

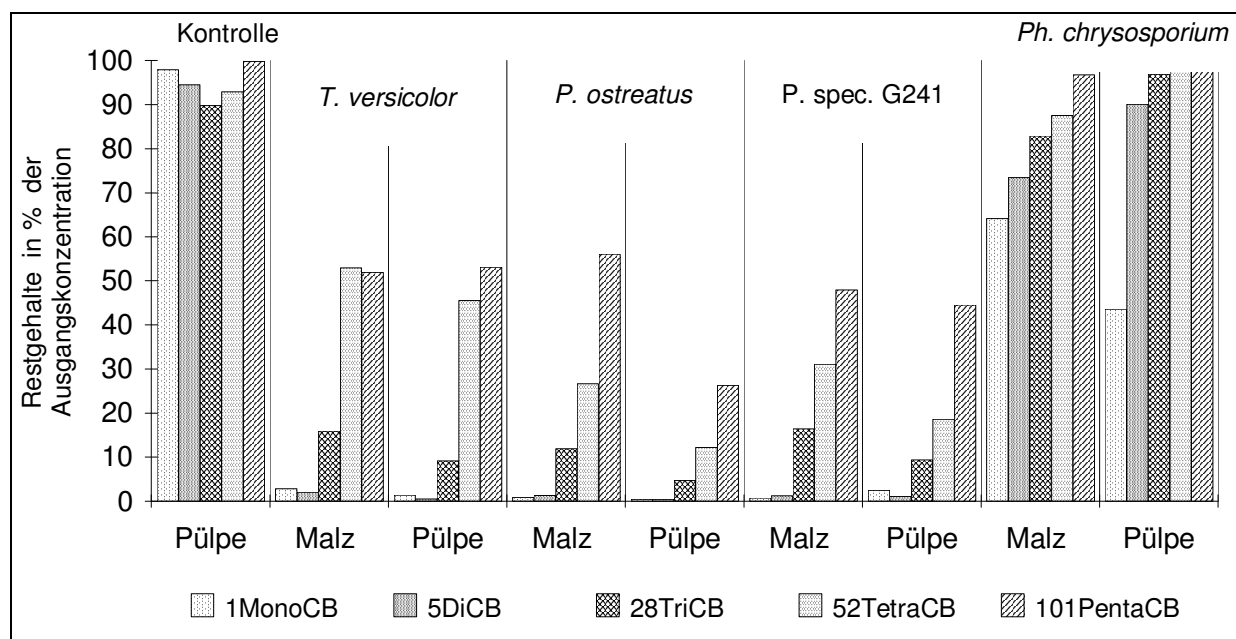
### 3.4. PCB-ABBAUVERSUCHE

#### 3.4.1. Industrielle PCB-Gemische

##### 3.4.1.1. PCB-Extrakte auf Holzspänen

In Flüssigkultur sind PCBs von Weißfäulepilzen abbaubar (EATON 1985). Um zu klären, ob ein solcher Abbau grundsätzlich auch in einem Festphasensystem möglich ist, wurden mit PCBs kontaminierte Holzspäne mit Weißfäulepilzen inkubiert. Dabei wurde ein industrielles Kongenerengemisch überwiegend aus Tri- und Tetrachlorbiphenylen (Clophen A30) verwendet. Um ein optimales Wachstum auf Holzspänen zu erhalten, wurde Kartoffelpulpe bzw. Malzmedium mit der Matrix vermischt. Die Pilze *Pleurotus ostreatus* ssp. *florida*, *Pleurotus* spec. G241, *Trametes versicolor* und *Phanerochaete chrysosporium* wurden in Form bewachsener Hirsekörner zugegeben und die Ansätze für fünf Wochen bei passiver Belüftung inkubiert. Da Lignosulfonat unter bestimmten Bedingungen den Abbau von Styrol steigern kann (BRAUN-LÜLLEMANN 1993), wurde einem Teil der Proben diese Substanz zur Induktion zugegeben.

Die Pilze wuchsen in den Gefäßen sehr schnell und gleichmäßig, lediglich die eingesetzten *Phanerochaete chrysosporium*-Stämme bildeten nur dünnes Mycel aus (Anhang, A17, Tabelle 13). Die Analyse der Ausgangssubstanzen nach Ablauf der Inkubationsperiode zeigte eine deutliche Abnahme der meisten PCBs (Abbildung 30).



**Abbildung 30:** Abnahme der Konzentrationen ausgewählter PCB-Kongeneren nach fünfwöchiger Inkubation mit *Trametes versicolor*, *Pleurotus ostreatus* ssp. *florida*, *Pleurotus* spec. G241 und *Phanerochaete chrysosporium*. Ansätze in 100 ml Laborflaschen, bei einer Beschickung von 2,5 g kontaminierten Spänen mit Malz- bzw. Kartoffelpulpe-Beimischung.

Der Abbau betrug im Bereich der mono- bis trichlorierten Biphenylen weit über 70 %, im höherchlorierten Bereich bis zu den Pentachlorbiphenylen bis zu 50 % und auch für Heptachlorbiphenyle konnte in Einzelfällen noch ein Abbau von 20 % festgestellt werden. Die gesamte PCB-Summe wurde von *Trametes versicolor* sowie beiden *Pleurotus*-Linien zu 70 % abgebaut (Tabelle 20). Die Inkubation mit *Phanerochaete chrysosporium* bewirkte dahingegen kaum Änderungen der PCB-Konzentration. Dies stimmt mit den Ergebnissen der PAK-Abbauversuche im Screeningtest überein und ist vermutlich auf den Sauerstoffgehalt von 21% und die Inkubationstemperatur von 22 °C zurückzuführen.

Die Auswertung erfolgte durch Bezug der Analysenwerte auf das im Extrakt enthaltene 153-Hexachlorbiphenyl (Nummerierung nach BALLSCHMITTER & ZELL 1980). Da Weißfäulepilze diese Substanz anscheinend nicht abbauen können, wurde dieses PCB als interner Standard verwendet.

Der Abbau der PCBs durch *Pleurotus ostreatus* ssp. *florida* wurde durch Pülpezugabe im Vergleich zu der Holzspäne-Malz-Matrix deutlich gesteigert. Dagegen konnte in keinem Fall ein Einfluß von Ligninsulfonat auf den Abbau beobachtet werden (Anhang, A17, Tabelle 14).

Die Restgehalte der einzelnen PCBs werden beispielhaft für *Pleurotus ostreatus* auf Malzmedium dargestellt (Tabelle 21). Die Zuordnung der nicht als Standard vorliegenden PCB-Kongeneren erfolgte an Hand der in der Literatur beschriebenen Abfolge nach gaschromatographischer Trennung auf einer 5 %-Phenyl-Siloconsäule.

**Tabelle 20:** Maximalabbau von einzelnen Isomeren (e.I.) in den Versuchsansätzen mit *Pleurotus ostreatus* und *Trametes versicolor* sowie Abbausummen über die Gesamtfläche der PCB-Chlorierungsstufen.

	<i>Trametes versicolor</i>		<i>Pleurotus ostreatus</i>	
	Maximalabbau e.I.	Abbau	Maximalabbau e.I.	Abbau
Monochlorbiphenyle	über 99 %	98 %	über 99 %	100 %
Dichlorbiphenyle	über 96 %	77 %	über 98 %	85 %
Trichlorbiphenyle	über 80 %	85 %	über 95 %	87 %
Tetrachlorbiphenyle	über 90 %	65 %	über 90 %	67 %
Pentachlorbiphenyle	bis 40 %	36 %	bis 60 %	36 %
Hexachlorbiphenyle	bis 50 %	12 %	bis 35 %	8 %
Heptachlorbiphenyle	kein Abbau	k.A.	bis 22 %	4 %

**Tabelle 21:** PCB-Konzentrationen der Kongeneren eines Clophen A 30-Gemisches auf Holzspänen nach Inkubation mit *P.ostreatus* ssp. *florida* mit Malzmedium.

