

## Inhaltsverzeichnis

<b>Vorbemerkungen</b> .....	1
<b>1. Einleitung</b> .....	3
1.1. Begründung für die Auswahl des Fluoranthens und der untersuchten Tenside .....	8
1.2. Grundlagen zur Solubilisierung hydrophober Substanzen durch Tenside ...	10
1.3. Entstehung, Vorkommen, Nomenklatur, Human-, Ökotoxizität und mikrobielle Eliminierung von PAK .....	12
1.3.1. Entstehung und Vorkommen der PAK .....	12
1.3.2. Nomenklatur der PAK .....	14
1.3.3. Human- und Ökotoxikologie .....	16
1.3.4. Mikrobielle Eliminierung .....	22
<b>2. Material und Methoden</b> .....	26
2.1. Chemikalien und Steriltechnik .....	26
2.2. Übersicht der eingesetzten Tenside (Bezugsquellen, HLB-Werte, Molmassen und Strukturformeln) .....	26
2.3. Medien .....	30
2.4. Mineral- und Nähragar .....	32
2.5. Isolierung des fluorantheneliminierenden <i>Mycobacterium</i> s .....	32
2.5.1. Herkunft der Bodenproben für die Isolierung der fluoranthen- verwertenden Mischkultur .....	32
2.5.2. Zugabe von Fluoranthen zum Mineralmedium .....	33
2.5.3. Beschichten von Mineral-Agarplatten mit einem Fluoranthen und Tween 80 enthaltenden Deckagar .....	34
2.5.4. Beschichten von Mineral-Agarplatten mit Fluoranthen .....	34
2.5.5. Isolierung einer fluoranthenverwertenden Mischkultur und des <i>Mycobacterium hodleri</i> Stamm EMI2 .....	35
2.6. Stammhaltung des <i>Mycobacterium</i> s .....	36
2.7. Bestimmung der Bakterienkonzentration .....	36
2.7.1. Ermittlung der optischen Dichte von Suspensionen des <i>Myco-                 bacterium</i> s .....	36

## Inhaltsverzeichnis

2.7.2. Korrelation zwischen optischer Dichte und KBE .....	37
2.7.3. Bestimmung des bakteriellen Zellproteins .....	38
2.7.3.1. Herstellung eines modifizierten Bradford-Reagenzes .....	38
2.7.3.2. Zellaufschluß von <i>M. hodleri</i> zur Gewinnung des Zellproteins .....	40
2.7.4. Korrelation zwischen optischer Dichte und Zellproteingehalt .....	41
2.7.5. Bestimmung des Trockengewichtes und Korrelation zwischen optischer Dichte und Trockengewicht .....	42
2.8. Eliminationsversuche .....	43
2.8.1. Vorbereitung der Versuchsansätze .....	43
2.8.2. Vorkultivierung und Ernte des <i>Mycobacteriums</i> für die Eliminationsversuche mit Fluoranthen .....	44
2.8.3. Extraktion von Fluoranthen und seiner Metaboliten aus der Kulturflüssigkeit .....	45
2.8.4. Analyse von Fluoranthen und seiner Metaboliten mittels HPLC .....	46
2.8.5. Eliminationsversuche mit <sup>14</sup> C-markiertem Fluoranthen .....	48
2.8.6. Bestimmung der Konzentration von Tween 80 .....	50
2.9. Einfluß der Tenside auf den respiratorischen O <sub>2</sub> -Verbrauch des <i>Mycobacteriums</i> (Respirometrie) .....	51
2.10. Bestimmung der Leitfähigkeit des Inkubationsmediums .....	54
2.11. Ermittlung der kritischen Micellkonzentration (cmc) der Tenside .....	60
<b>3. Ergebnisse .....</b>	<b>62</b>
3.1. Untersuchung wichtiger chemisch-physikalischer Eigenschaften der eingesetzten Tenside .....	62
3.1.1. Kritische Micellkonzentration (cmc) .....	62
3.1.2. Solubilisierung von Fluoranthen in wässrigen Lösungen der Tenside .....	63
3.1.3. Photolyse von Fluoranthen in Anwesenheit verschiedener Tenside ..	66
3.2. Charakterisierung und Identifizierung des fluoranthenverwertenden Bakteriums <i>Mycobacterium hodleri</i> , Stamm EMI2 .....	67
3.3. Wachstum von EMI2 mit verschiedenen Substraten .....	68
3.3.1. Cooxidation einiger ausgewählter PAK .....	72
3.4. Einfluß der untersuchten Tenside auf die Elimination von Fluoranthen durch	

