

Untersuchungen zum biologischen Abbau von Hexachlorcyclohexan

Autor: Joachim Hörnig; PDF-Datei: SGDA mbH

Veröffentlicht in: altlasten spektrum 3/1997

Untersuchungen zum biologischen Abbau von Hexachlorcyclohexan

Joachim Hörnig

Zusammenfassung

Aus HCH-kontaminiertem Bodenmaterial können Mikroorganismen isoliert werden, die befähigt sind, HCH abzubauen. Durch Optimierung der Milieubedingungen sind diese Mikroorganismen in der Lage, diese Abbauleistungen auch im Boden zu realisieren.

Im Rahmen eines Forschungsvorhabens wurden Untersuchungen zur biologischen Sanierung von HCH-Kontaminationen in Bodenmaterial mit dem Ziel der Schaffung praxisbezogener Sanierungsverfahren durchgeführt.

Einleitung

Im Zeitraum Mai 1995 bis Juni 1996 wurden durch die Sanierungsgesellschaft für Deponien und Altlasten mbH Zella-Mehlis Untersuchungen zum biologischen Abbau von Hexachlorcyclohexan (HCH) durchgeführt. Das Forschungsvorhaben wurde dabei durch das Bundesministerium für Bildung, Forschung und Technologie im Rahmen des Projektes Biotechnologie 2000 gefördert.

Das Forschungsvorhaben verfolgte das Ziel, Bedingungen für den mikrobiellen Abbau von HCH-Isomeren in kontaminierten Böden zu ermitteln und die Technologie für ein umweltschonendes, mikrobiologisches Sanierungsverfahren abzuleiten.

Die Aufgabenstellung basierte auf einer innerhalb einer Vorphase erarbeiteten Studie, die die Relevanz der HCH-Problematik speziell für das Bundesland Sachsen-Anhalt herausgearbeitet hatte. Im Gegensatz zur zunächst postulierten großflächigen Belastung landwirtschaftlicher Nutzflächen, die sich als nicht relevant herausstellte, konzentrierten sich die weiteren Betrachtungen auf die Produktionsstandorte des HCH sowie auf die deponierten Abfallisomere und deren Umfeld.

In der ehemaligen DDR existierten drei bedeutende Produktionsstandorte, an denen HCH hergestellt bzw. verarbeitet wurde:

- VEB Fahlberg List Magdeburg
- VEB Chemisches Kombinat Bitterfeld
- VEB Berlin-Chemie.

Nach dem Verbot des Einsatzes von HCH-Isomerenmischungen als Pestizide Anfang der 70er Jahre fielen im Rahmen des Herstellungsprozesses gewaltige Mengen Abfallisomere an, da die Produktionsausbeute des insektizid wirksamen γ -Isomers nur 10% bis 15% betrug und Versuche zur Verwertung der α -, β -, δ -, und ϵ -Isomere fehlgeschlagen waren. Die so entstan-

denen Abfallisomere wurden in ungesicherten Deponien abgelagert und existieren in dieser Form bis in die Gegenwart. Sie stellen ein enormes Gefährdungspotential und damit eine Herausforderung zur Sanierung dieser Altlasten mit möglichst schonenden, mikrobiologischen Verfahren dar.

Erkenntnisstand

Bedingt durch den Einsatz von Lindan (γ -HCH) in der Landwirtschaft befaßt sich eine Vielzahl von Untersuchungen mit seinem toxikologischen und ökotoxikologischen Verhalten. Weniger Informationen sind über die persistenten Isomere α -, β -, δ - und ϵ -HCH verfügbar, so daß sich unsere Untersuchungen auf diese Isomere konzentrierten.

Bereits in der Vorphase konnte gezeigt werden, daß aus HCH-kontaminierten Böden und Schlämmen Mikroorganismen isoliert werden können, die gegen HCH resistent und zu seiner Umsetzung befähigt sind. Diese Erkenntnisse, die in Übereinstimmung mit verschiedenen Veröffentlichungen stehen [1,2,3,4,5], stellten die Grundlage für die sich anschließende, fünf Arbeitspakete enthaltende Entwicklungsphase dar.