PCB		Cl-Atome		PCB-Konzentration		Restgehalt
BZ.Nr.	Struktur	para	meta	[mg/kg TG] Kontrolle	nach Abbau	[%]
1 MonoCB :	2- Monochlorbiphenyl			23,7	0,0	<b>0 %</b>
2 MonoCB :	3- Monochlorbiphenyl			43,2	0,0	<b>0 %</b>
4 DiCB :	2,2'- Dichlorbiphenyl			13,9	0,1	<b>1 %</b>
5 DiCB :	2,3- Dichlorbiphenyl			30,5	0,2	<b>1 %</b>
7 DiCB :	2,4- Dichlorbiphenyl			3,4	0,0	<b>0 %</b>
9 DiCB :	2,5- Dichlorbiphenyl			7,0	0,0	<b>0 %</b>
15 DiCB :	4,4'- Dichlorbiphenyl	+		131,5	28,2	<b>21 %</b>
16/32 TriCB :	2,2',3-/2,4'6- Trichlorbiphenyl			106,6	2,7	<b>2 %</b>
18 TriCB :	2,2',5- Trichlorbiphenyl			183,1	4,7	<b>3 %</b>
22 TriCB :	2,3,4'- Trichlorbiphenyl			93,5	6,5	<b>7 %</b>
25 TriCB :	2,3',4- Trichlorbiphenyl			14,3	1,3	<b>9 %</b>
27 TriCB :	2,3',6- Trichlorbiphenyl			17,3	0,0	<b>0 %</b>
28/31 TriCB :	2,4'4-/2,4',5- Trichlorbiphenyl	+/		406,0	63,5	<b>16 %</b>
29 TriCB :	2,4,5- Trichlorbiphenyl			31,8	3,5	<b>11 %</b>
32 TriCB :	2,4',6- Trichlorbiphenyl			12,8	0,0	<b>0 %</b>
33 TriCB :	2',3,4- Trichlorbiphenyl			41,2	3,5	<b>9 %</b>
37 TriCB :	3,4,4'- Trichlorbiphenyl	+		92,7	39,6	<b>43 %</b>
40 TetraCB :	2,2',3,3'- Tetrachlorbiphenyl			18,2	4,6	<b>25 %</b>
41/64 TetraCB :	2,2',3,4-/2,3,4',6- Tetrachlorbiphenyl			112,0	17,9	<b>16 %</b>
42 TetraCB :	2,2',3,4'- Tetrachlorbiphenyl			40,9	7,9	<b>19 %</b>
44 TetraCB :	2,2',3,5'- Tetrachlorbiphenyl			85,2	21,9	<b>26 %</b>
49 TetraCB :	2,2',4,5'- Tetrachlorbiphenyl			67,8	11,6	<b>17 %</b>
51 TetraCB :	2,2',4,6'- Tetrachlorbiphenyl			6,1	1,2	<b>20 %</b>
52 TetraCB :	2,2',5,5'- Tetrachlorbiphenyl		+	98,7	27,3	<b>28 %</b>
53 TetraCB :	2,2',5,6'- Tetrachlorbiphenyl			17,1	1,5	<b>9 %</b>
56/60 TetraCB :	2,3,3',4'-/2,3,4,4'- Tetrachlorbiphenyl	+		108,5	38,5	<b>35 %</b>
66 TetraCB :	2,3',4,4'- Tetrachlorbiphenyl	+		126,0	55,3	<b>44 %</b>
67 TetraCB :	2,3',4,5- Tetrachlorbiphenyl			6,9	2,6	<b>38 %</b>
70/76 TetraCB :	2,3',4',5-/2',3,4,5- Tetrachlorbiphenyl			136,2	56,0	<b>41 %</b>
74 TetraCB :	2,4,4',5- Tetrachlorbiphenyl	+		67,6	38,2	<b>57 %</b>
77 TetraCB :	3,3',4,4'- Tetrachlorbiphenyl	+		15,5	10,6	<b>68 %</b>
84/92 PentaCB :	2,2',3,3',6-/2,2',3,5,5'- Pentachlorbiphenyl		+	7,7	5,4	<b>70 %</b>
87 PentaCB :	2,2',3,4,5'- Pentachlorbiphenyl			25,3	14,8	<b>58 %</b>
91 PentaCB :	2,2',3,4',6- Pentachlorbiphenyl	+		6,1	2,1	<b>34 %</b>
95 PentaCB :	2,2',3,5',6- Pentachlorbiphenyl		+	38,6	19,2	<b>50 %</b>
97 PentaCB :	2,2',3',4,5- Pentachlorbiphenyl			15,2	10,1	<b>66 %</b>
99/113 PentaCB :	2,2',4,4',5-/2,3,3',5',6- Pentachlorbiphenyl	+/	/+	20,4	13,1	<b>64 %</b>
101 PentaCB :	2,2',4,5,5'- Pentachlorbiphenyl		+	62,6	38,1	<b>61 %</b>
105 PentaCB :	2,3,3',4,4'- Pentachlorbiphenyl	+		27,0	20,6	<b>76 %</b>
110 PentaCB :	2,3,3',4',6- Pentachlorbiphenyl			67,0	41,7	<b>62 %</b>
111 PentaCB :	2,3,3',5,5'- Pentachlorbiphenyl			9,3	4,3	<b>46 %</b>
118 PentaCB :	2,3',4,4',5- Pentachlorbiphenyl			57,3	47,3	<b>83 %</b>
132 HexaCB :	2,2',3,3',4,6'- Hexachlorbiphenyl			11,4	9,2	<b>81 %</b>
138 HexaCB :	2,2',3,4,4',5'- Hexachlorbiphenyl	+		40,9	37,0	<b>90 %</b>
141 HexaCB :	2,2',3,4,5,5'- Hexachlorbiphenyl		+	6,1	6,0	<b>99 %</b>
146 HexaCB :	2,2',3,4',5,5'- Hexachlorbiphenyl		+	4,2	4,5	<b>108 %</b>
149 HexaCB :	2,2',3,4',5',6- Hexachlorbiphenyl		+	23,9	20,5	<b>86 %</b>
153 HexaCB :	2,2',4,4',5,5'- Hexachlorbiphenyl	+	+	29,0	29,0	<b>100 %</b>
158 HexaCB :	2,3,3',4,4',6- Hexachlorbiphenyl	+		4,7	4,8	<b>102 %</b>
170 HeptaCB :	2,2',3,3',4,4',5- Heptachlorbiphenyl	+	+	6,1	6,2	<b>102 %</b>
171 HeptaCB :	2,2',3,3',4,4',6- Heptachlorbiphenyl	+		1,9	1,5	<b>79 %</b>
174 HeptaCB :	2,2',3,3',4,5,6'- Heptachlorbiphenyl		+	4,4	4,3	<b>99 %</b>
177 HeptaCB :	2,2',3,3',4',5,6- Heptachlorbiphenyl	+		3,4	2,7	<b>78 %</b>
180 HeptaCB :	2,2',3,4,4',5,5'- Heptachlorbiphenyl	+	+	10,2	10,3	<b>101 %</b>
<b>Gesamt</b>				<b>2.722</b>	<b>826</b>	<b>30 %</b>

Ein Überblick über den Abbau verschiedener Chlorierungsstufen zeigt eine deutliche Abhängigkeit des Abbaus von der Chloranzahl der PCBs (Tabelle 21). Dieser Effekt wird jedoch noch von dem Einfluß des Chlorierungsmusters überlagert. Besonders deutlich zeigt sich dies beim Vergleich der verschiedenen Dichlorbiphenyle. Das Isomer 4,4'-Dichlorbiphenyl erwies sich dabei im Gegensatz zu allen anderen Dichlorbiphenylen als relativ abbauresistent.

Um neben dem prozentualen Abbauwerten einen Eindruck des Gesamtabbaupotentials zu erhalten, sind im Anhang (A18-20, Abbildung 9-11) GC-MS-Chromatogramme repräsentativer Ansätze angefügt.

Deutlich treten in den Chromatogrammen einige PCB-Kongenerere hervor, die sich relativ zu den PCBs der gleichen Chlorierungsstufe anreichern (Tabelle 22).

**Tabelle 22:** Ausgewählte PCB-Kongenerere mit höheren Restgehalten als vergleichbare Isomere desselben Chlorierungsgrades.

