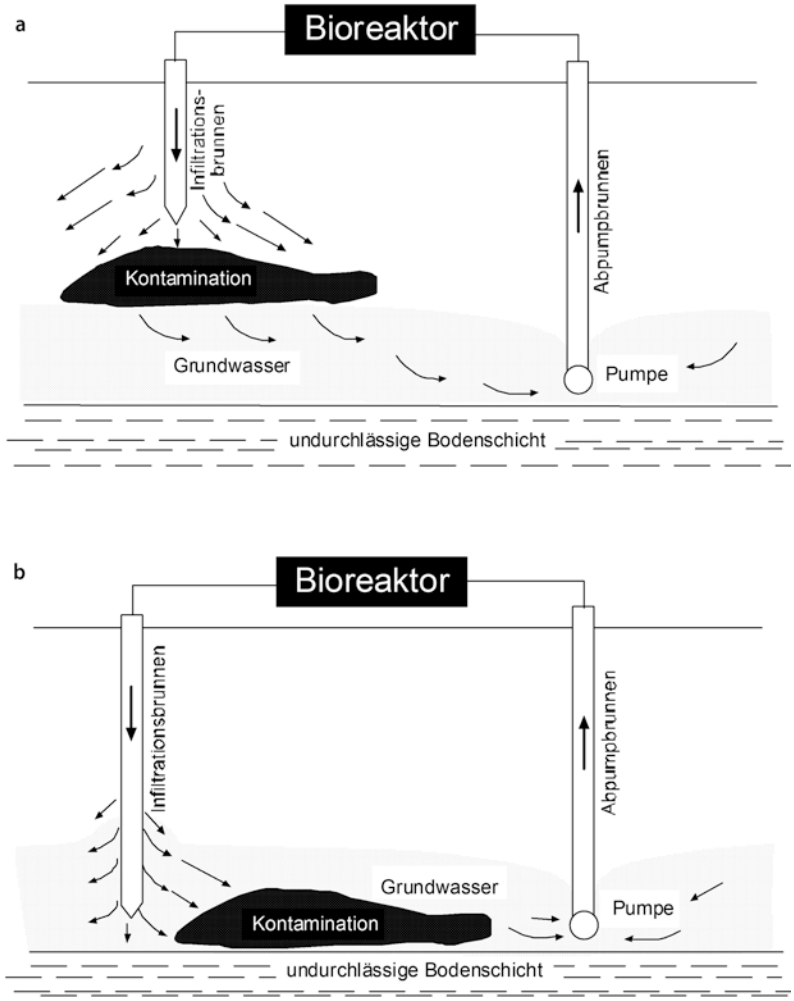


Abb. 16.5 Schematische Darstellung von Infiltrationsverfahren für die **a** ungesättigte und **b** gesättigte Bodenzone

16

Kontaminationskörper abschnittsweise mit Additiven versorgen, wodurch unterschiedlich kontaminierte Tiefenbereiche gezielter angegangen werden können. Entscheidend für den Erfolg von Infiltrationsverfahren ist eine möglichst homogene Verteilung der Additive, weil andernfalls nur eine partielle Behandlung des Kontaminationskörpers erreicht wird. Generell ist anzumerken, dass Additive, die ausschließlich über Infiltration in die wasserungesättigte Bodenzone eingebracht werden, nur einen relativ kleinen Wirkungsbereich (eingeschränkter Stofftransport, Sorptionsprozesse) haben, sodass eine hohe Dichte an Infiltrationsbrunnen erforderlich werden kann. Deshalb ist die Infiltration der ungesättigten Bodenzone als alleiniges Sanierungsverfahren in der Praxis wenig verbreitet. Dadurch, dass die Infiltration und Wasserentnahme in verschiedenen Bodenschichten stattfinden, entsteht kein geschlossener Kreislauf. Es ist deshalb darauf zu achten, die Menge des Infiltrationsmediums zu begrenzen, um eine

infiltrationsbedingte Ausbreitung der Kontamination durch Sickervorgänge zu vermeiden.

Für die *in situ*-Sanierung durch **Infiltration der wassergesättigten Bodenzone** erfolgt eine Kreislaufführung des Infiltrationsmediums (◘ Abb. 16.5b). Dazu wird kontaminiertes Wasser entnommen, *on site* behandelt (zum Beispiel mit einer biologischen Reinigungsstufe) und in den Untergrund so reinfiltriert, dass es den kontaminierten Bereich erneut durchströmen kann. Hier findet in der Regel ein erheblicher Teil des Abbaus in den Wasserreinigungsanlagen statt. Bei der Infiltration können jedoch wieder Additive zugesetzt werden, die den biologischen Abbau auch im Kontaminationskörper induzieren. Je nach Anordnung der Infiltrations- und Entnahmeeinheiten können unterschiedliche Spülsysteme im Untergrund erzeugt werden (horizontale Spülung, vertikale Spülung), wobei nicht nur die gesättigte, sondern auch die ungesättigte Bodenzone durchspült und gereinigt werden kann. Um bei Spülverfahren einen Abstrom verunreinigten Wassers zu vermeiden, ist aus Sicherheitsgründen im Allgemeinen die Entnahmemenge im Sanierungsbereich deutlich größer als die Infiltrationsmenge, die den belasteten Bereich durchströmt. Das gereinigte Überschusswasser (Abschlagswasser) kann unter Einhaltung der Einleitbestimmungen außerhalb des Sanierungsbereiches in den Aquifer zurückgeführt oder in einen Fluss eingeleitet werden. Als weitere Schutzmaßnahme lässt sich zur dauerhaften Abgrenzung der kontaminierten Zone vom unbelasteten Grundwasserleiter eine Schutzinfiltration vornehmen. Hierzu wird Grundwasser aus anderen Grundwasserbereichen beziehungsweise – stockwerken verwendet. Infiltrationsverfahren für die gesättigte Bodenzone werden bei Kontaminationen mit MKW und BTEX, vereinzelt auch bei PAK (soweit diese wasserlöslich sind) und LCKW eingesetzt.

16.2.2.3 Belüftungsverfahren

Zur Anwendung kommen Verfahren, die zu einer direkten oder indirekten Belüftung des Bodens und zur **Reduktion einer bestehenden Sauerstofflimitation** führen. Die Techniken, die zur Belüftung des Untergrundes verwendet werden, leiten sich von Verfahren ab, die auf ein **Strippen** flüchtiger Kontaminanten aus der Bodenluft und aus belastetem Grundwasser abzielen. Belüftungsmaßnahmen lassen sich sowohl kontinuierlich als auch diskontinuierlich durchführen. Auf diese Weise kommt es zu einer Induktion des aeroben Schadstoffabbaus.

Bei der **ungesättigten Bodenzone** wird im einfachsten Fall Druckluft in den Bodenkörper eingeblasen **(„Bioventing").** Dazu werden Belüftungslanzen oder -pegel installiert, die in den Kontaminationsbereich hineinragen (◘ Abb. 16.6a). Je nach Bodenstruktur und Anordnung der Pegel verteilt sich der mit der Luft eingebrachte Sauerstoff und führt zu einer Stimulierung des aeroben Schadstoffabbaus sowie zu einer Strippung des Schadstoffes. Indirekt wird eine Belüftung des Bodens auch bei der seit langem bekannten **Bodenluftabsaugung** erreicht. Durch die Absaugung wird eine Bodenluftströmung induziert, die zu einer Versorgung des kontaminierten Bereiches mit Umgebungsluft führt. Bei der Kombination beider Verfahren kann zum einen eine Freisetzung von gestrippten, flüchtigen Schadstoffen vermieden und zum anderen eine gut kontrollierbare Sauerstoffversorgung erzielt werden.

Bei der **gesättigten Bodenzone** kommen Verfahren zur Anwendung, bei denen Druckluft in den gesättigten Bereich eingeblasen wird. Dazu werden Brunnen installiert und in geeigneter Weise verfiltert, sodass die Pressluft den Kontaminationskörper über kegelförmig ausgebildete Belüftungszonen möglichst vollständig erreicht (◘ Abb. 16.6b). Das hat auch hier zwei wesentliche Effekte: Zum einen wird eine **Schadstoffdesorption** und **-strippung** durch die Luftströmung im Aquifer erreicht, zum anderen wird ein biologischer Abbau der Schadstoffe über die Sauerstoffversorgung induziert **(„Biosparging").** Diese als Air-Sparging bezeichneten Verfahren werden in der Regel in Kombination mit einer Bodenluftabsaugung der ungesättigten Bodenzone

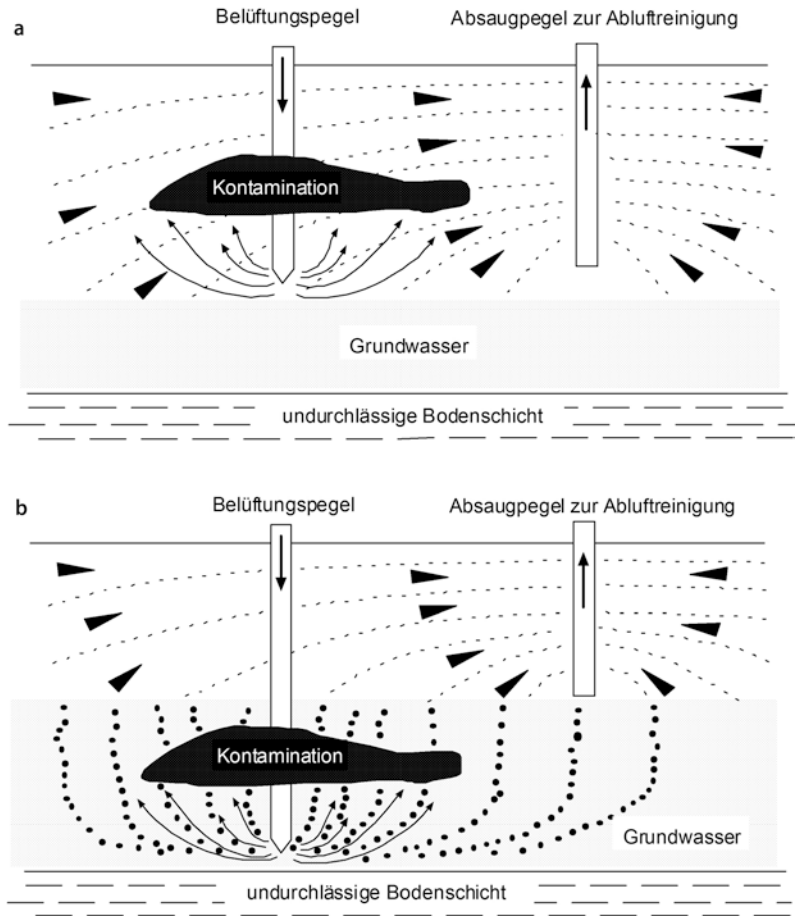


Abb. 16.6 Schematische Darstellung von Belüftungsverfahren für die **a** ungesättigte und **b** gesättigte Bodenzone

eingesetzt. Auf diese Weise können Kontaminationen, die sich über die gesättigte und ungesättigte Bodenzone erstrecken, behandelt werden, und durch eine kontrollierte Luftströmung in der ungesättigten Bodenzone kann eine Schadstoffverfrachtung in Umgebungsbereiche vermieden werden. Der Erfolg von Belüftungsmaßnahmen hängt wesentlich von den Untergrundeigenschaften ab, insbesondere der Dichte und Gasdurchlässigkeit (ausgedrückt als Durchlässigkeitskoeffizient) des Bodens. Prinzipiell kann der Eintrag von Druckluft in kontaminierte Grundwasserbereiche zur Verdriftung von Schadstoffen in unbelastete Zonen des Aquifers führen. Bei einem Eintrag von Sauerstoff in den Aquifer ist weiterhin zu beachten, dass es zu Ausfällungen in Form von Eisen- und Manganoxiden kommen kann. Wichtige Fragen sind auch, wie schnell sich die Luftblasen auflösen und inwiefern sie einen Aquifer verstopfen können.

Direkte Belüftungsverfahren finden derzeit **Anwendung** bei Kontaminationen mit MKW (deutlich unterhalb der Sättigungsgrenze), BTEX und in Einzelfällen auch niedrigkondensierten PAK. Für LCKW, selbst bei nicht vollständigem Chlorierungsgrad, wie zum Beispiel Trichlorethen, sind diese Verfahren weniger geeignet, da der aerobe Abbau langsamer als der bei MKW oder BTEX und deshalb eher eine Strippung als ein

quantitativer biologischer Abbau zu erwarten ist. Verbreitet ist eine Kombination dieser Verfahren mit Maßnahmen zur Bodenluftabsaugung der ungesättigten Bodenzone.

In der Sanierungspraxis werden auch **Kombinationen aus Belüftungs- und Infiltrationsverfahren** eingesetzt. So können beispielsweise Belüftungsverfahren (Bioventing, Air Sparging) mit der Applikation von Nährstoffen kombiniert werden, wobei die installierten Druckluftlanzen sowohl zur Belüftung als auch zur Nährstoffinfiltration genutzt werden können, sodass keine Zusatzeinbauten notwendig sind. Darüber hinaus wird die Ausbreitung der Additive im Untergrund durch den Belüftungsprozess gefördert.

? Testen Sie Ihr Wissen

Welches Verhältnis der Nährstoffgehalte (C:N:P) ist ausgewogen, um aerobes Wachstum von Mikroorganismen zu gewährleisten?

An welcher Liste orientiert man sich bezüglich Referenz- und Interventionswerten bei der Reinigung von Böden und Grundwasser?

Nennen Sie Gründe (Eigenschaften der Chemikalien, Typen von Schadstoffen, Bodentypen, Nährstoffe) für einen unterbliebenen beziehungsweise langsamen mikrobiellen Abbau einer Kontamination.

Was beinhaltet „Natural Attenuation" und seine Modifikationsformen?

Unterscheiden Sie *in situ, ex situ, on site, off site* Verfahren.

Bioaugmentation, Biostimulation: Was besagen diese Begriffe?

Sagen Sie etwas zur Bioverfügbarkeit von PAKs im Boden.

Welche Vor- und Nachteile hat die Nutzung eines Slurry-Reaktors bei der Bodenreinigung?

Wozu dient O_2 bei der Reinigung von PAK-kontaminierten Böden? Kann NO_3^- die Funktion übernehmen? Was besagt Biosparging?

Was versteht man unter Bodenluftabsaugung? Für welche Kontaminationen ist sie geeignet?

Weiterführende Literatur

Alef, K. 1994. Biologische Bodensanierung. VCH, Weinheim.

Alvarez, P. J., Illman, W. A. 2005. Bioremediation and Natural Attenuation. Process Fundamentals and Mathematical Models. John Wiley & Sons, Ltd.

Crawford, R. L., Lynch, J., Crawford, D. L. 2005. Bioremediation: Principles and Applications. Cambridge Univ. Press.

Heiden, S., Veen, M. 1999. Innovative Techniken der Bodensanierung. Ein Beitrag zur Nachhaltigkeit. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg.

Hoffmann, J., Viedt, H.1998. Biologische Bodenreinigung. Ein Leitfaden für die Praxis. Springer, Berlin.

LFU Baden Württemberg. 1991. Handbuch Mikrobiologische Bodenreinigung. Bearb.: Geller, A., Brauch, W., Landesanstalt für Umweltschutz Baden-Württemberg, Karlsruhe. Materialien zur Altlastenbearbeitung 7.

Margesin, R., Schneider, M., Schinner, F. 1995. Praxis der mikrobiologischen Bodensanierung. Springer, Berlin.

Michels, J., Track, T., Gehrke, U., Sell, D. 2001. Leitfaden – Biologische Verfahren zur Bodensanierung, Umweltbundesamt (Hrsg.) im Auftrag des BMBF, Berlin. erreichbar unter: ► http://www.ufz.de/spb/biorem/leitfaden/Inhalt.pdf.

Norris, R. D., Hinchee, R. E., Brown, R. A., McCarty, P .L., Semprini, L., Wilson, J. T., Kampbell, D. H., Reinhard, M., Bower, E. J., Borden, R. C. 1994. Handbook of Bioremediation. CRC Press, Boca Raton, FL.

Philp, J. C., Atlas, R. M., Cunningham, C. J. 2001. Bioremediation. ENCYCLOPEDIA OF LIFE SCIENCES. John Wiley & Sons, Ltd. ► www.els.net.

Singh, S. N., Tripathi, R. D. 2006. Environmental Bioremediation Technologies. Springer, Berlin.

Wiedemeyer, T. H., Rifai, H. S., Newell, C. J., Wilson, J. T. 1999. Natural attenuation of fuels and chlorinated solvents in the subsurface. John Wiley & Sons, Ltd.

Bioremediation Journal. Taylor & Francis, **Philadelphia.**

EPA zur Bodensanierung: ► http://www.frtr.gov/matrix2/top_page.html.

Phytoremediations-Varianten: ► www.gwrtac.org/pdf/phyto_e_2002.pdf.

Referenz- und Interventionswerte für Boden- und Grundwasserverunreinigungen zum Schutz des Menschen und der Ökosysteme Altlasten Spektrum, 3/95, 165–166. ► http://www.umweltbundesamt.de/altlast/web1/berichte/mooreeng/dmeng13.htm.

Biologische Abfallbehandlung

17.1 Abfall-Problematik – 568

17.2 Verfahren der biologischen Abfallverwertung – 571

17.2.1 Der Kompostierungsprozess – 571

17.2.2 Kompostierungsverfahren – 573

17.2.3 Anaerobe Abfallbehandlung durch Vergärung – 574

Literatur – 575

© Springer-Verlag GmbH Deutschland, ein Teil von Springer Nature 2020
W. Reineke und M. Schlömann, *Umweltmikrobiologie,* https://doi.org/10.1007/978-3-662-59655-5_17

17.1 Abfall-Problematik

Ein großes Umweltproblem stellen Haus-, Gewerbe- und Sondermüll dar. Das hohe Müllaufkommen und der begrenzte Deponieraum haben in den letzten Jahren zu gesetzlichen Grundlagen der **Kreislauf- und Abfallwirtschaft** geführt. Abfallvermeidung hat als oberstes Ziel Einzug in die Gesetze gehalten. Die Verwertungserfolge sind unterschiedlich und teilweise noch gering. Hohe Recyclingpotenziale liegen in häuslichen Abfällen, die zu einem hohen Anteil aus kompostierbaren organischen Abfall und wiederverwertbaren Verpackungsmaterialien bestehen (◘ Tab. 17.1).

Neben der Reduzierung der zu entsorgenden Müllmenge durch Verwertungs- oder Vermeidungsmaßnahmen muss das gleichrangige Ziel der Abfallwirtschaft eine Verringerung von Schadstoffen im Abfall sein, um Emissionen aus den Behandlungsanlagen (Deponie, Müllverbrennung, Pyrolyse, Kompostierung) niedrig zu halten.

Die Produktions- und Warenströme der Gesellschaft spiegeln sich im **Aufkommen und der Zusammensetzung der Siedlungsabfälle** wider. In Deutschland fallen etwa 570 kg Haushaltsabfälle pro Einwohner und Jahr an. Der Anfall anderer Siedlungsabfälle wie kommunale Abfälle aus Grün- und Baumschnitt liegt bei 50 kg. Hinzu kommt der bei der Abwasserreinigung anfallende Klärschlamm. Summiert man diese Abfallmengen, so ergeben vorsichtige Schätzungen ein Müllaufkommen von etwa 630 kg pro Einwohner und Jahr, fast die Hälfte davon sind organische Stoffe.

Organische Abfälle besonderer Art sind die **Sonderabfälle** (zum Beispiel ölhaltige Abfälle, Lack- und Farbstoffe, halogenfreie und halogenhaltige Lösungsmittel). Sie müssen durch besondere Verfahren der Wiederverwertung, Detoxifizierung, Verbrennung oder Deponierung als Sondermüll entsorgt werden. Generell ist eine umweltgerechte Beseitigung unvermeidbarer Abfälle Ziel der Kreislauf- und Abfallwirtschaft.

Die energetische und stoffliche Abfallverwertung beinhaltet Verbrennung von Müll und die Kompostierung. Die thermische Verwertung (damit ist nicht die Müllverbrennung gemeint) macht nur einen geringen Anteil im 1 %-Bereich der Abfallverwertung aus. Im Auftrag des Bundesministeriums für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft wurde untersucht, ob höhere Potenziale in der Nutzung von biogenen Rest- und Abfallstoffen zur Wärme- und Stromproduktion liegen. ◘ Tab. 17.1 zeigt die 2016 in Deutschland ermittelten Daten zum Aufkommen und zur Verwertung von Siedlungsabfällen.

Die ◘ Abb. 17.1 zeigt das kommunale Abfallaufkommen in den Ländern der EU-28 im Jahr 2016. Eurostat zufolge waren die Dänen 2016 die Bürger, die mit 777 kg pro Person die meisten Siedlungsabfälle produzierten, während die Rumänen mit 261 kg am wenigsten Müll erzeugten. Auf Dänemark folgen Norwegen (mit 754 kg pro Person), die Schweiz (720 kg pro Person) und Island (656 kg pro Person). Auch Deutschland rangiert mit 626 kg Müll pro Kopf pro Jahr am oberen Ende der Skala und über dem europäischen Durchschnitt, während am anderen Ende der Liste drei osteuropäische Länder auftauchen: Polen produziert lediglich 307 kg pro Kopf, gefolgt von der Tschechischen Republik (339 kg Müll pro Person) und der Slowakei (348 kg Abfälle pro Person). Im Durchschnitt produzieren die Europäer 480 kg Abfälle, eine Menge, die von Griechen (497 kg pro Person), Italienern (495 kg pro Person) und Briten (495 kg pro Person) erreicht wird.

Insgesamt wurden 2016 in der EU 30 % der Abfälle recycelt, 27 % verbrannt, 25 % deponiert und 17 % kompostiert. Der Anteil der kommunalen Abfälle, die in der EU recycelt oder kompostiert werden, ist im Zeitraum von 17 % im Jahr 1995 auf 46 % im Jahr 2016 kontinuierlich gestiegen.

Tab. 17.1 Aufkommen und Verwertung von Siedlungsabfälle im Jahr 2016 in Deutschland (Statistisches Bundesamt, 2018)

Abfallaufkommen	Aufkommen gesamt (1000 t)	kg/Einwohner	Verwertungsquote in % gesamt
Siedlungsabfälle insgesamt	52.133	634	94
Haushaltstypische Siedlungsabfälle	46.605	567	95
Hausmüll, hausmüllähnliche Gewerbeabfälle gemeinsam über die öffentliche Müllabfuhr eingesammelt	14.631	178	85
Sperrmüll	2541	31	94
Kompostierbare Abfälle aus der Biotonne	4446	54	100
Biologisch abbaubare Garten- und Parkabfälle (einschließlich Friedhofsabfälle)	5925	72	100
Andere getrennt gesammelte Fraktionen	19.062	232	100
Glas	2629	32	100
Papier, Pappe, Kartonagen	7814	95	100
Gemischte Verpackungen/Wertstoffe	5844	71	100
Elektroaltgeräte	617	8	99
Sonstiges (Verbunde, Metalle, Textilien usw.)	2159	26	99
Summe andere Siedlungsabfälle	5528		92
Hausmüllähnliche Gewerbeabfälle, getrennt vom Hausmüllangeliefert oder eingesammelt	3320		99
Straßenkehricht/nicht abbaubare Garten- u. Parkabfälle	942		59
Biologisch abbaubare Küchen- und Kantinenabfälle	986		100
Marktabfälle	70		91
Leuchtstoffröhren und andere quecksilberhaltige Abfälle	11		96
Andere getrennt gesammelte Fraktionen	217		86

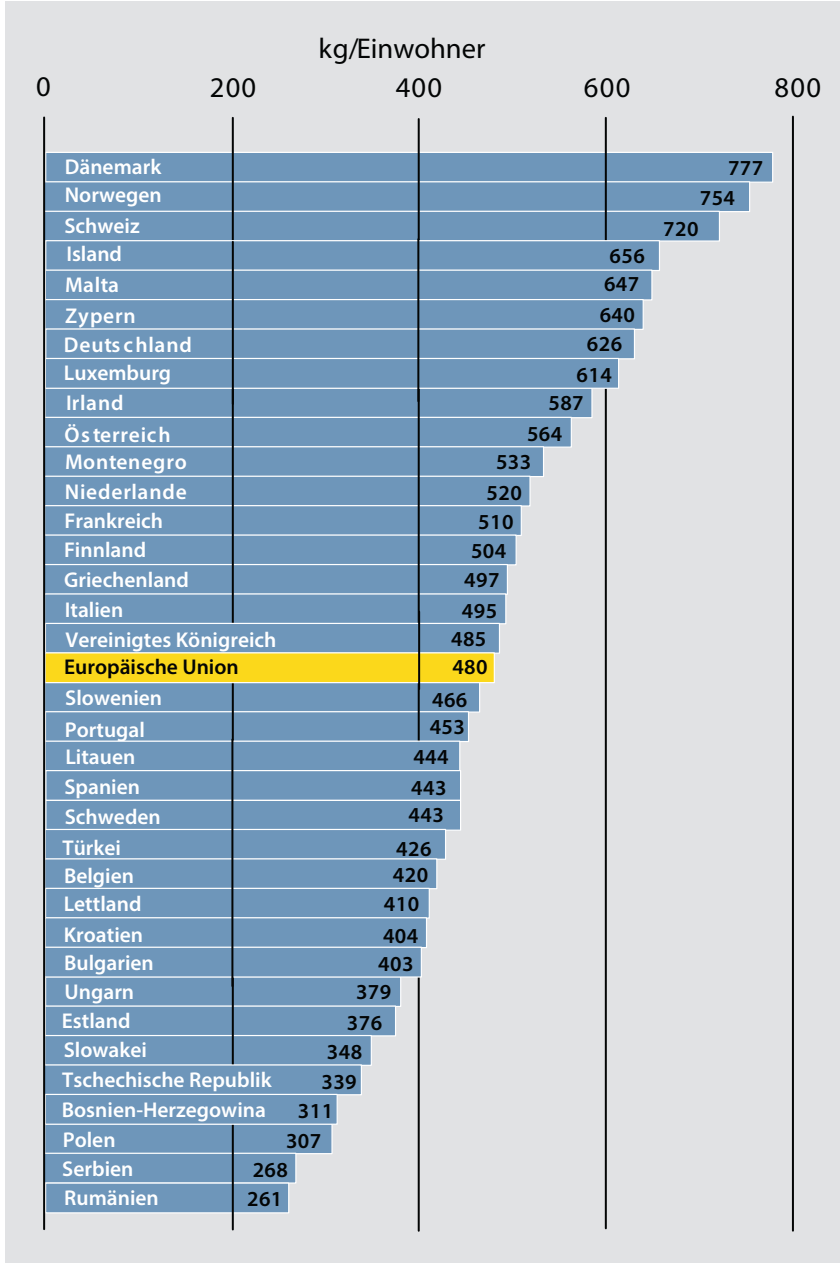


Abb. 17.1 Abfall in kg pro Einwohner in Europa 2016. Die Eurostat-Daten beziehen sich auf die Angaben von den europäischen Stadtverwaltungen und die von ihnen gesammelte Müllmenge. Sie beinhaltet hauptsächlich Abfälle, die aus privaten Haushalten stammen, aber auch aus Geschäften, Büros und öffentlichen Einrichtungen. Die Angaben zu Siedlungsabfällen innerhalb EU-Mitgliedstaaten sind unterschiedlich. Sie können einige Abweichungen in den Daten erklären

17.2 Verfahren der biologischen Abfallverwertung

Die **Kompostierung** wird in der Abfallwirtschaft als „kaltes Verfahren" bezeichnet. Sie ist eine sinnvolle Abfallverwertung mit einer geringen Umweltbelastung. Hierzu ist jedoch erforderlich, dass die Schadstoffe im Müll, vor allem die Schwermetalle, im Ausgangsprodukt deutlich reduziert werden. Hiermit steht oder fällt die Kompostierung von Siedlungsabfällen. Eine gute Vorsortierung des Hausmülls ist eine Voraussetzung für eine problemlose Verwertung, da Kompost kein Glas, Metall, Plastik oder Haushaltschemikalien enthalten darf.

Die Kompostierung (Verrottung) ist eine uralte Methode zur Umwandlung von organischen Reststoffen. Kompostierbar ist ein Teil des Hausmülls, Klärschlamm und ein Großteil aller organischen Stoffe wie Laub, Holz, Garten- und landwirtschaftliche Abfälle. Der fertige Kompost ist dann ein humusähnliches, pflanzenverträgliches Bodenverbesserungsmittel.

Die Kompostierung wird in großtechnischem Maßstab zur Verwertung kommunaler Abfälle durchgeführt werden. Durch Kompostierungsanlagen wird die Rotte gezielt gesteuert.

Organische Abfälle lassen sich von ihrer Struktur her einem aeroben oder anaeroben Verfahren zuordnen:

- Strukturreiche und damit meist gut durchlüftbare Abfälle sind besonders für die Kompostierung geeignet (zum Beispiel Pflanzenreste, Rinde).
- Flüssige Abfälle und solche mit hohem Wassergehalt und/oder schwacher Struktur (zum Beispiel Abfälle aus der Massentierhaltung) eignen sich eher für die anaerobe Behandlung (Biogasgewinnung).

17.2.1 Der Kompostierungsprozess

Die **Kompostierung oder Rotte** erfolgt unter aeroben Bedingungen. Die Komponenten der Biomasse gehen dabei in zwei mikrobielle Prozesse ein, in die Mineralisierung und die Humifizierung.

Da der Temperaturverlauf in der Miete parallel zur Intensität der Ab-, Um- und Aufbauprozesse und der Hygienisierung verläuft, ist die Temperaturentwicklung besonders geeignet zur Charakterisierung des Kompostierungsverlaufes. Anhand des Temperaturverlaufes kann der Ablauf der Kompostierung in vier Phasen untergliedert werden:

- **Anfangs-** oder **Initialphase** (Anpassung und Aufbau der Mikroflora),
- **thermophile Phase** (Zeitraum der intensivsten Umsetzung mit maximalem Wärmestau),
- **mesophile Phase** (Periode abnehmender Ablaufprozesse mit geringem Wärmestau) und
- **Abkühlungs-** oder **Reifephase** (Zeit geringer Umsatzaktivitäten, Beginn der Humifizierungsprozesse).

Der **Kompostierungsverlauf** ist stark schematisiert in ◘ Abb. 17.2 dargestellt. Die leicht und mäßig abbaubaren Bestandteile der Biomasse werden assimiliert und zu CO_2 und Wasser oxidiert, während das schwer abbaubare Lignin nach teilweisem Abbau in Huminstoffe transformiert wird. In diesen Humifizierungsprozess werden auch Abbauprodukte der Proteine, Kohlenhydrate und Lipide sowie Sekundärmetabolite der Mikroorganismen einbezogen.

An der Rotte ist eine **Sukzession** von Mikroorganismen beteiligt. Man benennt die Stufen der Kompostierung allgemein wie folgt:

- **Vorrotte:** Die im Biomüll vorkommenden Bakterien vermehren sich stark (etwa 10^{10} Keime/g Trockengewicht). Die leicht abbaubaren Komponenten werden assimiliert und mineralisiert, die organische Substanz nimmt etwa um die Hälfte ab. Die hohen Stoffwechselaktivitäten führen zur Erwärmung, die mesophile Phase (20–40 °C) geht in die thermophile Phase (40–75 °C) über. Ist die Luftzufuhr unzureichend, so kommt es in dieser Phase zu Gärungen, bei denen auch

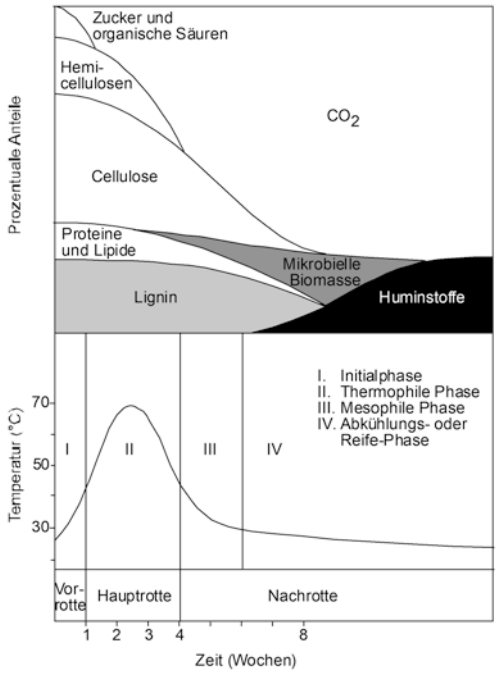


Abb. 17.2 Ablauf des Kompostierungsprozesses. Die Komponenten der Biomasse werden je nach Abbaubarkeit verschieden schnell mikrobiell mineralisiert und assimiliert. Der schwer abbaubare Ligninanteil wird zu Aromaten depolymerisiert und zusammen mit anderen Abbauprodukten in Huminstoffe transformiert. Die Dauer der einzelnen Phasen ist stark von der Art der Kompostierungsverfahren abhängig

unangenehm riechende Gärungsprodukte freigesetzt werden. Die bei Gärungen entstehenden Säuren hemmen außerdem den weiteren Kompostierungsprozess.

- **Hauptrotte:** Die Temperaturerhöhung auf 40–75 °C führt zur bevorzugten Entwicklung von thermophilen aeroben Bacillus-Arten. Bei 75 °C herrscht *Bacillus stearothermophilus* vor. Die Bacillen zeichnen sich durch die Fähigkeit aus, extrazelluläre Enzyme zu bilden, die Proteine, Hemicellulosen und Cellulose depolymerisieren. In dieser thermophilen Phase geht die Gesamtkeimzahl auf etwa 10^8–10^9 Keime/g Trockengewicht zurück. Viele gramnegative Bakterien werden abgetötet. Da zu dieser Gruppe auch potenziell pathogene Arten gehören, ist der Prozess mit der **Hygienisierung** des Kompostierungsmaterials verbunden. Ebenfalls werden bei dieser hohen Temperatur zum großen Teil Samen inaktiviert.
- **Nachrotte:** Nach dem Verbrauch der schnell verwertbaren Substrate geht die Stoffwechselaktivität und damit die exotherme Selbsterwärmung zurück. In der Sukzession nehmen mesophile Mikroorganismen zu, vor allem Actinomyceten und Pilze. Die Actinomyceten sind vor allem durch *Streptomyces*-Arten vertreten, deren Sporenmassen makroskopisch als mehliger Überzug auf dem Substrat sichtbar sind. Bei den Pilzen handelt es sich vorwiegend um *Aspergillus-, Geotrichum-, Mucor- und Penicillium*-Arten, daneben treten auch Basidiomyceten auf. Diese Mikroorganismengruppen bauen durch extrazelluläre Enzyme Lignocellulose ab. Beim Abbau fallen aromatische Verbindungen an, die in Radikale überführt werden (Radikal-Phase). Sie sind die primären Ausgangsstoffe für die **Humifizierung** (ist im ► Abschn. 4.4.4.6 detailliert dargestellt).

Die bei der Humifizierung gebildeten hochmolekularen stabilen Huminstoffe geben dem Kompost und dem Humus des Bodens die braune bis schwarze Farbe. Bei den Huminstoffen handelt es sich um amorphe, organische Kolloide (<2 µm) mit großer spezifischer Oberfläche und der Fähigkeit, Wassermoleküle und Ionen reversibel anzulagern. Huminstoffe sind aufgrund ihres guten Wasserhalte- und Adsorptionsvermögens insbesondere für die Wasserbindung, Gefügebindung und Nährsalzadsorption des Bodens von Bedeutung. Gegenüber den Tonmineralen haben sie ein höheres Wasserhalte- und Adsorptionsvermögen und außerdem eine höhere Kationenaustauschkapazität. Wegen ihrer dunklen Farbe beeinflussen sie auch den Wärmehaushalt des Bodens positiv. Häufig gehen sie mit anorganischen Tonmineralen sehr stabile Verbindungen ein

(= Ton-Humus-Komplexe) und verleihen dem Humus damit eine hohe Gefügestabilität. Sie sind für die Bodenfruchtbarkeit von Wichtigkeit.

Ein fertiger, stabiler Kompost sollte die folgenden mikrobiellen Populationsdichten in CFU/g Trockengewicht besitzen:

10^8–10^{10} heterotrophe Aerobier, das Verhältnis zwischen Aerobiern und Anaerobiern sollte 10:1 betragen, 10^3–10^4 Hefen und Pilze, 10^3–10^6 Pseudomonaden und 10^3–10^6 freilebende Stickstofffixierer (Compost Microbial Guidelines).

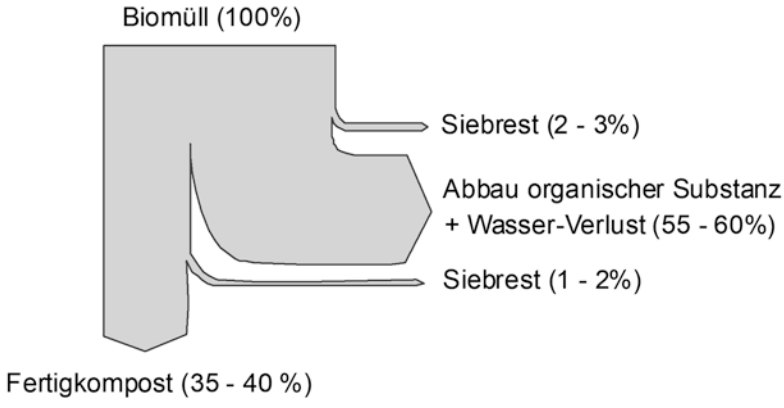
17.2.2 Kompostierungsverfahren

Das Ziel aller Verfahren ist die Gewährleistung einer ausreichenden **Belüftung** und die **Beschleunigung** des aeroben Verrottungsprozesses. Die in ◘ Abb. 17.3 dargestellten Zeiten beziehen sich auf die klassische Kompostmiete. Vielfach kommt es darauf an, die Prozesse zu intensivieren, um Raum und Zeit zu sparen (Intensivrotte). Um eine Geruchsbelästigung zu vermeiden, wendet man geschlossene Systeme an (Zelte, Reaktoren). Die Abluft wird durch Luftfilter gereinigt.