1. Isolation und Charakterisierung HCH-abbauender Mikroorganismen
2. Untersuchung spezifischer Leistungsparameter der isolierten Mikroorganismen
3. Optimierung der Züchtungsparameter der isolierten Mikroorganismen
4. Untersuchungen zur mikrobiologischen Entsorgung von HCH-Deponiematerial
5. Abbauuntersuchungen in Laborbiobeeten und Technikumsanlagen

Für den Abbau der xenobiotischen Verbindung HCH wurde das natürliche Abbaupotential autochthoner Mikroorganismen aus Altlasten oder Altablagerungen genutzt, die bereits auf natürliche Weise an den Schadstoff und die spezifischen Standortbedingungen adaptiert waren. Zur Realisierung eines breiten Spektrums verschiedener Mikroorganismen wurden folgende Standorte für die Probenahme ausgewählt:

1. Deponie Antonie (Chemie AG Wolfen Bitterfeld)
2. Uferbereich Spittelwasser (Industrieabwasser des ehemaligen CKB Bitterfeld)
3. Deponie Emden (HCH-Deponie des ehemaligen VEB Fahlberg List Magdeburg)
4. Fasanenkippe Sandersdorf

Untersuchungen zum biologischen Abbau von Hexachlorcyclohexan

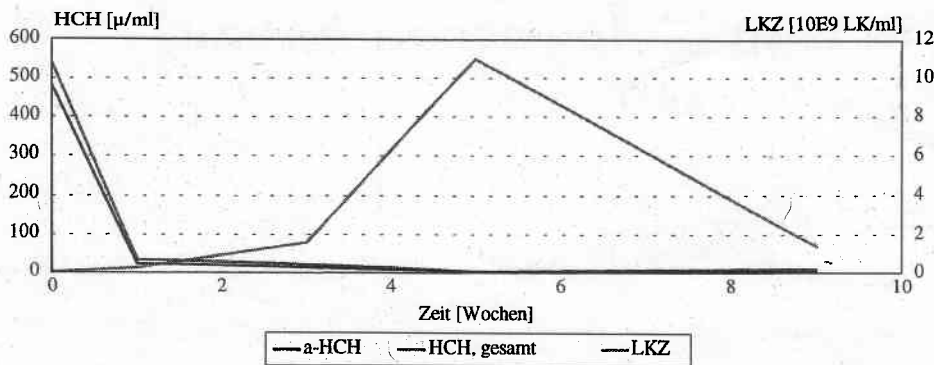


Abbildung 1

Biologischer Abbau der HCH-Isomere durch ein Konsortium bestehend aus verschiedenen Bakterienstämmen unter Einsatz von Basalmedium (Harnstoff, Inosit und HCH enthaltend)

In allen kontaminierten Proben konnten lebensfähige Mikroorganismen nachgewiesen werden (Tab.1). Die Lebendkeimzahlen bewegten sich im Bereich von 10^6 bis 10^7 KBE/g. Selbst in hochtoxischen Abfallisomeren wurden Mikroorganismen, jedoch in wesentlich geringerer Keimzahl, nachgewiesen.

Charakterisierung HCH-abbauender Mikroorganismen

Aus dem Probenmaterial erfolgte unter aeroben und anaeroben Bedingungen die Isolation HCH-resistenter Stämme. Dazu wurde dem Nähragar HCH bis zu einer Konzentration von 10 mg/ml zugesetzt. Da die Löslichkeit von HCH in wässrigem Milieu relativ schlecht ist, ergab sich bei hohen HCH-Konzentrationen eine Suspension.

Das Wachstumsverhalten der 83 isolierten Mikroorganismenstämme wurde unter ansteigender HCH-Konzentration beurteilt, und die Stämme, die sich durch eine hohe HCH-Toleranz auszeichneten, isoliert.