---

EMI2 .....	73
3.4.1. Stimulierung der Fluoranthenelelimination durch Solubilisierung (1 bis 4 g Tensid/l) .....	77
3.4.1.1. Screeningversuch: Stimulierung der Elimination von 5 mg Fluoranthene/l .....	77
3.4.1.2. Stimulierung der Elimination von 50 mg Fluoranthene/l ....	79
3.4.1.3. Vergleich der Eliminationsgeschwindigkeit von Fluoranthene in Anwesenheit von 1 g Tween 80/l und 1 g Nährbouillon/l .	81
3.4.1.4. Ermittlung der spezifischen Erhöhung der Bioverfügbarkeit von Fluoranthene durch Solubilisierung mit 1 g Tween 80/l .	84
3.4.1.5. Vergleich der Elimination von 50 mg Fluoranthene/l bei unvollständiger und vollständiger Solubilisierung mit Tween 80 .....	85
3.4.2. Elimination geringer Fluoranthene ( $\leq 1$ mg/l) in Anwesenheit von 1 g Tween 80/l .....	86
3.4.3. Hinweis für eine Neuinduktion der Fluoranthene-Elimination durch 1 mg Fluoranthene/l während des Wachstums mit 1 g Tween 80/l ...	88
3.4.3.1. Nachweis der Neuinduktion der Fluoranthene-Elimination mit $^{14}\text{C}$ -markiertem Fluoranthene in An- und Abwesenheit von 1 g Tween 80/l .....	90
3.4.4. Beeinflussung der Metabolitenbildung durch verschiedene Tenside .	93
3.4.5. Hemmung der Fluoranthene-Elimination durch vier der untersuchten Tenside .....	97
3.4.5.1. Hemmung der Fluoranthene-Elimination durch 1 g Tensid/l .	97
3.4.5.2. Einfluß der Tensidkonzentration auf die Hemmung der Fluoranthene-Elimination .....	98
3.5. Toxizitätstests .....	100
3.5.1. Hemmung des Wachstums von EMI2 durch die untersuchten Tenside	100
3.5.2. Beeinflussung des respiratorischen $\text{O}_2$ -Verbrauchs von EMI2 durch die untersuchten Tenside .....	103
3.5.2.1. Einfluß von 1 g Tensid/l .....	104
3.5.2.2. Einfluß der Tensidkonzentration auf die Hemmung des respiratorischen $\text{O}_2$ -Verbrauchs .....	105

## Inhaltsverzeichnis

3.5.3. Hinweis auf tensidbedingte Membranschäden durch Kaliumverlust	107
3.5.4. Ermittlung der Leitfähigkeitsänderung des Inkubationsmediums durch Inkubation von EMI2 in Gegenwart der Tenside	112
3.5.4.1. Kinetische Messungen der Leitfähigkeitsänderung	112
3.5.4.2. Abhängigkeit der Leitfähigkeitserhöhung durch Marlipal 013/90 von der Zellkonzentration	118
<b>4. Diskussion</b>	121
4.1. Solubilisierung des Fluoranthens und photolytische Elimination	121
4.1.1. Solubilisierung des Fluoranthens durch die unterschiedlichen Tenside	121
4.1.2. Photolyse von Fluoranthen in Anwesenheit einiger Tenside	122
4.2. Beschleunigung der Fluoranthen-Elimination durch Solubilisierung mit untoxischen Tensiden	123
4.2.1. Entwicklung einer chemisch-physikalischen Modellvorstellung zur Begründung der gesteigerten Fluoranthen-Elimination	123
4.2.2. Entwicklung einer physiologisch basierten Modellvorstellung zur Begründung der simultanen Verwertung von Fluoranthen und den Tensiden - zur These der "bevorzugten Verwertung von Tensiden"	130
4.3. Korrelationen der Fluoranthen-Elimination mit der Hemmung des Zellwachstums und des respiratorischen O <sub>2</sub> -Verbrauchs sowie dem Kaliumverlust und der Leitfähigkeitserhöhung	135
4.4. Zusammenhang zwischen dem HLB-Wert der Tenside und dem Umsatz von Fluoranthen. Zur Korrelation zwischen Struktur und Bakteriotoxizität nichtionischer Tenside	140
4.5. Zum Einsatz von Tensiden in der Altlastsanierung: Das Dilemma unerwünschter Tensidwirkungen	143
4.6. Ausblick - Auswege aus dem Dilemma des Einsatzes technischer Tenside in der Altlastsanierung	147
4.6.1. Auswege aus dem Dilemma I: Verwendung biogener Tenside	147
4.6.2. Auswege aus dem Dilemma II: Einsatz löslicher organischer Verbindungen ohne Tensidcharakter	148

## Inhaltsverzeichnis

---

<b>ANHANG 1:</b> Solubilisierung von Fluoranthren durch 0,1 und 1 g der untersuchten Tenside/l .....	150
<b>ANHANG 2:</b> QBasic (QuickBasic)-Programm zur kontinuierlichen Meßwertaufzeichnung mit dem Leitfähigkeitsmeßgerät LF 3000 .....	151
<b>ANHANG 3:</b> Rohdaten zu 3.4.1.3 .....	155
<b>5. Literatur</b> .....	156