

Veröffentlichungen aus dem Technologiezentrum Wasser
Band 67 – Anaerober CKW-Abbau: Molekularbiologie, Substanzspektrum,
Isotopenfraktionierung

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1. Wissenschaftliche Ausgangssituation	2
1.1.1. Umweltrelevanz und Vorkommen chlorierter Schadstoffe	2
1.1.2. Mikrobiologischer CKW-Abbau	7
1.1.2.1. Sauerstoffsensitivität reduktiver Dechlorierer	10
1.1.2.2. Reduktiver Abbau von Chlorethenen.....	11
1.1.2.3. Reduktiver Abbau von Hexachlorcyclohexan	13
1.1.2.4. Reduktiver Abbau von PCP	15
1.1.2.5. Reduktiver Abbau von HCB	15
1.1.2.6. Reduktiver Abbau von PCBs.....	18
1.1.3. Nachweismethoden für den mikrobiologischen CKW-Abbau	20
1.1.3.1. Molekularbiologische Nachweismethoden	20
1.1.3.1.1. Molekularbiologischer Nachweis mittels DNA.....	21
1.1.3.1.2. Molekularbiologischer Nachweis mittels RNA.....	22
1.1.3.2. Mikrobiologische Isotopenfraktionierung	25
1.1.4. Praktischer Einsatz innerhalb des NA-Konzeptes	30
1.1.5. Untersuchungsgebiet: Drei-Schluchten-Reservoir	31
1.2. Aufgabenstellung und Ziel der Arbeit	33
2. Material und Methoden	34
2.1. Verwendete Chemikalien	34
2.2. Verwendete Geräte und Materialien	34
2.3. Physikalisch-chemische Analyseverfahren	34
2.3.1. LCKW-Analytik mittels Gaschromatographie	34
2.3.2. Analytik der Chlorphenole, Chlorbenzole, Polychlorierten Biphenyle und Hexachlorcyclohexane	35
2.3.3. Ionenchromatographie	35
2.3.4. DOC-Bestimmung	36
2.3.5. Bestimmung der $\delta^2\text{H}$- und $\delta^{13}\text{C}$-Werte	36

2.4. Elektrodenmessungen	36
2.4.1. pH-Wert	36
2.4.2. Sauerstoff	37
2.4.3. Redoxpotential	37
2.5. Molekularbiologische Methoden	37
2.5.1. DNA-Extraktion	37
2.5.2. RNA-Extraktion	38
2.5.2.1. Fast RNA® Pro Soil Direct Kit von MP Bio Medicals	38
2.5.2.2. PowerWater®RNA Isolationskit von MoBio Laboratories	38
2.5.2.3. Einsatz des DNA-free™ Kit	39
2.5.2.4. cDNA Synthese	39
2.5.3. Polymerase Chain Reaction (PCR)	40
2.5.4. Realtime PCR	42
2.5.5. Gelelektrophorese	45
2.6. Durchführung der Experimente	46
2.6.1. Sedimentprobenahme	46
2.6.2. Kultivierung und Anreicherung der Mikroorganismen	48
2.6.2.1. Ansetzen der Abbauprobversuche	48
2.6.2.2. Inokulation und Beprobung	50
2.6.3. Untersuchung der Yangtze-Sedimente auf Chlorethen-Abbau	51
2.6.4. Evaluierung der Yangtze-Laborkultur bezüglich ihres Substrat- spektrums	52
2.6.5. Sauerstoffempfindlichkeit der Yangtze-Laborkultur	53
2.6.6. mRNA-Experimente	55
2.6.7. ²H- und ¹³C-Isotopenfraktionierungsexperimente	56

3.	Ergebnisse und Diskussion	58
3.1.	Untersuchung der Yangtze Sedimente	58
3.1.1.	Molekularbiologische Untersuchung von Yangtze Sedimenten auf reductive Dechlorierer	58
3.1.2.	Nachweis der reduktiven Dechlorierung von PCE mit Yangtze Sedimenten ohne Auxiliarsubstrate	59
3.1.3.	Nachweis der reduktiven Dechlorierung von PCE mit Batchkulturen aus den Yangtze Sedimenten	60
3.1.4.	Diskussion der reduktiven Dechlorierung von PCE durch Yangtze Sedimente	68
3.2.	Untersuchung des Substratspektrums der reduktiv dechlorierenden Kultur XX01	72
3.2.1.	Anaerob reduktiver Abbau von α-, β-, γ- und δ-Hexachlorcyclohexan	72
3.2.1.1.	Ergebnisse des anaerob reduktiven Abbaus von α -, β -, γ - und δ -Hexachlorcyclohexan	72
3.2.1.2.	Diskussion des anaerob reduktiven Abbaus von α -, β -, γ - und δ -Hexachlorcyclohexan	75
3.2.2.	Anaerob reduktiver Abbau von Pentachlorphenol	76
3.2.2.1.	Ergebnisse des anaerob reduktiven Abbaus von Pentachlorphenol	76
3.2.2.2.	Diskussion des anaerob reduktiven Abbaus von Pentachlorphenol	80
3.2.3.	Anaerob reduktiver Abbau von Hexachlorbenzol	81
3.2.3.1.	Ergebnisse des anaerob reduktiven Abbaus von Hexachlorbenzol	81
3.2.3.2.	Diskussion des anaerob reduktiven Abbaus von Hexachlorbenzol	84
3.2.4.	Anaerob reduktiver Abbau von PCB180	86
3.2.4.1.	Ergebnisse des anaerob reduktiven Abbaus von PCB180	86
3.2.4.2.	Diskussion des anaerob reduktiven Abbaus von PCB180	89
3.2.5.	Anaerob reduktiver Abbau von PCE	90
3.2.6.	Kontrollparameter	91
3.2.7.	Zusammenfassende Diskussion zur Untersuchung des Substratspektrums der Kultur XX01	92

3.3.	Sauerstoffeinfluss auf die reduktive Dechlorierung von PCE	96
3.3.1.	Kurzzeitiger Sauerstoffeinfluss auf die reduktive Dechlorierung von PCE	96
3.3.2.	72 Stunden Sauerstoffeinfluss auf die reduktive Dechlorierung von PCE	100
3.3.3.	Diskussion des Sauerstoffeinflusses auf die reduktiv dechlorierenden Mischkulturen	105
3.4.	mRNA Expressionsanalysen der Dehalogenase-Gene <i>pceA</i>, <i>tceA</i>, <i>vcrA</i> und <i>bvcA</i> von <i>Dehalococcoides</i> spp.	111
3.4.1.	Untersuchung der mRNA Expression der Dehalogenase-Gene	111
3.4.1.1.	PCE und cDCE Dechlorierung	111
3.4.1.2.	Monitoring von <i>Dehalococcoides</i> spp. und der reduktiven Dehalogenase-Gene.....	113
3.4.1.3.	Entwicklung der RNA-Extraktionsmethode.....	115
3.4.2.	Diskussion der Untersuchung der mRNA-Expression der Dehalogenase-Gene	120
3.5.	Bestimmung der $\delta^{13}\text{C}$- und $\delta^2\text{H}$-Werte	127
3.5.1.	Bestimmung der ^{13}C-Isotopenfraktionierung der Chlorethene	127
3.5.2.	^2H-Isotopenfraktionierung	133
3.5.3.	Diskussion der ^{13}C- und ^2H-Isotopenfraktionierung	135
4.	Zusammenfassung und Ausblick	139
5.	Eigene Veröffentlichungen und Konferenzbeiträge	142
6.	Literatur	143
7.	Anhang	155