Ausgehend von der Vielzahl HCH-resistenter Bakterienstämme wurden in der Folge Mikroorganismen isoliert, die HCH als Kohlenstoffquelle nutzen können. Die Selektion erfolgte über die Kultivierung dieser Mikroorganismen in Mineralsalzmedium mit HCH als einziger Kohlenstoffquelle. Die fünf leistungsfähigsten Bakterienstämme wurden durch die Deutsche Sammlung für Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH Braunschweig einer Identifizierung unterzogen. (Tabelle 2)

Untersuchungen zum Abbauverhalten der isolierten Mikroorganismen

Eine Auswahl von isolierten Mikroorganismenstämmen wurde in der Schüttelkultur unter aeroben bzw. anaeroben Bedingungen in verschiedenen Nährmedien kultiviert. Als Kohlenstoffquellen standen den Bakterien HCH, Harnstoff und Inosit zur Verfügung. Während der Inkubationszeit erfolgten Probenahmen zur Bestimmung der Lebendkeimzahlen und der HCH-Konzentrationen.

In allen Proben war eine Erhöhung der Lebendkeimzahl während der Kultivierung festzustellen. Der Zusatz der Co-Substrate zum Kulturmedium bewirkte eine deutliche Steigerung der Lebendkeimzahl. Erfolgversprechende Ergebnisse lieferte ein Basalmedium, welches Harnstoff, Inosit und HCH enthielt. Alle folgenden Kultivierungsversuche wurden unter Verwendung dieses Basalmediums durchgeführt.

Weitere Untersuchungen konzentrierten sich auf das Abbauvermögen der Mikroorganismenstämme in der Schüttelkultur unter aeroben Bedingungen, wobei die hinsichtlich ihres Leistungsvermögens postulierte Heterogenität der isolierten Bakterienstämme bestätigt wurde.

Unter den aeroben Bakterienstämmen befanden sich vier Stämme, die in der Schüttelkultur eine effiziente Umsetzung von HCH bewirkten. Diese Stämme waren dabei für die Folgeuntersuchungen besonders interessant, da über den gesamten Untersuchungszeitraum eine kontinuierliche Abnahme aller HCH-Isomere festgestellt werden konnte.

Tabelle 1

Überblick über die Anzahl der isolierten, HCH-resistenten Mikroorganismen

	Resistenz gegen 100 μg HCH/ml	Resistenz gegen 1mg HCH/ml	Resistenz gegen 10mg HCH/ml
sehr gutes Wachstum	65	45	32
gutes Wachstum	18	24	25

Tabelle 2

Identifizierung der leistungsfähigsten Mikroorganismenstämme

Stamm-Nr.	Mikroorganismenart
198/07/94	Serratia liquefaciens Gruppe
203/07/94	Serratia liquefaciens Gruppe
229/03/94	Bacillus cereus
225/03/94 (Isolat A)	Serratia liquefaciens
225/03/94 (Isolat B)	Alcaligenes pichaudii