Die Kompostierungsprozesse sollen unter dem Aspekt zunehmender Intensivierung, die zugleich mit zunehmendem lnvestitionsaufwand verbunden ist, skizziert werden. Vor der eigentlichen Kompostierung liegen **mechanische Aufbereitungsschritte,** bei denen das Ausgangsmaterial sortiert, gesiebt und zerkleinert wird. Die mechanische Zerkleinerung erhöht die Angriffsflächen für Mikroorganismen. Eine weitere Zerkleinerung erfolgt durch die Bodentiere. Der Wassergehalt soll etwa 50 % betragen, zu feuchtes Material (zum Beispiel Klärschlamm) wird in einigen Anlagen mit trockeneren Stoffen, zum Beispiel Holzschnitt, vermischt. ◘ Abb. 17.3 zeigt exemplarisch die zu erwartenden Massenströme bei der Kompostierung von Bioabfall.

Das einfachste Verfahren sind **offene Mieten** in Form von Dreiecks- oder Tafelmieten, die nach unten eine Bodenabdichtung aufweisen sollen. Die Belüftung und Durchmischung erfolgt durch Umsatzgeräte, seltener durch sogenannte Zwangsdurchströmung mittels Belüftungsrohren. Die Durchmischung und Belüftung ist in der Vor- und Hauptrotte besonders wichtig, um die Ausbildung anaerober Zonen und die Austrocknung zu verhindern. Durch Überdachung und Einhausung wird der Einfluss klimatischer Faktoren vermindert.

Intensivverfahren werden in Reaktoren durchgeführt. Hierbei unterscheidet man statische und dynamische Verfahren. Statische



◘ **Abb. 17.3** Massenströme bei der Kompostierung von Bioabfällen

Verfahren werden in **geschlossenen Containern,** Boxen oder Tunnelreaktoren durchgeführt, die eine Belüftung durch Lochböden ermöglichen. Ein dynamisches Verfahren ist die **Rottetrommel.** Hierbei handelt es sich um thermisch isolierte Drehrohre mit einem Durchmesser von etwa 3 m und einer Länge von 9 bis zu 50 m. Meist werden sie nur zur Homogenisierung des Rottegutes in der Vorrotte eingesetzt. In einem quasikontinuierlichen Betrieb wird durch die ständige Durchmischung eine optimale Prozessführung erreicht und die Vorrotte und ein Teil der Hauptrotte auf 1–2 Tage verkürzt. Das ausgetragene Material wird in der anschließenden Nachrotte statisch, zum Beispiel in Mieten, weiter kompostiert. Bei der Nachrotte spielen Pilze eine wesentliche Rolle, die eine ständige Bewegung nicht vertragen.

Das Produkt der Müllkompostierung, der **Kompost,** muss sorgfältig auf Schadstoffe, vor allem Schwermetalle, kontrolliert werden, bevor es zur Bodenverbesserung eingesetzt werden kann.

17.2.3 Anaerobe Abfallbehandlung durch Vergärung

Bei den **anaeroben Nassverfahren der Abfallvergärung** wird der grob zerkleinerte Biomüll in Wasser suspendiert, sodass ein Zweiphasensystem aus organischem Abfall und Wasser (etwa 30 % Abfalltrockensubstanz) resultiert. Eine alkalische Vorbehandlung zum besseren Stoffaufschluss wird erprobt. Mit dieser Suspension werden spezielle Biogasreaktoren beschickt, die diskontinuierlich oder halbkontinuierlich betrieben werden, die Verweilzeit liegt bei 15–20 Tagen. Die mikrobiellen Prozesse verlaufen entsprechend der in ► Abschn. 4.5 beschriebenen methanogenen Nahrungskette. Sowohl mesophile (32–38 °C) als auch thermophile (50–55 °C) Verfahren sind in der Entwicklung. Produkte des Verfahrens sind Biogas und der nicht vergärbare Biomasseanteil. Das Verfahren erfordert eine anschließende Entwässerung und aerobe Nachrotte. Im Grunde ersetzt das Gärverfahren die Vor- und einen Teil der Hauptrotte. Die anschließende Nachrotte dauert nur 4–8 Wochen, da durch die Gärungen die Biomasse stärker aufgeschlossen wird.

Die Notwendigkeit der Entwässerung entfällt bei der **Anaeroben Trockenfermentation** (ATF-Verfahren). Das Verfahren arbeitet ohne Zusatz von Wasser. Dadurch kann der Abwasseranfall wesentlich reduziert werden. Die Fermentation wird in stehenden oder liegenden Rohrreaktoren durchgeführt, die gasdichte Beschickungs- und Entleerungsstutzen für die feste Biomasse erfordern. Das Material verbleibt 15–25 Tage im anaeroben Reaktor und wird anschließend 4–6 Wochen aerob nachgerottet.

Vorteile der Vergärungsverfahren sind die Beschleunigung der Abfallbehandlung, die Verhinderung von Geruchsbelästigungen und die Gewinnung von Biogas.

? Testen Sie Ihr Wissen

Wie entsorgen Sie Sonderabfälle? Was zählt alles dazu?
Beschreiben Sie die Teilschritte bei der Kompostierung mit dem Temperaturverlauf. Sagen Sie etwas zu den beteiligten Mikroorganismen.
Was sind Huminstoffe (siehe auch ► Kap. 4)?
Möchten Sie in der Nähe einer Kompostanlage wohnen? Welche Probleme können dort auftreten?
Wieviel Müll produzieren Sie in etwa in einem Jahr?

Literatur

Bidlingmaier, W., Müsken, J. 1997. Biotechnologische Verfahren zur Behandlung fester Abfallstoffe. *In:* Umweltbiotechnologie. J. C. G. Ottow, W. Bidlingmaier (Hrsg.) Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, S. 139–201.

Insam, H., Riddech, N., Klammer, S. (eds.) 2002. Microbiology of composting. Springer Verlag, Berlin.

Kämpfer, P., Weißenfels, W. D. (Hrsg.) 2001. Biologische Behandlung organischer Abfälle. Springer Verlag, Berlin.

Compost Microbial Guidelines, ► www.bbclabs.com/compost2.htm.

Umweltdaten Deutschland online: ► http://www.env-it.de/umweltdaten/.

Statistisches Bundesamt (Destatis). 2018. Umwelt. Abfallbilanz 2016 (Abfallaufkommen/-verbleib, Abfallintensität, Abfallaufkommen nach Wirtschaftszweigen), erschienen am 19.07.2018. Artikelnummer: 5321001167004, 79 Seiten pdf-file.

Eurostat – Data Explorer. Abfallaufkommen nach Abfallkategorie, Gefährlichkeit und NACE Rev. 2 Tätigkeit [env_wasgen] Letzte Aktualisierung: 14-09-2018 ► http://ec.europa.eu/eurostat/web/waste/data/database.

Biotechnologie und Umweltschutz

18.1 Biologische Schädlingsbekämpfung – 578
18.1.1 Bioinsektizide – 578
18.1.2 Biofungizide und -herbizide – 586

18.2 Design neuer Chemikalien – 587
18.2.1 Struktur-Wirkungs-Beziehung/Vorhersage der Abbaubarkeit – 588
18.2.2 Abbaubare Alternativen zu heutigen Chemikalien – 592

18.3 Produktintegrierter Umweltschutz durch Biotechnologie – 595
18.3.1 Verfahrensvergleich: Biotechnische und chemisch-technische Prozesse – 598
18.3.2 Umweltentlastungseffekte durch Produktsubstitution – 602
18.3.3 Zusammenfassung PIUS – 602

18.4 Biokraftstoffe – 604
18.4.1 Bioethanol – 605
18.4.2 Biodiesel – 606
18.4.3 Biomass-to-Liquid-Kraftstoff – 607

18.5 Strom aus Mikroorganismen – 607
18.5.1 Wasserstoff-Produktion in Bioreaktoren für konventionelle Brennstoffzellen – 608
18.5.2 Mikrobielle Herstellung von Brennstoff im Anodenraum der Brennstoffzelle – 608
18.5.3 Direkter Elektronentransport von der Zelle zur Elektrode – 609
18.5.4 Mediatoren zum Elektronentransport – 610

Literatur – 612

© Springer-Verlag GmbH Deutschland, ein Teil von Springer Nature 2020
W. Reineke und M. Schlömann, *Umweltmikrobiologie,* https://doi.org/10.1007/978-3-662-59655-5_18

Die Einsatzbereiche der **traditionellen Umwelt-Biotechnologie** („Graue Biotechnologie") weiten sich aus:

- In Deutschland werden rd. 10.000 kommunale Kläranlagen mit biologischen Reinigungsstufen betrieben.
- In biologischen Verwertungsanlagen werden in Deutschland 7,6 Mio. t Bioabfälle pro Jahr genutzt.
- Insgesamt ist der Beitrag der Biomassenutzung zur Stromproduktion von 222 GWh in 1990 auf 5140 GWh in 2003 angestiegen.

Die Anwendungsfelder der **modernen Biotechnologie** sind:

- „Rote Biotechnologie" (Healthcare Biotechnology): Bioprodukte (Proteine, Antikörper, Enzyme) sollen bereits einen Marktanteil an Pharmaprodukten von ~20 % haben und Neuentwicklungen sollen zu 50 % Bioprodukte sein.
- „Grüne Biotechnologie": Die vor etwa 20 Jahren begonnene Nutzung gentechnisch veränderter Pflanzen erreichte in den USA 2004 einen Anteil von 45 % bei Mais, 86 % bei Soja und 76 % bei Baumwolle. Aktuelle Entwicklungen haben die Nutzung von Pflanzen (und Tieren) für die kostengünstige Produktion von Pharmaprodukten und Industrierohstoffen zum Ziel.
- „Weiße Biotechnologie": Nutzung der Biotechnologie als Baustein für eine nachhaltige zukunftsverträgliche Chemie („Green Chemistry") und ihre Anwendung in der Ernährungsindustrie. Zu den Produkten gehören Bulk- und Feinchemikalien, Lebensmittel sowie Lebensmittelzusatzstoffe und Futtermitteladditive, Agrar- und Pharmavorprodukte, Hilfsstoffe für verarbeitende Industrien wie technische Enzyme und Biokraftstoffe. Es wurde prognostiziert, dass bis zum Jahr 2010 ca. 20 % der Umsätze der gesamten Chemieindustrie auf die Nutzung weißer Biotechnologie zurückzuführen sein sollten.
- „Graue Biotechnologie": Zum oben aufgeführten Bereich des Umweltschutzes hat sich heute die Umweltdiagnostik gesellt.

Alle Biotechnologiefelder stehen direkt oder indirekt in Beziehung zu umweltrelevanten Bereichen.

18.1 Biologische Schädlingsbekämpfung

Die Belange einer umweltgemäßen Schädlingsbekämpfung führen in zunehmendem Maße zur Suche nach Mikroorganismen, die als Antagonisten gegen sogenannte Schadinsekten eingesetzt werden können oder deren Stoffwechselprodukte sich als neue Wirkstoffe eignen.

18.1.1 Bioinsektizide

Als Bioinsektizide werden Bakterien, Pilze, Viren, Proteine oder auch niedermolekulare Sekundärmetabolite verwendet. ◘ Tab. 18.1 fasst einige Beispiele und die bekämpften Insekten zusammen.

18.1.1.1 Bacillus thuringiensis und B. sphaericus

Bacillus thuringiensis ist das am besten untersuchte insektenpathogene Bakterium. Es wurde schon 1901 in Japan als bakterieller Erreger der Sotto-Krankheit (Schlaffsucht) der Seidenraupen isoliert. Als Erreger einer Mehlmottenraupen-Erkrankung ist es seit 1911 bekannt.

Bacillus thuringiensis produziert während der Endosporen-Bildung Toxine in Form von Kristallen, die auf ein breites Spektrum von Lepidoptera (Schmetterlinge) wirken, jedoch nicht auf andere Tiere und den Menschen. Weitere Subspecies wurden gefunden, die auf Diptera (Zweiflügler: Mücken, Fliegen) und einige Coleoptera (Käfer) pathogen wirken. Heute kennt man auch solche mit Wirksamkeit gegen Hymenoptera (Hautflügler wie

Tab. 18.1 Mikroorganismen,Viren und Metabolite als Bioinsektizide

Agens	Schadinsekten
Bakterien	
Bacillus thuringiensis (B. t.)	
B. t. subsp. *thuringiensis*	Lepidopteren-Raupen, zum Beispiel Goldafter, Kohlweißling
B. t. subsp. *thuringiensis*, β-Exotoxin bildende Stämme	Fliegenmaden, zum Beispiel *Musca domestica*
B. t. subsp. *kurstaki*	Schwammspinner
B. t. subsp. *tenebrionis*	Käferlarven, zum Beispiel Kartoffelkäfer
B. t. subsp. *israelensis*	Mückenlarven, zum Beispiel *Anopheles-, Aedes*-Arten, Wiesenschnaken
Paenibacillus popilliae	Japankäfer-Engerlinge *(Popillia japonica)*
Pilze	
Beauveria brogniartii	Maikäfer
Beauveria bassiana	Kartoffelkäfer, Borkenkäfer
Metarrhizium anisopliae	Rüsselkäfer, zum Beispiel Dickmaulrüßler, Borkenkäfer
Verticillium lecanii	Blattläuse, Weiße Fliege
Viren	
Granulose-Virus (CPGV)[a]	Apfelwickler *(Cydia pomonella)*
Kernpolyeder-Virus (LdNPV)	Schwammspinner *(Lymantria dispar)*
Kernpolyeder-Virus (LmNPV)	Nonne *(Lymantria monacha)*
Sekundärmetabolite	
Abamectin	Blattminierende Dipteren oder Pflanzensaftsauger, Milben
Spinosad	Lepidoptera, Diptera, Blattodea, Coleoptera

[a]Die Insektenvirus-Bezeichnung ergibt sich aus den lateinischen Namen der Insekten und der Abkürzung für den Virustyp

Bienen, Wespen und Ameisen), Homoptera (Zikaden, Blattläuse), Orthoptera (Heuschrecken und Grillen), Mallophaga (Tierläuse wie Haar- und Federlinge), Nematodes (Rund- und Fadenwürmer), Milben und Protozoa (Tab. 18.1).

Bacillus thuringiensis bildet mehrere Virulenzfaktoren. Der wichtigste und selektiv wirkende Faktor ist das kristalline *δ*-Endotoxin (Abb. 18.1), das aus Proteinen verschiedener Zusammensetzung besteht. Ein Stamm synthetisiert normalerweise ein bis fünf verschiedene Toxine, die in Form eines einzelnen Kristalles oder einer Vielzahl in einer Zelle auftreten. Ca. 170 natürlich vorkommende Bt-Toxine mit unterschiedlicher Wirkungsbreite sind heute bekannt. Die *Bacillus thuringiensis*-Toxine gelangen mit der Nahrung in die Larven, Maden beziehungsweise Raupen der Schädlinge und entfalten im Darmtrakt ihre pathogene Wirkung. Die Schritte im Schädling sind die folgenden:

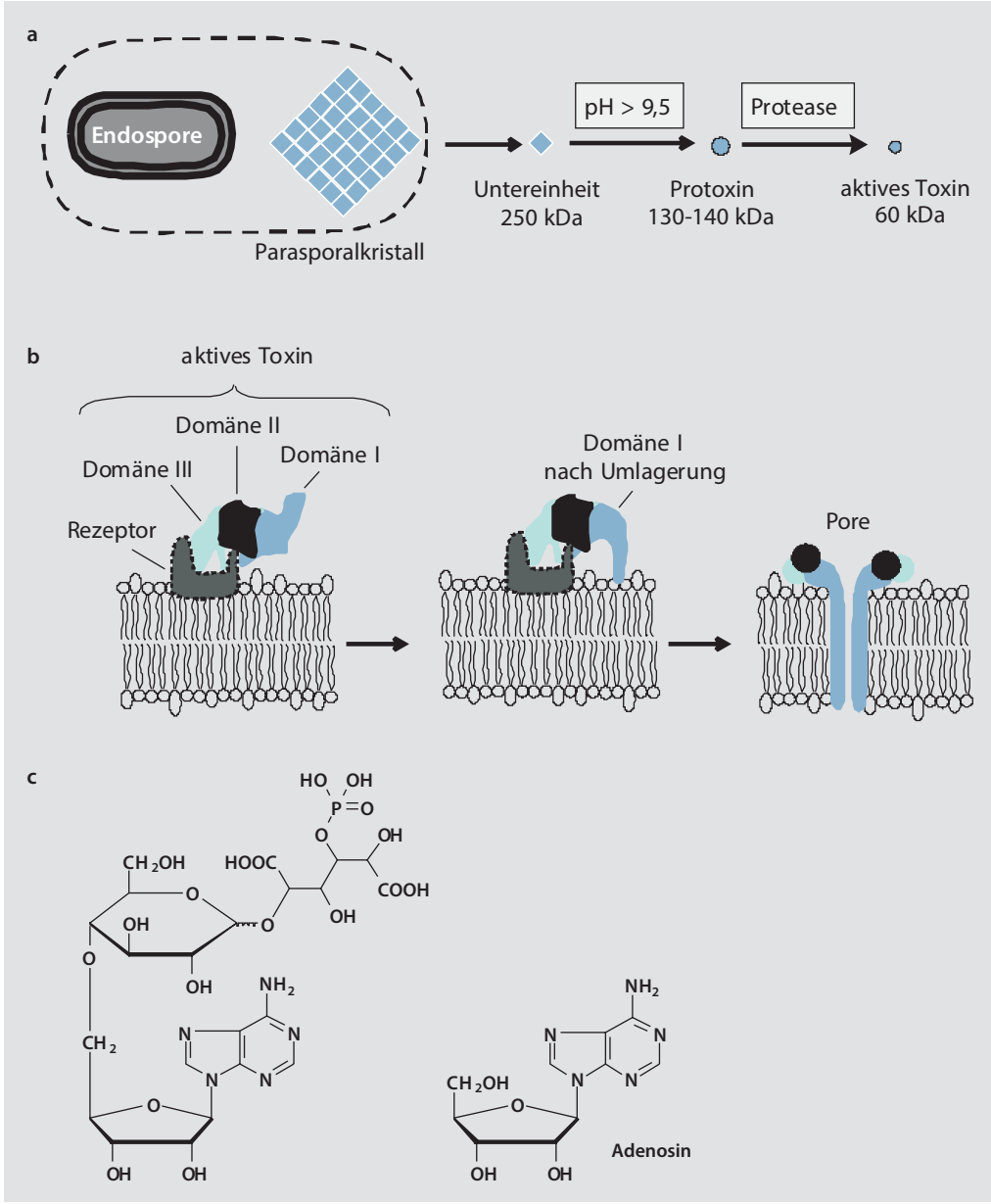


Abb. 18.1 **a** Schematische Darstellung des parakristallinen δ-Endotoxins in der Zelle von *Bacillus thuringiensis* und Aktivierung der Protoxin-Zwischenstufen durch spezifische Proteasen im Darm der Raupen zum toxischen Peptid, **b** Anheftung an den Rezeptor, Umlagerung des Toxins und Bildung einer Pore, **c** Struktur von β-Exotoxin im Vergleich zum natürlichen Nucleosid

1. Auflösung des Kristalls im Mitteldarm der Raupe (pH > 9,5),
2. proteolytische Abspaltung des N- und C-terminalen Teils des Protoxins durch die Mitteldarm-Proteasen,
3. Bindung des aktivierten Toxins an den Rezeptor in der Epithelzellmembran im Mitteldarm,
4. Integration des Toxins in die Membran, sodass Ionenkanäle oder Poren gebildet und die Zellmembran der Darmepithelzellen irreversibel geschädigt werden, und
5. durch die Zerstörung der Darmschranke gelangen die Bakteriensporen in den Körper, sie keimen aus und bewirken eine Septikämie.

Die primär schädigende Wirkung geht also vom *δ*-Endotoxin aus. *Bacillus thuringiensis* ist nur schwach infektiös und breitet sich daher nicht epidemisch aus. *Bacillus thuringiensis* Präparate werden deshalb als Biopestizid ähnlich wie ein chemisches Insektizid eingesetzt und unterscheiden sich so von Mitteln zur biologischen Schädlingsbekämpfung, die sich autokatalytisch in der Schadinsektenpopulation ausbreiten, bis die Individuenzahl für Übertragungen zu gering geworden ist.

Von wenigen Stämmen der Pathovars *thuringiensis* werden neben dem *δ*-Endotoxin weitere Exotoxine wie das niedermolekulare *β*-Exotoxin gebildet. Die Struktur des ungewöhnlichen Nucleotides ist in ◘ Abb. 18.1c dargestellt. Es ist ein Antimetabolit der DNA-abhängigen RNA-Polymerase. Da seine Wirkung unspezifisch ist, wirkt es auch auf Wirbeltiere. Stämme, die neben dem *δ*-Endotoxin das *β*-Exotoxin bilden, wurden als Mittel gegen Fliegenmaden erprobt. Die Präparate werden dem Viehfutter zugesetzt, passieren ohne akute Schädigung den Darm und gelangen so in die Exkremente, in denen die Fliegenmaden leben.

Seit 1964 sind Bt-Präparate in Deutschland als Pflanzenschutzmittel zugelassen und unter verschiedenen Bezeichnungen im Handel. Sie werden vor allem im Mais-, Kartoffel-, Gemüse- und Obstanbau verwendet. Eine größere Bedeutung haben sie im ökologischen Landbau. Kommerziell erhältliche Bt-Präparate bestehen aus getrockneten Bakterien-Sporen und dem kristallinen Toxin. Die im Fermenter auf einfachen Medien kultivierten Bakterien werden vom Nährmedium abgetrennt und mit Haft- und Lichtschutzmitteln formuliert. Für den erfolgreichen Einsatz muss berücksichtigt werden, dass nur die fressenden Raupen bezeihungsweise Larven die Präparate aufnehmen.

Vergleicht man die Wirkungsgeschwindigkeit von Bt-Präparaten mit der anderer Insektizide, so wird deutlich, dass längere Zeitdauern notwendig sind, bevor das Bioinsektizid wirkt.

Mit Hilfe der Gentechnik wurde die Fähigkeit zur *δ*-Endotoxinbildung auf Rhizosphärenbakterien, wie *Pseudomonas fluorescens,* mit dem Ziel übertragen, Erdraupen zu bekämpfen.

Die aus *Bacillus thuringiensis* isolierten Bt-Toxin-Gene *(cry)* wurden auf Pflanzen übertragen. Diese produzieren nun selbst den für Fraßschädlinge giftigen Wirkstoff. Um eine gentechnisch vermittelte Insektenresistenz zu erzeugen, wurden verschiedene Varianten von Bt-Genen genutzt, bei Mais etwa *cry1Ab, cry1Ac* und *cry9c.* Diese unterscheiden sich sowohl in der Länge, als auch durch die verwendeten Promotoren. Je nach Bt-Gen-Variante differieren die transgenen Maissorten sowohl bei der Menge des Bt-Toxins als auch bei dessen Verteilung in der Pflanze. Die ersten kommerziell angebauten Bt-Maispflanzen enthielten in allen Pflanzenteilen (Pollen, Stängel, Maiskolben) hohe Bt-Toxin-Mengen, die höher als notwendig waren, um die gewünschte Wirkung zu erzielen. Neuere Bt-Maissorten produzieren nicht nur geringere Bt-Toxin-Mengen, sondern auch nur da, wo sie benötigt werden, das heißt im Stängel. Das wird dadurch erreicht, dass die *cry*-Gene mit gewebespezifischen Promotoren versehen werden, die nur in bestimmten Pflanzenteilen „anspringen".

Bei Mais erscheint das Bt-Konzept besonders attraktiv, da es erstmals die Bekämpfung der Maiszünsler-Raupen ***in*** der

Pflanze ermöglicht. Doch nicht nur in Mais wurden Bt-Gene übertragen, sondern andere Varianten in Baumwolle oder die Kartoffel.

Im Jahr 2004 wurden weltweit auf einer Fläche von 81 Mio. ha GVO-Pflanzen (GVO = genetisch veränderte Organismen) geerntet. Davon entfielen 19 % auf insektenresistente Bt-Pflanzen, weitere 9 % auf eine Kombination von Herbizid- und Insektenresistenz. Mit 72 % ist Herbizidresistenz das dominierende Merkmal.

Der Anbau von Bt-Mais in den USA lag 2004 bei 10 Mio. ha und machte etwa 45 % des Maisanbaus aus. Weitere Länder, in denen Bt-Mais angebaut wird, sind Argentinien, Kanada, Spanien und Südafrika.

Bt-Baumwolle wurde 2004 in den USA auf etwa 2,5 Mio. ha angebaut, welches etwa 76 % der Anbaufläche ausmachte. Anbau von Bt-Baumwolle erfolgt auch in Argentinien, Australien, China, Indien, Indonesien, Mexiko und Südafrika.

Bei etwa 30 Pflanzenarten wird daran gearbeitet, durch Übertragung von Bt-Genen Resistenzen gegen verschiedene Fraßinsekten zu erzeugen.

Ein Vorteil des Bt-Toxins ist seine Wirkgenauigkeit (Spezifität). Es greift die jeweiligen Schädlinge an und verschont andere Tiere, vor allem die Nützlinge. Nicht immer scheinen die Erwartungen so zuzutreffen. Fraßinsekten entwickeln mit der Zeit Resistenzen gegen eingesetzte Insektizide. Bei den klassischen Bt-Präparaten ist dieses bis auf vereinzelte Fälle bisher nicht geschehen. Es wird jedoch befürchtet, dass ein großflächiger Anbau von Bt-Pflanzen die Resistenzbildung beschleunigt: „Da in den Gen-Pflanzen der Wirkstoff während der gesamten Vegetationsperiode vorhanden ist, können Schädlinge leichter Resistenzen entwickeln, als wenn Bauern das Insektizid nur hin und wieder versprühen." In den USA wurde der Anbau von Bt-Pflanzen durch ein obligatorisches Resistenzmanagement begleitet. Danach müssen anteilig Flächen mit konventionellen Sorten ohne Bt-Toxin als Refugien gepflanzt werden, um zu vermeiden, dass „Wild-Pflanzen" zu „BT-Pflanzen" werden.

Stechmückenpathogene Bakterien sind seit den sechziger Jahren des 20. Jahrhunderts bekannt, als die ersten Isolate von ***Bacillus sphaericus*** mit larviziden Eigenschaften entdeckt wurden. Um 1980 wurden Isolate aus adulten Kriebelmücken in Nigeria gefunden, die zusammen mit *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* eine herausragende Bedeutung in der biologischen Bekämpfung von Stech- und Kriebelmücken erlangten.

Die toxische Wirkung von *B. sphaericus* basiert, wie bei *B. thuringiensis,* auf der Bildung von parasporalen Proteinkristallen, die sich bei *B. sphaericus* in einem von einer Membran umhüllten „Sporen-Kristall-Komplex" befinden. Im Gegensatz zu *B. t.* subsp. *israelensis* besitzt *B. sphaericus* ein binäres Toxin, das aus zwei Proteinen mit den Molekulargewichten von 51,4 und 41,9 kDa besteht. Beide sind für die stechmückentoxische Wirkung notwendig. Der Wirkmechanismus der binären Toxine beruht, ähnlich wie bei *B. t.* subsp. *israelensis,* auf der Bindung an Rezeptoren. Weitere Toxine (Mtx-Toxine) mit einem Molekulargewicht von bis zu 100 kDa können in vegetativen *B. sphaericus*-Zellen produziert werden. Diese Mtx-Toxine sind ebenfalls toxisch für Stechmückenlarven, jedoch weder den binären Toxinen, noch denen von *B.t.* subsp. *israelensis* homolog.

In den letzten Jahren hat *B. sphaericus* an Bedeutung zugenommen, vor allem wegen seines besonderen Wirkspektrums und seiner Fähigkeit, unter gewissen Bedingungen wiederverwendet zu werden oder zu persistieren. Durch das Wiederverwenden kann sich eine Langzeitwirkung ergeben, wodurch sich das Zeitintervall für Wiederbehandlungen vergrößert.

Zielorganismen sind Vertreter verschiedener Stechmücken-Genera, wie *Aedes, Anopheles* und *Culex.* Allerdings gibt es große Unterschiede in der Empfindlichkeit bei den Arten innerhalb eines Genus. Einige Stechmückenarten, vorwiegend *Culex*-Arten, aber auch manche *Anopheles*-Arten reagieren besonders empfindlich auf *B. sphaericus,*

während andere Arten, wie *Aedes aegypti,* fast unempfindlich sind. Im Gegensatz zu *B. thuringiensis* subsp. *israelensis* tötet *B. sphaericus* keine Larven der Kriebelmücke (Black Flies) ab.

Die Proteintoxine von *B. sphaericus* sind für Warmblüter und andere Nichtziel-Organismen ungefährlich.

18.1.1.2 Bioinsektizide aus Actinomyceten

Wirkstoffe aus Actinomyceten sind weitere Bioinsektizide. **Abamectin** ist ein Wirkstoffgemisch, das als Akarizid/Insektizid erstmals 1986 für Pflanzenschutzzwecke registriert wurde und heute in über 80 Ländern in den verschiedensten Kulturen angewendet wird. Es wird aus einem in Japan isolierten Mikroorganismus gewonnen, der eine gute Wirkung gegen Nematoden zeigte. Insgesamt wurden acht ähnliche makrozyklische Lactone, die Avermectine (siehe ◘ Abb. 18.2) aus dem Myzel von *Streptomyces avermitilis* isoliert und als Aktivsubstanzen identifiziert. Die Avermectine zeigen anthelmintische (ant helmintic, gegen Würmer) Eigenschaften, haben aber weder bakterizide noch fungizide Wirkung. Die Hauptkomponente B_1 wirkt äußerst aktiv gegen eine Reihe von Milben und Insekten. Diese wurde daher zur Anwendung im Pflanzenschutz ausgewählt.

Abamectin zeigt hauptsächlich eine Fraßwirkung. Die Kontaktaktivität ist wegen der raschen oxidativen Abbaubarkeit auf Blattoberflächen eher begrenzt. Die Halbwertszeit von Abamectin beträgt weniger als 4 h. Die physiologische Wirkungsweise im Insekt erfolgt durch die Stimulation der Abgabe des Neurotransmitters γ-Aminobuttersäure in inhibierenden Zellen der Nerven/Muskelplatte, was über eine anhaltende Unterdrückung der Muskelkontraktion zur Lähmung führt. Sie erfolgt innerhalb von Stunden nach Einnahme einer toxischen Dosis, ist irreversibel und führt zum Tode.

Abamectin wirkt gegen alle mobilen Stadien von Schadinsekten, die Pflanzengewebe fressen oder Pflanzensaft saugen, es hat jedoch keine ovizide Wirkung. Die wichtigsten Zielorganismen sind Milben und blattminierende Dipteren. Abamectin wird nach der Behandlung sehr rasch ins Blatt aufgenommen, wo es vor Abbau durch UV-Strahlung und vor einer Abwaschung durch Regen geschützt ist. Da Abamectin sehr stark an Bodenpartikel gebunden wird, ist es im Boden immobil und zeigt keine Auswaschung. Es zeigt keine Bioakkumulation und wird von Mikroorganismen im Boden rasch abgebaut. Im Wasser ist es unlöslich. Der Abbau in Pflanzen erfolgt hauptsächlich an der Blattoberfläche durch Photolyse.

Spinosad ist ein weiterer insektizider Wirkstoff. Er wird von dem Actinomyceten *Saccharopolyspora spinosa* gebildet, zeichnet sich durch ein breites Wirtspektrum und eine schnelle Wirkung aus, die der synthetischer Insektizide vergleichbar ist (◘ Tab. 18.2). *S. spinosa* wurde 1982 auf einer Karibikinsel in der Erde einer ehemaligen Rumbrennerei entdeckt. Seit 1994 wird die Entwicklung von Spinosad als insektizides Präparat weltweit betrieben und 1997 erfolgte in den USA die erste Zulassung.

S. spinosa produziert eine Reihe von Metaboliten, die Spinosyne, wobei in Spinosad nur die beiden biologisch aktiven Formen Spinosyn A und D enthalten sind. Spinosyn A und D sind makrocyclische Lactone, wobei sich die beiden Isomere nur sehr geringfügig unterscheiden (siehe ◘ Abb. 18.2). Spinosyn A und D haben ein Mengenverhältnis von etwa 85 zu 15 % im Spinosad.

Die Aufnahme des Wirkstoffes erfolgt durch Fraßaktivität sowie über Kontakt. Die Wirksamkeit aufgrund von Fraßaktivität ist 5–10 mal höher als jene durch Kontakt. Die Wirkung von Spinosad beruht auf einer Beeinflussung der neuronalen Aktivität der Insekten. Der Wirkstoff beeinflusst den in der postsynaptischen Zelle lokalisierten Nicotin-Acetylcholin-Rezeptor und bewirkt einen Ioneneinstrom, was zu Hyperaktivität der Neuronen und Muskelaktivität führt und endet mit der vollständigen, irreversiblen Lähmung des Insektes. Neben der Wirkung

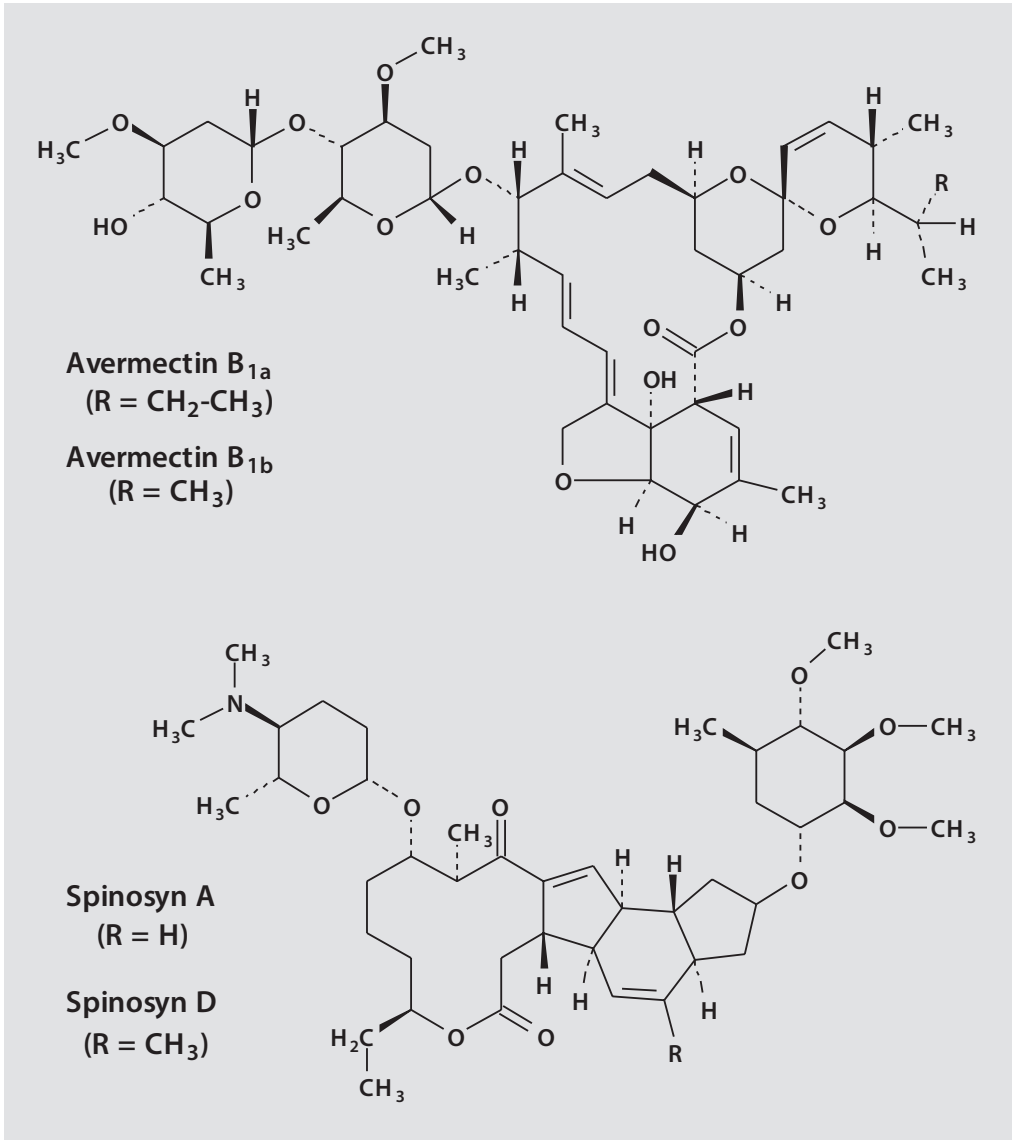


Abb. 18.2 Wirkstoffe gegen Insekten aus Actinomyceten

von Spinosad auf den Nicotin-Acetylcholin-Rezeptor wird auch eine Beeinflussung des γ-Aminobuttersäure-Rezeptors vermutet. Die Bindungsstellen von Spinosad sind verschieden von denen anderer insektizider Wirkstoffe.

Spinosad findet bei einem breiten Spektrum von Kulturen Anwendung: Kartoffel, Gemüse, Salat, Mais, Raps, Baumwolle, holzige Pflanzen, Zierpflanzen und Rasen. Schmetterlinge, Zweiflügler, Schaben sowie Käfer, die mit Spinosad bekämpft werden können, sind: Baumwolleule (*Helicoverpa armigera* sowie *Spodoptera littoralis*), Zuckerrübeneule *(Spodoptera exigua),* bekreuzter Traubenwickler *(Lobesia botrana),* Fruchtschalenwickler *(Adoxophyes orana),* Maiszünsler *(Ostrinia nubilalis),* Kohlweisslinge (*Pieris* spp.), Kohleule *(Mamestra brassicae),*

Tab. 18.2 Geschwindigkeit der Wirkung von Insektiziden

Insektizid-Kategorie	Wirkung nach
Carbamate/ Organophosphate	Stunden
Bt-Präparate	Tagen
Spinosad	Minuten bis Stunden
Synthetische Pyrethroide	Minuten bis Stunden

Hausfliege *(Musca domestica),* Minierfliegen (*Liriomyza* spp.), deutsche Schaben *(Blatella germanica)* und Kartoffelkäfer *(Leptinotarsa decemlineata).*

Spinosad hat eine geringe akute Toxizität gegenüber Säugern und Vögeln sowie ein günstiges Umwelt- und Nützlingsprofil. Es wird als nicht-karzinogen, nicht-teratogen, nicht-mutagen und nicht-neurotoxisch beurteilt.