4,4'- Dichlorbiphenyl (15)	2,4,4'- Trichlorbiphenyl (28)
2,2',5,5'- Tetrachlorbiphenyl (52)	3,4,4'- Trichlorbiphenyl (37)
2,3',4,4'- Tetrachlorbiphenyl (66)	2,3,4,4'- Tetrachlorbiphenyl (60)
2,2',4,5,5'- Pentachlorbiphenyl (101)	2,3',4,4',5- Pentachlorbiphenyl (118)
sowie	2,2',4,4',5,5'- Hexachlorbiphenyl (153)

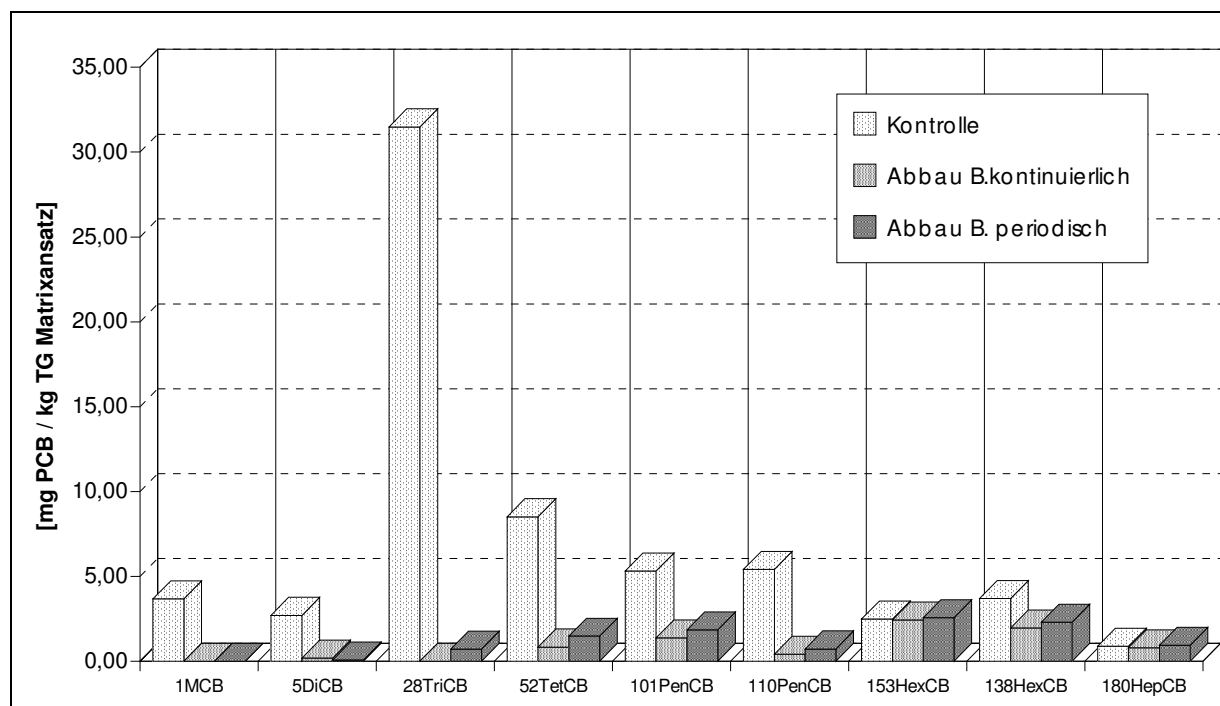
Eine Kontrolle und zwei Inkubationsproben von *Pleurotus ostreatus* ssp. *florida* und *Trametes versicolor* wurden an der Universität Bayreuth, Lehrstuhl für ökologische Chemie und Geochemie auf polychlorierte Dibenzoparadioxine (PCDD) und Dibenzofurane (PCDFs) hin untersucht (Ergebnisse im Anhang, A21, Tabelle 15). Es konnten in den Proben keine PCDDs festgestellt werden, hingegen wurde eine Belastung mit PCDFs im ng-Bereich mit Schwerpunkt bei den vierfach und fünffach chlorierten Furanen gefunden. Es zeigten sich jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen der Kontrolle und den Abbauproben. Dies schließt die Neu-Bildung von PCDD/Fs durch die Wirkung der Peroxidasen auf die PCBs aus (zur Bildung von PCDDs aus Chlorphenolen siehe ÖBERG et al. 1990). In Zusammenarbeit mit Prof. Ballschmitter, Universität Ulm, konnte hingegen gezeigt werden, daß in einem gleichartigen Festphasensystem mit *Pleurotus ostreatus* ssp. *florida* nach 12 Wochen sogar polychlorierte Dioxine bis zu Tetrachlordibenzodioxin und polychlorierte Furane bis zu Pentachlordibenzofuran abbaubar sind. Dichlordibenzodioxine und Furane konnten nach dieser Zeit zu über 50 % abgebaut werden. (BALLSCHMITTER et al. 1992).

### 3.4.1.2. PCB-Extrakte auf Holzspänen - mit Bodenuntermischung -

Um festzustellen, ob die Bodenmatrix einen hemmenden Effekt auf den Abbau der PCBs auf Holzspänen besitzt, wurde ein Lehmboden (BodenA) in das Holzspäne-Pülpe-Substrat eingemischt. Der Versuch mit dem Weißfäulepilz *Pleurotus ostreatus* ssp. *florida* fand in Begasungsgefäßen mit kontinuierlicher und periodischer Begasung statt.

Ein Einfluß der Ansatzfaktoren auf das Wachstum von *P. ostreatus* war durch optische Bonitierung nicht zu erkennen. In allen Fällen wurden die Gefäße schon nach zwei Wochen mit "+++" bonitiert, d. h. das Substrat war vom Pilzmycel vollständig bedeckt, so daß die Bodenfärbung nicht mehr zu erkennen war. Nach drei Wochen bildeten sich bei einigen Pilzen Fruchtkörperansätze aus.

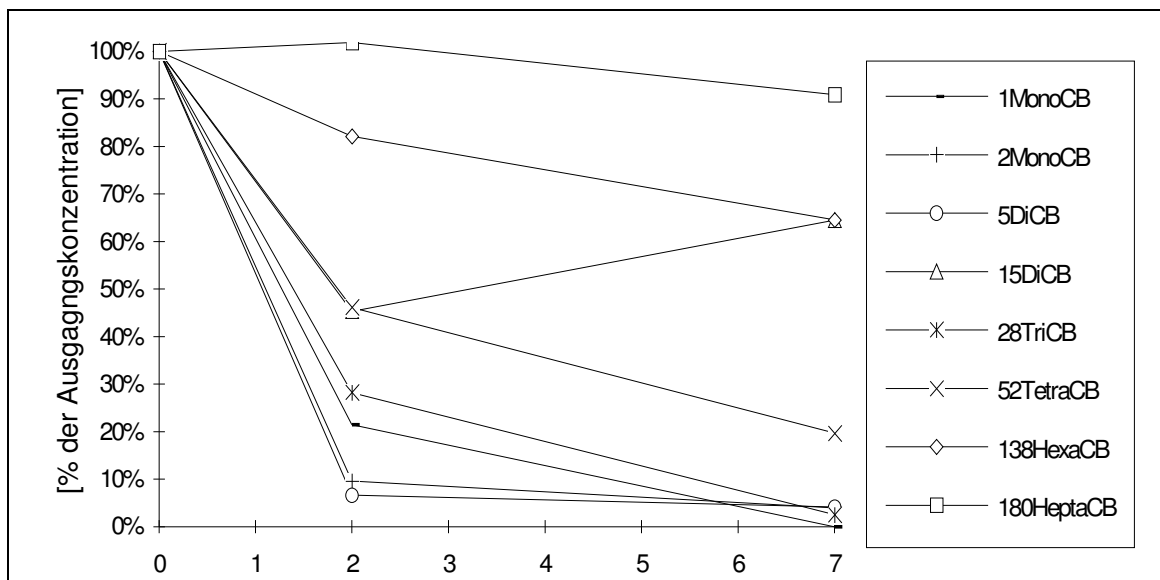
Ein Abbau der PCBs fand nach sieben Wochen Inkubationszeit in ähnlicher Weise wie ohne Bodenbeimischung statt. Die Gesamt-PCB-Konzentration reduzierte sich durch die Wirkung von *Pleurotus ostreatus* um 91 % im Falle der dauerhaft begasteten Ansätze und um 86 % im Falle der periodisch begasteten Gefäße. Die Abnahmen der PCBs in den Parallelgefäßen waren dabei sehr gleichförmig. Die unterschiedlichen Chlorierungsstufen wurden in gleicher Weise wie auf Holzspänen ohne Boden abgebaut (Abbildung 31).



**Abbildung 31:** Abbau von PCBs auf kontaminierten Holzspänen in Mischung mit Pülpe und Boden nach sieben Wochen Inkubation mit *Pleurotus ostreatus*. Getestet wurden ein kontinuierliches Begasungssystem (B) mit 100 ml/h, sowie ein periodisches Begasungssystem von einmal 2000 ml/Tag.