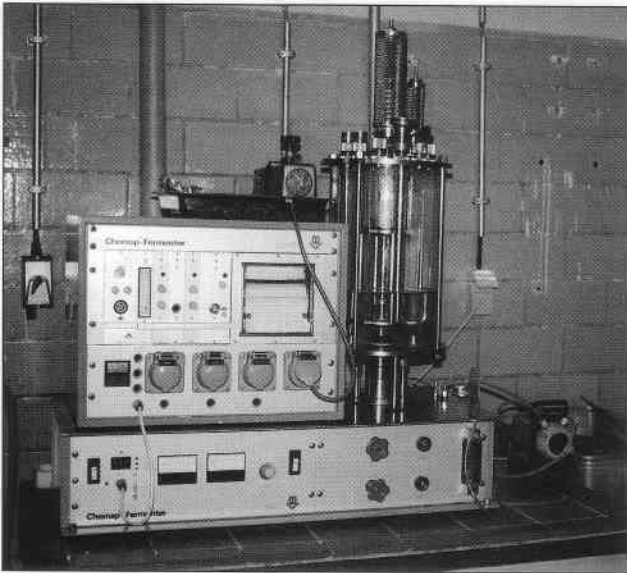


Abbildung 2
Laborfermenter LF 20, Chemap AG Schweiz

Positive Ergebnisse wurden, wie die nachfolgende Abbildung (Abbildung 1) beispielhaft verdeutlicht, beim Einsatz von Mikroorganismen-Konsortien zum Abbau der HCH-Isomere erzielt. Synergistische Effekte scheinen in diesen Fällen die Umsetzungsraten zu verbessern. Diese Erkenntnis mußte hinsichtlich ihrer Übertragbarkeit auf den Abbau in Bodenmaterial für die weiteren Untersuchungen überprüft werden.

Neben den Versuchen in Schüttelkultur wurden gleichermaßen vier Fermentationsversuche zur Untersuchung des Abbaus der deponierten HCH-Isomere durchgeführt. Zum Einsatz kam ein Laborfermenter LF 20 der Firma Chemap AG Schweiz.

Alle vier Fermentationsversuche dokumentierten eine rasche und deutliche Abnahme der Konzentration aller HCH-Isomere. Unter den gewählten Versuchsbedingungen waren die Bakterienstämme der *Serratia liquefaciens*-Gruppe in der Lage, HCH relativ effizient abzubauen. Die Abnahme der HCH-Konzentrationen in den ersten Wochen der Untersuchungen lassen die Schlußfolgerung zu, daß Adsorptionsprozesse bei dieser Senkung der HCH-Konzentrationen

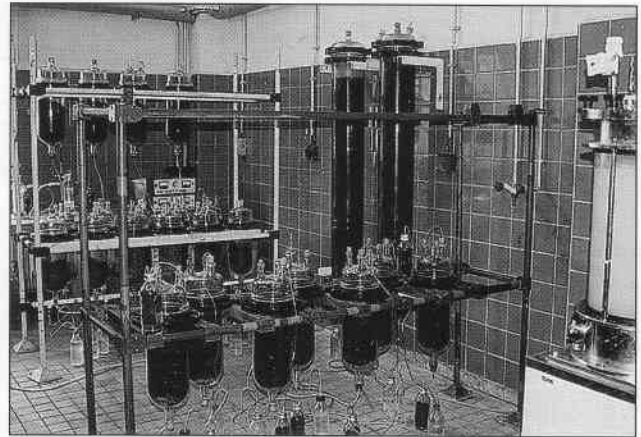


Abbildung 4
Laborbiobeete des firmeneigenen, physikalisch-chemischen und mikrobiologischen Labors

von wesentlicher Bedeutung sind. Hervorzuheben bleibt weiterhin die enge Korrelation zwischen Abnahme bzw. Zunahme der HCH-Konzentrationen und der Entwicklung der Lebendkeimzahlen, welche die Theorie der Adsorptionsprozesse unterstützt. Die Lebendkeimzahlen bewegten sich während der Fermentationsversuche in sehr hohen Bereichen, die ausnahmslos größer als 10^{10} Lebendkeime je ml waren. Diese auch für Fermentationsprozesse hohen Keimdichten unterstreichen die Effizienz dieser Umsetzungsprozesse.

Abbauversuche in Laborbiobeeten und Technikumsanlagen

In 10 Laborbiobeeten (Abb. 4) wurden über einen Zeitraum von 15 Wochen Untersuchungen zum Abbau der HCH-Isomere in Bodenmaterial durchgeführt. Das kontaminierte Bodenmaterial wurde dazu der Fasanenkippe Sandersdorf entnommen, gesiebt und homogenisiert. Anschließend wurde das Material mit Nährstoffen versetzt und zusätzlich zur autochthonen Mikroorganismenflora mit isolierten, extern angezüchteten Mikroorganismen beimpft. Nach Einfüllen des so konditionierten Materials in die Laborbiobeete wurde es bei Raumtemperatur belüftet.