Der Abbau von Spinosad in der Umwelt erfolgt hauptsächlich durch Photolyse und mikrobielle Metabolisierung. Das Potenzial, im Boden zu wandern, ist in Abhängigkeit von der Bodenart sehr gering bis gering.

18.1.1.3 Pilzpräparate

Wichtige pilzliche Krankheitserreger von Insekten sind in Tab. 18.1 angeführt. Diese Pilze befallen die Insekten, durchdringen mittels Chitinasen die Insektencuticula, vermehren sich im Insektenkörper und bilden niedermolekulare Toxine. So bildet *Beauveria* das Cyclodepsipeptid Beauvericin, *Entomophthora* zwei Azoxybenzol-Toxine. Das Mycel durchwuchert das tote Insekt und dringt nach außen, wo es zur Sporulation kommt. Die Sporen können auf andere Individuen gelangen und dort auskeimen (Abb. 18.3).

Von einigen Pilzen gibt es bereits Präparate, andere sind in der Erprobung. *Beauveria bassiana*-Präparate bestehen aus Sporen, die in Submers- und Oberflächenkultur auf Substraten wie Melasse oder Kleie am Myzel gebildet werden. Für den erfolgreichen Einsatz sind die ökologischen Bedingungen

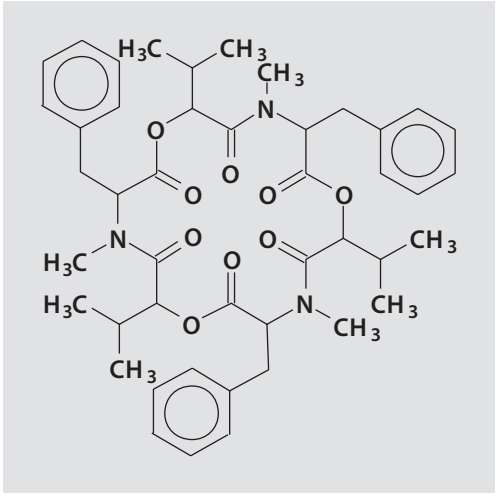


Abb. 18.3 Beauvericin ist ein Mycotoxin, welches von vielen *Fusarium* Spezies gebildet wird und aus *Beauveria bassiana* isoliert worden ist. Es ist ein bioaktives Cyclodepsipeptid ähnlich dem des Valinomycins und enthält drei *D*-α-Hydroxy-isovaleryl-und *N*-Methyl-*L*-phenylalanyl-Gruppen in alternierender Folge

entscheidend, unter denen eine effektive Infektion erfolgt. Im Freiland sind entsprechende Bedingungen schwer voraussehbar. Daher werden einige Präparate für den Einsatz in Gewächshäusern entwickelt.

Beauveria bassiana darf als Insektizid (gegen Borkenkäfer) nach § 6a Abs. 4 Satz 1 Nr. 3 Buchstabe b des Pflanzenschutzgesetzes für landwirtschaftliche, forstwirtschaftliche oder gärtnerische Zwecke zur Anwendung im eigenen Betrieb hergestellt werden. Ebenso *Beauveria brongniartii (= B. tenella)* gegen Maikäfer und *Metarhizium anisopliae* gegen Rüsselkäfer und Borkenkäfer.

18.1.1.4 Virenpräparate

In der Land- und Forstwirtschaft werden **Baculoviren** bereits seit langem zur biologischen Bekämpfung von Schadinsekten eingesetzt, die aber wegen ihrer im Vergleich zu chemischen Mitteln langsamen Wirkung bisher nur eine untergeordnete Rolle spielen.

Baculoviren sind die größte und diverseste insektenspezifische Virusgruppe. Die Viren

besitzen ein doppelsträngiges, zirkuläres DNA-Genom von 90–190 kb. Die Familie der Baculoviridae wurde bisher in 2 Gattungen gruppiert, den Nukleopolyhedro- und den Granuloviren. Diese Klassifikation beruht überwiegend auf der Morphologie der Einschlusskörper dieser Viren. Ist ein Virion von einer Kapsel umgeben, bezeichnet man sie als **Granulose-Virus (GV),** sind zahlreiche Virionen von einer Kapsel eingeschlossen, so spricht man von **Kernpolyeder-Viren (KPV oder NPV = Nucleopolyeder Virus).**

Baculoviren sind pathogen für Larven, insbesondere von Schmetterlingen, Zweiflüglern, Hautflüglern und Käfern, das heißt sie sind nur in ganz bestimmten Entwicklungsstadien der Insekten einsetzbar. Wird dieser Zeitpunkt verpasst sind die Viren unwirksam. Baculoviren infizieren Darmepithel- sowie Fettkörperzellen und verursachen den Tod der Larven beziehungsweise Raupen. Die Spezifität der eingesetzten Viren ist hoch, sodass toxische und umweltbelastende Nebenwirkungen nicht zu erwarten sind.

Der erste großflächige Einsatz zur Schädlingsbekämpfung erfolgte mit dem Kernpolyeder-Virus gegen die Kiefernbuschhorn-Blattwespe *(Neodiprion sertifer).* Inzwischen sind wirksame Präparate gegen den Apfelwickler, den Schwammspinner und die Kohleule *(Mamestra brassicae)* im Einsatz beziehungsweise in der Erprobung. Präparate werden mit Hilfe von Raupen-Zuchten hergestellt. Die Gewinnung mit Zellkulturen von Insekten wird angestrebt.

Mit gentechnischen Methoden sollen die Viren so verändert werden, dass sie über einen längeren Zeitraum wirksam sind. Derzeit wird ferner an einer Optimierung gearbeitet, zum Beispiel an der rascheren Abtötung der Zielorganismen oder an der Ausweitung des Wirtsspektrums durch den Einbau genetischer Informationen für die Herstellung von Giften gegen Skorpione, Spinnen oder Milben. Als Strategie zur Verbesserung der biologischen Sicherheit transgener Baculoviren wurde das Gen entfernt, welches das Hüllprotein kodiert. Baculoviren können dadurch nicht mehr ihre Hülle ausbilden, die sie vor Umwelteinflüssen schützt – ihre Infektiosität bleibt aber erhalten. Die bisher in den USA, Canada und Großbritannien durchgeführten Freisetzungsversuche von transgenen Baculoviren hatten zum Ziel, die Effektivität im Freiland sowie Auswirkungen auf Nichtzielorganismen zu untersuchen.

18.1.2 Biofungizide und -herbizide

Zur **Biologischen Kontrolle** von **phytopathogenen Pilzen** wird die Nutzung des Mycoparasitismus untersucht. **Mycoparasiten** sind Pilze, die auf anderen Pilzen parasitieren, indem sie in die Hyphen des Wirtspilzes eindringen und das Cytoplasma als Substrat verwerten.

Praktische Bedeutung als Fungizid hat der Einsatz des antagonistischen Pilzes *Peniophora gigantea* gegen die durch *Heterobasidion annosum (Fomes annosus)* verursachte Wurzelfäule der Kiefer erlangt. *Heterobasidion annosum* besiedelt die Baumstümpfe von frisch gefällten Bäumen. Über das Wurzelsystem geht der Pathogen auf benachbarte gesunde Bäume über. Wird die frische Schnittfläche mit Sporen des Antagonisten *P. gigantea* beimpft, kann der Pathogen die Fläche nicht mehr besiedeln (Possessions-Prinzip). Die Sporen können mit dem Schmieröl der Kettensägen auf die Schnittfläche der Bäume gebracht werden.

Ein in Europa unterentwickeltes Gebiet ist der Einsatz von phytopathogenen Pilzen zur **Unkrautbekämpfung,** die sogenannten **Mycoherbizide.** In den USA werden die Sporen des Pilzes *Colletotrichum gloeosporioides* im Reis- und Sojabohnenanbau gegen das Unkraut *Aeschynomene virginica* eingesetzt. In Europa laufen Versuche mit dem Blattfleckenerreger *Curvularia lunata* gegen die Hühnerhirse *(Echinochloa crus-galli)* und dem Rostpilz *Puccinia striiformis* gegen die Acker-Kratzdiestel *(Cirsium arvense). Chondostereum purpureum* ist vom Bundesamt für

Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit als Herbizid gegen die amerikanische Traubenkirsche zugelassen.

18.2 Design neuer Chemikalien

Die Umweltmikrobiologie ist zurzeit stark durch nachsorgende Maßnahmen, sogenannte „end of the pipe"-Aktivitäten geprägt. Ein Paradigmenwechsel zum vorsorgenden und integrierten Umweltschutz ist zu fordert. **Grüne Chemie** *(Green Chemistry)* beziehungsweise Nachhaltigkeit in der Chemie strebt dies an. Es ist die Bezeichnung für Bestrebungen, chemische Herstellungsverfahren zu ändern oder neue zu entwickeln, um eine sichere und saubere Umwelt im 21. Jahrhundert zu gewährleisten.

Wie müssen Produkte (Chemikalien) aussehen, um dies zu erfüllen? Gibt es hierfür Regeln? Oder muss bei jeder neuen Chemikalie auf Abbaubarkeit geprüft werden? Was besagt das, welches ist der Kriterienkatalog, der zu einer Einordnung führt?

Grüne Chemie

Im Zusammenhang mit Nachhaltigkeit von Chemikalien wird häufig von **Grüner Chemie** gesprochen. Als Grüne Chemie bezeichnet man die Art von Chemie, die versucht, Umweltverschmutzung durch ihre Vermeidung am Ort ihres Entstehens einzudämmen, Energie zu sparen und möglichst umweltverträglich zu produzieren. Gleichzeitig sollen Gefahren der Produktion und des Produkts vermieden werden. Produziert werden sollen nur Materialien, die umweltfreundlich oder am Ende ihrer Nutzung biologisch abbaubar sind und sich nicht in der Umwelt anreichern oder Berge von Abfällen bilden. Die sogenannten zwölf Grundprinzipien von *Green Chemistry* wurden von Anastas und Warner (1998) entwickelt:

1. **Umweltverschmutzung vermeiden:** Es ist besser Abfall zu vermeiden als ihn zu behandeln oder zu entfernen nachdem er produziert worden ist.
2. ***Atomökonomie:*** Synthesemethoden sollen so gestaltet und genutzt werden, dass keine/wenige Atome oder Moleküle der Ausgangsreagenzien übrig bleiben oder ungewünschte Stoffe entstehen.
3. **Weniger gefährliche chemische Synthesen:** Wo immer möglich sollen synthetische Methoden gestaltet und genutzt werden, damit Substanzen genutzt und erzeugt werden von denen wenig oder keine Gefahr für Mensch und Umwelt ausgeht.
4. **Design für sicherere Chemikalien:** Erzeugung von Produkten mit hoher Funktionalität bei gleichzeitiger Reduktion der Giftigkeit ist angestrebt.
5. **Sicherere Lösemittel und Hilfsstoffe:** Der Gebrauch von Hilfssubstanzen (wie Lösemitteln, Trennungsmitteln) soll, wenn immer möglich, überflüssig gemacht werden und unschädlich sein, wenn eine Anwendung erfolgt.
6. **Design zur Energieeffizienz:** Der Bedarf an Energie soll bezüglich Belastung der Umwelt und der Kosten erkannt und minimiert werden. Wenn möglich soll die Durchführung von Reaktionen bei Raumtemperatur und unter Normaldruck erfolgen.
7. **Gebrauch von erneuerbaren Rohstoffen:** Wo immer technisch und ökonomisch machbar sollen erneuerbare statt begrenzt verfügbarer Rohstoffe verwendet werden.
8. **Reduktion von Derivaten:** Wenn immer möglich sollen unnötige Zwischenstufen in chemischen Prozessen (Blockiergruppe, Schutzgruppe/Entschützung, zeitweise Modifizierung) vermieden werden.
9. **Katalyse:** Katalysatoren (so selektiv wie möglich) sind in Synthesen anstelle von stöchiometrischen Reagenzien zu nutzen.
10. **Design zur Abbaubarkeit:** Chemikalien und Produkten sollen so gestaltet werden, dass sie nach der Nutzung natürlich abgebaut werden können und keine Abbauprodukte entstehen, die der Umwelt schaden.

11. **Real-time Analyse zur Vermeidung von Schadstoffemission:** Analytische Methoden müssen weiterentwickelt werden, damit Kontrolle und Steuerung aller Vorgänge durch Echtzeitüberwachung erfolgen kann, um Verschmutzung und Verunreinigung und damit Verschwendung vorzubeugen.
12. **Sichere Chemie:** Substanzen und die Form der Substanzen, die in chemischen Prozessen verwendet werden, sollen so ausgewählt werden, dass das Risiko von Unfällen wie Freisetzung, Explosion und Feuer minimiert wird.

18.2.1 Struktur-Wirkungs-Beziehung/Vorhersage der Abbaubarkeit

Man versucht seit langem zu ermitteln, ob strukturelle Eigenschaften von Substanzen für das zu erwartende Abbauverhalten Anhaltspunkte geben und zur Klassifikation von abbaubaren und persistenten Substanzen eingesetzt werden können. Von den zahlreiche **Struktur-Wirkungs-Beziehungen (Struktur-Activity-Relationships, SARs)** oder **quantitativen Struktur-Aktivitätsbeziehungen (QSAR),** die in den letzten Jahren zur Abschätzung des Bioabbaus entwickelt worden sind, soll hier das von der *Environmental Protection Agency* (EPA) entwickelte Programm BIOWIN als Teil von EPI-Suite angesprochen werden. Es handelt sich dabei um ein frei verfügbares Softwarepaket, mit dem Parameter, wie **aerobe biologische Abbaubarkeit,** Oktanol/Wasser-Verteilungskoeffizient, Schmelzpunkte, Hydrolyseraten und vieles mehr, abgeschätzt werden können.

Es umfasst drei Typen von mathematischen Modellen zur Abschätzung der aeroben biologischen Abbaubarkeit:

1. Linear und Non-Linear Biodegradation Modell (Biowin1 und Biowin2) modelliert anhand von 295 Chemikalien.
2. Ultimate und Primary Biodegradation Modell (Biowin3 und Biowin4) (eine Bewertung mittels Befragung von Experten).
3. Linear und Non-Linear MITI Biodegradation Modell (Biowin5 und Biowin6) (Etablierung unter Nutzung von 884 experimentell untersuchter Verbindungen).

Ein Molekül wird hierzu in verschiedene Teile „Fragmente" zerlegt, denen man jeweils einen positiven oder negativen Einfluss auf die Abbaubarkeit zuschreibt (beziehungsweise einen Zahlenwert hat berechnen lassen). Ferner wird die Größe des Moleküls berücksichtigt. Bei zunehmender Größe wird die biologische Abbaubarkeit als schwieriger eingeschätzt (siehe ◘ Tab. 18.3).

Es ist eine verbreitete Beobachtung, dass Substanzen „leicht abgebaut" werden, die hydrolysierbare Gruppen wie Carbonsäure-Ester (C(O)OR), -Amide ($C(O)NR_2$) und -Anhydride (C(O)O(O)CR) oder Phosphorsäureester besitzen. Das ist nicht weiter verwunderlich, da diese in Proteinen, Polysacchariden und Lipiden vorkommen. Folglich haben alle Organismen hydrolytische Enzyme, um solche funktionellen Gruppen zu spalten.

Weiterhin gibt die Anwesenheit von Hydroxyl (-OH), Formyl (-CHO) und Carboxyl (-COOH)-Gruppen gewöhnlich einen Hinweis darauf, dass der Abbau einer Verbindung „leicht" geht, denn sauerstoffbeinhaltende Strukturen sind sehr verbreitet in Metaboliten des normalen Stoffwechsels.

Im Gegensatz dazu verlangsamen einige Strukturmerkmale die Abbaubarkeit beträchtlich. Chlor- und Nitro-Gruppen besonders an aromatischen Ringen werden als Ursache einer chemischen Persistenz angesehen. Weiterhin scheinen Strukturmerkmale wie

Tab. 18.3 Strukturfragmente, die bei der Modellberechnung zur Abbaubarkeit einer Chemikalie berücksichtigt und als positiv (+) oder negativ (–) beurteilt werden

Fragmentarische Beschreibung	Einfluss auf Abbaubarkeit	
	Linear	Non-Linear Modell
Nitroso [-N-N=O]	–	–
Aliphatischer Alcohol [-OH]	+	+
Aromatischer Alcohol [-OH]	+	+
Aliphatische Säure [-C(=O)-OH]	+	+
Aromatische Säure [-C(=O)-OH]	+	+
Aldehyde [-CHO]	+	+
Ester [-C(=O)-O-C]	+	+
Amide [-C(=O)-N or -C(=S)-N]	+	+
Triazinring (symmetrisch)	+	–
Aliphatische Chloride [-Cl]	+	–
Aromatische Chloride [-Cl]	+	–
Aliphatische Bromide [-Br]	+	–
Aromatische Bromide [-Br]	+	+
Aromatische Iodide [-I]	–	–
C mit 4 Einzelbindungen & kein H	+	+
Aromatische Nitro [-NO_2]	–	–
Aliphatische Amine [-NH_2 oder -NH-]	+	–
Aromatische Amine [-NH_2 oder -NH-]	–	–
Cyanide/Nitrile [-C≡N]	+	+
Sulfonsäuren/Salze → am Aromaten	+	+
Pyridinring	–	–
Aromatische Ether [Aromat-O-Aromat]	+	+
Aliphatische Ether [C-O-C]	+	–
Ketone [-C-C(=O)-C-]	+	+
Tertiäre Amine	–	–
Phosphatester	+	+
Azogruppen [-N=N-]	–	–
Carbamate oder Thiocarbamate	–	+
Fluoro [-F]	+	–
Aromatische-CH_3	+	+
Aromatische-CH_2	–	–
Aromatische-CH	–	+

(Fortsetzung)

Tab. 18.3 (Fortsetzung)

Fragmentarische Beschreibung	Einfluss auf Abbaubarkeit	
	Linear	Non-Linear Modell
Aromatische-H	+	+
Methyl [-CH_3]	+	+
-CH_2- [linear]	+	+
-CH- [linear]	–	–
-CH_2- [cyclisch]	+	+
-CH – [cyclisch]	+	–
-C=CH [Alkenyl hydrogen]	+	+
Hydrazine [-N-NH-]	–	–
Quaternäre Amine	–	+
Zinn [Sn]	+	–
Molekulargewichtsparameter Gleichungskonstante	–	–

quaternäre C-Atome ($CR_1R_2R_3R_4$ ohne R = H) und tertiäre Stickstoff-Atome ($NR_1R_2R_3$ ohne R = H) die Abbaubarkeit zu erschweren.

Es ist insgesamt festzuhalten, dass die Modell-Analysen wichtige Einblicke ermöglichen, die **reduktionistische Betrachtungsweise jedoch mit Vorsicht benutzt werden sollte.** Wie in der Box Seite 584 gezeigt, treten stets Ausnahmen auf, die nicht den QSAR-Regeln gehorchen. **Durch Statistik eingeführte Vorstellungen** können eine andere Sicht auf ein Problem anregen, aber definitive Antworten **benötigen experimentelle Untersuchungen.** QSAR ist aber schon heute eine wichtige Methode in der Chemikalien-Anmeldung in den USA. Zur besseren Beurteilung von Chemikalien sind Verbesserungen nicht nur bei der Entwicklung aussagekräftiger Prüfsysteme notwendig, sondern vor allem auch Fortschritte in der Beurteilung selbst.

Die Bewertung einer Chemikalie durch die verschiedenen Modelle ist als Ergebnisblatt für die bekannte Chemikalie Benzol in ◘ Abb. 18.5 dargestellt. Dort sind neben den Ergebnissen auch die verwendeten Fragmentkriterien aufgeführt (◘ Abb. 18.4).

Die jeweiligen Modelle wurden mit 295 Chemikalien auf ihre Richtigkeit hin überprüft: Biowin1 (Linear Regression Modell) zeigte eine 89,5 %, Biowin2 (Non-Linear Regression Modell) eine 93,2 %, Biowin5 eine 81,3 % und Biowin6 eine 80,7 % richtige Zuordnung zu „nicht leicht abbaubar“ oder „leicht abbaubar“. Die Nutzung der Kombination der beiden Modelle 3&5 ist anzuraten, da hier auch Expertenwissen mit einbezogen wird.

```
SMILES : c(cccc1)c1
CHEM   : benzene
MOL FOR: C6 H6
MOL WT : 78.11
---------------------------- BIOWIN v4.02 Results -----------------------------

   Biowin1 (Linear Model Prediction)    :  Biodegrades Fast
   Biowin2 (Non-Linear Model Prediction):  Biodegrades Fast
   Biowin3 (Ultimate Biodegradation Timeframe):  Weeks-Months
   Biowin4 (Primary  Biodegradation Timeframe):  Days-Weeks
   Biowin5 (MITI Linear Model Prediction)    :  Readily Degradable
   Biowin6 (MITI Non-Linear Model Prediction):  Readily Degradable
   Ready Biodegradability Prediction:  NO  ###

------+-----+-----------------------------------------+---------+---------
 TYPE | NUM |       Biowin1 FRAGMENT DESCRIPTION      |  COEFF  |  VALUE
------+-----+-----------------------------------------+---------+---------
 Frag |  1  |  Unsubstituted aromatic (3 or less rings)  |  0.3192 |  0.3192
 MolWt|  *  |  Molecular Weight Parameter             |         | -0.0372
 Const|  *  |  Equation Constant                      |         |  0.7475
============+=========================================+=========+=========
   RESULT   |    Biowin1 (Linear Biodeg Probability)  |         |  1.0296#
============+=========================================+=========+=========

------+-----+-----------------------------------------+---------+---------
 TYPE | NUM |       Biowin2 FRAGMENT DESCRIPTION      |  COEFF  |  VALUE
------+-----+-----------------------------------------+---------+---------
 Frag |  1  |  Unsubstituted aromatic (3 or less rings)  |  7.1908 |  7.1908
 MolWt|  *  |  Molecular Weight Parameter             |         | -1.1092
 Const|  *  |  Equation Constant                      |         |  3.0087
============+=========================================+=========+=========
   RESULT   |  Biowin2 (Non-Linear Biodeg Probability)|         |  0.9999##
============+=========================================+=========+=========

 A Probability Greater Than or Equal to 0.5 indicates --> Biodegrades Fast
 A Probability Less Than 0.5 indicates --> Does NOT Biodegrade Fast



------+-----+-----------------------------------------+---------+---------
 TYPE | NUM |       Biowin3 FRAGMENT DESCRIPTION      |  COEFF  |  VALUE
------+-----+-----------------------------------------+---------+---------
 Frag |  1  |  Unsubstituted aromatic (3 or less rings)  | -0.5859 | -0.5859
 MolWt|  *  |  Molecular Weight Parameter             |         | -0.1726
 Const|  *  |  Equation Constant                      |         |  3.1992
============+=========================================+=========+=========
   RESULT   |  Biowin3 (Survey Model - Ultimate Biodeg)  |         |  2.4406
============+=========================================+=========+=========

------+-----+-----------------------------------------+---------+---------
 TYPE | NUM |       Biowin4 FRAGMENT DESCRIPTION      |  COEFF  |  VALUE
------+-----+-----------------------------------------+---------+---------
 Frag |  1  |  Unsubstituted aromatic (3 or less rings)  | -0.3428 | -0.3428
 MolWt|  *  |  Molecular Weight Parameter             |         | -0.1127
 Const|  *  |  Equation Constant                      |         |  3.8477
============+=========================================+=========+=========
   RESULT   |   Biowin4 (Survey Model - Primary Biodeg)  |         |  3.3922
============+=========================================+=========+=========

 Result Classification:   5.00 -> hours     4.00 -> days    3.00 -> weeks
  (Primary & Ultimate)    2.00 -> months    1.00 -> longer

------+-----+-----------------------------------------+---------+---------
 TYPE | NUM |       Biowin5 FRAGMENT DESCRIPTION      |  COEFF  |  VALUE
------+-----+-----------------------------------------+---------+---------
 Frag |  6  |  Aromatic-H                             |  0.0082 |  0.0493
 MolWt|  *  |  Molecular Weight Parameter             |         | -0.2324
 Const|  *  |  Equation Constant                      |         |  0.7121
============+=========================================+=========+=========
   RESULT   |  Biowin5 (MITI Linear Biodeg Probability)  |         |  0.5291
============+=========================================+=========+=========

------+-----+-----------------------------------------+---------+---------
 TYPE | NUM |       Biowin6 FRAGMENT DESCRIPTION      |  COEFF  |  VALUE
------+-----+-----------------------------------------+---------+---------
 Frag |  6  |  Aromatic-H                             |  0.1201 |  0.7208
 MolWt|  *  |  Molecular Weight Parameter             |         | -2.2551
 Const|  *  |  Equation Constant                      |         |  0.7475
============+=========================================+=========+=========
   RESULT   |Biowin6 (MITI Non-Linear Biodeg Probability)|         |  2.5257
============+=========================================+=========+=========

 A Probability Greater Than or Equal to 0.5 indicates --> Biodegrades Fast
 A Probability Less Than 0.5 indicates --> Does NOT Biodegrade Fast
```

Abb. 18.4 Ergebnisblatt der Ermittlung der aeroben Abbaubarkeit für Benzol mit dem Programm *BIOWIN* und den Modellrechnungen Biowin1-6. #die Werte in Biowin1 errechnen sich als: Σ Fragmente + Molekulargewichtsparameter + Gleichungskonstante. ##die Werte in Biowin2 errechnen sich als: $e^{\Sigma \text{ Fragmente + Molekulargewichtsparameter + Gleichungskonstante}} / 1 + e^{\Sigma \text{ Fragmente + Molekulargewichtsparameter + Gleichungskonstante}}$. ###„Ready Biodegradability Prediction" ist eine Kombination der Informationen aus zwei Modellrechnungen. Eine Klassifizierung „YES" liegt vor, wenn Biowin3 (weeks or faster) bewertet und Biowin5 (>0,5) ausweist. Die Kombination soll eine höhere Richtigkeit der Voraussage erlauben

Abschätzung einer reduktionistischen Beurteilung

Den BIOWIN-Ansätzen, die nur die beteiligten Fragmente des jeweiligen Moleküls nutzen, fehlen generell Feinheiten, die aber gebraucht werden, um die Effekte der Substitutionsposition zu berücksichtigen. Dies lässt sich durch Gegenüberstellung von berechneten und durch MITI-Testsysteme ermittelte Daten am Beispiel von substituierten Aromaten wie Cumolen und chlorierten Phenolen verdeutlichen (siehe ◘ Abb. 18.5). Beide, Cumol (Isopropylbenzol) und 4-Methylcumol (*p*-Cymol) sind als „leicht abbaubar" im MITI-Test beurteilt worden. 2-Methyl- und 3-Methylcumol haben sich experimentell als „nicht leicht abbaubar" herausgestellt. Die Biowin-Modelle sagen jedoch voraus, dass weder Cumol noch eines der Methylcumole als „leicht abbaubar" zu beurteilen sind.
Ein ähnliches Bild zeigt sich auch bei den chlorierten Phenolen. Phenol und 2,4,6-Trichlorphenol sind als „leicht abbaubar" im MITI-Test gezeigt worden. 2-Chlor-, 3-Chlor- und 4-Chlor-, 2,3-Dichlor-, 2,4-Dichlor-, 2,5- Dichlor-, 2,6-Dichlor-, 3,4-Dichlor- und 3,5-Dichlor- sowie 2,4,5-Trichlorphenol sind hingegen „nicht leicht abbaubar". Aber nur Phenol wird durch Biowin-Modellberechnungen als abbaubar vorausgesagt: **„Falsch negatives Ergebnis" der Voraussage.** Das Beispiel der chlorsubstituierten Benzoate zeigt ein vergleichbar widersprüchliches Ergebnis. Ein anderes Beispiel zeigt, dass die Voraussagen durch die Modellberechnungen auch **„falsch positiv"** ausfallen können. Eine Carboxylgruppe an einem aromatischen Ring wird als positiv für Abbaubarkeit eingeschätzt. Warum ist dann 1-Naphthoat im MITI-Test negativ, während 2-Naphthoat als abbaubar getestet wird? Die Biowin-Modelle machen zwischen den Isomeren keinen Unterschied. In diesem speziellen Fall sind es wahrscheinlich triviale Gründe für das unterschiedliche Ergebnis bei den praktischen Abbauuntersuchungen. Man kann nicht immer annehmen, dass Isomere auf dem gleichen Abbauweg abgebaut werden.
Die Abbaubarkeit von EDTA wird sehr unterschiedlich in den verschiedenen Biowin-Modellberechnungen abgeschätzt: die Kombination der mathematischen Modelle Biowin3&5 besagt, dass Abbau erfolgen sollte. Die experimentellen MITI-Tests sagen hingegen, dass EDTA „nicht abbaubar" ist.
Die aufgeführten Daten machen neben den zum Teil widersprüchlichen Ergebnissen noch deutlich, dass selbst für solche Substanzen, die als nicht abbaubar eingeschätzt sowie durch MITI-Tests ermittelt wurden, sich unter optimalen Bedingungen im Labor Reinkulturen isolieren lassen.

18.2.2 Abbaubare Alternativen zu heutigen Chemikalien

Bei der Suche nach Antibiotika hat man sich früher Naturstoffe als **Leitstrukturen** angeschaut, um neue Substanzen mit bestimmter Wirkung abzuleiten. Bei der Erzeugung von Chemikalien stand einzig die technologische Eigenschaft im Vordergrund. Heute muss auch die Umwelteignung berücksichtigt werden. Also versucht man einen Kompromiss: **Von der Natur abgeschaut** werden Substanzen mit der **gewünschten Wirksamkeit.** Aber auch der **Aspekt der Abbaubarkeit** unter Beachtung der oben aufgeführten allgemeinen Kenntnisse wird berücksichtigt.

Aminopolycarboxylate wurden als Alternativen für EDTA entwickelt: EDTA ist ein hoch effizienter Chelator, wird aber im MITI-Test als nicht abgebaut (tertiäre Aminfunktionen verbunden durch eine Ethylen-Brücke) bewertet. Im Gegensatz dazu steht Strombin (◘ Abb. 18.6), ein Naturstoff, der gut abgebaut wird, aber schlechte technische Leistungsmerkmale bezüglich komplexierender Eigenschaften hat. Die Suche nach einem Kompromiss sollte den folgenden Sachverhalt berücksichtigen: EDTA, welches Schwermetalle komplexiert hat, wird nicht in die Zelle aufgenommen. Nur die Aufnahme der freien Säure findet statt und nur Erdalkali-EDTA-Komplexe mit entsprechend

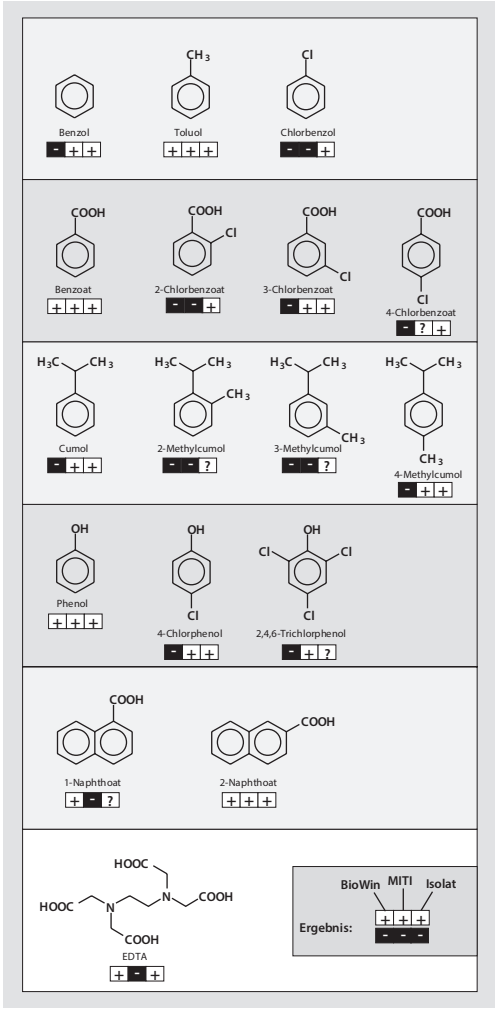


Abb. 18.5 Gegenüberstellung von Einschätzung der Rapid Biodegradation durch QSAR (Biowin) und experimentellen Daten von MITI sowie beschriebenen bakteriellen Reinkulturen, die die Substanz als C- und E-Quelle nutzen; +: „leicht abbaubar"; −: „nicht-leicht abbaubar"; ?: keine Information vorhanden

geringen Komplexbildungskonstanten erlauben die Aufnahme und damit den Abbau. Das heißt man braucht Komplexbildner mit weniger guter Komplexierungseigenschaft, wenn es um Abbaubarkeit geht.

Eine Kombination von Strombin und EDTA ist Iminodisuccinat (IDS). IDS kann mit Metallionen einen fünffach koordinierten Komplex eingehen. Für die oktaedrische Form der vollständigen Komplexstruktur wird ein Wassermolekül zusätzlich in der sechsten Koordinationsstelle benötigt (Abb. 18.7). Die fünf Liganden des IDS, die als Elektronendonor wirken können, sind die vier Carboxylatgruppen und der Stickstoff. Das Metallion und die Liganden des IDS bilden 4 Chelatringe.

EDTA ist unabhängig von den Metallionen der stärkste Komplexbildner, während IDS, Ethylendiaminodisuccinat und NTA geringere, aber untereinander vergleichbare Komplexierungseigenschaften besitzen. Die Komplexbildungskonstanten pK mit Ca^{2+} machen dies deutlich: EDTA 10,7; IDS 6,7; Ethylendiaminodisuccinat 4,2; NTA 6,4. IDS kann demzufolge nur dann als EDTA-Substitut eingesetzt werden, wenn die schwächeren Bindungseigenschaften gegenüber Metallionen in Kauf genommen werden können.

Das Einsatzgebiet von IDS als nur mittelstarker Chelator ist umfangreich. Es findet Anwendung in Produkten des täglichen Bedarfs wie Oberflächen- und Sanitärreiniger, Wasch- und Geschirrspülmittel, Shampoos, Duschgels und Cremes, außerdem in großtechnischen Prozessen wie beispielsweise der Textil- und Papierherstellung, der Fotoindustrie sowie zur Herstellung von Spurennährstoffdüngern für den landwirtschaftlichen Einsatz.

Das IDS zeigt eine geringe Remobilisierungsrate für Schwermetalle und ein gutes ökotoxikologisches Gesamtprofil. Biologische Abbauuntersuchungen mit technischem IDS zeigten im OECD 302B Test eine DOC-Abnahme von 89 % und im OECD 301E Test eine von 79 % (für die Tests siehe ► Abschn. 5.2.1).

Verwendete technische Mischungen bestehen aus Enantiomeren in folgender Zusammensetzung: 50 % R,S-IDS, 25 % S,S-IDS und 25 % R,R-IDS (Abb. 18.6). Sie erfüllen das Kriterium der „leichten biologischen Abbaubarkeit". Die einzelnen IDS-Enatiomere werden aber unterschiedlich abgebaut: R,S- und S,S-IDS sind leicht abbaubar. Das Enatiomer R,R-IDS hingegen wird mit Belebtschlamm einer kommunalen Kläranlage nicht

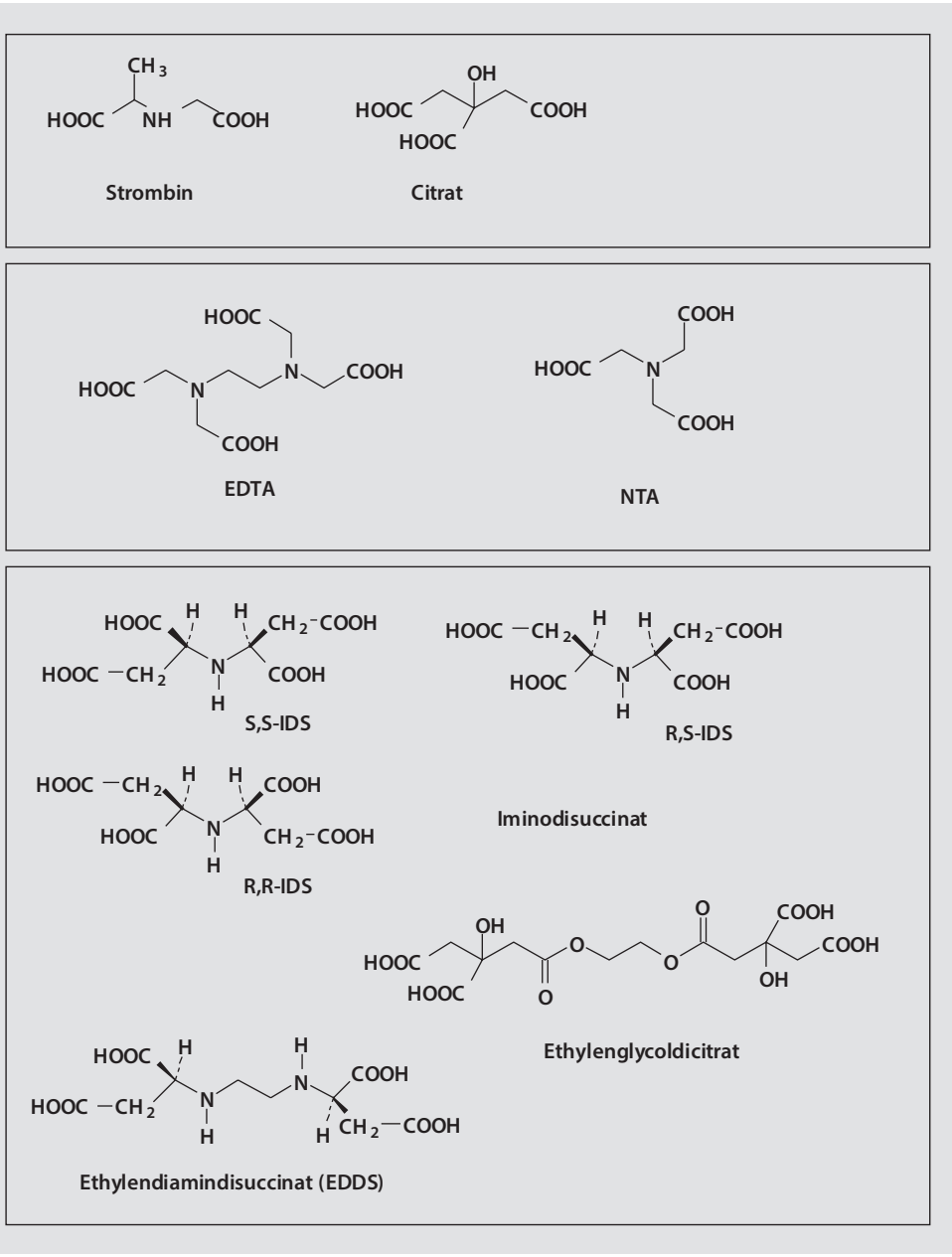


Abb. 18.6 Gegenüberstellung von Naturprodukten, synthetischen, klassischen Produkten und „Kompromiss-Produkten" mit Chelatoreigenschaften

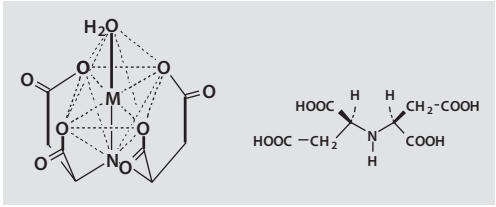


Abb. 18.7 Iminodisuccinat (IDS), als Metallkomplex (links), ohne Komplexierung (rechts)

abgebaut, jedoch mit solchem einer industriellen der chemischen Industrie. Für eine endgültige Beurteilung des Abbauverhaltens in der Natur sind die IDS-Metallkomplexe zu berücksichtigen, da sie überwiegend vorliegen. Fe^{2+}- und Ca^{2+}-IDS erfüllen das Kriterium der leichten Abbaubarkeit im MITI-Test, während Mn^{2+}- und Cu^{2+}-IDS nur eine Sauerstoffzehrung von 55 beziehungsweise 40 % aufwiesen, das heißt als nicht leicht abbaubar eingeschätzt werden müssen.