Die Analyse des zeitlichen Verlaufs des Abbaus (Abbildung 32) zeigte, daß die einzelnen PCB-Kongeneren in den ersten 2 Wochen schon starke Reduktionen erfuhren. Im Verlauf der

Inkubationsperiode bis zur siebten Woche setzte sich der Abbau der meisten PCBs fort. Davon ausgenommen war das 4,4'-Dichlorbiphenyl (15DiCB), das erstaunlicherweise eine Zunahme von der zweiten bis zur siebten Woche erkennen ließ. In einem Ansatz war dieser Effekt besonders ausgeprägt (Abbildung 32), andere Analysen zeigten gleichbleibende und leicht abnehmende Konzentrationen dieser Substanz zwischen zwei und sieben Wochen.



**Abbildung 32:** Verlauf der Konzentrationen einzelner PCB-Kongenere bei zwei Probenahmen nach 2 und 7 Wochen. Inkubation von PCB-kontaminierten Holzspänen mit Pülpe und Boden mit *Pleurotus ostreatus* ssp. *florida*.

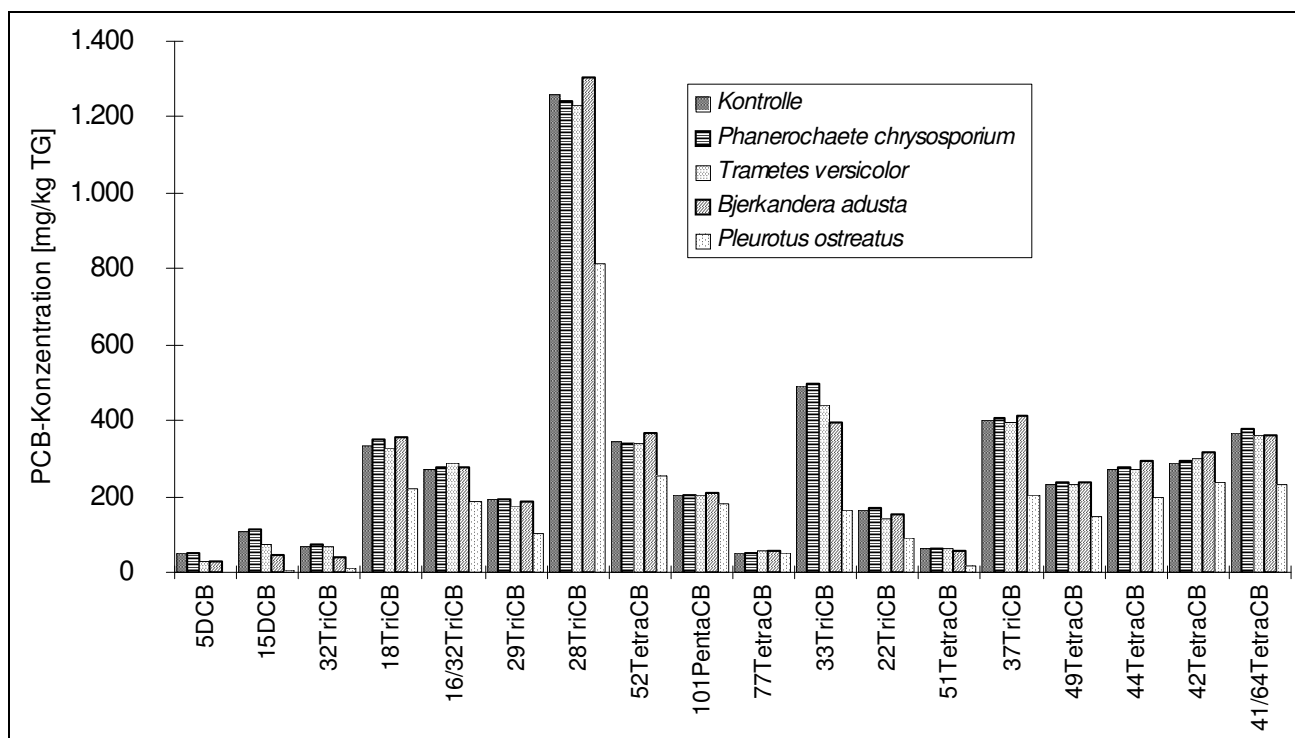
### 3.4.1.3. PCB-Abbau in einem kontaminierten schluffigen Boden

Die in den letzten beiden Kapiteln verwendeten PCB-Extrakte entstammten einem Boden, der durch einen schadhafte Transformator lokale PCB-Kontaminationen von über 7 g  $\Sigma$ PCB / kg TG aufwies. Die PCBs in diesem Boden sollten im folgenden direkt durch Weißfäulepilze abgebaut werden. Bei dem Boden handelte es sich um ein schluffigen Lehm (55 % Schluff, 27 % Sand, 18 % Ton) mit geringem organischen C-Gehalt (<0,5 %). Der Boden wurde mit Stroh, Holzspänen/Pülpe oder Kleie gemischt, mit verschiedenen Weißfäulepilzen beimpft und für acht Wochen inkubiert (Tabelle 23).

**Tabelle 23:** Wachstum von Weißfäulepilze auf Boden mit Stroh, Holzspänen/Pülpe und Kleieuntermischung.

Bonitierung nach 3 Wochen	auf Stroh	auf Holz/Pülpe	auf Kleie
<i>Pleurotus ostreatus</i> ssp. <i>florida</i>	+++!	+++!	+++!
<i>Trametes versicolor</i>	+++	+++	+/k
<i>Bjerkandera adusta</i>	+++	++(+)	+++!
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	++/+	++	+

Die Analyse nach acht Wochen zeigte nur im Fall der Inkubation mit *Pleurotus ostreatus* in der Mischung mit Stroh bzw. Holzspäne/Pülpe eine Abnahme des PCB-Gehaltes. Dabei wurden vor allem die mono- bis trichlorierten Biphenyle abgebaut (Abbildung 33).



**Abbildung 33:** PCB-Konzentrationen verschiedener Kongeneren nach Inkubation mit Weißfäulepilzen auf der Boden-Stroh-Mischung, im Vergleich zur Kontrolle.

Das Ausmaß dieses Abbaus blieb jedoch weit hinter dem in künstlich belegter Matrix zurück. Kleie war auch bei Inkubation mit *P. ostreatus* nicht geeignet, einen vergleichbaren Abbau wie auf Stroh und Holz/Pülpe zu bewirken. Mono- und Dichlorbiphenyle konnten auch in diesem System durch *P. ostreatus* vollständig abgebaut werden. Der Maximalabbau der Isomerengruppe der Trichlorbiphenyle betrug 60%. *Phanerochaete chrysosporium*, *Bjerkandera adusta* und *Trametes versicolor* waren dagegen in dieser Versuchsanordnung nicht befähigt, Trichlorbiphenyle abzubauen. Höher chlorierte PCBs konnten auch von *Pleurotus ostreatus* in diesem Boden nur noch in geringem Maße metabolisiert werden. Die Anbindung der PCBs an die Bodenmatrix behinderte offensichtlich in ähnlicher Weise wie bei PAK-kontaminierten Böden den Abbau.

#### 3.4.1.4. Versuche zum Tensideinsatz bei PCB-Kontaminationen

Aufgrund der beschriebenen Ergebnisse wurde daher versucht, auch für die Stoffgruppe der PCBs durch die Verwendung von Tensiden die Bioverfügbarkeit der Schadstoffe für den Pilz zu verbessern.

Um die geeignetsten Tenside zu ermitteln, wurden in einem Vorversuch reine PCBs mit verschiedenen Tensidlösungen (0,5 %) extrahiert. Durch diesen Ansatz sollte die maximale Löslichkeit der PCBs in den verschiedenen Tensiden ermittelt werden.

Die Reihenfolge der Wirksamkeit der getesteten Tenside zur Lösung der PCBs war

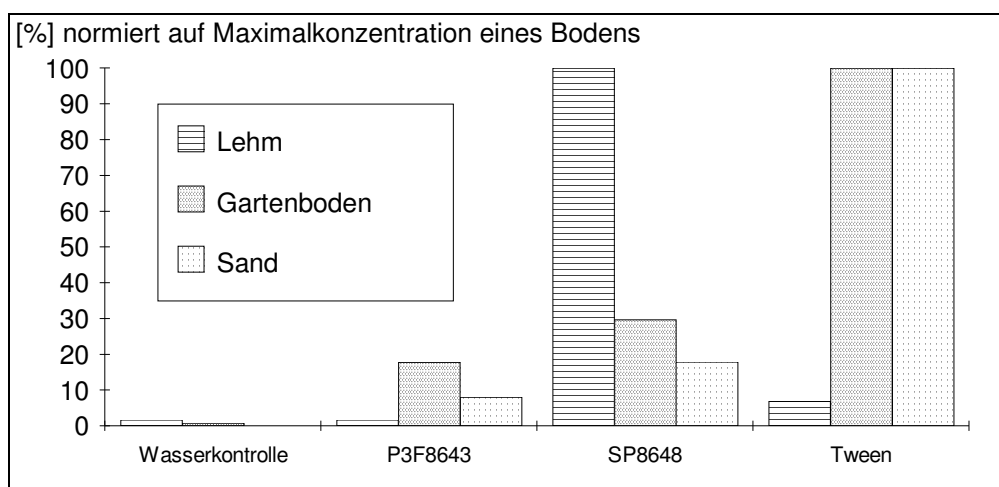
P3 Ferrolin 8643 > Tween > Duomeen > SP 8648.