Fermentationsversuch 03/96

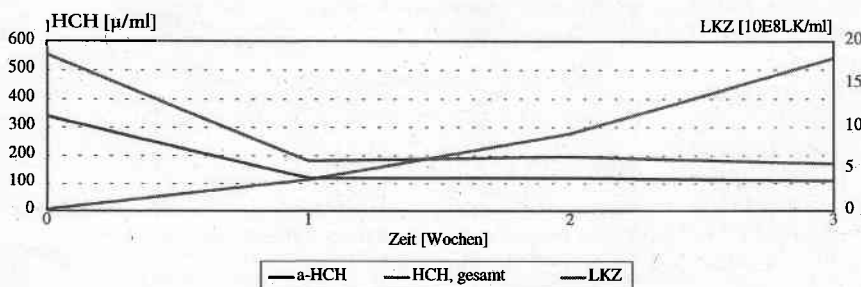


Abbildung 3
Fermentationsversuch 03/96 zum biologischen Abbau der HCH-Isomere unter Einsatz eines Bakterienstammes der *Serratia liquefaciens*-Gruppe

Untersuchungen zum biologischen Abbau von Hexachlorcyclohexan

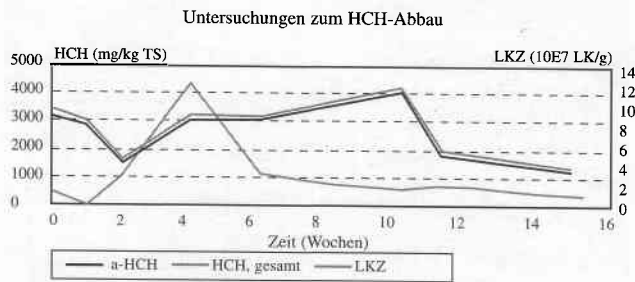


Abbildung 5: Abbau von HCH im Boden unter Einsatz eines Bakterienstammes der *Serratia liquefaciens*-Gruppe (Laborbiobee 1)

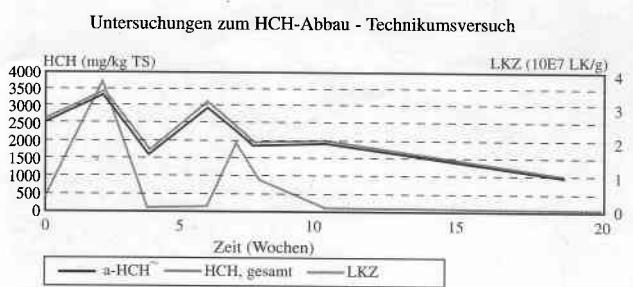


Abbildung 6: Untersuchungen zum biologischen Abbau der HCH-Isomere in der 50 kg-Technikumsanlage unter Einsatz eines Mikroorganismen-Konsortiums

Durch die Wirkung der Mikroorganismen kam es im Untersuchungszeitraum zu einer Abnahme der HCH-Konzentrationen, wobei unter den gewählten Versuchsbedingungen der Einsatz mikrobieller Konsortien keine Vorteile gegenüber dem Einsatz von Reinkulturen der Hochleistungsstämmen besaß. Auch das nochmalige Beimpfen der Bodenproben mit einer Mikroorganismenkultur gleicher Zusammensetzung 10 Wochen nach Beginn der Untersuchungen beeinflusste das Abbauverhalten der Mikroorganismen nicht wesentlich.

In beiden Versuchsanlagen wurden während der ersten 10 Wochen neben der Abnahme der HCH-Konzentrationen intermediär auch Zunahmen registriert, welche vorrangig auf das mehrfache Durchmischen des Bodens zurückzuführen waren. Innerhalb des Untersuchungszeitraumes von 20 Wochen wurde in beiden Versuchen eine Abnahme der HCH-Gesamtkonzentration um mehr als 65% auf durchschnittlich 800 mg/kg Trockensubstanz erzielt. Die Lebendkeimzahl betrug durchschnittlich $1,6 \times 10^5$ KBE/g.