„Naturabschauen" reicht also für das Erreichen des gewünschten Ziels nicht unbedingt aus, da Enatiomere unterschiedliches Abbauverhalten zeigen können und da die Bindung des Metall-Ions an Chelatoren zu unterschiedlichem Abbauverhalten führen kann.

Ein anderes Beispiel für einen abbaubaren Komplexbildner ist Citrat. Um seine technologischen Eigenschaften zu verbessern, wurden zwei Moleküle Citrat mittels Ethylenglycol über hydrolisierbare Ester-Bindungen miteinander verbunden: Der Chelator hat nun gute technische Eigenschaften für den Einsatz im Textilbleichungsprozess und zeigt zugleich eine leichte Abbaubarkeit.

Beispiele aus dem gleichen Technologiebereich sind Dispergiermittel für Farbstoffe der Textilverarbeitung. Dispergiermittel müssen hydrophile und lipophile Eigenschaften haben. Sie sind deshalb aus Aromaten aufgebaut, dem lipophilen Teil, und sie besitzen Sulfonsäuregruppen, um Wasserlöslichkeit zu gewährleisten. Die bisher benutzten Naphthalinsulfonsäuren sind bekannt für ihre schlechte Abbaubarkeit. Die „neuen" Dispergiermittel bestehen aus Biphenyl (lipophil),

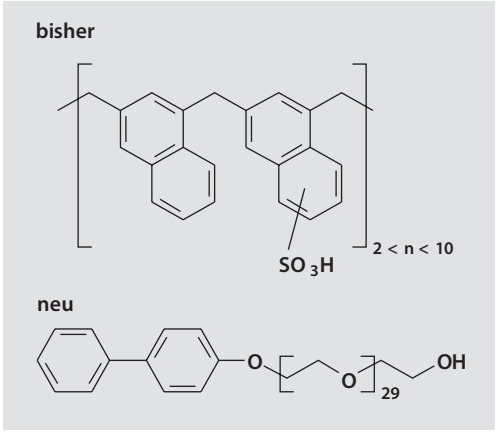


Abb. 18.8 Dispergiermittel für Farbstoffe der Textilverarbeitung: Naphthalinsulfonsäuren beziehungsweise ethoxylierte Hydroxybiphenyle

an welches Polyethoxygruppen (hydrophil) gekoppelt sind. Die ethoxylierten Hydroxybiphenyle sind **gut abbaubar** (Abb. 18.8).

18.3 Produktintegrierter Umweltschutz durch Biotechnologie

Chemische und mechanische Verfahrensschritte werden immer häufiger durch effiziente biotechnologische Prozesse ersetzt. Das nützt letztlich nicht nur der Umwelt, sondern zahlt sich auch aus. Erfolgreiche Anwendungen der Biotechnologie im Produktionsintegrierten Umweltschutz (PIUS) sind anschließend aufgezählt:

- Textilindustrie: „Biostoning" von Jeans (Cellulasen), Entschlichten (Stärkeabbau: Amylasen) und Bleichmittelentfernung (Katalasen, Peroxidasen).
- Lederindustrie: Globulin- und Fettentfernung (Proteasen), Beizen (letzter Arbeitsgang vor der Gerbung: Auflockerung des Kollagens durch Proteasen).
- Lebensmittelindustrie: Süßstoffherstellung (Phenylalanin für Aspartam), Abbau von Trübstoffen und Aufschluss von Fruchtfasern (Pektinasen).

- Papier- und Zellstoffindustrie: Aufschluss von Holzfasern (Xylanasen), Entwässern von Papier (Pektinasen, Cellulasen), Biobleiche, Biopulping, Lipase für Druckfarbenbeseitigung, Papierbeschichtung mit modifizierter Stärke aus Kartoffeln oder Mais (Amylase).
- Chemische Industrie: Spezial- und Feinchemikalienproduktion, Einsatz von Enzymen in Waschmitteln, Herstellung von Aminosäuren, organischen Säuren, Alkoholen, Kohlenhydraten und Vitaminen.
- Metall-Industrie: Reinigung und Entfettung, biologische Erzlaugung zum Beispiel zur Kupfergewinnung.

Biotechnische Produktionsprozesse sind nicht *per se* umweltverträglich. Daher müssen auch sie einer ökologischen Bewertung unterzogen werden, um ihren Einsatz zu rechtfertigen.

In einem Forschungsvorhaben des Umweltbundesamtes wurde beispielhaft a) die biotechnische Produktion von Vitamin B_2, b) ein Verfahrensschritt bei der Lederherstellung sowie c) der Einsatz von Enzymen in Waschmitteln mit der jeweiligen nichtbiotechnischen Alternative verglichen. Die vergleichende Bewertung orientierte sich an den Normverfahren zur Durchführung von Ökobilanzen.

Hintergrund

Die **Ökobilanz nach DIN EN ISO 14040 und 14044 (Life Cycle Assessment, LCA)** ist ein Verfahren zur Erfassung und Bewertung der Umweltauswirkungen von Produkten, Prozessen, Dienstleistungen über den gesamten Lebensweg, das heißt von der Rohstoffgewinnung über die Produktion und Nutzung bis hin zur Entsorgung. Häufig wird von einer Bilanzierung „von der Wiege bis zur Bahre" (engl. *Cradle-to-grave*) gesprochen. Die Ökobilanz nach DIN EN ISO 14040 und 14044 kann heute als Hauptform der produktbezogenen Bilanzierung bezeichnet werden. Im Jahr 1997 wurde das Verfahren für die Anfertigung von Produktökobilanzen von der International Organization for Standardization (ISO) genormt und seitdem mehrmals überarbeitet.

Die DIN EN ISO 14040 („Environmental management – Life cycle assessment – Principles and framework") beinhaltet Grundsätze und Rahmenbedingungen zur Erstellung von produktbezogenen Ökobilanzen. Die DIN EN ISO 14044 („Environmental management – Life cycle assessment – Requirements and guidelines") regelt die Anforderungen und Anleitungen im Detail.

Die Erstellung einer Ökobilanz nach DIN EN ISO 14040 und DIN EN ISO 14044 ist grundsätzlich ein relativer Ansatz.

Ökobilanz-Studien bestehen aus vier Bestandteilen. Der Zusammenhang zwischen den Bestandteilen ist in ◘ Abb. 18.9 dargestellt.

Ergebnisse von Ökobilanzen können nützliche Hinweise für eine Vielzahl von Entscheidungsprozessen geben. Die Wirkungskategorien und die jeweiligen spezifischen Parameter der Sachbilanz sind nicht verbindlich vorgegeben, sondern werden individuell ausgewählt. Das Umweltbundesamt (UBA) verwendet beispielsweise folgende in ◘ Tab. 18.4 zusammengestellte Wirkungskategorien bei der Erstellung von Ökobilanzen.

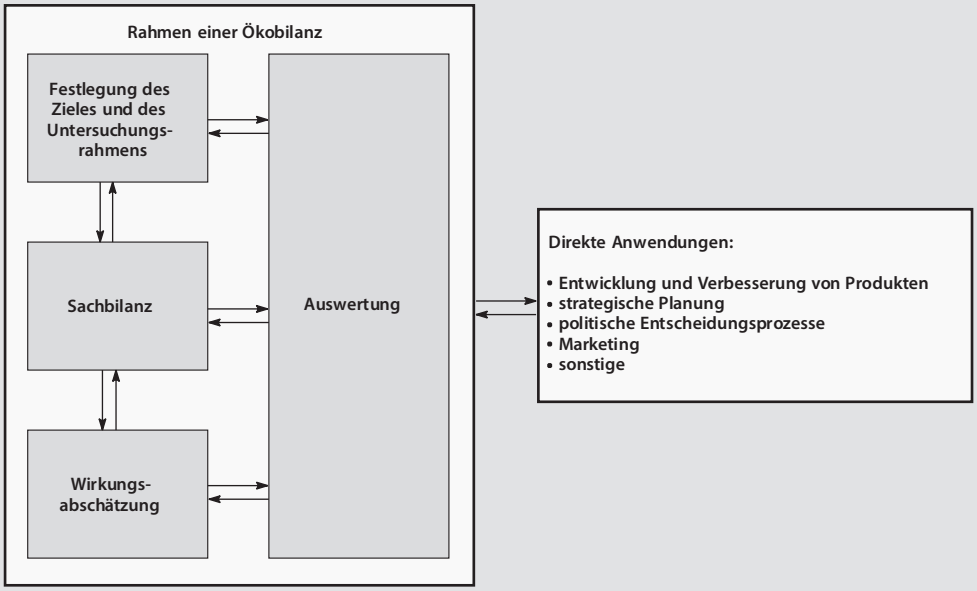


Abb. 18.9 Bestandteile einer Ökobilanz nach DIN EN ISO 14040

Tab. 18.4 Berücksichtigte Wirkungskategorien

Wirkungskategorie	Sachbilanzparameter	Einheit/Indikatorergebnisse
Ressourcenbeanspruchung, kumulierter Energieaufwand	KEA: fossil, nuklear, sonstige, regenerativ, Wasserkraft	kJ KEA gesamt
Treibhauseffekt	CO_2, CH_4, N_2O, CF_4	kg CO_2-Äquivalent
Versauerung	NO_x, SO_2, H_2S, HCl, HF, NH_3	kg SO_2-Äquivalent
Terrestrische Eutrophierung	NO_x, NH_3	kg PO_4^{3-}-Äquivalent
Aquatische Eutrophierung	P_{ges}., CSB, N_{ges}., NH_4^+, NO_3^-	kg PO_4^{3-}-Äquivalent
Photochemische Oxidatienbildung	Benzol, CH_4, NMVOC, VOC, Formaldehyd	kg Ethen-Äquivalent
Humantoxizität	Einzelparameter	Keine Aggregierung; Angabe jeweils in kg
Ökotoxizität	Einzelparameter	Keine Aggregierung; Angabe jeweils in kg

NMVOC: Non methane volatile organic compounds; KEA: kumulierter Energieaufwand

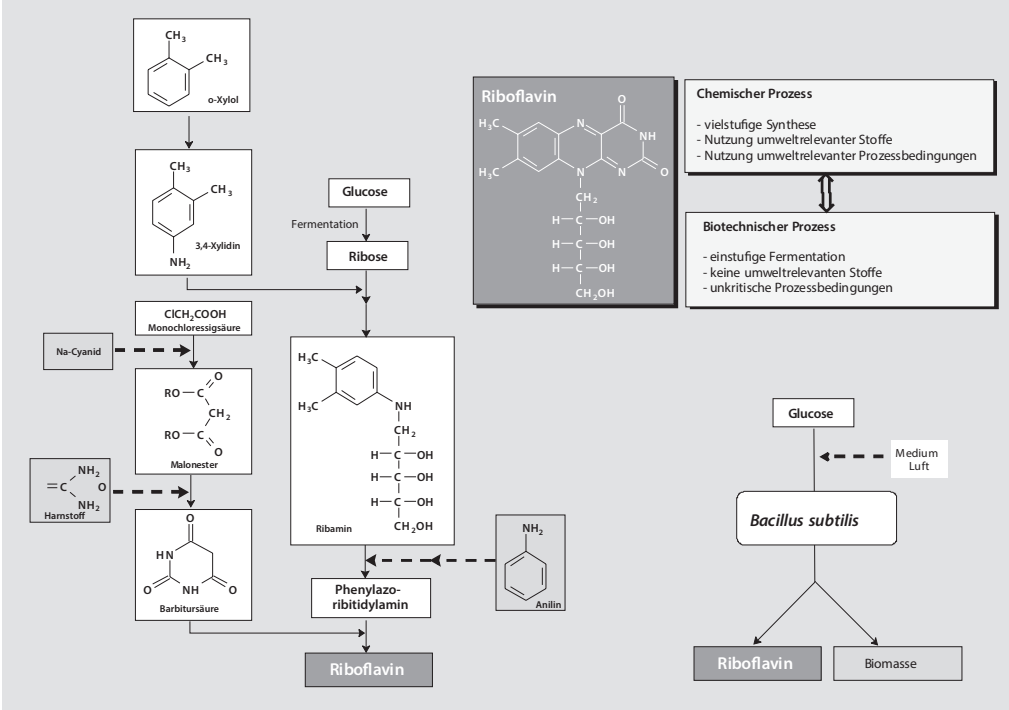
18.3.1 Verfahrensvergleich: Biotechnische und chemisch-technische Prozesse

Der **Vergleich biotechnischer und chemischer Prozesse** wird am Beispiel der Vitamin B_2-Produktion sowie einem Verfahrensschritt der Lederherstellung erläutert.

18.3.1.1 Biotechnische und chemisch-technische Vitamin B_2-Herstellung

Für die chemisch-technische Vitamin B_2-Produktion wird ein vielstufiger Syntheseprozess genutzt, für den neben nachwachsenden Rohstoffen auch verschiedene umweltrelevante Chemikalien eingesetzt werden (siehe ◘ Abb. 18.10, links). Der biotechnische Herstellungsprozess erfordert dagegen nur eine einstufige Fermentation, für die neben nachwachsenden Rohstoffen nur geringe Mengen chemischer Hilfsmittel mit geringer Umweltrelevanz benötigt werden. Die in vergleichsweise großen Mengen als Abfall anfallende Biomasse kann biologisch verwertet werden, sodass sie keinen negativen Einfluss auf die Gesamtbilanz des Prozesses hat.

In ◘ Tab. 18.5 sind die Ergebnisse der vergleichenden Wirkungsabschätzung zusammengefasst. Deutliche Umweltentlastungen für die aggregierten Wirkungskategorien kumulierter Energieaufwand (KEA-Ressourcenbeanspruchung), Treibhaus-, Versauerungs-, terrestrisches Eutrophierungs- und Ozonbildungspotenzial wurden beim biotechnischen Prozess im Vergleich zum chemisch-technischen ermittelt. Das aquatische Eutrophierungspotenzial lag beim biotechnischen Prozess allerdings höher als beim chemisch-technischen. Der Verfahrensvergleich bei den als humantoxisch eingestuften und ausgewerteten 5 Einzelstoffen ergab für die Parameter Benzo(a)pyren und Blei nur geringfügige Unterschiede



◘ **Abb. 18.10** Schematischer Vergleich der chemisch-technischen und biotechnischen Produktion von Vitamin B_2

Tab. 18.5 Wirkungsabschätzung beim Vergleich biotechnische und chemisch-technische Vitamin B_2-Herstellung

	Einheiten	Umweltentlastung durch biotechnischen Prozess[a]
Wirkungskategorien, aggregiert		
KEA	GJ	+
Treibhauspotenzial	mg CO_2-Äqivalent	+
Versauerungspotenzial	kg SO_2-Äqivalent	+
Eutrophierungspotenzial (terrestrisch)	kg PO_4-Äqivalent	+
Eutrophierungspotenzial (aquatisch)	kg PO_4-Äqivalent	–
Ozonbildungspotenzial	kg Ethen-Äqivalent	+
Humantoxische Einzelstoffe		
Benzo(a)pyren (L)	g	±
Blei (L)	g	±
Cadmium (L)	g	–
Schwefeldioxid (L)	kg	+
Staub (L)	kg	+
Ökotoxische Einzelstoffe		
Ammoniak (L)	kg	–
Fluorwasserstoff (L)	kg	±
Schwefeldioxid (L)	kg	+
Schwefelwasserstoff (L)	g	+
Stickoxide (L)	kg	+
Ammonium (W)	kg	–
AOX (W)	g	+
Chlorid (W)	kg	+
Kohlenwasserstoffe (W)	kg	+

(L): Luft; (W): Wasser
[a,+] Umweltentlastung im Vergleich zu herkömmlichem Prozess; – Mehrbelastung

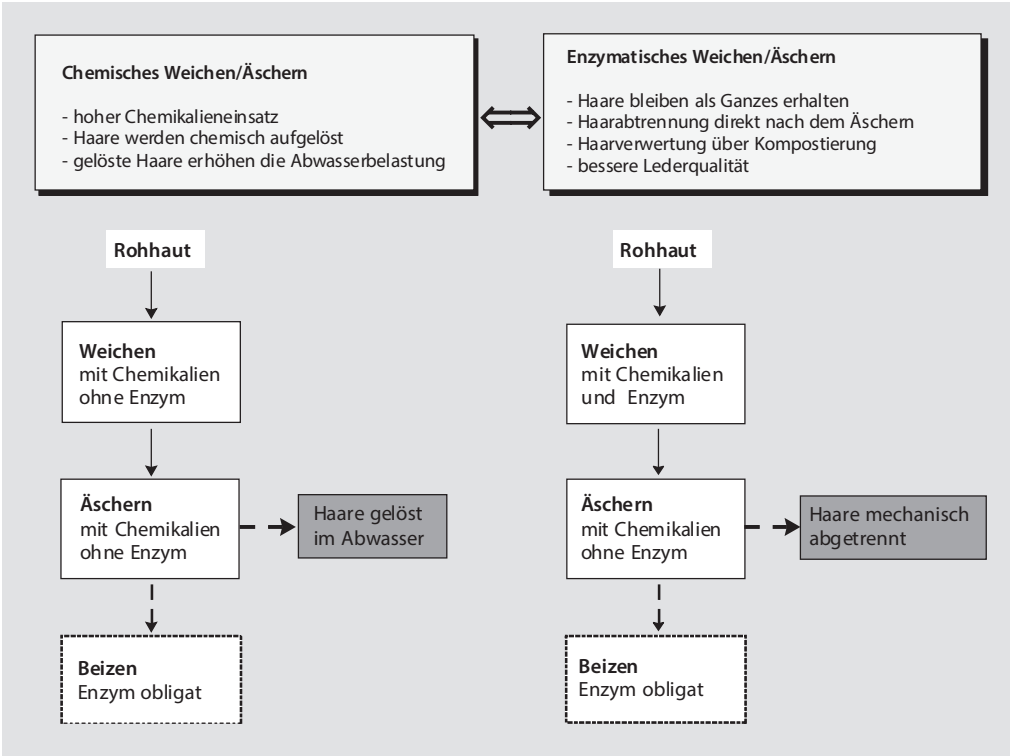
bei einem generell geringen Belastungsniveau. Die relativ geringen Cadmiumemissionen waren beim biotechnischen Prozess höher als beim chemisch-technischen. Bei den in relevanten Mengen emittierten Schwefeldioxid und Staub ergab der Vergleich für die Anwendung des biotechnischen Verfahrens eine ausgeprägte Umweltentlastung. Das biotechnische Verfahren zeigte bei den als ökotoxisch eingestuften und ausgewerteten 9 Einzelstoffen bei 6 Parametern zum Teil deutliche Umweltentlastungen im Vergleich zum chemisch-technischen Verfahren. Bei den Parametern Ammoniak und Ammonium ergaben sich für den biotechnischen Prozess höhere Emissionswerte. Die Emissionen lagen bei beiden Verfahren bei dem Parameter Fluorwasserstoff auf einem niedrigen Niveau.

Schon 1990 führte bei der BASF die Entwicklung und Umsetzung eines fermentativen

einstufigen Prozesses für die Produktion von Vitamin B_2 gegenüber dem alten, petrochemischen Verfahren zu einer Senkung der Abfälle um 95 %, der CO_2-Emission um 30 % und des Ressourcenverbrauches um 60 %. Die Produktionskosten wurden so durch den Einsatz des Pilzes *Ashbya gossypii* um insgesamt 40 % verringert.

18.3.1.2 Biotechnische und chemisch-technische Lederherstellung

Die Lederherstellung besteht aus einer Kette von Einzelschritten, die sich nach dem eingesetzten Verfahren, nach der Art der Rohware und dem herzustellenden Produkt voneinander unterscheiden können. Für den Verfahrensvergleich wurde der Teilschritt des **Weichens** und **Äscherns** betrachtet. Die Weiche hat die Aufgabe, die Rohhaut von anhaftenden Verunreinigungen zu befreien, Konservierungsmittel zu entfernen und den Quellungszustand wie am Körper des lebenden Tieres wieder herzustellen. Unter Äschern wird der Prozessschritt verstanden, bei dem die Häute enthaart werden und die Faserstruktur der Haut aufgeschlossen wird. Die Auswertungen beinhalten den Vergleich eines „haarzerstörenden chemischen Prozesses" und eines „haarerhaltenden enzymatischen Prozesses". Die Haare werden beim haarzerstörenden Prozess durch den Chemikalieneinsatz weitgehenden hydrolytisch zersetzt und ins Abwasser eingetragen. Beim haarerhaltenden Prozess werden die Haare lediglich gelockert und dann mechanisch durch Abwalken oder eine maschinelle Enthaarung entfernt. Sie können dann abgetrennt und einer Verwertung zugeführt werden. Weltweit sollen etwa 15 % der praktizierten Verfahren zum Weichen und Äschern den Einsatz von Biokatalysatoren nutzen (◘ Abb. 18.11).



◘ **Abb. 18.11** Lederherstellung: Vergleich der chemisch-technischen und der biotechnischen Verfahren des Weichens/Äscherns

Die Ergebnisse der Wirkungsabschätzung für den Vergleich enzymatischer und chemischer Prozessführung beim Weichen und Äschern sind in ◘ Tab. 18.6 zusammengefasst.

Das enzymatische Weichen/Äschern wies gegenüber dem chemischen Umweltentlastungspotenziale für alle aggregierten Wirkungskategorien auf.

Bei den als humantoxisch eingestuften und ausgewerteten 5 Einzelstoffen waren die Emissionen bei den Parametern Cadmium, Schwefeldioxid und Staub beim enzymatischen deutlich niedriger als beim chemischen Weichen/Äschern.

Bei den als ökotoxisch eingestuften und ausgewerteten 9 Einzelstoffen dokumentieren

◘ Tab. 18.6 Wirkungsabschätzung beim Einsatz von Enzymen beim Weichen/Äschern bei der Lederherstellung

	Einheiten	Umweltentlastung durch Enzymeinsatz[a]
Wirkungskategorien, aggregiert		
KEA	GJ	+
Treibhauspotenzial	kg CO_2-Äqivalent	+
Versauerungspotenzial	kg SO_2-Äqivalent	+
Eutrophierungspotenzial (terrestrisch)	kg PO_4-Äqivalent	+
Eutrophierungspotenzial (aquatisch)	kg PO_4-Äqivalent	+
Ozonbildungspotenzial	kg Ethen-Äqivalent	±
Humantoxische Einzelstoffe		
Benzo(a)pyren (L)	mg	±
Blei (L)	kg	±
Cadmium (L)	kg	+
Schwefeldioxid (L)	kg	+
Staub (L)	kg	+
Ökotoxische Einzelstoffe		
Ammoniak (L)	kg	+
Fluorwasserstoff (L)	kg	±
Schwefeldioxid (L)	kg	+
Schwefelwasserstoff (L)	kg	±
Stickoxide (L)	kg	+
Ammonium (W)	kg	+
AOX (W)	kg	+
Chlorid (W)	kg	+
Kohlenwasserstoffe (W)	kg	+

(L): Luft; (W): Wasser
[a,+] Umweltentlastung im Vergleich zu herkömmlichem Prozess

die Ergebnisse bei 7 Stoffen deutliche Minderemissionen bei der Anwendung des enzymatischen Weichens/Äscherns.

18.3.2 Umweltentlastungseffekte durch Produktsubstitution

Analoge Produkte mit funktioneller Gleichwertigkeit wurden bezüglich Rohstoffbereitstellung, Herstellungsprozesse für das chemisch-technische und das biotechnische Produkt sowie deren anschließende Nutzungsphase (Produktnutzung + Abfallentsorgung) verglichen.

18.3.2.1 Produktvergleich: Enzymeinsatz in Vollwaschmitteln

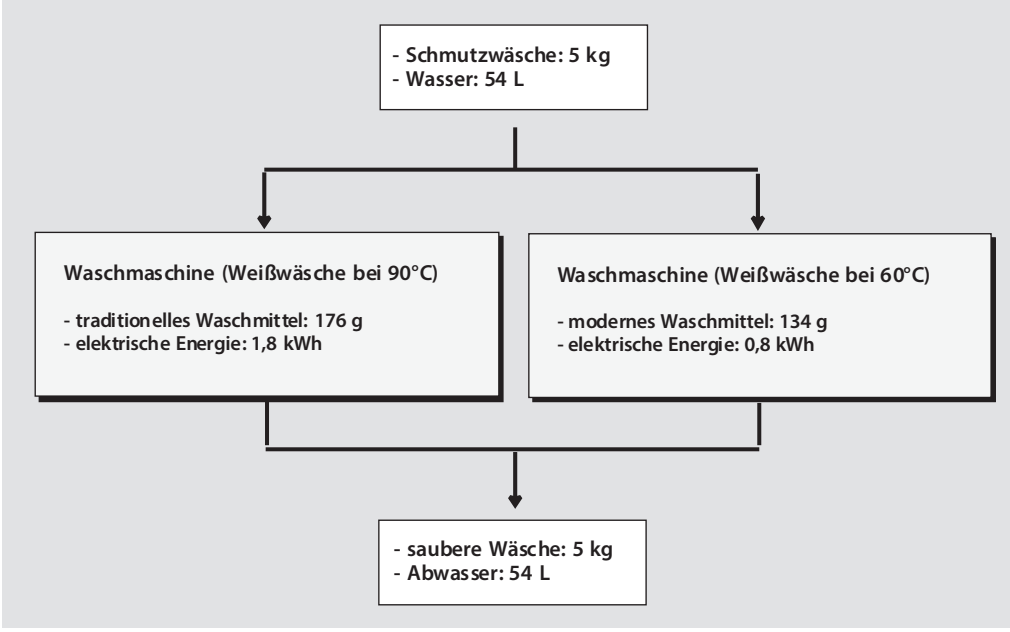
Enzyme sind heute fester Bestandteil der marktführenden Waschmittel, da ihr Einsatz zum Teil Einsparungen anderer Waschmittelbestandteile ermöglicht. Ziel der Bilanzierung dieses Produktvergleiches war deshalb herauszufinden, ob durch die Herstellung und Anwendung eines enzymhaltigen Waschmittels Umweltentlastungen möglich sind (◘ Abb. 18.12).

Die Ergebnisse der Wirkungsabschätzung für den Vergleich enzymfreier und -haltiger Waschmittel durch die Szenarien **Modernes Waschmittel** und **Traditionelles Waschmittel** sind ◘ Tab. 18.7 zusammengefasst.

Es zeigt sich, dass das Moderne Waschmittel zum Teil deutliche Umweltentlastungspotenziale für alle betrachteten Wirkungskategorien und nahezu alle Einzelparameter aufwies.

18.3.3 Zusammenfassung PIUS

Aus dem nachsorgenden Umweltschutz ist die Biotechnologie inzwischen nicht mehr wegzudenken. Doch vor allem die fortschrittlichen PIUS-Konzepte profitieren zunehmend von ihrem nahezu unerschöpflichen Potenzial. Die Vorteile liegen auf der Hand:



◘ **Abb. 18.12** Schematischer Vergleich des Waschvorganges mit enzymfreiem und -haltigem Waschmittel

Tab. 18.7 Wirkungsabschätzung beim Vergleich **Modernes Waschmittel** und **Traditionelles Waschmittel**

	Einheiten	Umweltentlastung durch modernes Waschmittel*
Wirkungskategorien, aggregiert		
KEA	MJ	+
Treibhauspotenzial	kg CO_2-Äqivalent	+
Versauerungspotenzial	g SO_2-Äqivalent	+
Eutrophierungspotenzial (terrestrisch)	g PO_4-Äqivalent	+
Eutrophierungspotenzial (aquatisch)	g PO_4-Äqivalent	+
Ozonbildungspotenzial	g Ethen-Äqivalent	+
Humantoxische Einzelstoffe		
Benzo(a)pyren (L)	mg	±
Blei (L)	mg	+
Cadmium (L)	mg	+
Schwefeldioxid (L)	g	+
Staub (L)	g	+
Ökotoxische Einzelstoffe		
Ammoniak (L)	g	+
Fluorwasserstoff (L)	g	+
Schwefeldioxid (L)	g	+
Schwefelwasserstoff (L)	g	±
Stickoxide (L)	g	+
Ammonium (W)	g	+
AOX (W)	g	+
Chlorid (W)	g	+
Kohlenwasserstoffe (W)	g	±

(L): Luft; (W): Wasser
*,+ Umweltentlastung im Vergleich zu enzymfreiem Waschmittel

- Einsparung von Energie und wertvollen Ressourcen (zum Beispiel reduzierte Abwassermengen in der Papierindustrie).
- Optimierung des Wirkungsgrades (geringerer Rohstoffbedarf, bessere Ausbeute, weniger Abfall).
- Verminderung unerwünschter Nebenprodukte und Abfälle (meist biologisch abbaubar und ökologisch unbedenklich) beziehungsweise Umwandlung in biologisch abbaubare Substanzen.
- Qualitätssteigerung durch schonendere Behandlung der Rohstoffe.
- geringerer Bedarf an Chemikalien.
- Verbesserung der Produktqualität.
- Verkürzung der Prozesszeiten.

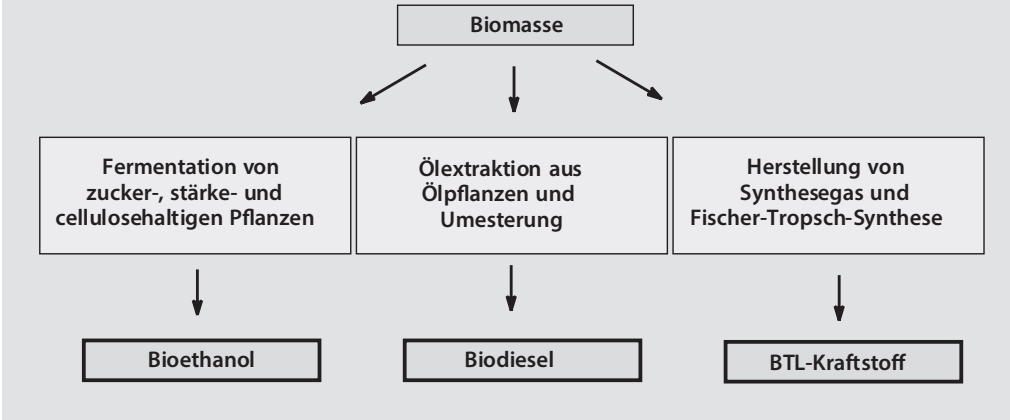
Biotechnologische Prozesse werden im Gegensatz zu vielen mechanischen oder chemischen Vorgängen deshalb als „sanfte" Verfahren bezeichnet.

Sicherheitstechnischer Anlagenvergleich

Der in dem Forschungsvorhaben des Bundesumweltamtes durchgeführte **Vergleich biotechnischer und chemischer Anlagen, Prozesse und Produkte** belegt, dass **die Biotechnik deutliche ökologische Vorteile gegenüber der chemischen Alternative** haben kann. Analysiert man biotechnische und chemische Anlage bezüglich des prozess- und stoffbezogenen sowie des biologischen Gefahrenpotenzial, so wird folgender Sachverhalt deutlich: Während biotechnische Verfahren bei Normaldruck und Raumtemperatur ablaufen, finden der chemische Prozesse oft bei hohen Drücken und zum Teil hohen Temperaturen statt. Chemische Prozesse weisen zudem häufig die Verwendung einer deutlich höheren Zahl an gefährlichen Stoffen auf. Die bei biotechnischen Verfahren eingesetzten biologischen Arbeitsstoffe haben meist nur ein geringes bis vernachlässigbares Sicherheitsrisiko. Somit können großtechnisch eingesetzte biotechnische Verfahren auch in Bezug auf die Sicherheit deutlich als vorteilhafter angesehen werden.
Auch die OECD konnte in 21 Fallstudien aufzeigen, dass durch die **Anwendung moderner biotechnischer Verfahren eine Reduktion der Umweltbelastungen und der Betriebskosten** erzielt werden kann.

18.4 Biokraftstoffe

Aus Biomasse lässt sich, wie in ► Abschn. 14.5 gezeigt, Biogas gewinnen. Zudem ist die Produktion von grundsätzlich drei verschiedenen Sorten flüssigen Kraftstoffes aus Biomasse möglich: Bioethanol, Biodiesel und Biomass-to-Liquid (BTL)-Kraftstoff (◘ Abb. 18.13).



◘ **Abb. 18.13** Alternative Kraftstoffe aus Biomasse

OECD-FAO *Agricultural Outlook Biofuel production 2010–2019*

Im Jahr 2011 wurden weltweit bereits ca. 100 Mrd. L Bioethanol hergestellt. Bis zum Jahr 2019 soll die Produktion auf 160 Mrd. L gesteigert werden.
Die Entwicklung der Ethanolproduktion aus Rohstoffen zeigt in der von der OECD vorgestellten Periode, dass der Hauptrohstoff für die Ethanolproduktion Grobkorn (Mais) bleibt (◘ Abb. 18.14).
Der Verbrauch von Grobkorn für die Ethanolproduktion wächst relativ wenig nach 2015, wenn das Programm zum *Conventional Renewable Fuels* in den USA sein Maximum erreicht.
Nahezu 40 % des Anstiegs der weltweiten Ethanolproduktion resultiert aus dem Anstieg der Produktion aus Rohrzucker, hauptsächlich aus Brasilien, um den Eigen- und US-Bedarf abzudecken.
Es wird erwartet, dass sich die Ethanolproduktion aus Biomasse der 2. Generation erst am Ende der Periode entwickelt und dann etwa 7 % der gesamten Ethanolproduktion ausmacht.
Wurzeln und Knollen sowie Melasse werden als Rohstoffe für die Ethanolproduktion in den Entwicklungsländer eine Rolle spielen.
Weizen, Grobkorn und Zuckerrüben werden in der EU zur Produktion von Ethanol verwendet.
Ähnlich wie beim Ethanol sieht es mit der Biodiesel-produktion aus. Weltweit wurden hier im Jahr 2011 ca. 23 Mrd. L produziert, was bis zum Jahr 2019 auf 40 Mrd. L ausgedehnt werden soll (◘ Abb. 18.15).
Es wird erwartet, dass Öl von Nahrungspflanzen weiterhin der Hauptrohstoff sein wird, um Biodiesel zu produzieren. Doch sein Anteil an der gesamten Biodieselproduktion soll von nahezu 90 % auf etwa 75 % im Jahre 2019 fallen.
Diese Entwicklung wird hauptsächlich auf der Produktion von Biodiesel aus Jatropha in Indien beruhen.
Ferner wird ein Anstieg der Biodieselproduktion aufgrund der Verwendung von Tierfett in den USA und der Verfügbarkeit von Biomasse der 2. Generation (sämtliche Biomasse außer Nahrungsmittel: Holz, Stroh, Industrieabfall- u. Abfallholz, Energiepflanzen, Reststoffe) in den letzten Jahren bis 2019 erwartet. Der aus Biomasse der 2. Generation hergestellte Biodiesel soll 2019 dann nahezu 6,5 % der gesamten Biodieselproduktion ausmachen.
Insgesamt wird ein bedeutender Anteil der globalen Produktion von Getreide, Zucker und Pflanzenölen zur Herstellung von Biokraftstoffen verbraucht.
Im Jahre 2019 werden etwa 13 % der weltweiten Produktion von Grobkorn im Vergleich zu 9 % heute für die Erzeugung von Ethanol verwendet werden. 16 % der weltweiten Produktion von Pflanzenöl wird dann für die Biodieselproduktion verbraucht, verglichen zu 9 % heute.
Der Anteil von Rohrzucker, der 2019 für die weltweite Ethanolproduktion verwendet werden soll, wird nahezu 35 % erreichen.
► http://www.oecd.org/site/oecd-faoagriculturaloutlook/biofuelproduction2010-19.htm

18.4.1 Bioethanol

Bioethanol entsteht durch Gärung kohlenhydrathaltiger Pflanzen. Neben stärkehaltigen Pflanzen wie Weizen, Roggen oder Mais sind Zuckerrohr und -rüben die am häufigsten verwendeten Ausgangsmaterialien. Während sich zuckerhaltige Pflanzen direkt vergären lassen, muss bei Getreide und Kartoffeln die Stärke zunächst enzymatisch zu Zucker abgebaut werden (siehe ► Abschn. 4.4.4).