Die Extrakte der Tenside P3 Ferrolin 8642 und 8646 zeigten nur sehr geringe PCB-Konzentrationen in Lösung.

Desweiteren wurde untersucht, inwieweit durch die Verwendung von Tensiden die Verfügbarkeit von PCBs aus Böden gesteigert werden kann. Der Effekt unterschiedlicher Aggregatoberflächen wurde durch die Verwendung von drei verschiedenen Bodentypen berücksichtigt. Ein Lehmboden (BodenA), ein Sandboden (BodenB) und ein humoser Gartenboden (BodenC) wurden mit PCBs belegt und nach zwei Wochen Alterung mit Tensidlösungen (0,5 %) ausgeschüttelt.

Die eingesetzten Tenside hatten auf die Freisetzung der PCBs in den drei verwendeten PCB-kontaminierten Böden einen unterschiedlichen Einfluß. In zwei Fällen konnte durch das Tensid Tween die höchste PCB-Konzentration in der Gleichgewichts-Bodenlösung erhalten werden. Die PCBs des Lehmbodens konnten dahingegen durch das Tensid P3 Ferrolin 8648 in weit stärkerem Maße mobilisiert werden als durch Tween oder P3 Ferrolin 8643. Die jeweiligen gaschromatographisch gefundenen PCB-Muster waren in den Bodenlösungen aller Böden gleich.

Zur Veranschaulichung des Einflusses der verschiedenen Tenside auf die Extrahierbarkeit von 28-TriCB in Abhängigkeit vom Bodentyp wurden die Maximalkonzentrationen im Extrakt einer jeden Bodenreihe auf 100 % gesetzt (Abbildung 34).



**Abbildung 34:** Die Verhältnisse der Lösungseffizienz der Tenside für 28TriCB bei der Homogenisierung von Boden durch Vergleich der Tenside untereinander. Die höchste Konzentration, die in einem Boden gemessen wurde, ist auf 100 % gesetzt.



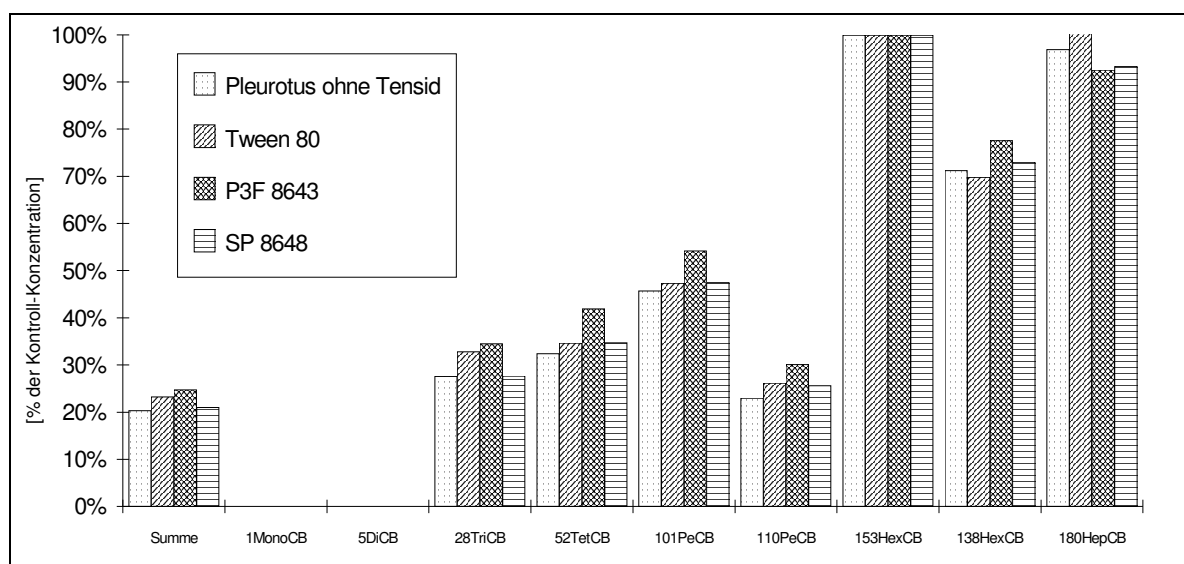
Ganz offensichtlich sind die Verhältnisse im Boden zu komplex, als daß eine einfache Interpolation der mit reinen PCBs erzielten Ergebnisse auf den Extraktionserfolg im Boden möglich ist. Um diese Ergebnisse wissenschaftlich abgerundet interpretieren zu können, hätte eine weitere sehr detaillierte Forschung einsetzen müssen. Da aber spätere Versuche gezeigt haben, daß die Zugabe von Tensiden keine steigernde Wirkung auf die Abbaurate von PCBs durch Weißfäulepilze im Boden hat, wurde auf eine weitere Bearbeitung verzichtet.

### 3.4.1.5. PCB-Extrakte auf Boden - Abbauersuche mit Tensidaufschluß

Um eine unterschiedliche Wirkungsweise der Tenside während des Abbaus zu testen, wurde ein mit PCBs künstlich kontaminierter Boden (BodenA) mit Pülpe und Tensidlösung homogenisiert, mit Holzspänen vermengt und mit *Pleurotus ostreatus* inkubiert. Die Ansätze wurden in Begasungsgefäßen dauerhaft mit 100-300 ml/h befeuchteter Luft begast. Es wurden zwei Probenahmen, nach vier und nach sieben Wochen, durchgeführt. Die Matrix wurde in allen Ansätzen von dem Pilz sehr dicht durchwachsen. Tween beschleunigte das Wachstum von *Pleurotus ostreatus* innerhalb der ersten zwei Wochen.

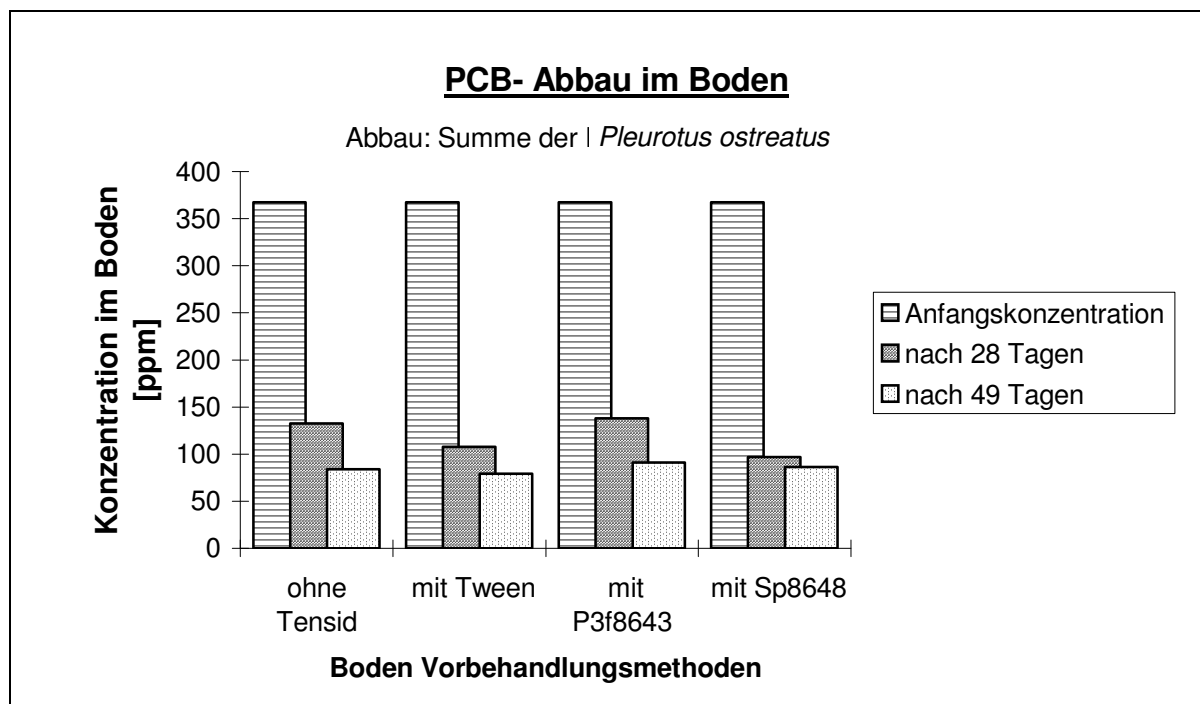
In diesem Versuch ließen sich die PCBs im Boden in ähnlicher Weise durch den Weißfäulepilz *Pleurotus ostreatus* reduzieren wie auf Spänen (vergl. Kapitel 3.4.1.1).