Abbildung 7 Technikumsanlage

Die parallel zu den dargestellten Untersuchungen durchgeführten Versuche im Laborbiobee ohne Zusatz von Mikroorganismen dokumentierten, daß die zu verzeichnende Abnahme der HCH-Isomere geringer war als in den Laborbiobeeten mit Zusatz von autochthonen Mikroorganismenstämmen.

Die Versuchsergebnisse wurden im Anschluß an die bereits dargestellten Versuche auf einen größeren Maßstab - 50 kg bzw. 5 t - übertragen.

Die Gesamt-HCH-Konzentration im eingesetzten Bodenmaterial lag zu Versuchsbeginn bei durchschnittlich 2.500 mg/kg Trockensubstanz. Das homogene Bodenmaterial wurde mit Nährstoffen versetzt, mit isolierten Mikroorganismen beimpft und locker in die Versuchsbehälter eingebaut. Über ein Belüftungssystem erfolgte eine gleichmäßige Luftversorgung. Bedingt durch die starke Austrocknung des kontaminierten Bodenmaterials wurde das Material innerhalb des Versuchszeitraumes mehrfach befeuchtet und neu durchmischt. Der Versuch erfolgte über einen Zeitraum von 20 Wochen und wird durch die SGDA bis zum Ende 1996 fortgeführt.

Zusammenfassung/Ausblick

Die Abbauversuche haben gezeigt, daß bei konsequenter Anwendung der konzipierten Sanierungstechnologie die Möglichkeit besteht, HCH-Isomere auch in relativ hohen Konzentrationen im Boden unter Anwendung mikrobiologischer Verfahren abzubauen. Eine Übertragung der bisher gewonnenen Erfahrungen in die Praxis ist bei Anwendung des von der SGDA entwickelten modifizierten Trockenrotte-Wendemieten-Verfahrens durchaus denkbar. Der wesentliche Vorteil dieses Verfahrens liegt in seiner guten Umweltverträglichkeit und Wirtschaftlichkeit.

Die wesentliche Voraussetzung für das Erreichen des Sanierungszieles ist die Schaffung optimaler Bedingungen (Vorbereitung des zu sanierenden Materials, Zugabe entsprechender Zuschlagstoffe sowie Mikroorganismenkulturen).

Die Versuche im Technikumsmaßstab werden durch die SGDA planmäßig weitergeführt, um für das stark mit HCH kontaminierte Material der ehemaligen Produktionsstandorte spezifische Sanierungsverfahren zu erarbeiten.

Literatur

- (1) Haider, K.: Degradation and Metabolization of Lindane and other Hexacyclohexane Isomers by Anaerobic and Aerobic Soil Microorganisms, Zeitschrift für Naturforschung 34c, 1006-1069 (1979)
- (2) MacRae, I.C./K. Raghu / E.M. Bautista: Anaerobic Degradation of the Insecticide Lindane by Clostridium sp. Nature 221, 859-860 (1969)
- (3) Ohisa, N./M. Yamaguchi: Gamma BHC Degradation Accompanied by the Growth of Clostridium rectum Isolated from Field Soil. Agricultural and Biological Chemistry 42, 1819-1823 (1978)
- (4) Sahu, S.K./K.K. Patnaik/ M. Sharmila / N. Sethumathan: Degradation of Alpha-, Beta- and Gamma-Hexachlorocyclohexane by a Soil Bacterium under Aerobic Conditions. Applied and Environmental Microbiology 56, 3620-3622 (1990)
- (5) Straube, G.: Microbial Transformation of Hexachlorocyclohexane. Zentralblatt für Mikrobiologie 146, 327-338 (1991)

Anschrift des Verfassers

Dr. Joachim Hörnig
 SGDA Sanierungsgesellschaft für Deponien und Altlasten mbH,
 Zweigniederlassung Rodleben, Zerbster Straße 10-14
 06862 Rodleben/OT Tornau
 Tel. 03 49 01/82 214 + 82 217, Fax 03 49 01/82 280