Für Bioethanol geht man bei den effizientesten Rohstoffen von einem Umwandlungsfaktor von drei aus, das heißt aus 3 kg Biomasse entsteht 1 kg Bioethanol. Ein Jahresertrag von 2560 L Bioethanol je Hektar auf der Basis von Getreide wird kalkuliert.

Die Herstellungskosten liegen in Europa bei etwa 60 Cent pro Liter.

In den USA und im europäischen Ausland wird Ethanol vor allem aus Mais hergestellt, Brasilien setzt auf die Vergärung von Zucker aus Zuckerrohr.

In Europa ist Schweden der Vorreiter mit dem Treibstoff E85, einer Kraftstoffmischung mit einem Anteil von bis zu 85 % Ethanol.

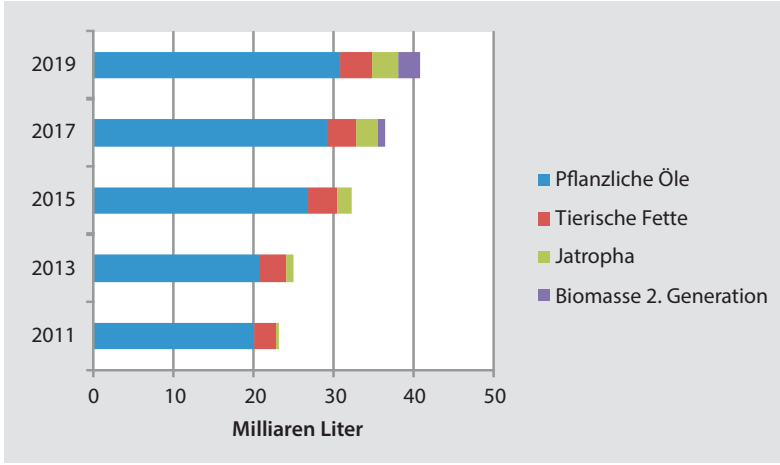


Abb. 18.14 Weltweite Ethanolproduktion aus verschiedenen Rohstoffen. (**Biomasse 2. Generation:** Sämtliche Biomasse außer Nahrungsmittel [Holz, Stroh, Industrialt- u. Abfallholz, Energiepflanzen, Reststoffe])

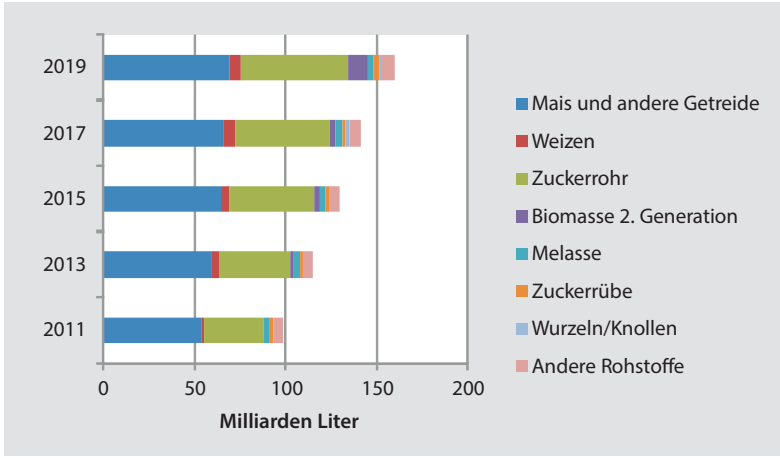


Abb. 18.15 Weltweite Biodieselproduktion aus verschiedenen Rohstoffen. (**Biomasse 2. Generation:** Sämtliche Biomasse außer Nahrungsmittel [Holz, Stroh, Industrialt- u. Abfallholz, Energiepflanzen, Reststoffe])

Nur sogenannte *Flexible Fuel Vehicles* können E85-Kraftstoff verwenden. Sie verbrauchen wegen der niedrigen Energiedichte des Ethanols etwa 50 Vol.-% mehr Kraftstoff als mit Benzin betriebene Autos.

1 L Ethanol ersetzt ca. 0,66 L Otto-Kraftstoff und kann bis zu 5 % beigemischt werden. Ethanol besitzt Eigenschaften, die die Qualität von Otto-Kraftstoffen verbessern. So weist der Alkohol eine höhere Oktanzahl auf als herkömmliche Otto-Kraftstoffe (Tab. 18.8).

18.4.2 Biodiesel

Biodiesel wird durch Umesterung zum Beispiel mit Methanol von Pflanzenöl (häufig Rapsöl mit einem Ölgehalt von 40–45 %) oder tierischen Fetten gewonnen (Abb. 18.16).

Das Umesterungsprodukt des Rapsöls erhält die Eigenschaften, die denen des Dieselkraftstoffes auf Mineralölbasis weitgehend entsprechen. Der Nachteil von Biodiesel ist seine Aggressivität: Er verursacht

Tab. 18.8 Vergleich von Energieinhalten und chemischen Eigenschaften verschiedener Treibstoffe (Li et al., 2010)

Treibstoff	Energiedichte je Masse (MJ/kg)	Energiedichte je Volumen (MJ/L)	Durchschnittliche Oktanzahl
Otto-Kraftstoff	42,7	32,0	90
Diesel	45,5	38,7	
Ethanol	29,7	20,8	116

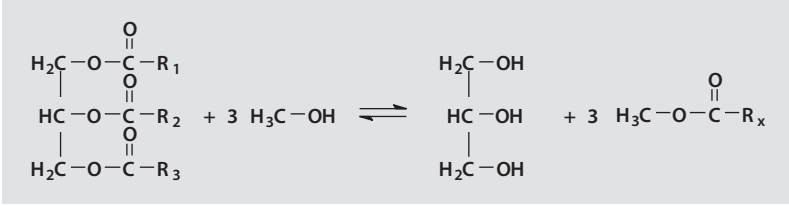


Abb. 18.16 Reaktionsablauf bei der katalytischen Umesterung von triglyceridischem Rapsöl zu den entsprechenden Fettsäuremethylestern

leicht Korrosion und leckende Dichtungen, außerdem verstopfen Filter. Bisher in Motoren eingesetzte Gummis und Kunststoffe lösen sich auf. Zudem kann es passieren, dass die Einspritzpumpe im Auto leidet.

Für die Nutzung von Biodiesel in Reinform ist die Freigabe des Motorherstellers erforderlich. In Mischungen ist Biodiesel bis 5 % ohne Anpassung des Motors einsetzbar.

Der Umwandlungsfaktor für Raps liegt bei etwa drei: Aus 3 kg Rapskorn entsteht 1 kg Biodiesel. Die Herstellungskosten liegen in Deutschland bei etwa 75 Cent pro Liter.

18.4.3 Biomass-to-Liquid-Kraftstoff

Biomass-to-Liquid (BTL)-Kraftstoff entsteht durch drei Verfahrensschritte: Zunächst wird Biomasse in einem Niedrigtemperaturverfahren zu Biokoks und teerhaltigem Gas mit hoher Energiedichte konvertiert. Aus diesem Ausgangsrohstoffen wird teerfreies Synthesegas (CO und H_2) hergestellt. In einem dritten Schritt entstehen aus dem Synthesegas nach dem Fischer-Tropsch-Verfahren an Eisen- und Kobalt-Katalysatoren flüssige Kohlenwasserstoffe.

Die Herstellungskosten werden auf etwa 60 Cent pro Liter in der Zukunft abgeschätzt.

BTL-Kraftstoff hat zahlreiche Vorteile: Er kann in herkömmlichen Otto- und Dieselmotoren eingesetzt werden, ohne dass sie dazu umgerüstet werden müssen.

Bei BTL-Kraftstoff geht man von einem Umwandlungsfaktor von fünf bei den effizientesten Rohstoffen aus, aus 5 kg Biomasse entsteht 1 kg BTL-Kraftstoff. Da die ganze Pflanze verwendet werden kann, ergibt sich eine bis zu drei Mal höhere Feldausbeute (Kraftstoff pro Hektar) als bei Biodiesel oder Bioethanol (Tab. 18.9).

18.5 Strom aus Mikroorganismen

Brennstoffzellen und im Zusammenhang mit ihnen der Wasserstoffwirtschaft wird allgemein eine große Zukunft prognostiziert. Gerade erneuerbare Energieträger könnten in diesem Bereich eine zentrale Rolle spielen. Völlig andere Wege werden beschritten, um analog zur Brennstoffzelle chemische Energie

Tab. 18.9 Gegenüberstellung herkömmliche und alternative Kraftstoffe

Kraftstoff	Infrastruktur vorhanden	Umrüstung der Motoren	Nachhaltigkeit
Benzin	Ja	Nicht notwendig	Keine
Diesel	Ja	Nicht notwendig	Keine
Bioethanol	Ja/nein	Notwendig	Ja
Biodiesel	Ja/nein	Notwendig	Ja
BTL-Kraftstoff	Nein	Nicht notwendig	Ja

ohne Verbrennung in elektrische Energie umzuwandeln.

Die sogenannte „Bio-Brennstoffzelle" bedient sich Mikroorganismen, aus deren Stoffwechsel Elektronen abgetrennt und einer Anode zugeführt werden.

Bio-Brennstoffzellen zur Erzeugung von elektrischer Energie aus reichlich vorhandenen organischen Substraten (auch Abfall oder Sedimentmaterial) können verschiedene Vorgehensweisen beinhalten.

18.5.1 Wasserstoff-Produktion in Bioreaktoren für konventionelle Brennstoffzellen

Mikroorganismen haben die Fähigkeit elektrochemisch aktive Substanzen zu produzieren, die metabolische Intermediate oder Endprodukte der anaeroben Atmung sind.

Für die Zwecke der Energiebildung werden diese Brennstoffsubstanzen an einer separaten Stelle produziert und dann in die Brennstoffzelle transportiert, um als Brennstoff verbraucht zu werden. In diesem Fall produziert der Bioreaktor den Brennstoff, das heißt der biologische Teil der Anlage ist nicht direkt in den elektrochemischen Teil integriert (Abb. 18.17). Dieser Aufbau erlaubt es, den elektrochemischen Teil unter Bedingungen laufen zu lassen, die nicht kompatibel mit dem biologischen Teil der Anlage sind. Die beiden Teile können sogar zeitlich unabhängig von einander betrieben werden. Der bei einem solchen Aufbau am häufigsten verwendete Brennstoff ist Wasserstoff, welcher den weit-entwickelten und hoch-effizienten H_2/O_2 Brennstoffzellen aus dem Bioreaktor zugeführt wird.

18.5.2 Mikrobielle Herstellung von Brennstoff im Anodenraum der Brennstoffzelle

Der Fermentationsprozess findet bei einem anderen Aufbau direkt im anodischen Kompartment der Brennstoffzelle statt, wobei die Anode *in situ* mit dem produzierten Fermentationsprodukt versorgt wird (Abb. 18.18). In diesem Fall werden die Bedingungen im anodischen Kompartment vom biologischen System bestimmt, sodass sie beträchtlich anders als in konventionellen Brennstoffzellen sind. Es liegt also eine wirkliche Bio-Brennstoffzelle vor und nicht eine Kombination aus Bioreaktor und konventioneller Brennstoffzelle. Dieser Aufbau beruht auch häufig auf der biologischen Produktion von H_2, doch die elektrochemische Oxidation des H_2 läuft in Gegenwart der biologischen Komponenten unter milden Bedingungen ab. Um anaerobe Bedingungen zu gewährleisten, sind Zellen auf der Anode in Gelen immobilisiert, das heißt die Fermentation von *Clostridium butyricum* findet direkt an der Oberfläche der Elektrode statt, sodass die Anode mit H_2 beliefert wird. Als Kathode wird häufig eine O_2-Elektrode eingesetzt.

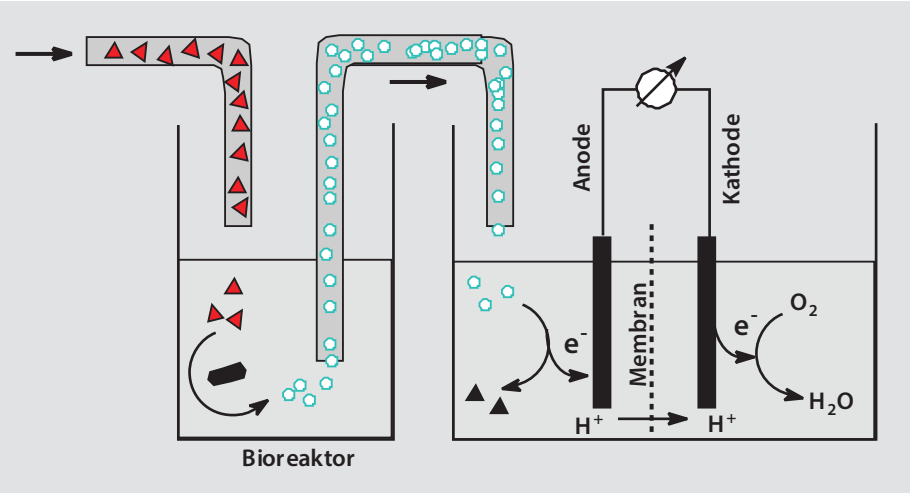


Abb. 18.17 Schematischer Aufbau einer Bio-Brennstoffzelle mit separatem Bioreaktor zur Herstellung des Brennstoffes und konventioneller Brennstoffzelle. Bildteile: Primärsubstrat (Glucose oder Klärabfall: Dreieck leer); Brennstoff (Kreis leer); oxidierter, verbrauchter Brennstoff (Dreieck voll)

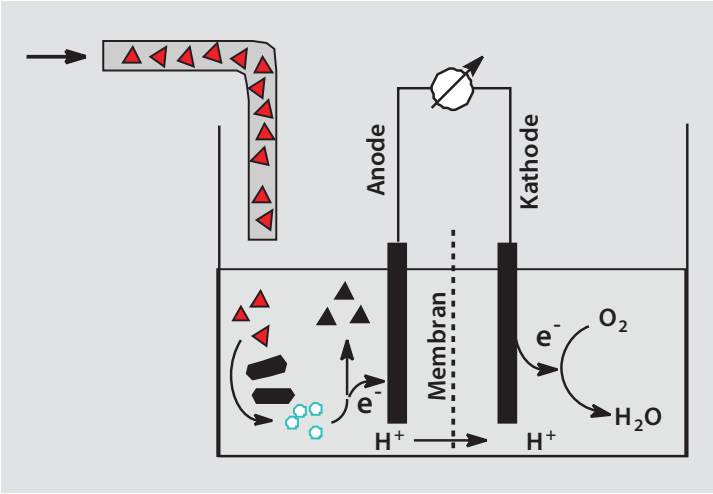


Abb. 18.18 Schematischer Aufbau einer Bio-Brennstoffzelle mit integrierter Herstellung des Brennstoffes im Anodenraum. Bildteile: Primärsubstrat (Glucose: Dreieck leer); Brennstoff (Kreis leer); oxidierter, verbrauchter Brennstoff (Dreieck voll)

18.5.3 Direkter Elektronentransport von der Zelle zur Elektrode

Das metallreduzierende Bakterium *Shewanella putrefaciens* hat Cytochrome in der äußeren Membran. Diese Elektronencarrier sind in der Lage einen anodischen Strom bei Abwesenheit eines terminalen Elektronenakzeptors (unter anaeroben Bedingungen) zu erzeugen. Dies ist ein Beispiel eines sogenannten mediatorfreien Elektronentransportes.

Bei *Geobacter* Spezies, weiteren Metallreduzierern, wurden elektronenleitende Pili, sogenannte Nanodrähte („Nanowires"), gefunden, die von den Bakterien produziert

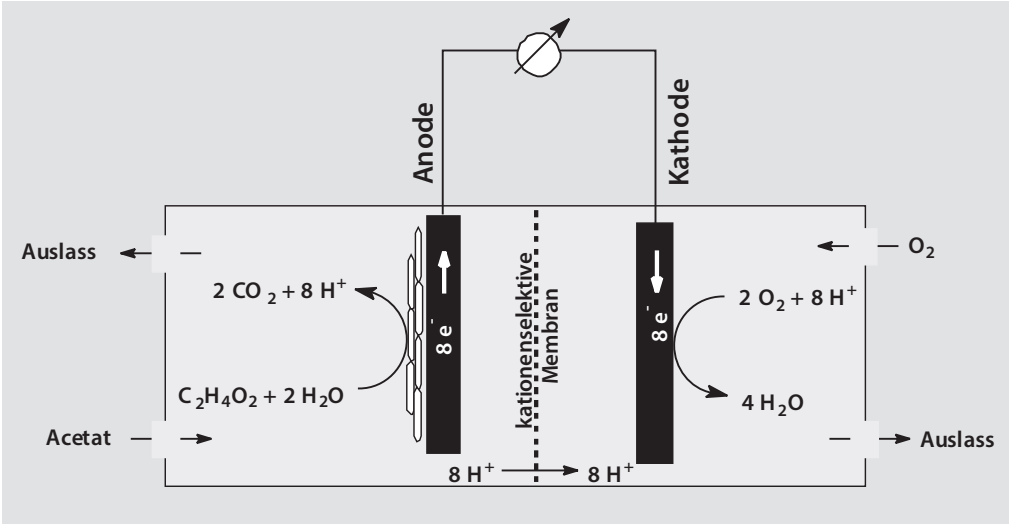


Abb. 18.19 Aufbau und Ablauf in einer Bio-Brennstoffzelle mit dem Electricigenen, *Geobacter,* als Elektronenlieferant

werden. Das Bakterium bildet auf Graphit-Elektroden einen Biofilm, ein mediatorfreier Elektronentransport findet statt, der sich in einer Bio-Brennstoffzelle nutzen lässt. Der Aufbau ist in Abb. 18.19 für *Geobacter* und den Treibstoff Acetat dargestellt.

18.5.4 Mediatoren zum Elektronentransport

Häufig werden chemische Mediatoren verwendet, um die Elektronen von der Elektronentransportkette aufzunehmen, um sie dann an die Anode der Brennstoffzelle zu transportieren. In diesem Fall unterscheidet sich der in den Organismen ablaufende Prozess klar von dem natürlichen, da der Elektronenfluss zur Elektrode und nicht zum natürlichen Elektronenakzeptor erfolgt.

Da die natürlichen Elektronenakzeptoren gewöhnlich sehr viel effizienter als diese Mediatoren sind, müssen sie aus dem System entfernt werden.

Die *in situ* elektrische Kopplung der in der mikrobiellen Zelle erzeugten Metabolite mit dem Elektrodensystem lässt sich auch durch diffusible Elektronenmediatoren gewährleisten.

Diese Redoxspezies mit kleinem Molekulargewicht können als Transportvehikel für Elektronen zwischen dem Inneren der Bakterien und der Elektrode dienen. Thionin ist besonders häufig als Mediator des Elektronentransportes mit *Proteus vulgaris* und *Escherichia coli* getestet worden (Abb. 18.20).

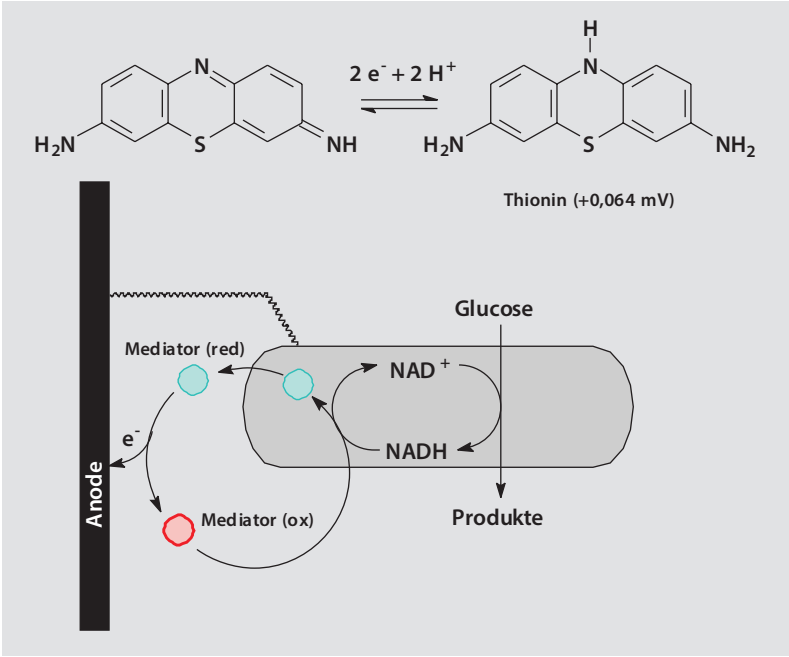


Abb. 18.20 Elektronentransport aus einer Zelle zur Anode mit einem niedermolekularen, diffusiblen Mediatormolekül. Der Organismus, hier *Proteus vulgaris,* ist kovalent an die Elektrode gebunden

Strom produzieren mit Cyanobakterien

Auf der Suche nach nachhaltigen Wegen für die Energieproduktion werden immer wieder Mikroorganismen oder aus ihnen extrahierte Biomoleküle ausprobiert. Systemen der Photosynthese wurden schon häufig genutzt, um vermittels Sonnenenergie Elektronen zu transferieren (McCormick et al., 2015, Larom et al., 2015, Pinhassi et al., 2016; Zhao et al., 2015; Efrati et al., 2016; Gizzie et al., 2015; Sekar et al., 2014; Sekar et al., 2016; Sawa et al., 2017). Isolierte Photo-Systeme wurden hierzu innerhalb einer bio-photoelektrochemischen Zelle verwendet, um elektrische Energie zu produzieren (Mershin et al., 2012; Yehezkeli et al., 2012; Efrati et al., 2013; Li et al., 2016; Zhao et al., 2014). Ein immobilisierter Mediator als exogener Elektronenakzeptor wurde dabei häufig verwendet (Zhao et al., 2015; Efrati et al., 2016; Yehezkeli et al., 2012; Zhao et al., 2014). Eines der Hauptprobleme bei der Verwendung isolierter Photosynthese Komplexe ist jedoch die relativ kurze Lebensdauer der biologischen Komponenten des Systems aufgrund von Schäden durch Radikale, die in den Reaktionszentren gebildet werden (Yao et al., 2012; McCormick et al., 2013). Die Verwendung von lebenden Zellen könnte aufgrund der Anwesenheit von Reparatursystemen, die Proteine der photo-geschädigten Photosynthese ersetzen können, dieses Problem beheben. Das Extrahieren von Elektronen aus lebenden Organismen ist jedoch kompliziert, da exogene Elektronenträger (Mediatoren) erforderlich sind, die die Membran durchdringen können, wie Ferricyanid, Cytochrom oder 2,6-Dichloro-1,4- Benzochinon (Pinhassi et al., 2016; Sekar et al., 2014; McCormick et al., 2013; Pinhassi et al., 2015; Larom et al., 2010; Calkins et al., 2013).
Um die genannten Schwierigkeit bezüglich isolierter Systeme zu überwinden, wurden mit einer unschädlichen sanften

physikalischen Behandlung cyanobakteriellen Zellen auf eine Graphitelektrode verbracht und der Lichtgesteuerte Elektronentransfer mittels eines zelleigenen endogenen Mediators zu der Elektrode in einer Biophotoelektrochemie Zelle ermöglicht (Saper et al., 2018). Der Zusatz von exogenen Elektronendonatoren oder -akzeptoren war nicht notwendig (McCormick et al., 2011; Sekar et al., 2016; Cereda et al., 2014; Wie et al., 2016).
Der Photostrom wird dabei vom Photosystem abgeleitet. Der Strom wird schließlich für die Wasserstoffentwicklung an der Kathode bei einer Vorspannung von 0,65 V genutzt. Es wurde also ein Aufbau eines Biophotoelektrochemie-Systems mit lebenden Cyanobakterien gezeigt, bei dem ein stabiler Photostrom zur Wasserstoff-Erzeugung genutzt werden kann.

Testen Sie Ihr Wissen

Welche Faktoren beeinflussen die Abbaubarkeit?
Sie wollen Baculoviren gegen Schadinsekten einsetzen. Wie eng ist das zeitliche Einsatzfenster?
Vergleichen Sie die verschiedenen (Bio) insektizide unter einander bezüglich Wirkgeschwindigkeit.
Warum sind die sehr hohen Komplexbildungskonstanten des EDTA problematisch, wenn Sie an die Abbaubarkeit denken?
Welche möglichen Probleme ergeben sich beim Einsatz von Pilzpräparaten gegen Insekten, da gleichzeitig auch Lebensmittelpflanzen beimpft werden könnten?
Was verstehen Sie unter PIUS?
Nennen Sie Bioinsektizide gegen Anopheles und die Kriebelmücke.
Durch welche Ereignisse ist *Bacillus thuringiensis* zum ersten Mal aufgefallen?
Welches ist der Vorteil der Bt-Endotoxine gegenüber dem β-Exotoxin? Beschreiben Sie den Wirkmechanismus beider Toxine.
Nennen Sie Bt-Pflanzen.
Welche Sekundärmetabolite können als Bioinsektizide eingesetzt werden?
Welche Meinung haben Sie zu QSAR bei der Beurteilung von Chemikalien bezüglich biologischer Abbaubarkeit?
Nennen Sie bisher nicht gelöste Probleme bei der Nutzung der mathematischen Abschätzungen der Abbaubarkeit.
Welche Wirkungskategorien werden bei einer Ökobilanz berücksichtigt?
Welche Form eines Biokraftstoffes lässt sich aus dem Rapskorn, welche aus der Gesamtpflanze erzeugen?
Beschreiben Sie Typen der Bio-Brennstoffzellen. Welche Funktion haben Mediatoren? Was sind Nanodrähte?
Informieren Sie sich in der angegebenen Literatur bezüglich Marktreife solcher Stromerzeuger.

Literatur

Anastas, P. T., Warner, J. J. 1998. *Green Chemistry: Theory and Practice.* Oxford University Press, New York, NY.

Calkins, J. O., Umasankar, Y., O'Neill, H., Ramasamy, R. P. 2013. High photoelectrochemical activity of thylakoid–carbon nanotube composites for photosynthetic energy conversion. Energy Environ. Sci. 6:1891–1900.

Cereda, A., Hitchcock, A., Symes, M. D., Cronin, L., Bibby, T. S., Jones, A. K. 2014. A bioelectrochemical approach to characterize extracellular electron transfer by *Synechocystis* sp. PCC6803. PLoS ONE 9, e91484.

Efrati, A., Lu, C.-H., Michaeli, D., Nechushtai, R., Alsaoub, S., Schuhmann, W., Willner, I. 2016. Assembly of photo-bioelectrochemical cells using photosystem I-functionalized electrodes. Nat. Energy 1:15021.

Efrati, A., Tel-Vered, R., Michaeli, D., Nechushtai, R., Willner, I. 2013. Cytochrome c-coupled photosystem I and photosystem II (PSI/PSII) photobioelectrochemical cells. Energy Environ. Sci. 6:2950–2956.

Gizzie, E. A., Niezgoda, J. S., Robinson, M. T., Harris, A. G., Jennings, G. K., Rosenthal, S. J., Cliffel, D. E.

2015. Photosystem I-polyaniline/TiO2 solid-state solar cells: simple devices for biohybrid solar energy conversion. Energy Environ. Sci. 8:3572–3576.

Larom, S., Kallmann, D., Saper, G., Pinhassi, R., Rothschild, A., Dotan, H., Ankonina, G., Schuster, G., Adir, N. 2015. The Photosystem II D1-K238E mutation enhances electrical current production using cyanobacterial thylakoid membranes in a biophotoelectrochemical cell. Photosynth. Res. 126:161–169.

Larom, S., Salama, F., Schuster, G., Adir, N. 2010. Engineering of an alternative electron transfer path in photosystem II. Proc. Natl Acad. Sci. USA 107:9650–9655.

Li, H., Cann, A. F., Liao, J. C. 2010. Biofuels: Biomolecular Engineering Fundamentals and Advances. Annu. Rev. Chem. Biomol. Eng. 1:19–36.

Li, J., Feng, X., Fei, J., Cai, P., Huang, J., Li, J. 2016. Integrating photosystem II into a porous TiO2 nanotube network toward highly efficient photobioelectrochemical cells. J. Mater. Chem. A 4:12197–12204.

McCormick, A. J., Bombelli, P., Scott, A. M., Philips, A. J., Smith, A. G., Fisher, A. C., Howe, C. J. 2011. Photosynthetic biofilms in pure culture harness solar energy in a mediatorless bio-photovoltaic cell (BPV) system. Energy Environ. Sci. 4:4699–4709.

McCormick, A. J., Bombelli, P., Bradley, R. W., Thorne, R., Wenzel, T., Howe, C. J. 2015. Biophotovoltaics: oxygenic photosynthetic organisms in the world of bioelectrochemical systems. Energy Environ. Sci. 8:1092–1109.

McCormick, A. J., Bombelli, P., Lea-Smith, D. J., Bradley, R. W., Scott, A. M., Fisher, A. C., Smith, A. G., Howe, C. J. 2013. Hydrogen production through oxygenic photosynthesis using the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803 in a biophotoelectrolysis cell (BPE) system. Energy Environ. Sci. 6:2682–2690.

Mershin, A., Matsumoto, K., Kaiser, L., Yu, D., Vaughn, M., Nazeeruddin, M. K., Bruce, B. D., Graetzel, M., Zhang, S. 2012. Self-assembled photosystem-I biophotovoltaics on nanostructured TiO2 and ZnO. Sci. Rep. 2:234.

Pinhassi, R. I., Kallmann, D., Saper, G., Dotan, H., Linkov, A., Kay, A., Liveanu, V., Schuster, G., Adir, N., Rothschild, A. 2016. Hybrid bio-photo-electro-chemical cells for solar water splitting. Nat. Commun. 7:12552.

Pinhassi, R. I., Kallmann, D., Saper, G., Larom, S., Linkov, A., Boulouis, A., Schöttler, M.-A., Bock, R., Rothschild, A., Adir, N., Schuster, G. 2015. Photosynthetic membranes of *Synechocystis* or plants convert sunlight to photocurrent through different pathways due to different architectures. PLoS ONE 10, e0122616.

Saper, G., Kallmann, D., Conzuelo, F., Zhao, F., Tóth, T. N., Liveanu, V., Meir, S., Szymanski, J., Aharoni, A., Schuhmann, W., Rothschild, A., Schuster, G., Adir, N. 2018. Live cyanobacteria produce photocurrent and hydrogen using both the respiratory and photosynthetic systems. Nat. Commun. 9:2168 | ► https://doi.org/10.1038/s41467-018-04613-x.

Sawa, M., Fantuzzi, A., Bombelli, P., Howe, C. J., Nixon, K. H. P. J. 2017. Electricity generation from digitally printed cyanobacteria. Nat. Commun. 8:1327.

Sekar, N., Jain, R., Yan, Y., Ramasamy, R. P. 2016. Enhanced photobioelectrochemical energy conversion by genetically engineered cyanobacteria. Biotechnol. Bioeng. 113:675–679.

Sekar, N., Umasankar, Y., Ramasamy, R. P. 2014. Photocurrent generation by immobilized cyanobacteria via direct electron transport in photobioelectrochemical cells. Phys. Chem. Chem. Phys. 16:7862.

Yao, D. C. I., Brune, D. C., Vermaas, W. F. J. 2012. Lifetimes of photosystem I and II proteins in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803. FEBS Lett. 586:169–173.

Yehezkeli, O., Tel-Vered, R., Wasserman, J., Trifonov, A., Michaeli, D., Nechushtai, R., Willner, I. 2012. Integrated photosystem II-based photo-bioelectrochemical cells. Nat. Commun. 3:742.

Zhao, F., Sliozberg, K., Rögner, M., Plumeré, N., Schuhmann, W. 2014. The role of hydrophobicity of Os-complex-modified polymers for photosystem 1 based photocathodes. J. Electrochem. Soc. 161:H3035–H3041.

Zhao, F., Conzuelo, F., Hartmann, V., Li, H., Nowaczyk, M. M., Plumeré, N., Rögner, M., Schuhmann, W. 2015. Light induced H2 evolution from a biophotocathode based on photosystem 1–Pt nanoparticles complexes integrated in solvated redox polymers films. J. Phys. Chem. B 119:13726–13731.

Weiterführende Literatur

Baker, J. R., Gamberger, D., Mihelcic, J. R., Sabljić, A. 2004. Evaluation of artificial intelligence based models for chemical biodegradability prediction. Molecules 9:989–1004.

Boethling, R. S., Lynch, D. G., Jaworska, J. S., Tunkel, J. L., Thom, G. C., Webb, S. 2004. Using BIOWIN™, bayes and batteries to predict ready biodegradability. Environ. Toxicol. Chem. 23:911–920.

Boethling, R. S., Lynch, D. G., Thom, G. C. 2003. Predicting ready biodegradability of premanufacture notice chemicals. Environ. Toxicol. Chem. 22:837–844.

Cokesa, Z., Knackmuss, H.-J., Rieger, P.-G. 2004. Biodegradation of all stereoisomers of the EDTA substitute iminodisuccinate by *Agrobacterium*

tumefaciens BY6 requires an epimerase and a stereoselective C-N lyase. Appl. Environ. Microbiol. 70:3941–3947.

de Maagd, R. A., Bravo, A., Crickmore, N. 2001. How *Bacillus thuringiensis* has evolved specific toxins to colonize the insect world. TRENDS in Genetics 17:193–199.

DIN EN ISO 14040: Umweltmangement – Ökobilanz – Grundsätze und Rahmenbedingungen; Deutsche und Englische Fassung EN ISO 14040:2009-11.

DIN EN ISO 14044: Umweltmangement – Ökobilanz – Anforderungen und Anleitungen; Deutsche und Englische Fassung EN ISO 14044:2006–10.

Eilks, J., Ralle, B., Krahl, J., Ondruschka, B., Bahadir, M. 2003. Biodiesel – eine Betrachtung aus technisch-chemischer Sicht. *In:* Green Chemistry – Nachhaltigkeit in der Chemie. (Gesellschaft Deutscher Chemiker, Hrsg.) Wiley-VCH, Weinheim, S. 39–54.

Fritsche, W. 1998. Umwelt-Mikrobiologie. Gustav Fischer Verlag, Jena.

Fritsche, W. 2002. Mikrobiologie. 3. Aufl. Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg.

Holmes, D. E., Nicoll, J. S., Bond, D. R., Lovley, D. R. 2004. Potential role of a novel psychrotolerant member of the family *Geobacteraceae*, *Geopsychrobacter electrodiphilus* gen. nov., sp. nov., in electricity production by a marine sediment fuel cell. Appl. Environ. Microbiol. 70:6023–6030.

Hoppenheidt, K., Mücke, W., Peche, R., Tronecker, D., Roth, U., Würdinger, E., Hottenroth, S., Rommel, W. 2005. Entlastungseffekte für die Umwelt durch Substitution konventioneller chemisch-technischer Prozesse und Produkte durch biotechnische Verfahren. 2005. Forschungsbericht 07/05 im Auftrage des Umweltbundesamtes.

Katz, E., Shipway, A. N., Willner, I. 2003. Biochemical fuel cells. *In*: Handbook of Fuel Cells – Fundamentals, Technology and Applications, W. Vielstich, H. A. Gasteiger, A. Lamm (eds.). Vol. 1: Fundamentals and Survey of Systems. John Wiley & Sons, Ltd, Chap. 21: pp. 1–26.

Liu, H., Grot, S., Logan, B. E. 2005. Electrochemically assisted microbial production of hydrogen from acetate. Environ. Sci. Technol. 39:4317–4320.

Logan, B. E. 2004. Extracting hydrogen and electricity from renewable resources. Environ. Sci. Technol. 38:160A–167A.

Logan, B. E., Hamelers, B., Rozendal, R., Schröder, U., Keller, J., Freguia, S., Aelterman, P., Verstraete, W., Rabaey, K. 2006. Microbial fuel cells: Methodology and technology. Environ. Sci. Technol. 40:5181–5192.

Lovley, D. R. 2006. Microbial energizers: Fuel cells that keep on going. Microbe 1:323–329.

Peijnenburg, W. J. G. M., Damborsky, J. 1996. Biodegradability prediction. Kluwer Academic Publ., Dordrecht.

Reguera, G., McCarthy, K. D., Mehta, T., Nicoll, J. S., Tuominen, M. T., Lovley, D. R. 2005. Extracellular electron transfer via microbial nanowires. Nature 435:1098–1101.

Reguera, G., Nevin, K. P., Nicoll, J. S., Covalla, S. F., Woodard, T. L., Lovley, D. R. 2006. Biofilm and nanowire production leads to increased current in *Geobacter sulfurreducens* fuel cells. Appl. Environ. Microbiol. 72:7345–7348.

Rieger, P.-G., Meier, H.-M., Gerle, M., Vogt, U., Groth, T., Knackmuss, H.-J. 2002. Xenobiotics in the environment: present and future strategies to obviate the problem of biological persistence. J. Biotechnol. 94:101–123.

Rorije, E., Peijnenburg, W. J. G. M., Klopman, G. 1998. Structural requirements for anaerobic biodegradation of organic chemicals: A fragment model analysis. Environ. Toxicol. Chem. 17:1943–1950.

Schmetterer, G., Alge, D., Gregor, W. 1994. Deletion of cytochrome c oxidase genes from the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC6803: Evidence for alternative respiratory pathways. Photosynth. Res. 42:43–50.

Schmutterer, H., Huber, J. 2005. Natürliche Schädlingsbekämpfungsmittel. Eugen Ulmer Verlag, Stuttgart.

Tunkel, J., Howard, P.H., Boethling, R.S., Stiteler, W., Loonen, H. 2000. Predicting ready biodegradability in the Japanese Ministry of International Trade and Industry Test. Environ. Toxicol. Chem. 19:2478–2485.

Wei, X., Lee, H., Choi, S. 2016. Biopower generation in a microfluidic bio-solar panel. Sens. Actuators B Chem. 228:151–155.

Zhang, L., Toscano Selão, T., Pisareva, T., Qian, J., Sze, S. K., Carlberg, I., Norling, B. 2013. Deletion of *Synechocystis* sp. PCC 6803 leader peptidase LepB1 affects photosynthetic complexes and respiration. Mol. Cell. Proteom. 12:1192–1203.

Weiße Biotechnologie: Chancen für Deutschland. 2004. Positionspapier der DECHEMA e. V.