Die PCB-Summe nahm innerhalb von sieben Wochen um 80 % ab (Abbildung 35). Es konnte weder für einzelne noch für die Summe der Kongeneren ein signifikanter Unterschied zwischen den mit Wasser angesetzten Versuchen und den mit Tensid homogenisierten Bodenansätzen festgestellt werden.



**Abbildung 35:** PCB-Restgehalte aus einer künstlich belegten und gealterten Bodenkontamination nach sieben Wochen Wachstum von *Pleurotus ostreatus*. Die Matrix bestand aus kontaminiertem Boden, Holzspänen und Pülpe (100:30:20). Bei der Homogenisierung von Boden und Pülpe wurden neben Wasser drei Tensidlösungen eingesetzt: P3-Ferrolin 8643, SP 4648 und Tween (jeweils 0,5 %).

Der Vergleich der Werte nach vier und sieben Wochen zeigt, daß der Abbau in den ersten vier Wochen am stärksten war. In den letzten drei Wochen konnte nur noch eine Abnahme von ca. 30 % auf 20 % PCB-Restgehalt in der Bodenmatrix beobachtet werden (Abbildung 36).



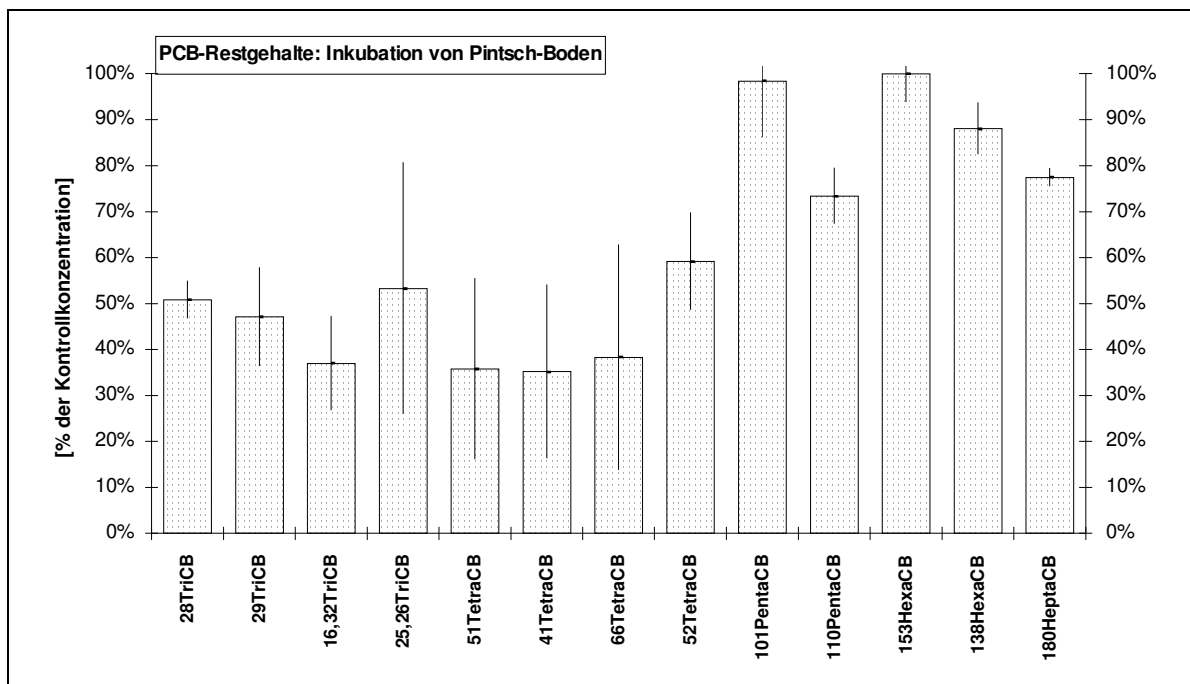
**Abbildung 36:** PCB-Restgehalte aus einer künstlich belegten Bodenkontamination, mit *Pleurotus ostreatus* inkubiert und nach 28 und 49 Tagen beprobt.

#### 3.4.1.6. PCB-Abbau in einem mikrobiell vorgereinigten Boden

Bei dem "Pintsch-Schadensfall" auf einer Halbinsel zwischen Main und Hanau-Hafen durch die Pintsch-Öl GmbH handelt es sich um einen der größten Kohlenwasserstoff-Schadensfälle Deutschlands. Seit 1956 wurden, angefangen von Kapselungsverfahren, hydraulischer Ölabschöpfung, Spül- bis hin zu mikrobiologischen (bakteriellen) Verfahren, eine Vielzahl von Versuchen zur Sanierung dieses Geländes unternommen (RISS 1992). PCB-Begleitkontaminationen (ca. 0,03 % des Öl-Gehalts) konnten in dem sandigen Boden, der intensive Sanierungsanstrengungen erfahren hatte, im Bereich der niederchlorierten PCBs mikrobiell oder über Ausgasung reduziert werden.

Dieser mikrobiell vorgereinigte Boden wurde verwendet, um das Potential der Weißfäulepilze zur weiteren Reduzierung der Schadstoffkonzentration zu untersuchen. In gleicher Weise wie mit künstlich kontaminiertem Boden wurde eine Mischung des Bodens mit Pülpe und Wasser hergestellt, homogenisiert und anschließend mit Holzspänen bis zu einer Krümelstruktur eingedickt. Die mit *Pleurotus ostreatus* angeimpften Gefäße waren voll durchwachsen und neigten zum Schluß des Untersuchungszeitraumes zu Fruchtkörper-

ansätzen. Die Abschlußanalyse nach acht Wochen zeigte eine deutliche Abnahme der PCB-Isomeren in den Pilzansätzen (Abbildung 37).



**Abbildung 37:** Abbau verschiedener PCB-Kongeneren im bakteriell vorgereinigten Boden des Pintsch-Öl-Geländes, Hanau, durch *Pleurotus ostreatus* ssp. *florida* nach achtwöchiger Inkubation.

Niederchlorierte PCBs konnten in den Originalproben nicht mehr nachgewiesen werden. Die in den Proben vorhandenen Trichlorbiphenyle konnten in ihrer Konzentration zu über 50 % reduziert werden. Die beiden PCBs mit der höchsten absolut vorgefundenen Konzentration von jeweils 0,35 mg/ kg TG, 28 TriCB und 52 TetraCB, wurden zu 49 % bzw. 41 % abgebaut. Tetra- und Pentachlorbiphenyle wurden ebenfalls, wenn auch uneinheitlich, abgebaut.

Es ist festzuhalten, daß durch die Inkubation mit Weißfäulepilzen in einem schon durch Bakterien vorgereinigten Boden weitere Abnahmen der PCB-Kontamination bewirkt werden können.

### 3.4.2. <sup>14</sup>C-markierte chlorierte Biphenyle

#### 3.4.2.1. Ergebnisse von Extraktionsvergleichen

An Hand von radioaktiven Ansätzen mit *Pleurotus ostreatus* (Vorversuch <sup>14</sup>C-PCB, Di- und TriCB belegte Späne mit Malz und Pülpezugabe, 50 % Abbau) wurden Versuche unternommen, unabhängig von den am GC-MS analysierbaren PCB-Konzentrationen maximale Aktivität im ersten Extraktionsschritt aus der Matrix freizusetzen. Um eventuelle Verluste an Ausgangssubstanzen oder Metaboliten durch Trocknung zu vermeiden, sollte das organische Lösungsmittel wassermischbar sein. Bei einem Vergleich von Acetonextraktion mit Aceton/Dichlormethan (DCM) (1:1)-, Methanol- und Methanol/KOH-Extraktion der Probe wurde im Fall von Aceton die meiste, bzw. eine mit dem häufiger verwendeten Aceton/Dichlormethangemisch vergleichbare Aktivität in Lösung freigesetzt (Tabelle 24). Zum Vergleich wurden die lufttrockene Probe über Nacht bei 70 °C nachgetrocknet und mit Dichlormethan extrahiert.