Download für EPI Suite: ► http://www.epa.gov/opptintr/exposure/pubs/episuitedl.htm.

Informationen zu Baculoviren: ► http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ICTVdb/Ictv/fs_bacul.htm.

SMILES (simplified molecular-input line-entry system) Tutorial: ► http://www.epa.gov/med/Prods_Pubs/smiles.htm.
SMILES lassen sich leicht erzeugen mit Hilfe von PubChem Sketcher V2.4: ► http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/edit2/index.html.
MITI-Daten sind verfügbar unter: ► http://www.cerij.or.jp/ceri_en/otoiawase/otoiawase_menu.html, dann Go to "Public Information Data", then "BIODEGRADATION AND BIO ACCUMULATION DATA OF EXISTING CHEMICALS".
Studie zu Biokraftstoffen von Festel Capital: ► gunter.festel@festel.com.
Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe: ► www.biokraftstoffe-info.de.
Biokraftstoffe: ► http://www.fnr-server.de/cms35/Biokraftstoffe.817.0.html.
EU-Strategie für Biokraftstoffe: ► http://europa.eu.int/comm/agriculture/biomass/biofuel/index_en.htm.
Weltweit Biokraftstoffe: ► http://www.oecd.org/site/oecd-faoagriculturaloutlook/biofuelproduction2010-19.htm.

Denkanstöße

19.1 Nachhaltigkeit, der Begriff – 618

19.2 Nachhaltigkeit, Umweltmikrobiologie ein Beitrag – 618

19.3 Umwelt und Umweltmikrobiologie, Nachdenken – 619

Literatur – 630

© Springer-Verlag GmbH Deutschland, ein Teil von Springer Nature 2020
W. Reineke und M. Schlömann, *Umweltmikrobiologie,* https://doi.org/10.1007/978-3-662-59655-5_19

19.1 Nachhaltigkeit, der Begriff

Der Erhalt und die Erzeugung einer sicheren und sauberen Umwelt sind heute mit dem Begriff der **Nachhaltigkeit** belegt. Sie beinhaltet ein Konzept der Nutzung eines Systems, welches in seinen wesentlichen Eigenschaften erhalten bleiben soll und dessen Bestand auf natürliche Weise regeneriert werden kann. Den Begriff Nachhaltigkeit sollte man jedoch hinterfragen, da er sehr unterschiedlich benutzt wird. Interessen scheinen bei der mannigfaltigen Nutzung nicht unerheblich zu sein. Gemeinsam ist allen Nutzern, dass mit Nachhaltigkeit etwas Positives angedeutet wird, beziehungsweise werden soll. Manche Autoren stellen fest, dass aufgrund der vielfältigen Definition **Nachhaltigkeit** zu einem Gummiwort geworden sei. Im ursprünglichen Wortsinn („längere Zeit anhaltende Wirkung") und im übertragenen, ursprünglich forstwirtschaftlichen Sinn („forstwirtschaftliches Prinzip, nach dem nicht mehr Holz gefällt werden darf, als jeweils nachwachsen kann"), stammt das Wort von „nachhalten" mit der Bedeutung „längere Zeit andauern oder bleiben". Im heutigen Sprachgebrauch beinhaltet der Begriff, dass auch in anderen Bereichen etwas andauern, bleiben, nachwirken oder sein kann oder soll – noch lange, nachdem es gebaut oder in Bewegung gesetzt wurde.

Hans Carl von Carlowitz

„Wir können nicht wider die Natur, sondern nur mit ihr agieren."
Kaum jemand hat den Namen des Edlen Hans Carl von Carlowitz je gehört, der 1645 geboren wurde und zu einem mächtigen Beamten Kursachsens aufstieg. Von Carlowitz wirkte in Freiberg, der alten sächsischen Silberstadt an den Ausläufern des Erzgebirges.
Von Carlowitz veröffentlichte in einem dickleibigen Folioband seine *Sylvicultura Oeconomica*. Die Naturmäßige Anweisung zur Wilden Baum-Zucht – so lautet der Untertitel – gilt als das erste forstwissenschaftliche Werk. Es kreist um die Idee und den Begriff der Nachhaltigkeit. Die Nachhaltigkeitsidee ist überall, wo sie in der Geschichte auftaucht, ein Kind der Krise. Um 1700 sah man den sächsischen Silberbergbau in seiner Existenz bedroht. Man fürchtete nicht etwa die Erschöpfung der Lagerstätten. Das Problem, das man prognostizierte, war der Holzmangel.
In seinem Buch plädiert von Carlowitz für eine Reihe von Maßnahmen, um dem Problem zu begegnen: Die Verbesserung der Wärmedämmung beim Hausbau und die Verwendung von energiesparenden Schmelzöfen und Küchenherden, die planmäßige Aufforstung durch Säen und Pflanzen und nicht zuletzt die Suche nach Ersatz für das Holz. Von Carlowitz empfiehlt die Nutzung von Torf.

19.2 Nachhaltigkeit, Umweltmikrobiologie ein Beitrag

Schon 1994 wurde die Umweltbiotechnologie durch die OECD als eine Schlüsseltechnologie für die Vermeidung, das Auffinden und das Beseitigen von Umweltbelastungen angesehen, da sie aufgrund des breiten Anwendungsspektrums und der vielfältigen Methoden ein vielversprechendes Potenzial an umweltrelevanten Problemlösungen bietet.

Die OECD listete damals die fünf folgenden *Anwendungsperspektiven der Umweltbiotechnologie* auf, wobei zukünftige Priorität auf der Vermeidung von Umweltschäden liegen

sollte, wenngleich auch nachsorgende Umweltschutzmaßnahmen von Wichtigkeit sind.

- Analytik und Monitoring;
- Schadstoff- beziehungsweise Stoffbehandlung mit dem Ziel der Wieder- oder Weiterverwertung (value-added processes);
- Reinigung von Wasser, Boden und Luft durch biotechnische Prozesse (end-of-pipe processes);
- Produktionsintegrierte biotechnische Prozesse zur Herabsetzung der Abfallmenge/Emissionen beziehungsweise zur Verbesserung der Behandlungsmöglichkeiten der generierten Abfälle;
- Entwicklung von Biomaterialien mit geringeren Umweltbelastungen beim Herstellungsprozess.

Die Notwendigkeit von nachsorgenden Umweltschutzmaßnahmen durch biotechnologische Verfahren ist offensichtlich, da allein in Deutschland mehr als 300.000 Altlastenverdachtsflächen existieren. Gerade die Sanierung und Wiedernutzung tausender von Brachflächen in industriellen Schwerpunktregionen hat grundlegende Bedeutung für die volkswirtschaftliche Entwicklung und die Flächeninanspruchnahme.

Durch integrierten Einsatz biotechnologischer Verfahren und Produkte kann Umweltschutz im Sinne von Ressourcenschonung oder Umweltentlastung aber auch in anderen als den klassischen Bereichen (biotechnologische Verfahren der Abluft- und Abwasserreinigung sowie der Bodensanierung) geleistet werden, zum Beispiel in den Bereichen Gesundheit, Ernährung, Chemikalien und Landwirtschaft.

Nachhaltige Entwicklung stellt alle Wissenschaftsdisziplinen vor eine Aufgabe neuer Dimension. Für die Umweltmikrobiologie bedeutet dies, dass das Gebiet nicht allein als Teildisziplin der Mikrobiologie zu verstehen ist, sondern die Erkenntnisse der Mikrobiologie zur nachhaltigen Entwicklung beitragen sollen. Eine transdisziplinäre Sicht von Umweltproblemen ist notwendig.

Die im Detail häufig sehr komplexen Probleme bei der Anwendung von Umweltmikrobiologie in der Praxis können nur durch Forschungsaktivitäten unterschiedlicher Ausrichtung und verschiedener Disziplinen gelöst werden. Das Spannungsverhältnis zwischen grundlagen- und anwendungsorientierter Forschung wird bleiben. Es zeichnet sich ab, dass über das Interesse am mikrobiellen Schadstoffabbau neue fachübergreifende Perspektiven der Umweltforschung eröffnet werden. Die OECD (1994) wies auf die Notwendigkeit einer langfristig orientierten Grundlagenforschung im Umweltbereich hin. Nur so kann verhindert werden, dass eine zu enge Bindung der Forschung an „unmittelbare Praxis“ behindernd wirkt.

19.3 Umwelt und Umweltmikrobiologie, Nachdenken

Abschließend soll der Leser sich selbst anhand einiger in Vorlesungen und Seminaren gestellter kritischer Fragen, vorgebrachter Kommentare und Argumente zu Umweltchemikalien die Frage beantworten: Was hat Umweltmikrobiologie für die Bewältigung von Umweltproblemen anzubieten?

Seit wann Umweltchemikalien?

Die seit dem 19. Jahrhundert bekannte Substanz DDT wurde OECD 1994 von Paul Müller als hoch aktives Insektizid identifiziert. Müller wies nach, dass sie auf Stechmücken und andere Schadinsekten wirkte. DDT schien für den Menschen ungiftig zu sein und war darüber hinaus billig und leicht herzustellen. DDT wurde im zweiten Weltkrieg erfolgreich zur Bekämpfung gegen verschiedene Stechmückenarten eingesetzt, die Malaria verbreiten. Müller erhielt 1948 den Nobelpreis für Medizin.

Rachel Carson veröffentlichte 1962 ihr Buch „Der stumme Frühling", in dem sie vor einer Welt warnte, in der keine Vögel mehr singen. Carson machte darauf aufmerksam, dass durch den Einsatz von chlorhaltigen Chemikalien wie DDT, die Umwelt und auch der Mensch geschädigt werden. Die chemische Stabilität von DDT, die zunächst als wünschenswert angesehen worden war, ließ die Verbindung im Boden und Wasser lange überdauern. Es zeigte sich, dass sich DDT im tierischen und menschlichen Fettgewebe über Jahrzehnte anreichert. Besonders See- und Greifvögel, die am Ende der Nahrungskette stehen und sich von stark belasteten Nagern und Fischen ernähren, litten unter der Wirkung des Insektengiftes, wie Carson schrieb. Die Vögel produzierten aufgrund der Vergiftung so dünnschalige Eier, dass immer häufiger der Nachwuchs ausblieb. Einige Arten standen dadurch kurz vor dem Aussterben.

Die Substanz wurde ab 1972 in den USA und in anderen Industrieländern verboten.

Dies war der Anfang einer kritischen Beurteilung von Chemikalien in der Umwelt. Chloraromaten, mit den Beispielen DDT und PCBs, waren lange Zeit die Umweltchemikalien schlechthin. Diese Chemikalien gaben den Anstoß zum kritischen Nachdenken über Chemie.

Gilt das damals gesagte noch heute?

DDT wird in den Entwicklungsländern noch immer zur Malariakontrolle eingesetzt. Was halten Sie davon?

Wägen Sie Risiken und unterschiedliche Interessenlagen ab!

Welche Chemikalien sind in der gegenwärtigen Diskussion im Focus?

Chlorchemikalien

Generell gelten Chlorchemikalien als die „teuflischen" Chemikalien. Was sagt der Chemiker dazu?

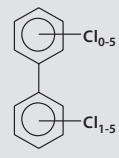
Chlorsubstituenten sind ein wichtiges Element in der Synthesechemie.

Es gilt zu unterscheiden zwischen unbewusster, unbeabsichtigter Freisetzung, wie sie bei Zwischenprodukten der Synthesechemie erfolgen kann, und bewusster, gewollter Freisetzung von Chemikalien wie bei Herbiziden und Insektiziden. Bei den zuletzt genannten ist eine schnelle Abbaubarkeit erforderlich. Die unbeabsichtigte Freisetzung von Chemikalien muss unterbleiben.

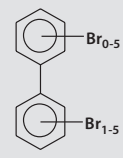
Die aufgeführten Kriterien gelten für alle Chemikalien. Chemikalien mit Chlorsubstituenten bilden also keine kritische Ausnahme.

Der Ruf nach Alternativen

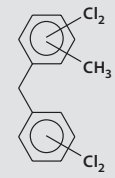
Gibt es unbedenkliche Alternativen zu bekannten Umweltchemikalien? Wurde Unkenntnis wie beim Ersatz von PCBs durch PBBs ausgenutzt? Ist Ugilec ein sinnvoller Ersatzstoff für PCBs?



PCBs



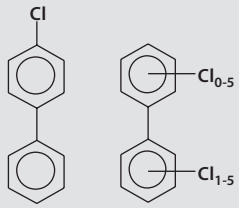
PBBs (FireMaster)



Ugilec141

Missverständnis

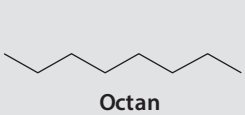
Stimmt es, dass der mikrobielle pCB-Abbau als PCB-Abbau missverstanden wurde? Beim pCB handelt es sich um *para*-Chlorbiphenyl und nicht, wie man denken könnte, um die Umwelt-relevanten polychlorierten Biphenyle, dem Gemisch aus bis zu 70 Kongeneren.

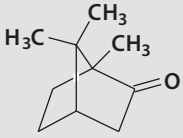


*p*CB PCBs

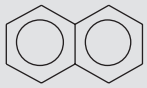
Superbugs

In den USA wurde 1981 ein Patent auf einen „Superbug" erteilt, das Öl fressen soll. Es handelte sich dabei um einen *Pseudomonas*-Stamm, in dem Plasmide gesammelt worden sind, die für den Abbau von Octan, Campher, Naphthalin und Xylol kodieren.
Es wurde behauptet, dass dieser Superbug sich „mit Heißhunger" auf giftige Erdölrückstände stürzen könnte, aber nie in der Umwelt zum Einsatz kam, da die Freisetzung gentechnisch veränderter Bakterien nicht erlaubt war.
Erdöl besteht aus einem Cocktail von hunderten Einzelsubstanzen.
Kann der Organismus mit seinem Abbaupotenzial die vorgegebene Aufgabe bewältigen? Gilt das aufgestellte einschränkende Argument bezüglich Gentechnik, wenn die Abbaueigenschaften auf natürlichem Wege mittels Konjugation in den Wirt gelangt sind?
Kürzlich wurde das marine Bakterium *Alcanivorax borkumnensis* der Öffentlichkeit als Erdölfresser vorgestellt. Gilt eine ähnliche Problematik mit dem Gemisch an Verbindungen auch hier, wenn dessen Abbaupotenzial sich auf Alkane beschränkt?

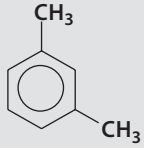




L-Campher



Naphthalin



m-Xylol

Nachwachsende Rohstoffe: Klima-neutral?

Nachwachsende Rohstoffe sind CO_2-neutral. Sind sie deshalb auch klima-neutral? Damit eine genügende Menge an Biomasse erzeugt werden kann, muss gedüngt werden. Die bei Staunässe einsetzende Denitrifikation bei Düngung kann zur N_2O-Bildung führen. N_2O ist ein etwa 300fach stärkeres Treibhausgas als CO_2. Gibt es eine vollständige Ökobilanz, die eine objektive Bewertung des Nutzens der nachwachsenden Rohstoffe unter Einbeziehung der N_2O-Problematik darstellt?

Nachwachsende Rohstoffe: Tank oder Teller?

In Deutschland wurden im Jahr 2011 nachwachsende Rohstoffe auf einer geschätzten Fläche von ca. 2,3 Mio. ha angebaut. In Anbetracht der gesamten Agrarfläche in Deutschland von ca. 17 Mio. ha ist dies ein erheblicher Teil, der nicht mehr für die Nahrungs- oder Futtermittelproduktion zur Verfügung steht.

Reichen die für die Erzeugung der Biomasse für Energieerzeugung notwendigen Anbauflächen in Deutschland aus?

Bio-Kraftstoff

Steigende Ölpreise beleben immer wieder die Diskussion über die Möglichkeit der Energieerzeugung mittels Biotechnologie.Die unterschiedlichen Aspekte von Biotechnologie bezüglich Umweltrelevanz sind für das Beispiel Bioethanol als Kraftstoff offensichtlich: In Brasilien wurde gezeigt, dass Umweltbelastung durch Abwasser und Bodenerosion mögliche Folgen der Herstellung sein können. Die organische Schmutzfracht der Abwässer pro produziertem Liter Ethanol entsprach etwa 4 Einwohnerwerten.
Bringt man ökonomische Gesichtspunkte in die Diskussion, so zeigt eine Marktstudie von 2006 folgendes: Nimmt man die deutsche Mineralölsteuer von 65,4 EUR Cent pro Liter Benzin und 47 EUR Cent pro Liter Diesel sowie einen Preis von US$ 60 pro Barrel Rohöl für die Benzin- und Dieselproduktion, so ist die Produktion von Biodiesel oder Bioethanol aus Weizen in Europa nicht profitabel. Zurzeit kann auch BTL-Kraftstoff nicht konkurrenzfähig produziert werden.
Bei dem gegenwärtigen Ölpreis hat nur die Bioethanol- und Biobutanolproduktion im großtechnischen Maßstab aus lignocellulose-haltigem Rohmaterial das Potenzial, konkurrenzfähig zu sein. Auf mittlere Sicht kann in Europa das aus Stroh produzierte Biobutanol einen kosten-günstigen Biokraftstoff liefern, wobei eine angemessene Verdienstspanne auch ohne Steuerbefreiung erreicht werden kann.
Ab 1. Januar 2007 gelten in Deutschland verbindliche Biokraftstoffquoten für Benzin und Diesel. Jeder Liter Benzin und Diesel muss dann einen Mindestanteil Biokraftstoff enthalten, bei Benzin zunächst 1,2 %. Der Gesamtanteil von Biokraftstoff bei Benzin und Diesel soll bis zum Jahr 2015 auf 8 % steigen.

Abwehr oder Beseitigung von Gefahren durch Chemikalien mittels Mikroorganismen

Kurzfristiges Ziel ist die Gefahrenabwehr im Abwasserbereich durch Kläranlagen. So wird die Eutrophierung der Gewässer vermieden. So wird vermieden, dass Chemikalien das Ökosystem Gewässer kontaminieren. Die Reinigung von Böden, die durch Ölunfälle kontaminiert sind, ist eine weitere etablierte Methode, die jedoch eher mittelfristig mit einem Zeitbedarf von Monaten einzuordnen ist. Liegt keine unmittelbare Gefahr durch eine Kontamination vor, so kann man sich auf das Beobachten beschränken. Das Ziel bei alten Kontaminationen ist es, den Naturzustand wieder herzustellen. Fragen sind zu beantworten, warum Natural Attenuation bisher nicht stattgefunden hat. Was hat der mikrobiellen Population zum Funktionieren im Grundwasser, im Boden gefehlt, sodass die Kontamination noch besteht?
Muss es immer Totalabbau sein, um Probleme durch Umweltchemikalien zu beseitigen?

Persistenz und Bioverfügbarkeit

Warum zeigt eine Substanz Persistenz?
Die Beachtung der physiko-chemischen Eigenschaften der Verbindungen, die eine Kontamination verursachen, sollte bei der Beurteilung von mikrobiellen Prozessen an den Anfang gestellt werden. So ist häufig die Frage schon beantwortbar, ob die Unfähigkeit der Mikroorganismen alleinige Ursache für fehlenden Abbau ist. Bei den PAKs ist die schlechte Bioverfügbarkeit Ursache für den Verbleib der Chemikalien am Standort.
Bei der eingeschränkten Bioverfügbarkeit der PAKs bei Bodenkontamination ist zu fragen, ob das Toxizitätspotenzial für den Menschen, die Tendenz zur Schädigung aus solchen Quellen vorhanden ist. Ist eine Reduzierung der Mengen im Grundwasser/Boden durch mikrobiologische Systeme möglich oder überhaupt nötig?
Es sind nicht (wie ursprünglich angenommen) Strukturmerkmale, sondern häufig physiko-chemische Eigenschaften für den langen Verbleib einer Chemikalie in der Umwelt verantwortlich.

Gedanken zur Abbaubarkeit

Es sind oft die Umstände, wie zum Beispiel das Fehlen von Stickstoff, Phosphat oder Sauerstoff, die für den Verbleib einer Chemikalie in der Umwelt verantwortlich sind. Die wichtige Frage ist deshalb: Wohin wandern die Chemikalien, wo halten sie sich auf, verlassen sie die eigentlich für Abbau günstigen Ökosysteme?
Es ist wichtig zu wissen, dass chemische Gruppen die Abbaubarkeit unter aeroben und anaeroben Bedingungen unterschiedlich beeinflussen können.
Umweltchemikalien können in falsche, anaerobe Umweltbereiche gelangen, sodass sich der prinzipiell mögliche aerobe Abbau nicht ereignen kann.
Was halten Sie von dem häufig geäußerten Vorschlag, Nitrat als „Sauerstoff-Ersatz" bei der *in situ* Bodensanierung einzusetzen?
Uns fehlen generell Daten zum Abbau von Umweltchemikalien in anoxischem Milieu, sowie die zur Ermittlung notwendigen Testsysteme.
Eine wichtige Feststellung ist, dass Abbaubarkeit nichts absolutes ist! Es werden Grenzen durch Gremien definiert/festgelegt. So wird eine Aussage über Abbau in einem kurzen Zeithorizont ermittelt.
Die Frage ist: Sind die die Ökosysteme negativ beeinflussenden Effekte während des Verbleibs einer Chemikalie zu erwarten?
Liegt die Substanz so in der Umwelt vor und sind die Konzentrationen hoch genug, um solche Effekte befürchten zu müssen?
Was besagt die Kenntnis „Es gibt Organismen, die aus Umweltmedien im Labor isoliert worden sind" über die Abbaubarkeit in der Umwelt aus? Es sagt nur: Es gibt mikrobielle Katalysatoren, die man bei höheren Konzentrationen einsetzen könnte zum Beispiel zur Bioaugmentation bei der Bodensanierung oder in einer Kläranlage.

Methan: Ein beeinflussbares Treibhausgas?

Kann man an den Einflüssen von mikrobiellen Systemen auf globale Abläufe etwas ändern, sie steuern?
Wenn auf der Welt mehr Sümpfe entstehen, zum Beispiel durch Tauen der Permafrostgebiete, so wird es zu einer erhöhten nicht beeinflussbaren Methanfreisetzung kommen. Die Vergrößerung der Fläche an Reisfeldern sowie der Rinderherden hingegen liegt in der menschlichen Einfluss-möglichkeit. Kürzlich wurde von der Möglichkeit berichtet, dass auch Pflanzen Methan emittieren.
Wenn dieser Sachverhalt sich bewahrheitet, gibt es dann überhaupt irgendwelche Möglichkeiten auf den Methan-bedingten Treibhauseffekt Einfluss zu nehmen?

Im Hinblick auf die Freisetzung von Schadstoffen hat sich vieles zum Positiven hin verändert

Das Chemikaliengesetz sieht seit Jahren Abbaubarkeitsuntersuchungen vor.
Eine Reihe von persistenten Chemikalien wurde aus dem Verkehr gezogen.
Die unabsichtliche Freisetzung von Chemikalien in Betrieben oder an Tankstellen durch Leckagen, Verschütten oder „Entsorgung" wurde drastisch reduziert.

Ein guter Indikator für die Belastung der Umwelt mit Chemikalien ist die Muttermilch. Es wird festgestellt, dass „nicht nur die Belastung mit Pestiziden, sondern auch die mit langlebigen Substanzen wie PCBs zurückgeht: Die heutigen Mütter und Väter sind damit erheblich weniger belastet als noch die Generation ihrer Eltern".

Ist durch die aufgeführten Maßnahmen damit fast alles in Ordnung? Lässt sich der Rest mit produkt- oder produktionsintegriertem Umweltschutz regeln?
Ist die erforderliche Wirkung (Wirkungsdauer) von Produkten immer vereinbar mit guter Abbaubarkeit?
Ist Abbaubarkeit ein wichtiges Kriterium bei Medikamenten?

Prozesse als Black-Box

Braucht man auch in Zeiten knapper Kassen Umweltmikrobiolologie? Geht es nicht auch ohne das „gründlichere Verständnis" der Prozesse?
Haben die Ingenieure das Abwasser nicht seit 100 Jahren ordentlich gereinigt, ohne genau zu wissen, welche Mikroorganismen in der Kläranlage sind?
Erledigt „Natural Attenuation" nicht den „Rest" bei der Beseitigung von Kontaminationen?Können Umweltwissenschaftler ihre Modelle nicht auch einfach auf Basis von Summenparametern machen?

Forscher erteilen Bioenergie klare Absage

Biosprit ist erneut in die Kritik von Wissenschaftlern geraten: Umweltverbände haben eine Studie des Londoner Institutes for European Environmental Policy (IEEP) kommentiert. Biosprit sei „schädlicher für das Klima als die fossilen Energien, die es ersetzen soll". Demnach wird der steigende Einsatz von Biosprit in Europa zu einem Anstieg der klimaschädlichen CO_2-Emissionen führen, weil für die Produktion der Agrotreibstoffe weltweit riesige Flächen in zusätzliches Ackerland umgewandelt werden müssten. Die IEEP-Forscher untersuchten die offiziellen Pläne von 23 EU-Mitgliedstaaten zum Ausbau der erneuerbaren Energien bis 2020. Deutschland werde dann 5,5 Mio. t Biosprit pro Jahr dem Benzin und Diesel beimischen und damit im Verbrauch Spitzenreiter vor Großbritannien, Frankreich und Spanien sein.
Insgesamt sollen 2020 in Europa 9,5 % der Energie für den Verkehr aus Biosprit bestehen, der fast vollständig aus Ölsaat, Palmöl, Rohr- und Rübenzucker sowie Weizen produziert werde. Dafür müssten laut Studie weltweit bis zu 69.000 Quadratkilometer Wald, Weiden und Feuchtgebiete als Ackerland kultiviert werden – eine Fläche mehr als zweimal so groß wie Belgien.
Als Folge würden jährlich bis zu 56 Mio. t CO_2 freigesetzt werden. Das entspreche zusätzlichen 12 bis 26 Mio. Autos auf Europas Straßen.

Der Temperaturanstieg macht seit 15 Jahren eine Pause

Das Klima hat sich zuletzt anders entwickelt als vorhergesagt: Seit 15 Jahren stockt die Erwärmung, der Aufwärtstrend der globalen Durchschnittstemperatur hat sich seit 1998 nicht fortgesetzt.
Es wird sogar neuerdings prognostiziert, dass sich trotz des rapide zunehmenden Ausstoßes von Treibhausgasen die Temperaturpause auf hohem Niveau bis Ende 2017 fortsetzen könnte.
Bislang meinten Wissenschaftler, vierzehn Jahre ohne weitere Erwärmung seien mit ihren Prognosen in Einklang zu bringen – nicht aber „15 Jahre oder mehr".
Mehrere mögliche Ursachen des Temperaturstillstandes werden diskutiert:

- **Ozeane schlucken mehr Wärme als gedacht.**
- **Trockene Stratosphäre:** Seit dem Jahr 2000 ist die Stratosphäre deutlich trockener geworden. Wasser in der Höhe wärmt den Boden indirekt, da Wassertropfen eine Rückstrahlung der Wärme bewirkt. Man kalkuliert, dass durch die Trockenheit die Temperatur in Bodennähe um ein Viertel langsamer gestiegen ist.
- **Abgase in Asien:** Schwefelhaltige Abgase der aufstrebenden Industrieländer China und Indien wirken als Sonnenschirm. Um ein Zehntel Watt pro Quadratmeter bremse die Schwefelglocke die Erwärmung. Damit würde die CO_2-getriebene Erwärmung zu einem Drittel abgeschwächt.
- **Kaltwasserflut im Pazifik:** Für die größten Ausschläge der Globaltemperatur nach unten sind Jahre mit La Niña verantwortlich. La Niña ist ein Wetterereignis, welches meist alle paar Jahre im Anschluss an ein El Niño-Ereignis auftritt. Im Pazifik taucht dabei eine Flut kühlen Wassers an die Oberfläche. Auffrischende Passatwinde treiben das vor der Küste von Peru aufsteigende kalte Tiefenwasser, dessen Temperatur bis 3 °C unter der Durchschnittstemperatur liegt, an der Oberfläche von Osten nach Südostasien. Seit 1998 sind drei La Niñas aufgezogen und haben die Erwärmung zweifellos gebremst.

Die Nationale Akademie der Wissenschaften Leopoldina legt kritische Stellungnahme zur Nutzung von Bioenergie vor

In einer Stellungnahme zu den Grenzen und Möglichkeiten der Nutzung von Bioenergie kommt die Leopoldina-Arbeitsgruppe „Bioenergie" zu dem Schluss, dass Bioenergie als nachhaltige Energiequelle für Deutschland heute und in Zukunft keinen quantitativ wichtigen Beitrag zur Energiewende leisten kann.
Sie kritisieren, dass der Anbau von Ölpflanzen in Deutschland wesentlich mehr Fläche verbrauche als andere regenerative Energiequellen.
Auch weisen sie darauf hin, dass bei der Produktion von Biotreibstoffen klimaschädliche Gase entstehen und der Anbau der Pflanzen die Nährstoffbelastung der Böden und Gewässer fördert.
Die Leopoldina-Forscher meinen, dass man Pflanzen für Bioenergie hierzulande nur anbauen sollte, wenn Nahrungsmittel- und Bioenergie-Produktion kombiniert werden könnten.
Im Vergleich zu anderen erneuerbaren Energieressourcen wie der Photovoltaik, der Solarthermie und der Windenergie verbrauche Bioenergie mehr Fläche und sei häufig mit höheren Treibhausgasemissionen und Umweltbeeinträchtigungen verbunden. Zudem konkurriere Bioenergie potenziell mit der Herstellung von Nahrungsmitteln.
Vorrang solle der Einsparung von Energie sowie der Verbesserung der Energieeffizienz gegeben werden.
Die Stellungnahme erklärt, unter welchen Bedingungen die Nutzung von Bioenergie begrenzt sinnvoll sein kann. Sie thematisiert, welche Umwandlungsmöglichkeiten von Biomasse zu Biokraftstoffen, wie Bioethanol und Biodiesel, bestehen und sich in

Entwicklung befinden. Sie zeigt zudem Forschungswege auf, die darauf abzielen, mit Sonnenenergie aus Wasser umweltfreundlich und nachhaltig Wasserstoff zu erzeugen.

Der Bioökonomierat, der die Bundesregierung berät, hat vor kurzem erklärt, dass 23 % der in Deutschland verbrauchten Energie im Jahr 2050 durch Bioenergie abgedeckt werden könnte, vornehmlich allerdings über Importe. Auch die Europäische Union will bis 2020 zehn Prozent des Treibstoffes für Transportzwecke aus erneuerbaren Energiequellen bereitstellen.

ISAAA-Report 2012: Der Anbau von gentechnisch veränderten Nutzpflanzen wächst überall, auch in Europa

Die neu entwickelte Kartoffelsorte Amflora® bildet aufgrund einer gentechnischen Veränderung eine Stärke aus, die vollständig aus Amylopektin besteht. Somit wird eine optimierte stoffliche Nutzung für die Herstellung von Papier, Textilien oder Klebstoff ermöglicht. Bei herkömmlicher Stärke ohne gentechnische Verfahren ist eine aufwändige Entfernung des zweiten Stärkepolymers, der Amylose, erforderlich.
Die Vorteile der Amflora-Kartoffel liegen im zusätzlich geschaffenen Wert für Landwirte und Stärkeindustrie. Der Einsatz von Amflora – zum Beispiel bei der Herstellung von Papier – **soll Energie, Wasser und Rohstoffe einsparen.**
Frage: Welche Gründe wurden genannt, um die Erlaubnis des Anbaus dieser Pflanzen in Europa zurückzuziehen? (◘ Tab. 19.1).

◘ **Tab. 19.1** Anbauländer für gentechnisch modifizierte Pflanzen im Jahre 2011. (Clive James, ISAAA Report 2012)

Rang	Land	Fläche in Mio Hektar	Angebaute Pflanzen
1	USA	69,0	Mais, Soja, Baumwolle, Raps, Kürbis, Papaya, Alfalfa, Zuckerrübe
2	Brasilien	30,3	Mais, Soja, Baumwolle
3	Argentinien	23,7	Mais, Soja, Baumwolle
4	Indien	10,6	Baumwolle
5	Kanada	10,4	Mais, Soja, Raps, Zuckerrübe
6	China	3,9	Baumwolle, Pappeln, Tomaten, Petunien, Paprika, Papaya
7	Paraguay	2,8	Soja
8	Pakistan	2,6	Baumwolle
9	Südafrika	2,3	Mais, Soja, Baumwolle
10	Uruguay	1,3	Mais, Soja
29	Deutschland	<0,1 Mio (2 ha)	Kartoffel

Ein Schöpfungsakt – Künstliches Leben – Leben aus der Retorte?

Eines der Ziele der Synthetischen Biologie ist die Erschaffung von synthetischen Zellen, deren Genomsequenz am Computer entworfen, mittels chemischer Synthese nachgebaut und in einer zellulären Umgebung zum Leben erweckt werden soll. In den Labors des Venter Institutes in Rockville und San Diego, USA, erschufen Wissenschaftler einen Mikroorganismus, der vollständig von künstlich synthetisiertem Erbgut kontrolliert wird. Die Arbeitsgruppen berichteten über die chemische Synthese eines 1,08 Megabasenpaare großen *Mycoplasma mycoides*-Genoms. Das chemisch synthetisierte Genom wurde in eine *Mycoplasma capricolum*-Zelle transplantiert und dort die Ausbildung einer neuen *Mycoplasma mycoides*-Zelle veranlasst. In der neuen *M. mycoides*-Zelle liegt wie eine Prothese nur das synthetisierte Genom vor, das Erkennungssequenzen und kleinere gewollte und nicht gewollte Abweichungen von der Original-Genomsequenz enthält. Die neuen Zellen sind selbstreplizierend und zeigen die erwarteten phänotypischen Eigenschaften (kurz beschrieben und kommentiert von Pühler, 2010).

In effekthascherischer Weise griffen praktisch alle wichtigen internationalen Medien die Veröffentlichung von Craig Venter und seinem Team auf. „Künstlich programmierte Zellen", erklärte Venter, „könnten die Prinzipien des Lebens deutlich machen und **ganz nebenbei** die Welt von Energieproblemen befreien, Arzneimittel produzieren oder **verseuchte Böden reinigen**" (aus DIE ZEIT 27.05.2010). *Wieso werden die folgenden bei einer Bodenreinigung auftretenden Probleme durch den Einsatz von künstlicher DNA eliminiert? 1) Chemikalien treten in der organischen Bodenmatrix und nicht in der Wasserphase aufgrund von physiko-chemischen Eigenschaften auf. Sie sind also dem mikrobiellen Zugriff entzogen. 2) Dem mikrobiellen Abbau laufen Umweltbedingungen zuwider, wie das Fehlen des für eine Reaktion wichtigen Sauerstoffs. Weiß Venter, wissen seine Informatiker etwas von der Chemie des Abbaus von Chemikalien? Weiß Venter etwas über die Lebensbedingungen von speziellen Mikroorganismen, ohne die der Abbau nicht existieren kann?*

Umweltbewusstsein

Kaum hatte sich die UNO beim Erdgipfel in Rio 1992 auf den Anspruch geeinigt, in den Grenzen des Wachstums und mit Rücksicht auf kommende Generationen zu wirtschaften, da wurde der Begriff Nachhaltigkeit auch schon verwässert, verbogen, verkürzt oder fürs *greenwashing* missbraucht. Der Begriff Greenwashing umfasst die Gesamtheit aller werberelevanten Maßnahmen im Rahmen einer Marketingkampagne beziehungsweise der Öffentlichkeitsarbeit eines Unternehmens, die Verbrauchern und Anteilseignern suggerieren soll, dass bei der täglichen Arbeit eine ökologische Philosophie berücksichtigt, gefördert und wahrgenommen wird. „Wem zu den globalen Krisen gar nichts mehr einfalle, der rede von Nachhaltigkeit", sagte einmal mit bitterem Spott der langjährige Chef der UN-Umweltorganisation, Klaus Töpfer.

Bakterielles Mikrobiom von Küchenschwämmen

Küchenschwämme bestehen überwiegend aus Schaumstoff, wie Polyurethan. Ihre durch zahlreiche Poren riesige innere Oberfläche bietet Mikroorganismen viel Platz zum Wachsen. Studien, die bisher auf Küchenschwämmen durchgeführt wurden, haben weitgehend kultivierungsabhängige Ansätze verwendet, die sich oft auf spezifische mikrobielle Zielgruppen konzentrieren.

Oft wurde das Wachstum auf selektiven Medien nicht weiter bestätigt, zum Beispiel durch 16S-rRNA-Gen-Sequenzierung. Das bakterielle Mikrobiom von gebrauchten, inländischen Küchenschwämmen wurde durch Hochgeschwindigkeits-16S-rRNA-Gen-Sequenzierung umfassend analysiert, um die tatsächliche taxonomische Assemblage und Vielfalt zu entschlüsseln und den Einfluss ausgewählter intrinsischer (schwammspezifischer) und extrinsischer (Schwammnutzung-spezifische) Faktoren auf der Mikrobiomstruktur zu beurteilen. Das pathogene Potential der Schwammmikrobiota sollte abgeschätzt werden. Das räumliche Verteilungsmuster von Bakterien im Küchenschwammgewebe sollte durch 3D-Mikroskopie mittels Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung in Kombination mit konfokaler Laser-Scanning-Mikroskopie (FISH-CLSM) untersucht werden, um die Sequenzdaten zu ergänzen und zu validieren. Die Arbeit zeigt, dass Küchenschwämme eine höhere bakterielle Vielfalt als bisher gedacht haben, basierend auf kultivierungsbasierten Studien, und dass menschliche Pathogene nur eine Minderheit ihres Mikrobioms darstellen. Entdeckt wurden 362 verschiedene Arten von Bakterien. Fünf der zehn häufigsten gefundenen Arten gehören in die sogenannte Risikogruppe 2, das bedeutet sie sind potentiell pathogen. Dabei handelt es sich um Umwelt- und Wasserbakterien, aber auch um Bakterien, die typisch für die menschliche Haut sind. Fäkalbakterien und Lebensmittelvergifter oder Durchfallerreger hingegen wurden kaum nachgewiesen. Teils erreichten die Bakterien Dichten mehr als 5×10^{10} Zellen pro cm^3. Das sind Konzentrationen, wie man sie sonst nur noch in Fäkalproben findet. Die hohen Dichten erklären sich mit den optimalen Lebensbedingungen, die Bakterien im Schwamm finden: neben der großen Oberfläche zum Aufwachsen, viel Feuchtigkeit und viele Nährstoffe, etwas aus Lebensmittelresten und Schmutz.
Besonders bedenklich war, dass in Schwämmen, die laut ihrer Nutzer regelmäßig gereinigt wurden, etwa in der Mikrowelle oder durch Auswaschen, sich deutlich höhere Anteile der potentiell pathogenen Bakterien zeigten, vermutlich aufgrund einer höheren Stresstoleranz.

Plastik im Meer

Synthetische organische Polymere kamen erst in den 1950er Jahren in großem Umfang zum Einsatz. Bis zum Jahr 2015 war die weltweite Produktion auf 322 Millionen Tonnen (Mt) pro Jahr angestiegen.
Etwa die Hälfte wird für Verpackungen und andere Einwegartikel verwendet. 40% der Kunststoffabfälle gelangen nicht in geordnete Deponien oder Recyclinganlagen.
4,8–12,7 Mt pro Jahr landen als makroskopischer Abfall und Mikroplastikpartikel im Ozean, wo das Plastik nur sehr schlecht entfernt werden kann. Es sammelt sich in Organismen und Sedimenten und verbleibt dort viel länger als an Land.
Mehr als 140 Mt Plastikmüll treiben inzwischen in fünf riesigen Strudeln durch die Meere. Ein Großteil des Plastikmülls in den Ozeanen stammt aus Flüssen. Mit Abstand am meisten Plastikmüll hat der Jangtse – der längste Fluss Chinas – in die Ozeane gespült, schätzungsweise 333.000 t. Auf dem zweiten Rang folgt der Ganges mit etwa 115.000 t. Laut Schätzungen stammen 86 % des Plastiks, das über Flüsse in die Ozeane gelangt, aus Asien – vor allem aus China. Zum Vergleich: Flüsse in Afrika trugen knapp 8% zur Verschmutzung der Weltmeere mit Kunststoff bei, europäische 0,28 % (Lebreton et al., 2017).
Plastikmüll gehört aber auch zum Alltag des Spülsaums an fast allen Stränden der Welt. Noch schlimmer als alte Wasserflaschen oder Tüten sind die Dinge, die man nicht sieht. Ein schöner Sandstrand besteht heutzutage leider nicht mehr nur aus Sand. Er ist durchsetzt mit winzig kleinen Plastikteilen. Woher kommt das **Mikroplastik**, welches die Nahrungskette im Meer belastet?
Nach einer Studie von Browne et al. (2011) könnte ein Großteil der

Mikroplastikfasern durch das Waschen von Textilien und so über das Abwasser ins Meer gelangen.
Probleme durch Mikroplastik können auch für Süßwasserumgebungen von Belang sein. Die Freisetzung von Mikroplastik erfolgt aus einer Vielzahl von Quellen, einschließlich Emissionen aus Abwasserbehandlungsanlagen und durch den Abbau größerer Kunststoffabfälle. Aufgrund der chemischen Zusammensetzung sind Süßwasserökosysteme einer Mischung aus Teilchen in Mikro- und Nanogröße, ausgelaugten Zusatzstoffen und nachfolgenden Abbauprodukten ausgesetzt (Lambert und Wagner, 2018).

Heißzeit

Die Erde wird vier bis fünf Grad Celcius wärmer als vor Beginn der Industrialisierung – mit einem solchen Szenario warnen Wissenschaftler vom Potsdam-Institut für Klimafolgenforschung vor einer „Heißzeit" auf der Erde. Derzeit ist der Planet im Durchschnitt bereits gut ein Grad wärmer als in vorindustriellen Zeiten. Selbst bei Einhaltung des Pariser Klimaabkommens könnten entscheidende Kippvorgänge im globalen Umweltsystem angestoßen werden. Rückkopplungsprozesse würden sich beim Überschreiten eines kritischen Punkts selbst verstetigen.
Zu den Faktoren, die diese Entwicklung vorantreiben, zählen den Angaben zufolge unter anderem die auftauenden Permafrostböden in Russland, Kanada und Nordeuropa, die Eisschmelze in der Antarktis und das Regenwaldsterben. Alle diese Prozesse seien miteinander verbunden und der Zusammenbruch des einen könne den eines anderen auslösen.

Mückenbekämpfung mit *Bacillus thuringiensis* wirklich umweltfreundlich?

Weltweit werden Stechmücken in Feuchtgebieten bekämpft, auch in solchen die unter Naturschutz stehen und für Europa als bedeutend gelten wie denen am Oberrhein.
Als Alternative zu anderen Insektiziden wird das biologische Biozids *Bacillus thuringiensis israelensis* (Bti) mehrmals pro Jahr seit Jahrzehnten ausgebracht. Es gilt als umweltfreundliche Bekämpfungsmethode, da neben den Stechmücken keine tödlichen Effekte bei anderen Organismen auftreten. Bti hat aber auch Auswirkungen auf die nah verwandten Zuckmücken, auch bekannt als Tanzmücken, die in Feuchtgebieten in hoher Artenzahl und Dichte auftreten. Zuckmücken stellen aufgrund ihrer großen Biomasse und ihres hohen Proteingehalts eine zentrale Nahrungsquelle in den Nahrungsnetzen von Feuchtgebieten dar. Zuckmückenlarven werden von anderen Insekten und Fischen im Wasser gefressen, während die geschlüpften Mücken von Vögeln, Fledermäusen oder Libellen als Nahrung genutzt werden. Die Empfindlichkeit der Zuckmücke *Chironomus riparius* gegenüber Bti wurde untersucht und hierbei der komplette Lebenszyklus mit allen vier Larvenstadien verfolgt.
Larven aus dem ersten Larvenstadium sind bis zu 100fach empfindlicher als die älteren vierten Larvenstadien. Ihre Empfindlichkeit lag um den Faktor 200 niedriger als die am Oberrhein regelmäßig ausgebrachte Menge zur Stechmückenbekämpfung. Ein in der Zulassung angewendeter Risikofaktor wird damit um den Faktor 2000 überschritten (Kästel et al., 2017).

Mikroorganismen und Klimawandel. Eine Erklärung

Um zu verstehen, wie Menschen und andere Lebensformen auf der Erde dem anthropogenen Klimawandel standhalten können, ist es wichtig, das Wissen der mikrobiellen „unsichtbaren Mehrheit" zu berücksichtigen. Es muss nicht nur gelernt werden, wie Mikroorganismen den Klimawandel beeinflussen (einschließlich der Erzeugung und des Verbrauchs von Treibhausgasen), sondern auch, wie sie durch den Klimawandel und andere menschliche Aktivitäten beeinflusst werden.
Die zentrale Rolle und globale Bedeutung von Mikroorganismen in der Biologie des Klimawandels wird dokumentiert. Es wird darauf aufmerksam gemacht, dass die Auswirkungen des Klimawandels in hohem Maße von den Reaktionen der Mikroorganismen abhängen werden, die für eine umweltverträgliche Zukunft unerlässlich sind (Cavicchioli et al., 2019).

Rolle der mikrobiellen Wechselwirkungen mit Mikroplastik in marinen Ökosystemen

Eine Übersichtsstudie über Biofilme auf Mikroplastik lässt sich wie folgt zusammenfassen (Oberbeckmann und Labrenz, 2019):

1. Die häufig postulierte Annahme, dass sich pathogene Bakterien spezifisch auf Mikroplastik anreichern und auf diese Weise besonders rasch und weit verbreitet werden, ließ sich nicht erhärten. Die Mehrheit der Mikroorganismen, die auf Mikroplastik wachsen, scheinen opportunistischen Kolonisten zu gehören, die zwischen natürlichen und künstlichen Oberflächen nicht unterscheiden. Mikroplastik stellt also kein höheres Risiko als natürliche Partikel dar, von pathogenen Bakterien besiedelt zu werden.
2. Bakterien besiedeln zwar die Partikel, sie sind aber nicht in der Lage, das in die Meeresumwelt geratene Plastik zu zersetzen. Sie werden diese Fähigkeit wahrscheinlich auch nicht in für die menschliche Gesellschaft relevanten Zeitraum erwerben.

Literatur

Anonymous. 2006. The methane mystery. *Nature* 442:730–731.

Bowyer, C. 2010. Anticipated Indirect Land Use Change Associated with Expanded Use of Biofuels and Bioliquids in the EU – An Analysis of the National Renewable Energy Action Plans. IEEP. 24 pages.

Browne, M. A., Crump, P., Niven, S. J., Teuten, E., Tonkin, A., Galloway, T., Thompson, R. 2011. Accumulation of microplastic on shorelines worldwide: sources and sinks. Environ. Sci. Technol. 45:9175–9179.

Cardinale, M., Kaiser, D., Lueders, T., Schnell, S., Egert, M. 2017. Microbiome analysis and confocalmicroscopy of used kitchen sponges reveal massive colonization by *Acinetobacter*, *Moraxella* and *Chryseobacterium* species. Scientific Reports, ► https://doi.org/10.1038/s41598-017-06055-9 1, ► www.nature.com/scientificreports.

Cavicchioli, R., Ripple, W. J., Timmis, K. N., Azam, F., Bakken, L. R., Baylis, M., Behrenfeld, M. J., Boetius, A., Boyd, P. W., Classen, A. T., Crowther, T. W., Danovaro, R., Foreman, C. M., Huisman, J., Hutchins, D. A., Jansson, J. K., Karl, D. M., Koskella, B., Mark Welch, D. B.,, Martiny, J. B. H., Moran, M. A., Orphan, V. J., Reay, D. S., Remais, J. V., Rich, V. I., Singh, B. K., Stein, L. Y., Stewart, F. J., Sullivan, M. B., van Oppen, M. J. H., Weaver, S. C., Webb, E. A., Webster, N. S. 2019. Scientists' warning to humanity: microorganisms and climate change. Nature Reviews Microbiology. ► https://doi.org/10.1038/s41579-019-0222-5.

Fraser, C. M., Gocayne, J. D., White, O., Adams, M. D., Clayton, R. A., Fleischmann, R. D., Bult, C. J., Kerlavage, A. R., Sutton, G., Kelley, J. M., Fritchman, R. D., Weidman, J. F., Small, K. V., Sandusky, M., Fuhrmann, J., Nguyen, D., Utterback, T. R., Saudek, D. M., Phillips, C. A., Merrick, J. M., Tomb, J. F., Dougherty, B. A., Bott, K. ., Hu, P.C., Lucier, T. S., Peterson, S. N., Smith, H. O., Hutchison, C. A. 3rd,

Venter, J. C. 1995. The minimal gene, complement of *Mycoplasms genitalium*. Science 270:397–404.

Gibson, D. G., Benders, G. A., Andrews-Pfannkoch, C., Denisova, E. A., Baden-Tillson, H. Zaveri, J., Stockwell, T. B., Brownley, A., Thomas, D. W., Algire, M. A., Merryman, C., Young, L., Noskov, V. N., Glass, J. I., Venter, J. C., Hutchison, C. A. 3rd, Smith, H. O. 2008. Complete chemical synthesis, assembly, and cloning of a *Mycoplasma genitalium* genome. Science 319:1215–1220.

Gibson, D. G., Glass, J. I., Lartigue, C., Noskov, V. N., Chuang, R. Y., Algire, M. A., Benders, G. A., Montague, M. G., Ma, L., Moodie, M. M., Merryman, C., Vashee, S., Krishnakumar, R., Assad-Garcia, N., Andrews-Pfannkoch, C., Denisova, E. A., Young, L., Qi, Z. Q., Segall-Shapiro, T. H., Calvey, C. H., Parmar, P. P., Hutchison, C. A. 3rd, Smith, H. O., Venter, J. C. 2010. Creation of a bacterial cell controlled by a chemically synthesized genome. Science 329:52–56.

James, C. 2012. ISAAA Report 2012. ► http://www.biotechnologie.de/BIO/Navigation/DE/root,did=148504.html?view=renderPrint.

Kästel, A., Allgeier, S., Brühl, C. A. 2017. Decreasing Bacillus thuringiensis israelensis sensitivity of Chironomus riparius larvae with age indicates potential environmental risk for mosquito control. Scientific Reports | 7: *13565* | ► https://doi.org/10.1038/s41598-017-14019-2, ► www.nature.com/scientificreports.

Keppler, F., Hamilton, J. T., Brass, M., Röckmann, T. 2006. Methane emissions from terrestrial plants under aerobic conditions. Nature 439:187–191.

Lambert; S., Wagner, M. 2018. Microplastics are contaminants of emerging concern in freshwater environments: An overview. *In:* Freshwater Microplastics. Emerging Environmental Contaminants? (M. Wagner, S. Lambert, eds.). The Handbook of Environmental Chemistry. Vol. 58:1–23. ► https://doi.org/10.1007/978-3-319-61615-5_1

Lartigue, C., Vashee, S., Algire, M. A., Chuang, R. Y., Benders, G. A., Ma, L., Noskov, V. N., Denisova, E. A., Gibson, D. G., Assad-Garcia, N., Alperovich, N., Thomas, D. W., Merryman, C., Hutchison, C. A. 3rd, Smith, H. O., Venter, J. C., Glass, J. I. 2009. Creating bacterial strains form genomes that have been cloned and engineered in yeast. Science 325:1693–1696.

Lebreton, L. C. M., van der Zwet, J., Damsteeg, J.-W., Slat, B., Andrady, A., Reisser, J. 2017. River plastic emissions to the world's oceans. NATURE COMMUNICATIONS|8:15611|► https://doi.org/10.1038/ncomms15611

Lelieveld, J. 2006. Climate change: A nasty surprise in the greenhouse. Nature 443:405–406.

Lowe, D. C. 2006. Global change: A green source of surprise. Nature 439:148–149.

Oberbeckmann, S., Labrenz, M. 2019. Marine microbial assemblages on microplastics: diversity, adaptation, and role in degradation. Annu. Rev. Mar. Sci.; ► https://doi.org/10.1146/annurev-marine-010419-010633

OECD. 1994. Biotechnologie for a clean environment: Prevention, detection and remediation, Paris.

Peterson, T. C., Baringer, M. O., Eds. 2009. State of the Climate in 2008. Bull. Amer. Meteor. Soc. 90:S1–S196.

Pühler, A. 2010. Künstliches Leben. Leben aus der Retorte? BIOspektrum 16:594–595.

Schiermeier, Q. 2006. Methane finding baffles scientists. *Nature* 439:128.

Schmidt, M. 2010. Verstehen wir, was wir kreieren können? BIOspektrum16:493.

Solomon, S., Rosenlof, K. H., Portmann, R. W., Daniel, J. S., Davis, S. M., Sanford, T. J., Plattner, G.-K. 2010. Contributions of stratospheric water vapor to decadal changes in the rate of global warming. Science 327:1219–1223.

Solomon, S., Daniel, J. S., Neely III, R. R., Vernier, J.-P., Dutton, E. G., Thomason, L. W. 2011. The persistently variable "background" stratospheric aerosol layer and global climate change. Science 333:866–870.

Steffen, W., Rockström, J., Richardson, K., Lenton, T. M., Folke, C., Liverman, D., Summerhayes, C. P., Barnosky, A. D., Cornell, S. E., Crucifix, M., Donges, J. F., Fetzer, I., Lade, S. J., Scheffer, M., Winkelmann, R., Schellnhuber, H. J. 2018. Trajectories of the Earth System in the Anthropocene. PNAS August 6, 2018. 201810141; published ahead of print August 6, 2018. ► https://doi.org/10.1073/pnas.1810141115

Worm, B., Lotze, H. K., Jubinville, I., Wilcox, C., Jambeck, J. 2017. Plastic as a persistent marine pollutant. Annu. Rev. Environ. Res. 42:1–26. ► https://doi.org/10.1146/annurev-environ-102016-060700

Begriff "Nachhaltigkeit": DIE ZEIT 09.11.2009 und 12.11.2009.

Bericht des Bioökonomierats, 2012: ► http://biooekonomierat.de/files/downloads/120120/BioOEkonmieRat-Empfehlungen-Bioenergie.pdf.

Bioenergie-Beurteilung, 2012: ► http://www.spiegel.de/wissenschaft/technik/bioenergie-kann-in-deutschland-nicht-zur-energiewende-beitragen-a-846484.html

Bulletin of the American Meteorological Society "15 Jahre oder mehr": ► http://www1.ncdc.noaa.gov/pub/data/cmb/bams-sotc/climate-assessment-2008-lo-rez.pdf.

Einfluss der Tiefsee auf Klima: ► http://www.nature.com/nclimate/journal/v1/n7/full/nclimate1229.html.

Klimaprognose bis 2017: ► http://www.metoffice.gov.uk/research/climate/seasonal-to-decadal/long-range/decadal-fc.
Klimasensitivität: ► http://www.ipcc.ch/publications_and_data/ar4/syr/en/mains2-3.html.
Kommentierung von Kevin Trenberth: ► http://davidappell.blogspot.de/2012/01/trenberth-response-to-todays-loeb-et-al.html.
Künstlich programmierte Zellen:
DIE ZEIT 27.05.2010.
Marktstudie. 2006. FESTEL CAPITAL, CH-6331 Hünenberg: ► http://www.festel.com.
Stellungnahme Leopoldina, 2012: ► http://www.leopoldina.org/de/presse/nachrichten/leopoldina-sieht-nutzung-von-bioenergie-kritisch/.
Temperaturkurven:
► http://data.giss.nasa.gov/gistemp/graphs_v3/.
UGILEC-Daten: ► http://www.unece.org/env/popsxg/docs/2004/Dossier_UGILEC.pdf.
Unterschätzter Ruß: ► http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jgrd.50171/abstract.
Wärmere Ozeane: ► http://www.nature.com/ngeo/journal/v5/n2/abs/ngeo1375.html sowie ► http://www.nodc.noaa.gov/OC5/3M_HEAT_CONTENT/.

Serviceteil

Stichwortverzeichnis – 633

© Springer-Verlag GmbH Deutschland, ein Teil von Springer Nature 2020
W. Reineke und M. Schlömann, *Umweltmikrobiologie*, https://doi.org/10.1007/978-3-662-59655-5

Stichwortverzeichnis

1,2-Dihydroxynaphthalin 273
1,2-Diphenol 194, 232
1,2,3,4-Tetrachlorbenzol 234
1,3-Bisphosphoglycerat 96
1,3-Dichlorpropen 254
1,6-verzweigtes Polymer 105
2-Chlor-*cis,cis*-muconat 234
2-Chlorhydrochinon 238
2-Chlormaleylacetat 234, 235
2-Hydroxybiphenyl 215
2-Hydroxymuconat 238
2-Methylisoborneol 396
2-Oxoglutarat 98
2-Oxoglutarat-Decarboxylase 99
2-Oxoglutarat-Dehydrogenase-Ferredoxin-Oxidoreduktase (2-Oxoglutarat-Synthase) 86
2-Phosphoglycerat 96
2,4-Dinitrophenol 268
2,4-Dinitrotoluol 266
2,4,5-Trichlorphenol 235
2,4,6-Trichlorphenol 233, 235
2,4,6-Trinitrophenol (Pikrinsäure) 268
2,6-Dichlorhydrochinon 233, 238
2,6-Dinitrotoluol 266
3-Chlorbrenzcatechin 228, 234, 237
3-Hydroxypropionat-/4-Hydroxybutyrat-Zyklus (3-HP-/4-HB-Zyklus) 82, 89, 405
3-Hydroxypropionat-Bi-Zyklus (3-HP-Bi-Zyklus) 82, 91
3-Mercaptopropionat (MPA) 332
3-Methylmercaptopropionat (MMPA) 332
3′-O-Azidomethyl-Gruppe 450
3-Oxoadipat 234
3-Phosphoglycerat 96
3-Sulfobrenzcatechin 275
4-Chlorbenzoat 231
4-Nitrophenol 266
4-NP 292
4-Sufobrenzcatechin 275
5-Aminosalicylat 273
(+)-5-Chlormuconolacton 234
5-Chlormuconolacton-Dehalogenase 234
6-Aminonaphthalin-2-sulfonat 273
16S-rRNA 445

A

Abamectin 583
Abbau
– cometabolischer 257
– oxischer 204
– von Aromat, unorthodoxer aerober 204
Abbaubarkeit 623
– leichte (ready biodegradability) 155
– mögliche (inherent biodegradability) 156
– potenzielle 156, 175
Abbaubarkeitstest 153
Abbauweg, peripherer 187
Abfallflanke vom Gebirge 412
Abfallvergärung 574
Abfallverwertung, biologische 571
Abfluss 7
Abkühlung der Erde 9
Abnahme der Eisfläche 10
Abschmelzen der Gebirgsgletscher 10
Abwasser, hochbelastetes 513
Abwasseraufbereitung 317
Abwasserfracht aus verschiedenen Industriezweigen 495
Abwasserreinigung, direkte anaerobe 513
Abwasserreinigungsanlage 495
Abwehrmittel gegen Räuber 331
Acetat-Kinase 102
Acetogen 118
Acetogenese 82, 88, 119
Acetyl-CoA 93, 178
Acetyl-CoA-Weg, reduktiver 82, 88
Acetylphosphat 102
Acidiphilium 329
Acidithiobacillus 327, 329
Acidithiobacillus ferrooxidans 336
Acidithiobacillus thiooxidans 489
Acidogen 118
Acridin 214
Acridinorange 419
Adaptation, osmotische 378
Adaptationsvermögen 41
Adenosinphosphosulfat (APS) 450
Adenosintriphosphat (ATP) 58
Adsorptionskoeffizient 143
Aerosole 4
Affinitätskonstante 370
A-Horizont 388
Akkumulationstendenz in biologischem Material 227
Aktivität, konvektive 12
Alcanivorax borkumnensis 621
Algenblüte 333
Algentest 164
Alicyclen 185
Alignment 454
Alkaloid 396
Alkane 178
– cyclische 178
– verzweigte 183
Alkene 178, 183
Alkoxylradikal ($RO^{\bullet}$) 211
Alkylphenolethoxylat 290
Allgemeine Gaskonstante 59
Allochromatium vinosum 328
α-1,4-glykosidische Bindung 105
α-Amylase 105
α-HXH 242
Alphaproteobacteria 38
Altablagerung 546
Altlastenverdachtsfläche 619
Altstandort 546
Amensalismus 43
Ames-Test 165
Amin, biogenes 102
Aminopolycarbonsäure 288
Ammoniakmonooxygenase 474
Ammoniaksynthese, katalytische 23
Ammonifikation 102, 306, 311
Ammonium (NH_4^+) 25
Ammoniumemission 490
Ammoniumoxidierer 404, 506, 508
Amylase 595, 596
Amylopektin 105
Amylose 105
Anabolismus 58
Anaerobe Ammonium-Oxidation (ANAMMOX) 306, 315
Anaerobe Oxidation von Methan (AOM) 127

Analoganreicherung 436
ANAMMOX (Anaerobe Ammonium-Oxidation) 315, 405, 406
Anbau von Futterpflanzen 25
Änderung der chemischen Form der Metalle 351
Anlegen einer Klonbank 466
Annotation
– falsche 480
– fehlerhafte 480
Anpassung, mikrobielle an Schwermetallstress 351
Anreicherung
– vom chemoautrophen Mikroorganismus 437
– vom chemoheterotrophen Mikroorganismus 437
– vom phototrophen Mikroorganismus 437
Anreicherungskultur 436
Anreicherungstechnik 444
Anstieg des Meeresspiegels 10
Antagonismus 43
Antarktis 11
Anteil an organischem Kohlenstoff 143
Anthracen 208
Antifouling 290
Antioxidan 331
Antistatikum 279
Anwendungsperspektive der Umweltbiotechnologie 618
Apyrase 450
Aquificales 408
Arbuskuläre Mykorrhiza (AM) 45
Archaea 36, 118
– methanogene 88
– methanoxidierende (ANME) 129
Archaeoglobus 409
Arcobacter 409
ARDRA *(amplified ribosomal DNA restriction analysis)* 455
ARDRA-Analyse 466
Armillaria ostoyae 42
Arsen 356
Arsenat (Analog zu Phosphat) 356
Arsenatmethylierung 357
Arsenatreduktion 357
Arsenitoxidation 357
Arsenvergiftung 356
– chronische 356
Art, methylotrophe 124
Aryl-Kation-Radikal 211
As(III)-Oxidierer, chemolithoautotropher 357
As(V)-Reduzierer, heterotropher 357
Asymmetrie der Temperatur 13
Atmosphäre 3
Atmosphärenchemie 2
Atmosphärenphysik 2
Atmung
– aerobe 71
– anaerobe 72, 204
Atmungsaktivität 423
Atmungskette 64
Atmungsrate 40
Atmungsschutz 310
ATP 62
ATP-Analyse 424
ATPase 62, 67
ATP-Citrat-Lyase 87
ATP-Sulfurylase 450
ATP-Synthase 62, 66
Auflösungsgrenze des menschlichen Auges 36
Aufstieg von Wassermassen 12
Ausbruchkanal, hydrothermaler 335, 406
Ausschleuspumpe, energieabhängige 382
autotroph 73
Autotrophe 82
Autotrophie 73
Azofarbstoff 271, 276
Azogruppe (-N = N-) 276
Azotobacter 306

B

Bacillus thuringiensis 578
Bacillus thuringiensis-Toxin 579
Backarc-Becken 406
Bacteroid 310
Bacteroidetes 477
Baculovirus 585
Baeyer-Villiger-Oxidation 185
Bahnschwelle 175
Bakelit 278
Bakterien
– acetogene 88
– aerobe anoxygene photosynthetische 403
– aerobe anoxygene phototrophe 72
– barophile 366
– barotolerante 366
– cellulolytische 118
– chemosynthetische 46
– coliforme 431
– fakultativ anaerobe 369
– freilebende stickstoffbindende 308
– homoacetogene 119
– methanotrophe 124
– nitrifizierende 384
– nitrosifizierende 384
– oligocarbophile 397
– oligotrophe 397
Bakteriochlorophyll 68
Bangladesh 356
barophil 404
barotolerant 404
Bathypelagial 404
Baumringdaten 10
Baumsterben 45
Bay-Region 209
Beauvericin 585
Bedeutung, globale ökologische 29
Beggiatoa 327
Beijerinck, M. W. 435
Belastung von Trinkwasser und Boden 346
Belebtschlammflocken 499
Belebtschlammverfahren 497
Belebungsverfahren 497
Belüftung
– aktive 552
– dynamische 552
– passive 552
Benetzung 221
Benzinzusatzstoff Methyl-*tert*-butylether (MTBE) 293
Benzo[a]anthracen 208
Benzo[a]pyren 208
Benzo[b]thiophen 214
Benzoatabbau über CoA-Ligation 206
Benzol 186, 438–440
Benzolring, kondensierter (anellierter) 208
Benzoyl-CoA 196, 197
Benzoyl-CoA-Oxygenase 204
Bergbauaktivität ins Trinkwasser 356
Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 38
Bestimmung
– des chemischen Sauerstoffbedarfs (CSB) 154
– von Keimzahl und Biomasse 418
β-1,4-glykosidische Bindung 106
β-Exotoxin 581
β-Galactosidase 166
β-Glucosidase 109
β-HCH 242
β-Ketoadipat-Weg 194
β-Ketosäure 98, 104
β-Oxidation 178
– von Fettsäure 181
β-Oxidations-Zyklus 179
Betaproteobacteria 38
Betonkorrosion 489
Beziehung, syntrophe 511

B-Horizont 388
Bhopal (Indien) 138
Bioakkumulationstendenz 144
Bioaugmentation 623
Biochemischer Sauerstoffbedarf (BSB) 493
Bioclogging 561
Biodiesel 606
Biodieselproduktion 605
Bioenergie 624, 625
Bioethanol 605
Biofilm 385
Biofilmbildung 386
Biofouling 388
Biofungizid 586
Biogas 117
Biogasbildung 511
Biogasgewinnung 571
Bioherbizid 586
Biohoch-Reaktor 514
Bioinsektizid 578
Biokorrosion 388
Biokraftstoff 622
Biokraftstoffquote 622
Biokunststoff 278, 283
Biological Oxygen Demand (BOD) 155
Biologischer Sauerstoffbedarf (BSB) 155
Bioluminiszenz 164
Biomarker 432
Biomassebildung 58
Biomass-to-Liquid (BTL)-Kraftstoff 607
Biopol 285
Biopolymer 278
Biosparging 563
Biosphäre 7
– marine 7
– terrestrische 7
Biosprit 624
Biostoning 595
Biotechnologie
– graue 578
– grüne 578
– rote 578
– weiße 578
Biotensid 221
Biotop, aquatisches 395
Biotroph/Symbiont, obligater 46
Bioventing 563
Bioverfügbarkeit 176, 547, 623
Biphenyl 438
– polychloriertes 226, 621
Birch-Reduktion von Benzol 201
Bisphenol A (BPA) 290
Black Smoker 407
Blähschlamm 500
Bodenart 389
Bodenbildung 388
Bodeneigenschaft 558
Bodenlösung 389
Bodenluft 389
Bodenluftabsaugung 563
Bodenmatrix 389
Bodenprofil 388
Bodensanierung, biologische 546
Bodenstruktur 558
Bodentextur 389
Bodenverbesserungsmittel 571
Bodenvorbehandlung 551
Bodenzone
– gesättigte 557
– ungesättigte 557
Brackwasser 395
Bradyrhizobium 306
Braunfäulepilz 107
Brennstoffzelle 608
Brenzcatechin 188
– chloriertes 234
Brenztraubensäure 94
Brocadia anammoxidans 306
BSB_5 493
BTEX-Verbindung (Benzol, Toluol, Ethylbenzol und Xylole) 186
Bt-Maispflanze 581
Bt-Präparat 581
Bt-Toxin 579, 582
Bunte Reihe 432

C

$^{13}C/^{12}C$-Isotopen-Verhältnis 426
C:N-Verhältnis 506
C:N:P-Verhältnis 551
Calvin-Benson-Bassham-Zyklus (CBB-Zyklus) 82
Calvin-Zyklus 85
Carbazol 214
Carbonatatmung 72, 118
Carlowitz, H. C. von 618
Carotinoid 68
Carson, R. 620
catalyzed reporter deposition FISH (CARD-FISH) 457
Catechol 188
Cateringbereich 279
Cellobiose 118
Cellulase 595
Cellulose 93, 106
Cellulosemikrofibrille 104
Cellulosom 109
Chelator 592
Chemical Oxygen Demand (COD) 154
Chemie
– stratosphäre 21
– troposphäre 21
Chemikalie
– leichtflüchtige 139
– schwerflüchtige 139
Chemikaliengesetz (ChemG) 148
Chemischer Sauerstoffbedarf (CSB) 493
chemolithoautotroph 74
chemolithotroph 71
chemoorganotroph 71
chemotroph 68
Chemotrophie 58, 71
Chinolin 214, 215, 217
Chitin 38, 93
Chloraliphat 254
Chloraromat 225
– als Elektronenakzeptor 229
Chlorbenzol 225, 439, 440
Chlorbrenzcatechin 228
Chlorbrenzcatechin-1,2-Dioxygenase 234
Chlorbrenzcatechin-2,3-Dioxygenase 237
Chlorbutyrat 257
Chlorcatechol-1,2-Dioxygenase (CC12O) 234
Chlorchemikalie 620
Chlor-*cis,cis*-muconat 234
Chlorcrotonat 254
Chlorethan 249
Chlorethen 249
– als Elektronenakzeptor 262
Chlorit (ClO_2^-) 203
Chlormethan 249, 254, 255
Chlormuconat-Cycloisomerase 234
Chlorobiaceae 86, 328
Chlorobium 70
– *ferrooxidans* 337
Chlorocrotonat 257
Chloroflexus 70
– *aurantiacus* 91, 92
Chloroformfumigations-Extraktions-Methode 423
Chloroformfumigations-Inkubations-Methode 422
Chlorophyll 68
Chlorphenol 225
Chocolate Mousse 178
C-Horizont 389
Chromatium 70
Cirrus-Wolke 9
cis-Dichlorethen 261
cis-Dienlacton 234
cis-Dihydrodiol 189, 209
Citrat 98

Citrat-Synthase 87
Citrat-Zyklus 93
– reduktiver 82, 86
– umgekehrter 82, 86
Citromicrobium 72
Citronellol 187
Closed Bottle Test 156
CO_2-Bildung 423
CO_2 Evolution Test 156
CO_2-Fixierung, autotrophe 82
CO_2-Senke 19
Coenzym A-Thioester 197
Coenzym Q 65
Cometabolismus 227
– von Trichlorethen 260
community genome array (CGA) 461
copiotroph 375
Coulter-Counter 419
Crenarchaeota 89, 404, 409
Cryosphäre 3, 7
Cupriavidus necator 285
– JMP134 233
Cyanobacterium 70, 306
Cyanursäure 248
Cycloalkane 185
Cycloparaffin 185
Cyclopeptid 396
Cylindrospermopsin 396
Cytochrom P450 165
Cytochrom-P450-Monooxygenase 209

D

DAPI 419, 459
Dauerfrostboden, auftauender 11
DDT 138, 620
Dead-End-Metabolit 228
Dechlorierung, cometabolische 229
Definition 346
Dehalobacterium formicoaceticum 261
Dehalogenase 231
Dehalorespiration 72, 229
– eine anaerobe Atmung 229
Dehydrogenase 188, 425
Deinococcus radiodurans 361
δ-Endotoxin 581
Deltaproteobacteria 38, 39
Demethylierung 356
Denaturierende Gradienten-Gelelektrophorese (DGGE) 468
Dendrogramm 452, 454
Denitrifikation 72, 306, 506, 621
– nachgeschaltete 508
– vorgeschaltete 508
Denitrifikationsimultane 508
Deponieabwasser 227
Deposition 141
Der stumme Frühling 620
Desorption 143
Destruent 36
Desulfomonile tiedjei 434
Detritus 398
Dibenzofuran 214, 218
Dibenzo-*p*-dioxin 218
Dibenzothiophen 215
Dicarboxylat-/4-Hydroxybutyrat-Zyklus (DC-/4-HB-Zyklus) 82, 89
Dichlorethan 254
Dichlormethan 254
Didesoxynucleotid 449
Differenzierung, biochemische 58
Dihydrodiol, instabiles 232
Dihydroxyacetonphosphat 96
Dihydroxyaromat 190
Dihydroxy-Derivatstufe 209
Dimethyldisulfid (DMDS) 27
Dimethylsulfid (DMS) 6, 27, 29, 331
– flüchtiges 29
Dimethylsulfoniumpropionat (DMSP) 29, 331
DIN EN ISO
– 14040 596
– 14044 596
Dioxygenase 188, 209
– einleitende 232
Direkteinleiter 492
Dissimilatorische Nitratreduktion zu Ammonium (DNRA) 306, 317
dissolved organic carbon (DOC) 154, 493
Distickstoffmonoxid 3, 22
DMS 29
DMSO (häufiges Naturprodukt) 333
DMSP 331
DNA, schwere 426
DNA-Microarray 460
DNA-Reparatur 361
DOC Die-Away Test 156
Dreckiges Dutzend 227
Dunkelreaktion 69
Durchflusszytometrie 419
Duroplast 278

E

EBPR *(enhanced biological phosphorus removal)* 503
EDTA 592, 593
Eigenschaft
– osmotische 331
– phoenix-ähnliche 361
Einbau radioaktiver Verbindung 426
Einleiten von Abwasser 492
Einschränkung der anaeroben Syntrophie, thermodynamische 385
Einwohnerwert EW 495
Eisenatmung 72
Eisenerz, gebändertes *(banded iron formation)* 337
Eisenstein, gebänderter (Banded Iron Formations = BIFs) 78
Eisenzyklus 338
Eisschild
– antarktisches 17
– grönländisches 17
Eisschild auf Grönland 11
– und der Antarktis 10
Ektomykorrhiza 45
Ektosymbiose 44
El Niño 12
Elastomer 279
Elba-Wurm 52
Elektronenakzeptor 58
Elektronencarrier 63
Elektronendonor 58
Elektronentransport
– energieabhängiger rückläufiger 312
– rückläufiger 336
Elektronentransport-Phosphorylierung 64
Elektronenzwischenträger 65
Elementarfibrille 106
Eliminierbarkeit 154
Eliminierung
– des/der Chlorsubstituenten 230
– vor der Ringspaltung 231
Embden-Meyerhof-Weg 94
Emulsifizierung 221
Endabbaubarkeit 154
Endocellulase 109
Endomykorrhiza 45
Endosymbiontentheorie 79
Endosymbiose 44, 309
Endprodukt 225
Energie, chemische 58
Energiebilanz der Erde 8
Energiegewinnung 58, 68
Energiehaushalt der Erde 3
Energienutzung, globale 23
Enhanced Natural Attenuation 550
Entgiftungsprozess. bakterieller 356
Entschwefelung 215
Environmental Protection Agency der USA (USEPA) 152
Enzym, proteolytisches 102
Enzymsystem, ligninolytisches 148
Epilimnion 395
Epoxid 209

Epsilonproteobacteria 38, 39
Erdatmosphäre 78
Erdölbildung 78
Ergebnis, falsch negatives der Voraussage 592
Ergosterol 432
Erhöhung der Meerestemperatur 10
Erwinia carotovora 109
Erythrobacter 72, 403
Erzlaugung, mikrobielle 337
Ethanol 101
Ethanolproduktion 605
Ethidiumbromid 419
Ethylbenzol 186
Ethylendiamindisuccinat (EDDS) 288
Ethylendiamintetraacetat (EDTA) 288
Eubacteria 36
EU-Chemikalienverordnung 147
Eukarya 36
Eukaryoten 36
Eutrophierung 396
– der Gewässer 23
ex situ-Technik 540
ex situ-Verfahren 551
Exocellulase 109
Exoenzym 93
Extrazelluläre polymere Substanz (EPS) 338, 386
Extremophil 379