**Tabelle 24:** Auf Aceton normierte Extraktionseffizienz verschiedener Lösungsmittel

	Aceton	Ac./DCM	Methanol	Methanol/KOH	Trock. DCM
Ansatz mit Malz	100 %	95 %	91 %	92-98 %	83 %
Ansatz mit Pülpe	100 %	99-105 %	82-86 %	95-99 %	74 %

Als erster Aufarbeitungsschritt wurde daher die Extraktion des Frischmaterials mittels Aceton gewählt. Durch weitere Extraktionsschritte mit unterschiedlichen Lösungsmitteln wurde eine Trennung der Aktivität in stark und mäßig polare Substanzen sowie unpolare Substanzen unternommen. Es wurde vermutet, daß mäßig polare Substanzen wenn nicht mit Aceton direkt, so doch in den ersten Soxhletläufen im Gemisch des Acetons mit dem in den Proben enthaltenen Wasser eluiert wurden. Diese weitere Auftrennung erfolgte über die Zugabe eines nicht wassermischbaren Lösungsmittels zum Aceton sowie nachfolgender Wasserzugabe.

Um in einem ersten Schritt zunächst die Ausgangssubstanzen und möglicherweise hydroxylierten Derivate abzutrennen wurde der pH auf 10 eingestellt. Danach erfolgte die Ansäuerung auf pH 2 und erneute Extraktion. Die Acetonextrakte wurden in 8000 dpm/10 ml portioniert und in dieser Weise mit fünf verschiedenen Lösungsmittel extrahiert.

Bei den verwendeten Verhältnissen der Lösungsmittel untereinander zeigten sich keine bedeutenden Unterschiede der erhaltenen Aktivität (Tabelle 25). Das Abnehmen der Phase bei der basischen Extraktion war für die chlorierten Lösungsmittel, n-Hexan und Butylmethylether wegen der Bildung von Emulsionen nur nach Zentrifugation möglich - trotzdem kam es offensichtlich zu Verschleppungen. Als besonders geeignet erwiesen sich daher Ethylacetat und der für die weitere Bestimmung von Metaboliten geeignete Diethylether.

**Tabelle 25:** Vergleich verschiedener Extraktionen (Ex.) mit unterschiedlichen Lösungsmitteln

Lösungsmittel	[dpm] Verhältnis	basische Extraktion			Summe	saure Ex.	Total Summe
	Ac:Lö:H <sub>2</sub> O	1 Extrakt.	2 Extrakt.	3 Extrakt.		3 x Summe	
Ethylacetat	1: 1,5: 5	6300	550	140	<b>6990</b>	809	<b>7799</b>
Diethylether	1: 1,5: 5	4960	500	75	<b>5535</b>	918	<b>6453</b>
Butylmethylether	1: 1,5: 5	3300	2000	950	<b>6250</b>	1300	<b>7550</b>
Dichlormethan	1: 0,5: 5	3600	1200	500	<b>5300</b>	1633	<b>6933</b>
Chloroform	1: 0,5: 5	5000	800	220	<b>6020</b>	1418	<b>7438</b>
n-Hexan	1: 0,5: 5	5700	860	300	<b>6860</b>	670	<b>7530</b>

In der wässrige Phase konnte nur im Fall von n-Hexan eine Aktivität von 500 dpm gemessen werden, die Aktivität der anderen Wasserreste lag unter der Nachweisgrenze von 400 dpm. Da das hohe Aceton:Wasser Verhältnis von 1:5 schwer zu handhaben war, wurde die Extraktion mit Ethylacetat getestet. Dabei ergab sich auch für das Verhältnis Aceton:Wasser von 1:1 bei einem Lösungsmittelverhältnis von 0,6 eine vergleichbare Ausbeute nach drei Extraktionen. Daraus wurde das allgemeine Verfahren zur Behandlung der radioaktiv markierten Proben (Methodenteil, Fließschema 2) entwickelt.

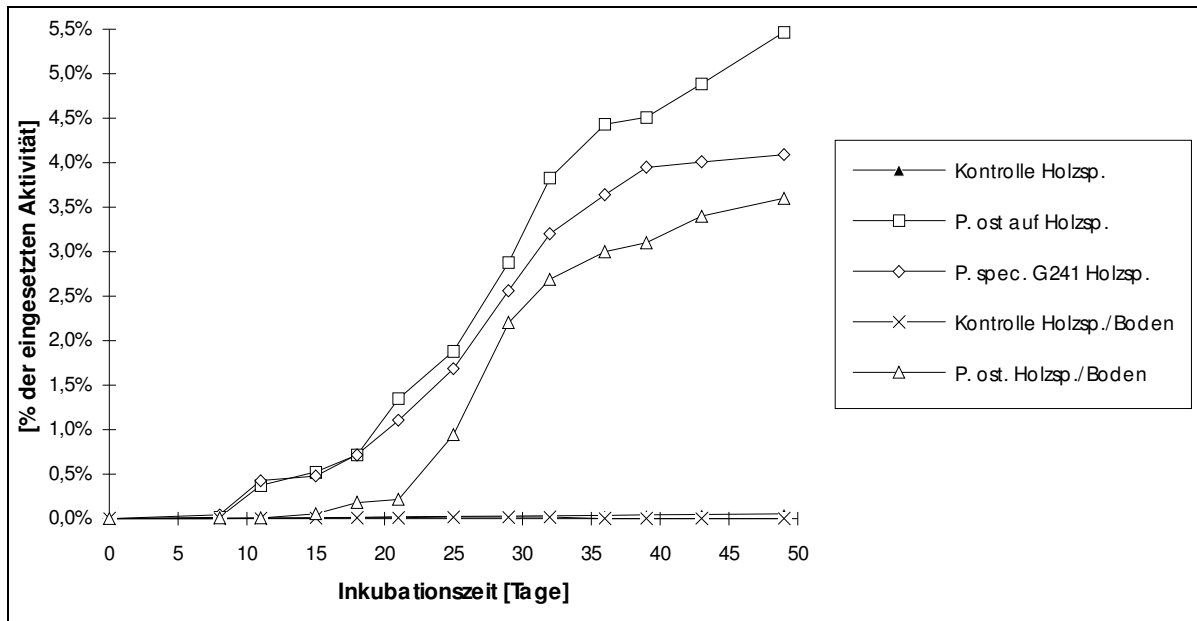
#### 3.4.2.2. Abbauprobieren

Durch die Verwendung <sup>14</sup>C-markierter PCBs beim Abbau durch Weißfäulepilze wurde eine Bilanzierung des C-Gerüsts der Schadstoffe unternommen.

Eine vollständige Umsetzung des Kohlenstoffgerüsts mit der darin enthaltenen [U]<sup>14</sup>C-Markierung wird durch die Freisetzung in Form von CO<sub>2</sub> angezeigt. Die Versuche beinhalteten die Kontrolle der Ausgangskonzentration der PCBs, die Messung der Freisetzung von CO<sub>2</sub> und Absicherung gegen Aktivitäten aus flüchtigen organischen Verbindungen, die Verteilungsbestimmung zwischen organischen und wasserlöslichen radioaktiven Substanzen sowie die Metabolitensuche in den Extrakten.