F

$FADH_2$ 63
Faktor μ 371
fakultativ anaerob 73
Fällung 356
falsch positiv 592
Faraday-Konstante 58, 59
Farbenstreifenwatt 36
Farbstreifenwatt 399
FCKW
– Ozonloch 138
Feinpore 389
Feld, überflutetes 117
Fenster, atmosphärisches 9
Ferredoxin 81, 309
Ferroglobus placidus 337
Ferroplasma 471
Feststoffreaktor 554
Fettlöslichkeit (Lipophilie) 143
Fettsäuremuster 432
Fingerprint-Methode 455
Firmicutes 478
Flavinadenindinucleotid (FAD) 63, 64
Flechte 44
Flexibilität 36, 41
Fliegenpilz 45
Flüchtigkeit 139
Fluorescein 425
Fluoresceindiacetat 425
Fluoresceinisothiocyanat 419
Fluoreszenzfarbstoff 419, 450
Fluoreszenz-*in situ*-Hybridisierung (FISH) 457
Fluoreszenzlicht 419
Fracht aus natürlicher Quelle 347
Fraktionierungsfaktor α 426
Frankia 306
Freie Enthalpie 59
Fruchtkörper, oberirdischer 45
Fructose-1,6-bisphosphat 96
Fructose-1,6-bisphosphat-Weg 94
Fructose-6-phosphat 96
Frühjahrszirkulation 395
Frühphase, anoxische 78
Fulvosäure 116
Fumarat 98
Fumaratatmung 72
Fumarat-Reduktase 86
functional gene array (FGA) 461
Funktionsstörung von Niere und Leber 356
Furan 214

G

Galacturonsäure 109
Gallionella ferruginea 335
γ-HCH 242
Gammaproteobacteria 38
Gärer 101, 118
– sekundäre 118
Gärung 72
Gärungsprodukt 101
Gas
– klimakühlendes 29
– strahlungsaktives 8
Gasaustritt, kalter (Cold seep) 410
Gastrointestinaltrakt, menschlicher 478
Gaswerkstandort 175
Gehalt an ATP 424
Gellan 434
Gelrite 434
Gemeinschaft
– der Sargasso See 473
– eines sauren Minenwassers 470
– menschlicher Darm 477
Gen, mutmaßliches 480
Generalist 383
Generationszeit 40
Genominsel 241
Gentisat 188, 190
geofuel 408
Geosmin 396
Gewässer
– eutrophe 396
– oligotrophe 396
Gezeitenzone 36, 399
Gibbssche freie Energie 59
Giftpilz 45
Gleichgewichtskonstante 141
Gleitmittel 279
Gletscher 10
Global
– Ocean Sampling Expedition 475
– Warming Potential (GWP) 16
Glucanase 109
Glucoamylase 105
Glucose 94, 99
Glucose-6-phosphat 96
Glucose-Oxidase 112
Glycerinaldehyd-3-phosphat 96
Glycogen-nicht-polyphosphatak-kumulierender Organismus (GAO) 505
Glykolyse 86, 94
Glyoxal-Oxidase 112
Goldröhrling 45
Golfstrom 17
GOS-Ribotyp 475
Great Salt Lake 379
greenwashing 627
Grenzflächenspannung 221
Grenzkonzentration 383
Grenzsubstratkonzentration 370
Grobpore 389
Grundwasserverunreinigung 561
Grüne Chemie 587
Gruppe, metabolisch vielfältigste 38
Gummi 279

H

^{3}H-markiertes Thymidin 426
H_2O_2 112
H_2O_2-Donor 112
Haber-Bosch-Prozess 22
Habitat
– hypersalziges 376
– natürliches 366
– salzhaltiges 376
Halbacetal 219
Halbaminal 218
Hallimasch 38

Hallimaschklon 42
Halobakterien 69, 70
Halogenverbindung, adsorbierbare organische 494
Halophile
– extreme 376
– moderate 376
Hauptelement
– biogeochemisches 30
Hauptrotte 572
Hauptstromverfahren 506
Hautschaden 356
Haworth-Projektion 107
Helfermikroorganismus, wirklicher 45
Heliobakterien 70
Hemicellulose 93, 104, 109
Henry-Koeffizient 141
Henry-Konstante 141
Herbizid 247
Herkunft
– mikrobielle 117
– thermogene 117
Herstellung von Sprengstoff 265
Heterocyst 310
heterotroph 73
Heterotrophie 73
Hexachlorcyclohexan (HCH) 242
Hilfsstoff 279
Hintergrundkonzentration 547
Hochdurchsatz-DNA-Sequenzierung 449
hoch-Salz-in-Strategie 378
Höchsttemperatur, extreme 10
Holzschutzmittel 175
Homogenisierung 551
Homogenisierungsgrad, hoher 554
Homogentisat 190
Homogentisat-Weg 194
hotspot-Vulkan 406
house-keeping genes 446
Humifizierung 208
Humifizierungsprozess 571
Humin 116
Huminsäure 116
Huminstoff 116, 572
Humusentstehung 104
Hutpilz 45
Hybrid-Abbauweg 204
Hybridisierung 456
– mit einer Gensonde 460
Hydridion 63
Hydrid-Meisenheimer-Komplex 268
Hydrocarbon-Fumarat-Addukt 181
Hydrochinon 234
Hydrochinon-Weg 233
Hydrogenobacter thermophilus 88
Hydrolyse, chemische 145
Hydrosphäre 3, 6
Hydroxyhydrochinon 196, 199, 234
Hydroxyradikale (OH•) 144
Hygienisierung 572
Hyperakkumulator 559
Hyphenmantel, umhüllender 45
Hypolimnion 396

I

Ignicoccus 409
Iminodisuccinat 593
Immobilisierung, gezielte 558
Impfmaterial 436
in situ-Bodensanierung 557
in situ-Technik 550
Indirekteinleiter 492
Individuenzahl, hohe 41
Indol 215
Infiltrationsverfahren (*pump and treat*-Technologie) 560
Infrarotstrahlung 4
inherent biodegradable 156
Insektizid 245
Interaktion 44
Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC) 10
Interventionswert 547
Isochinolin 217
Isocitrat 98
Isoprenabbau 259
Isotop, stabiles 469
isotope arrays 469
Itai-Itai-Krankheit 346

K

Kalorimetrie 426
Kälteschutzmittel 331
Kartoffelsorte Amflora 626
Katabolismus 58
Katalase 595
Katalysator, eisenbasierter 23
Kategorie biologischer Wechselwirkungen 43
Kernpolyeder-Virus 586
Kerogen 78
Kettenabbruch 449
Kieselgel 434
Kläranlage, dreistufige kommunale 496
Klimaänderung 9
Klimawirksamkeit von Treibhausgas 16
Knotenpunkt der Abbauwege (catabolic hub) 190
Kodama pathway 215
Kohlendioxid (CO_2) 3
Kohlendioxidgehalt 15
Kohlenhydratstoffwechsel 93
Kohlenmonoxid (CO) 19
Kohlenmonoxid-(CO)-Dehydrogenase 88
Kohlenstoff
– gelösten organischer 154
– gesamter organischer 154
Kohlenstoffassimilation 58
Kohlenstofffixierungsweg, alternativer 82
Kohlenstoffkreislauf
– zentrale Rolle der Biosphäre 7
Kohlenstoffkreislauf, globaler 18
Kohlenstoffquelle 68
Kohlenwasserstoff 175
– chemisch stabilster 117
Koloniebildende Einheit (colony forming unit, CFU) 421
Kommensalismus 43, 54
Kompetition 43
Komplettmedium 421
Komplexbildner
– Aminopoycarbonsäure 288
Komplexierung 353
Komponent des Klimasystems 3
Kompostierung 571
Kompostierungsverfahren 573
Kompostierungsverlauf 571
Kompostmiete 573
Kondensation 7
Konformationsschutz 310
Konjugation 240
Konkurrenz 42
Konkurrenz und Kooperation, mikrobielle 370
Konsument 36
Kontinentalrand 124, 126
Kontrolle des inneren osmotischen Druckes 29
Konvergenz der Abbauwege 190
Kooperation 54
Kooperationspartner 54
Körnungsdiagramm 389
Korrosion von Bauwerken 314, 490
Kraft, protonenmotorische 62, 66
Kreislauf
– biogeochemischer 31, 355
– hydrologischer 7
Kreosot 175
Kriebelmücke 582
Kritische-Mizellen-Konzentration 221
K-Strategie 374
K_s-Wert, niedriger 372
Kuenenia stuttgartiensis 306

Kuh 54
Kultivierbarkeit 444
Kultivierungsverfahren, selektives 428
Kultur
– kontinuierliche 371
– statische 371
Kunststoff, naturfaserverstärkter 283
Küstengebiet 399

L

Laccase 111
Lachgas 22
Lactat 101
Lake Cisó 36
Lake Magadi 36
Lake Tyrrell 36
Lake Vida, Leben in einer Sole unter Antarktis-Eis 380
Landfarming 553
Landoberfläche 3, 7
Laugung, kontrollierte 558
LCKW 249
Lebendkeimzahl 421
Lebensgemeinschaft 44
– mikrobielle 418
Lebensweise, extrovertierte 40
Lederherstellung 600
Leghämoglobin 310
Leguminose 46, 309
Leichtflüchtiger Chlorkohlenwasserstoff (LCKW) 249
Leistungspotenzial, hohes mikrobielles 40
Leitstruktur 592
Leptospirillum 471
Leptothrix ochracea 335
Leuchtbakterientest (Microtox-Test) 164
Leuchtkäfer 424
Lichtenergie 58
Lichtreaktion 69
Lichtsignal 450
Lignin 104, 111
Lignin-Peroxidase 111, 112
Lignocellulose 104
Lindan 234, 242, 245, 246
Lineares Alkylbenzolsulfonat (LAS) 271
Lipase 103, 596
Lipopeptid 222
Lipophil 139
Lipophilie 143
Liposan 222
Lipoxygenase 211
Love Canal 138
Luciferase 450
Luciferin 424
Luminophor 423

M

Maillard-Reaktion 114
Maiszünsler 581
Malaria 620
Malariakontrolle 620
Malat 98
Maleylacetat 234
Maltase 106
Maltose 105
Manganabhängige-Peroxidase 111
Manganatmung 72
Mangan-Peroxidase (Mn-II-Peroxidase) 114
Mangel an
– funktionaler Analyse 480
– Sauerstoff 547
Manometric Respirometry Test 156
Mariprofundus ferrooxydans 39
Massenbilanzierung einer Verölung 178
Massentierhaltung 314, 490
Maximale Kapazität (K) 371
Mechanismus
– der Schwermetallresistenz von Mikroorganismen 352
– skalarer 66
Mediator zum Elektronentransport 610
Mediatorsystem 114
Meereseis, arktisches 11
Meeresspiegelanstieg 15
Meeresverschmutzung 324
Meerretich-Peroxidase 457
Mehrkern-Kohlenwasserstoff 208
Membranfluidität 381
Membranoberfläche 40
Mesopelagial 404
Mesosphäre 8
Metabolisierung, vollständige 145
Metabolit, toxischer 228
Metagenomik 470
Metalimnion 396
Metall, essenzielles 346
Metall-EDTA-Komplex 290
Metallentfettung 249
Metallosphaera sedula 90
Metaproteom-Analyse 469
meta-Ringspaltung 234
meta-Stellung (extradiol) 194
meta-Weg 194
Methan 3, 20, 117, 623
– und Lachgas 15
Methanabbau 124
Methanbildung 117
– mikrobielle 21
Methanhydrat 21, 117, 124
Methanobacillus omelianskii 384
Methanocaldococcus jannaschii 409
Methanogen 118
– acetoclastisches 122
– hydrogenotrophes 118, 122
Methanogenese 72, 118
Methanol 109
Methanomicrobium mobile 434
Methanopyrus kandleri 409
Methanotrophe 80
Methanoxidation, Nitrit-gekoppelte 131
Methanthiol (MeSH) 332
Methode, molekularökologische 456
Methylchinolin 217
Methylierung zu Methyl- und Dimethylquecksilber 355
Methylotrophie 124
Methylquecksilber 138
Microbial Loop (mikrobielle Schleife) 397
Microcystin 396
Mietentechnik 551
Mikroautoradiographie 469
Mikrobenmatt 399
Mikrofibrille 106
Mikroorganismus
– acidophiler 335, 366
– aerober 335
– alkaphiler 366
– anaerober 369
– chemolithotropher 335
– halophiler 367
– halotoleranter 367
– neutrophiler 366
– obligat-aeroberer 369
Mikroplastik 627
Milchling 45
Milieu, euxinisches im Schwarzen Meer 127
Minamata-Krankheit 346
Mineralisierung
– anaerobe 20
– vollständige 145, 153
Minimale Hemmkonzentration (MHK) 346, 351
Ministry of International Trade and Industry (MITI) 152
MITI-Test 592
Mittellamelle 109
Mittelpore 389

Mizelle 221
Modified
– MITI Test (I) 156
– MITI Test (II) 162
– OECD Screening Test 156
– SCAS Test (TG 302 A) 162
Monitored Natural Attenuation 550
Mono Lake 356
Monomer 93
Monooxygenase 189
most probable number-Methode (MPN-Methode) 430
MPN-Methode 422
Muraminsäure 432
Murein 37
Muster
– von eher variabler Region 445
– von extrem konservierter Region 445
– von weniger konservierter Region 445
Mutagenitätsprüfung 163
Mutualismus 43, 44
Mykobiont 44
Mykorrhiza 44, 45
– der Orchideen 45
– ericoide 45
Mykorrhizapilz 46

N

^{15}N-Medium 426
N_2-Fixierung 306
N_2-Fixierung, symbiontische 306
N_2O 315
N_2O-Bildung 621
Nachhaltigkeit 618, 627
Nachhaltigkeitsidee 618
Nachrotte 572
Nachweis
– von Aktivitäten 418
– von *Escherichia coli* im Trinkwasser 430
– von Zellbestandteilen 418
N-Acyl-Homoserin-Lacton 386
NADH 63
nährstoffarm 478
nährstoffreich 478
Nahrungskette 118, 245
n-Alkanabbau, anaerober 181
Nanowire 609
Naphthalin 208
Naphthalin-1,2-Dioxygenase 273
Naphthalin-2-carbonsäure 273
Naphthalin-2-sulfonsäure 272
Natural Attenuation 550
Nautilia/Caminibacter 409
Nebenstromverfahren 506
Nernstsche Gleichung 59
Netzwerk, großes 45
Neutralismus 43, 44
Niagara Falls 138
Nicht-Schwefelbakterien, grüne 72
Nicht-Schwefelpurpurbakterien 70
Nicotinamidadenindinucleotid (NAD^+) 63
Nicotinat 217
Niederländische Liste 547
Niederschlag, heftiger 12
Nische 366
Nische, künstliche ökologische 435
Nischenanwendung 286
Nitrat im Grundwasser 314
Nitratatmung 72, 306, 315
Nitratbelastung des Grundwassers 23
Nitratreduktion
– assimilatorische 306, 315
– dissimilatorische 315
Nitrifikation 306, 311
Nitrifikationshemmtest 164
Nitrilotriacetat (NTA) 288
Nitritoxidierer 506, 508
Nitroaromat 265
Nitrobacteria 306, 312
Nitrogenase 309
Nitrogenase-Reduktase 309
Nitrosobacteria 311
Nitrosomonas 306
Nitrospina 405
Nitrospira 306
n-Octanol 143
Nodularin 396
Non-Aqueous Phase Liquid (NAPL) 139
Nonylphenol 290, 291
NTA 593
Nutzpflanze, gentechnisch veränderte 626

O

o-Nitrophenyl-β-D-galactosid 166
O_2-Elektrode 423
O_2-Verbrauch 423
Oberfläche 385
Oberflächentemperatur 10
obligat anaerob 73
Octanol-Wasser-Koeffizient 440
OECD 152
OECD Screening Test 160
off site-Verfahren 550
O-Horizont 388
$OH^•$-Radikale 20
Ökobilanz 596
Ökosystem 478
Ökosystem, komplexes 473
Ökotoxizität 245
Olavius algarvensis 52
Olefin 183
Oligonucleotid-Microarray, phylogenetisches *(Phylochips)* 461
Oligopeptid 102
oligotroph 375
ω-Oxidation 179
on line-Datenbank-Vergleich 452
on site-Verfahren 550
Optode 423
organische-Substanz-in-Strategie 378
Organismus
– anoxygener phototropher 79
– barophiler 366
– chemoautotropher 436
– chemolithotropher 79, 82
– halotoleranter 376
– hyperthermophiler 366
– mesophiler 366
– oxygener phototropher 79
– photoautotropher 436
– phototropher 79, 82
– psychrophiler 366
– thermophile 366
Organochlor-Pestizid 138
Organozinnverbindung 138, 290
Orthanilat 274
ortho-Spaltung 234
ortho-Stellung (intradiol) 194
ortho-Weg 192
– für Chlorbrenzcatechin 233
Ortsspezifität der Einfügung des Sauerstoffes 232
Osmolyt 378
Östrogen 290
Oxalacetat 98
Oxic-Anoxic Interface 405
Oxidation
– diterminale 179
– subterminale 179
– terminale 178
– unspezifische radikalische 148
Oxidationsmittel, potentes 112
Oxoadipat-Weg 194
Oxygen Minimum Zone (OMZ) 405
Oxyluciferin 424, 450
Ozon 3, 4, 20
Ozonchemie, stratosphäre 21
Ozonschicht 4

P

p-Toluolsulfonat 273
Pansen der Wiederkäuer 117

Paracoccus 306
– *pantotrophus* 328
Parasitismus 43
particulate organic carbon (POC) 493
Passatwind 13
PCB 620
Pectin 109
Pectinase 109
Pectinmethylesterase 109
Pektinase 595
Pelagial 402
Pelagibacter ubique 69
– SAR11 434, 476
Pentachlorphenol (PCP) 226
Pentosephosphat-Zyklus, reduktiver 85
Peptidase 102
PER 249
Perchlorat 203
Permafrost 623
Permafrostboden 11
Permafrostregion 126
Peroxidase 595
Peroxidasereaktion 112
Peroxyradikale (R–O–O•) 144
Persistent Organic Pollutant (POP) 227
Persistenz 145
Pflanzenkläranlage 515
Pflanzenschutzmittel 581
Phanerochaete chrysosporium 111, 209, 211
Phasengrenze 219
Phasentransferprozess 141
Phenanthren 208
Phenylacetat 206
Phenylpropanbaustein 111
Phloroglucin 196, 199
Phosphateliminierung 502
– biologische 505
Phosphoenolpyruvat 96, 99
Phospholipase 103
Phospholipid 103
Phosphoribulose-Kinase 85, 86
Phosphorkreislauf, globaler 30
Phosphorsäureanhydrid-Bindung 62
Phosphotransferasesystem (PTS) 99
Phostripverfahren 506
Photoheterotrophe 74
Photolyse 144, 178
– direkte 144
– indirekte 144
Photosynthese
– anoxygene 69
– oxygene 69
phototroph 68
Phototrophe, oxygene 72
Phototrophie 58
Phycobilin 69
Phycobiont 44
Phytodegradation 559
Phytoextraktion 559
Phytoplankton 396, 398
Phytoplankton-Blüte 29
Phytoremediation 559
Phytotransformation 559
Phytovolatilisierung 559
Picolinat 217
Pikrinsäure (2,4,6-Trinitrophenol) 265
Pilz 36
– phytopathogener 586
Planctomycetes 315, 409
Plasmid 240
Pleurotus ostreatus 111
Polarität 139
Polaromonas 366
Polychlorbiphenyl 138
Polychlordibenzo-p-dioxin 138
Polycyclischer aromatischer Kohlenwasserstoff (PAK) 175
Polyethylen 278, 280
Polygalacturonid 109
Polyhydroxyfettsäure (PHF) 283, 284
Polylactid (PLA) 283, 284
Polymer 93
Polymerase-Kettenreaktion (PCR, *polymerase chain reaction*) 446
Polypeptid 102
Polyphosphat 503
Polyphosphatakkumulierender Organismus (PAO) 503
Polypropylen 280
Polystyrol 278, 280
Polysulfid 339
Polyurethan 278
Polyvinylalkohol (PVOH) 280
Polyvinylchlorid 278
Poly-β-hydroxybutyrat 285
POP-Konvention 227
Porenraum 389
Potenzial, elektrochemisches 66
Präzipitation 7
Primärabbau 154
Primärgärer 118
Primärproduzent 36, 396
primary biodegradability (oder partial biodegradability) 156
Primer-Design 447
Problematik der Metallbelastung von Ökosystemen 347
Prochlorococcus 70
Produktsubstitution 602
Programm BIOWIN 588
Prokaryoten 36
Propidiumiodid 419
Prosthecochloris 70
Protease 595
Proteobacteria 38
Proteorhodopsin 72
Proteorhodopsin-Gen 474
Protoanemonin 228
Protocatechuat 188
Protocooperation 43
Protonengradient 62, 64, 262
Prozess
– lithotropher 69
– oxidativer 145
– reduktiver 145
Prüfpflicht 148
Pseudomonas putida 39
Pseudomurein 37
psychrophil 404
Pullulanase 105
Purpurmembran 69
Pyren 208
Pyridin 214, 215, 217
Pyrit 337
Pyritoxidation 338
Pyrodictium 366
Pyrogallol 199
Pyrolobus fumarii 409
Pyrophosphat 450
Pyrosequenzierung 449
Pyrrol 214
Pyruvat 93, 94, 98
Pyruvat-Dehydrogenase-Komplex 98

Q

Q-Zyklus 66
Qualitätsstandard 347
– an Schwermetall 348
Quantitative Struktur-Aktivitätsbeziehung (QSAR) 588
Quecksilber 353
Quecksilber-Intoxikation 347
Quecksilberverbrauch in der EU 354
Quelle
– anthropogenbedingte 354
– anthropogene 347
– – für Schwermetall 350
– diffuse 348
– natürliche 347
– punktuelle 348
Quorum sensing 386

R

Radiative Forcing (Strahlungsantrieb) 16

Rayleigh-Gleichung 426
REACH (Registration *(Registrierung)*, Evaluation *(Bewertung)* und Authorisation *(Zulassung)* von Chemicals *(Chemikalien)*) 147
ready biodegradable 156
Reaktion, periphere 234
Reaktorverfahren 551, 554
real time-PCR 464
Redoxpaar 58
Redoxpotenzial 354
Redoxprozess 58
Reduktionsäquivalent 58
Reduktionspotenzial 58
– des Fe^{3+}/Fe^{2+}-Paares bei pH 2 336
Reduzierbarkeit, mikrobielle von Schwermetall 354
Referenzwert 547
Reflektion, hohe (Albedo) 7
Regen, saurer 138
Region, variable 445
Reinigung, chemische 249
Reinkultur 432, 433
Reisanbau 117
Reisfeld 21
Resistenzdeterminant 351
Resistenzmechanismus 355
– spezifischer 351
Resorcin 196, 199
Ressource 366
Ressourcenschonung 619
Restriktionsenzym 455
Restriktionsfragmentlängen-Polymorphismus (T-RFLP) 469
Retinal 69
Rhamnolipid 222
Rhizobium 306
Rhodobacter 70
Rhodococcus 215
Rhodomicrobium 337
Rhodospirillum 70
Rhodovulum 337
Ribosom 446
Ribulosebisphosphat-Carboxylase (RubisCO) 85
Ribulosemonophosphat-Weg 125
Richmond Mine 470
Rinderhaltung 25
Rinderzucht 21
Ringaktivierung 232
Ringspaltung vorbereitenden Reaktionen 188
Ringspaltungssubstrat 190
RNase 459
Röhrling 45
Rohstoff, nachwachsender 622
Roseobacter 72, 333, 403
Rotte 571
r-Strategie 374
rT-PCR 462
Rückwärts-Primer 447

S

S^0-Reduktion 326
S9-Fraktion 165
Salicylat 194
salt-in-Methode 378
salt-out-Methode 378
Salzwasser 395
Sanierungsziel 546
Sapromat 423
Sauerstoff 204
– als Reagenz 187
Sauerstoffversorgung 552
Säureanhydrid-Bindung, gemischte 96
Schaumbildung 221
Scheibentauchkörper 501
Scheibentauchkörper-Verfahren 497
Schichtung (Stratifikation) 395
Schlamm 510
Schlammalter 499, 506
Schlammfaulung 510
Schlammvulkan 410
Schleimschicht 385
Schlüsselintermediat 196
Schlüsselzwischenprodukt der Glykolyse 86
Schmetterlingsblütler (Leguminose) 46
Schrotschusssequenzierung 470, 473
Schutz der Nitrogenase vor Sauerstoff 310
Schwachlichtorganismus 400
Schwefel, globulärer 328
Schwefelatmung 72
Schwefelbakterien, grüne 72
Schwefeldioxid (SO_2) 27
Schwefeldisproportionierung 326
Schwefelemission 27
Schwefelkreislauf 322
– globaler 27
Schwefelpurpurbakterien 70, 327
Schwefelquelle 215
Schwefelreservoir 27
Schwefelwasserstoff (H_2S) 27
Schwermetall 346
Schwermetallproblematik 347
Sediment 411
Sekundärmetabolit, toxischer 396
Selen 357
Selenmangel 357
Selenoenzym 357
Senke 144
Sequenzähnlichkeit 445
Sequenz-Alignment, multiples 454
Sequenzanalyse von ribosomaler RNA (rRNA) 444
Sequenzierung
– auf Basis von cyclisch reversibler Termination 462
– mittels cyclisch reversibler Termination 449, 450
– nach Sanger 449
Sequestierung an Boden 270
Serin-Weg 125
Seveso 138
Sicherung der Lebensbedingungen auf der Erde 2
Sicht von Umweltproblemen, transdisziplinäre 619
Singulettsauerstoff 144
slurry-Reaktor 556
small subunit rRNA-Gen (SSU rRNA) 380
Sommerstagnation 396
Sonde 460
Sonde, Enzym-markierte 457
Sophorolipid 222
Sorption 143
SOS-Reparatursystem 165
Speicherstoff 102
Speisepilz 45
Spezialist 383
Sphaerotilus natans 334
Sphingobium chlorophenolicum 233
Sphingomonas paucimobilis 247
Spinosad 583
Sprungschicht 396
Spurengas 3
Stabilisator 279
stable isotope probing (SIP) 469
Stammbaum 452, 454
– phylogenetischer 36
Standard-Reduktionspotenzial 59
– biologisches 59
Standort, extremer 36
Stärke 93, 105
– thermoplastische 283
Stärkekunststoff, biobasierter 283
Staunässe 621
Stechmücke 582
Steinpilz 45
Stickland-Gärung 102
Stickstoff, gebundener 307
Stickstoffdüngergabe, hohe 22
Stickstoffdüngerproduktion, chemische 21
Stickstofffixierung 471

Stickstoffkreislauf 306
– globaler 21
– ozeanischer 315
Stickstoffmonoxid (NO) 27
Stöchiometrieparameter 370
Stoff
– absetzbarer 492
– allochthoner 397
– nicht absetzbarer 492
Stoffeigenschaft, physiko-chemische 139
Stoffkreislauf
– globaler 2
Stoffwechsel, essenzieller 346
Stoffwechselleistung, hohe 40
Stoffwechselrate 40
Stoffwechseltyp 68
Strahlungsgleichgewicht 8
Strahlungsresistenz 361
Stratifikation 395
Stratosphäre 8
Stratus-Wolke 9
Streifenwatt 326
Streulicht 419
Strippung 227
Stromatolith 78
Struktur, amphiphile 221
Struktur-Wirkungs-Beziehung (Struktur-Activity-Relationship, SAR) 588
Styrol 194
Substanz
– autochthone 397
– Endokrin-wirksame 290
Substrat der Ringspaltungsenzyme 190
Substrataffinität, hohe 372
Substratspezifität 238
Substratstufen-Phosphorylierung 64, 96
Substratum 386
Succinat 98
Succinatsemialdehyd-Dehydrogenase 99
Succinyl-CoA 98
Sulfat im Meer 27
Sulfat-/Schwefelatmung 324
Sulfatatmung 72
Sulfat-Methan-Transitionzone (SMTZ) 128
Sulfatreduktion
– assimilatorische 326
– dissimilatorische (Sulfatatmung) 324
Sulfatreduzierende Bakterien (SRB) 129
Sulfobacillus 471
Sulfobenzoat-1,2-Dioxygenase 274
Sulfolobales 329, 409
Sulfonsäure, aromatische 271
Sulfonsäuregruppe (-SO_3H) 276
Sulfurimonas 409
Sulfurovum 409
Sulphuretum 400
Summengleichung der Photosynthese 78
Summenparameter 492
– AOX 494
– AOX, BSB, DOC 152
Sumpf 21
Superbug 621
Surfactin 222
Suspensionsreaktor 556
Süßwasser 395
Symbiont, mikrobieller 477
Symbiose 43, 44
– chemosynthetische 46
Synechococcus 70
Synergismus 43
Syntheseintermediat 225
Synthetische Biologie 627
Syntrophie 118, 384, 400
– nahe am thermodynamischen Gleichgewicht 385
Syntrophismus 43
System
– geschlossenes 554
– hydrogeologisches 558

T

Tag-Nacht-Wechsel 401
tag-Pyrosequenzierung 462, 467
Tankerunfall 138
Tar Balls 178
Täubling 45
Technik der Anreicherung 435
Teerölinhaltsstoff 213
Temerpaturanstieg 625
Temperaturerhöhung 15
Temperaturgradienten-Gelelektrophorese (TGGE) 468
Temperaturpause 625
Temperaturstillstand 625
Temperaturverlauf 571
Temperaturzunahme 10
Terminaler Restriktionsfragmentlängen-Polymorphismus (T-RFLP) 468
Terminator 450
Termiten 21, 124
Tetralin 440
theoretical carbon dioxide 155
Theoretical oxygen demand (ThOD) 154
Theoretischer Sauerstoffbedarf (ThSB) 154, 493
Theoretisches Kohlendioxid ($ThCO_2$) 155
Thermoacidophile, extreme 89
Thermoplast 278
Thermoproteus neutrophilus 90
Thiobacillus 327
Thiocapsa 70
Thionin 610
Thiophen 214
Thiosulfat 337
Tiefsee 404
Tiefseeausbruchsquelle 408
Tiefstemperatur, extreme 10
Tierzucht 25
Tierzuchtsektor 25
(TIGR) Kategorie 475
TNT 265, 268
Toluol 186, 438, 439
total organic carbon (TOC) 154, 493
Totalherbizid 247
Totes Meer 379
Toxizität 438
Toxizitätsprüfung 163
Tra-Funktion 240
Trägheit der Ozeane, thermische 7
Trametes versicolor 111
trans-Dienlacton 234
trans-Dihydrodiol 221
Transduktion 240
Transferprozess 138, 141
Transformation 240
– cometabolische 146
Transformationsprozess 138–140, 144
Transkriptom 461
Transport
– atmosphärischer 140
– im Gewässer 140
Transportprozess 138
Trehalolipid 222
Treibhauseffekt 8, 21, 117
Treibhausgas 3, 623
– langlebiges 15
– Methan 11
– stärkstes 6
Treibhauspotenzial 16
T-RFLP 469
T-RFLP-Analyse 456
TRI 249, 254, 258
Triacylglycerid 102

Triazin 247
Tributylzinn (TBT) 290
Tricarbonsäure-Zyklus 98
– reduktiver 82, 405
Trinitrobenzol 265
Triphenyltetrazoliumchlorid 425
Tropfkörper 500
Tropfkörperverfahren 497
Troposphäre 21
Turmbiologie 514
Typus
– autochthoner 373
– zymogener 374

U

Überdüngung der Wälder 23
Überlebensrate, höhere 361
ultimate biodegradability (oder total biodegradability) 156
umu-Test 165
Umwandlung von Selen in der Natur
– durch biologischen Prozess 358
Umwandlungsprozess 144
Umwelt, globale 2
Umweltbedingung, extremste 471
Umweltbundesamt (UBA) 152
Umweltchemikalie 138, 620
– endokrin wirkende 138
Umweltentlastung 619
Umweltproblem
– globales 2
– örtlich begrenztes 2
Umweltrisiko 148
Umweltschaden 138
Umweltschutz, vorsorgender 546
Umweltschutzmaßnahme, nachsorgende 619
Umweltsqualitätsnorm 347
Umweltverhalten des Eisens 333
Umweltverträglichkeit von Kunststoff 279
United Nations Environment Programme (UNEP) 10
upwelling 12
Uran 360
Uratmosphäre 78
Ursprung, biogener 175

V

Varianz des Meeresspiegels 7
Veratmung der Biomasse 422
Veratrylalkohol 114
Verbindung
– abbaubare 145
– chloraliphatische 249
– heterocyclische 213
– homocyclische 213
– N-heteroaromatische 216
– persistente 145
Verdriftung 177
verdunsten 177
Verfahrenskombination 558
Verflüchtigung (Volatilisation) 141
Verhältnis
– geologisches 356
– Oberfläche zu Volumen 40
– partnerschaftliches 42
– von C:N:P 502
Verockerung von Sanierungsbrunnen 561
Verpackungsbereich 279
Verrottung 571
Verteilungskoeffizient K_{ow} 143
Viehausscheidung 25
Vielfalt, metabolische 366
Vielseitigkeit, stoffwechselphysiologische 36, 41
Vinylchlorid 261
Vitamin B_2-Produktion 598
volatile organic compound (VOC) 7, 493
Vorfluter 495
Vorgehensweise, klassische 444
Vorkommen von Schwermetall auf der Erde 349
Vorrotte 571
Vorsorgewert für Schwermetall 348
Vorsortierung des Hausmülls 571
Vorwärts-Primer 447

W

Wachstumsrate 40, 371
– geringe der Nitrifikanten 506
– maximale spezifische 370
Wachstumstemperatur 366
Wanderungsstrecke bei der Elektrophorese 449
Waschmittel
– enzymfreie 602
– enzymhaltige 602
Waschmittelinhaltsstoff 138
Wasser, euxinisches 405
Wasseraktivität, a_w 376
Wasserblüte 36
Wasserdampf 3, 6
Wassergefährdungsklasse (WGK) 152
Wassergehalt 558
Wasserhaushaltsgesetz 152, 492
Wasser-in-Öl Emulsion 177
Wasser-Verteilungskoeffizient 143
Wechselbeziehung
– amensalistische 54
– parasitische 54
– räuberische 54
Wechselwirkungsprozess 7
Weißfäulepilz 42, 111
– holzabbauender 209
Wetterereignis, extremes 10
Widerstandsfähigkeit gegen Pathogenbefall 44
Wiederkäuer 124
Wiederkäuerpansen 21
Winogradsky, S. N. 435
Wirkgenauigkeit 582
Wirkung, östrogene 292
Wirtsspezifität 45
Wolke 4
Wolkenbildung 7
Wolkenkondensationskern 27
Wood-Ljungdahl-Weg (WL-Weg) 82, 405
World Climate Research Programme (WCRP) 10
World Meteorological Organisation (WMO) 10
Wurzelknöllchen 46, 310

X

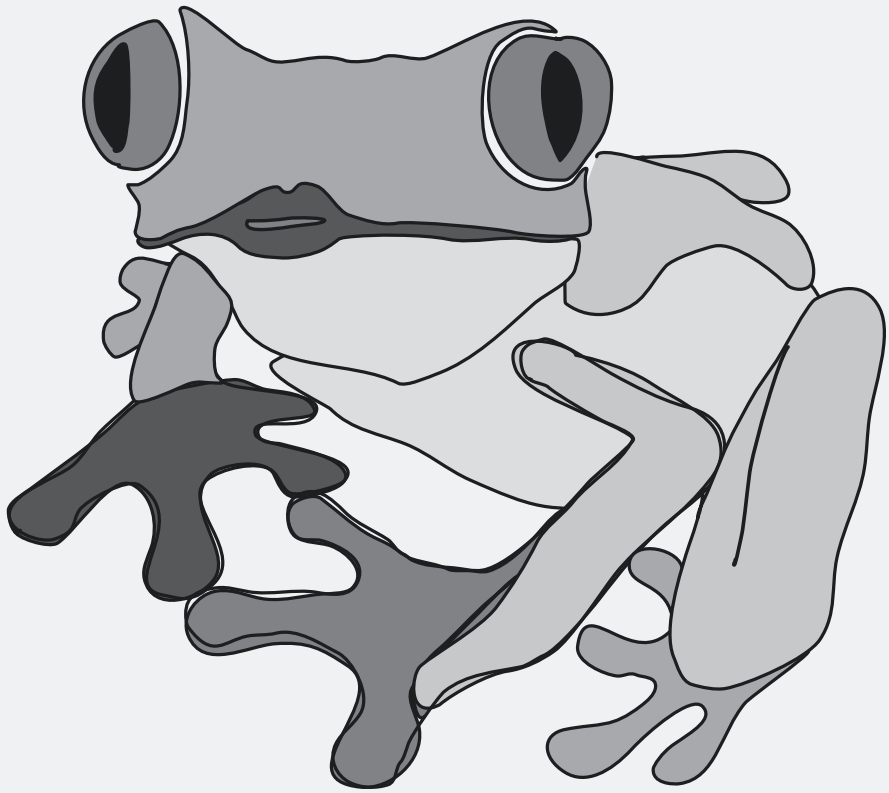
Xenobiotikum 114
Xylan 109
Xylanase 109, 596
Xylol 186

Z

Zahn-Wellens/EMPA Test (TG 302 B) 162
Zellantwort, generelle 351
Zerstörung des Sandsteingefüges 314
Zetaproteobacteria 38, 39, 412
Zielgen 460
Zone
– bathypelagische 403, 404
– epipelagische 402
– euphotische 402
– mesopelagische 403, 404
Zusammensetzung
– phylogenetische 479
– von bakteriellen Bodengemeinschaften 394
Zusatzstoff 279
Zwei-Phasen-System 438

Springer Spektrum

springer-spektrum.de



Die neue Springer Lehrbuchplattform für dein Biologiestudium

Mit Karteikarten, Prüfungsfragen und Videos für Bachelor- und Masterstudium

- Viel unterwegs, wenig am Schreibtisch?
- Kurz vor der Prüfung und noch keinen Überblick?
- Noch nicht das passende Lehrbuch gefunden?

Kein Problem, hier findet ihr einen Überblick über unser Lehrbuchprogramm, Lernkarten zu den einzelnen Lehrbüchern, ein umfangreiches Lexikon, Quizfragen, interessante, thematisch passende Youtube-Videos, unsere Facebook News und vieles mehr. Und für Dozenten gibt es jede Menge Materialien für die Lehre.

lehrbuch-biologie.springer.com

Part of SPRINGER NATURE