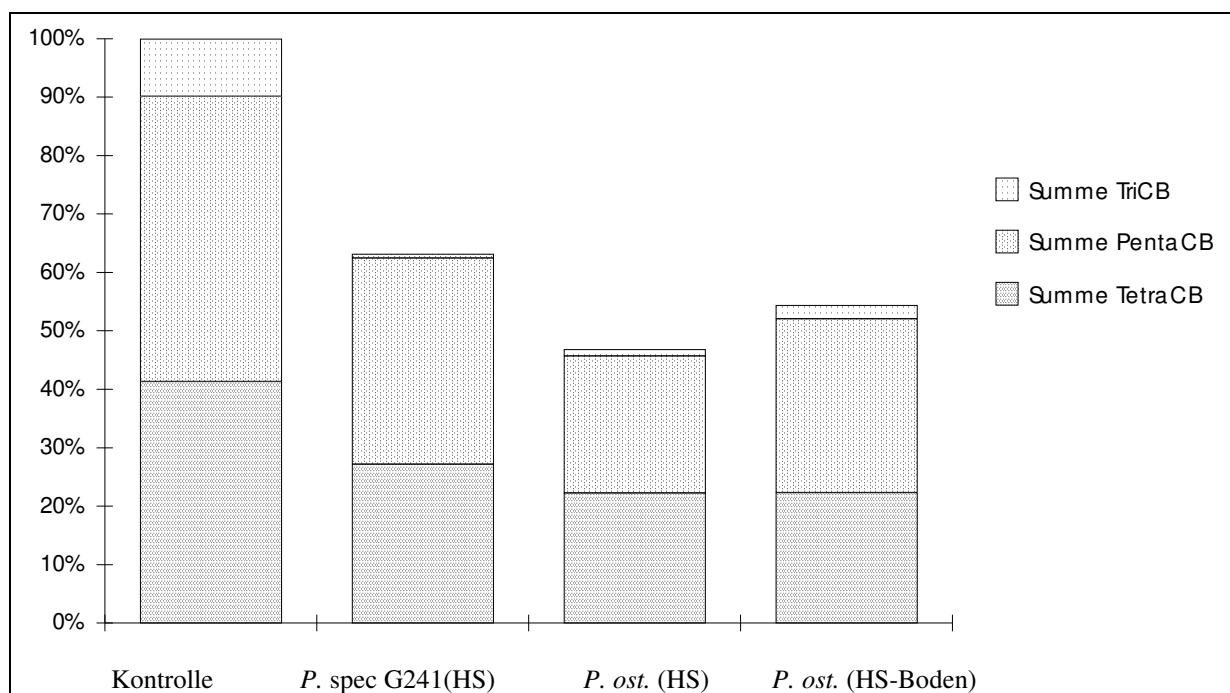
Die Ansatzgröße betrug 0,3 µCi (660000 dpm) radioaktiv markierten PCBs auf Holzspänen im Gemisch mit Pülpe und teilweiser Einmischung von Boden (BodenA).

Während der kontinuierlichen Begasung wurde in den Ansatzgefäßen ständig ein Sauerstoffgehalt über 10 % gemessen. Die sich während des Inkubationszeitraumes von sieben Wochen entwickelnde kumulative CO<sub>2</sub>-Aktivität betrug maximal 5,5 % (Abbildung 38). Bemerkenswert war, daß die Ansätze mit Boden in der CO<sub>2</sub>-Entwicklungsrate mit den Holz-Pülpe-Ansätzen vergleichbar waren. In den Isooktanfällen konnte keine Radioaktivität festgestellt werden.



**Abbildung 38:** Mineralisierung von  $^{14}\text{C}$ -PCB (überwiegend Tetra- und Pentachlorbiphenyle) auf Spänen durch Inkubation mit *Pleurotus ostreatus* ssp. *florida* und *Pleurotus* spec. G241 auf Pülpe-substrat mit Bodenzumischung (Holzspäne, Kartoffelpülpe und Lehmboden BodenA,5:2:10).

Die nach siebenwöchiger Inkubation erhaltenen Abbauwerte zeigten für die Ansätze mit dem Pilz *Pleurotus ostreatus* ssp. *florida* die höchste Summenabnahme (Abbildung 39). Es gab dabei keinen Zusammenhang mit dem Wachstum, da alle Ansätze gleich gut bonitiert wurden (+++). Bei der Analyse der PCBs setzte sich die bei der Mineralisierung ermittelte Tendenz fort. Der Abbau der Tetra- und Pentachlorbiphenyle durch *Pleurotus ostreatus* ssp. *florida* erreichte den Maximalwert von 54 %.



**Abbildung 39:** PCB-Restgehalte nach Abbau  $^{14}\text{C}$ -PCB belegter Holzspänen (HS) mit *Pleurotus ostreatus* ssp. *florida* und *Pleurotus* spec. G241 nach Mischung mit Pülpe und Pülpe-Boden (HS-Boden)

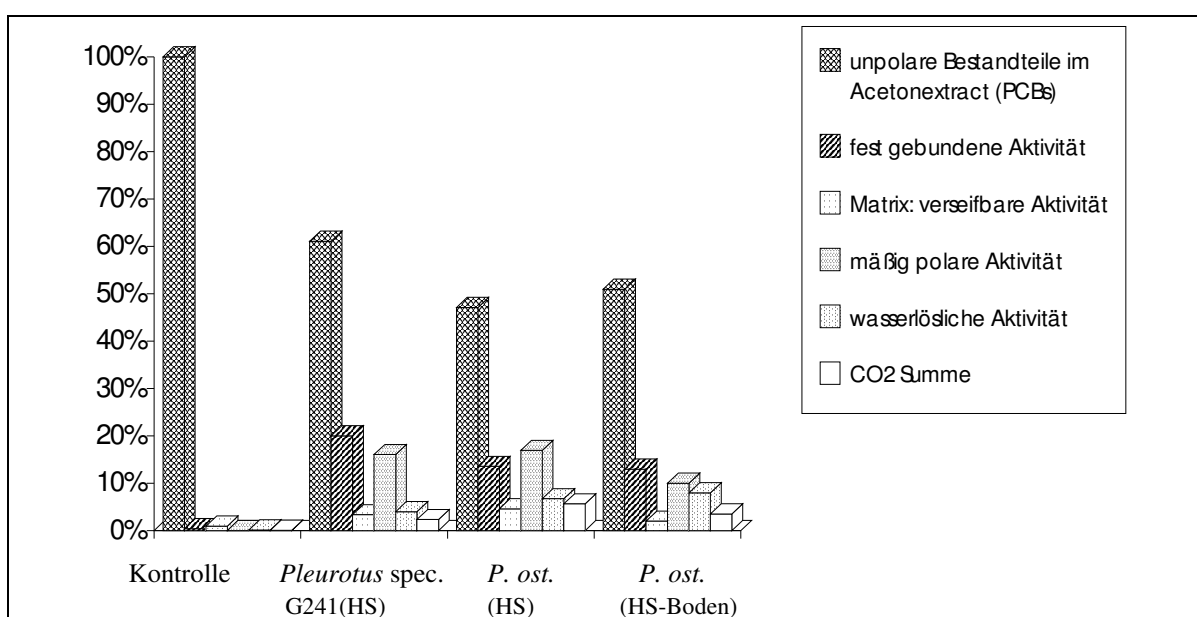
Die in der PCB-Mischung vorhandenen Trichlorbiphenyle (9,2 % der Gesamtmenge) konnten nach sieben Wochen in den Ansätzen nur noch in geringen Mengen detektiert werden, ihr Abbau betrug 90-96 % im Fall der Spänematrix und 80 % im Fall der Bodenbeimischung.

**Tabelle 26:** Verteilung der eingesetzten Aktivität nach sieben Wochen Inkubation mit zwei *Pleurotus*-Stämmen zwischen dem Acetonextrakt der Matrix, der auf der Matrix gebundenen Restaktivität und der kumulativen in Form von  $^{14}\text{CO}_2$  freigesetzten Aktivität.

Ansatz	Acetonlöslich	Matrix	$^{14}\text{CO}_2$	Summe
Kontrolle	97,0 %	1,6 %	0,0 %	<b>98,6 %</b>
Kontrolle mit Boden	93,5 %	1,0 %	0,0 %	<b>94,5 %</b>
<i>Pleurotus spec.</i> G241	61,5 %	19,1 %	4,0 %	<b>84,6 %</b>
<i>Pleurotus ostreatus</i> ssp. flo.	64,1 %	18,7 %	5,5 %	<b>88,3 %</b>
dto. mit Boden	63,5 %	15,5 %	3,5 %	<b>82,5 %</b>

Bei der Bilanzierung der  $^{14}\text{C}$ -Aktivität der Acetonextrakte und Messung der Restaktivität auf der Matrix zeigte sich ein Bilanzierungsverlust bis zu 17,5 % (Tabelle 26). Durch die Extraktion des Tonsteinsumpfes und der Gefäßwände mit Aceton konnte maximal 0,8 % der eingesetzten Aktivität gefunden werden, so daß die Bilanzlücke hierdurch nicht zu erklären ist. Möglicherweise hat im Fall der Bodenmatrix eine schlechtere Ausbeute der Aktivitätsmessung bei der Verbrennungsbestimmung stattgefunden.

Durch Aceton-Hexan-Ethylacetat-Extraktion wurde eine Aufteilung der Aktivität der Ansätze mit dem jeweils höchsten Abbau in unpolare, mäßig polare und wasserlösliche Stoffe vorgenommen. Die Verseifung der Späne mit wässriger 10 % KOH führte zur weiteren Aufgliederung der Bilanz, wobei nur ein geringer Teil der auf den Spänen gebundenen Aktivität freigesetzt werden konnte (Abbildung 40).



**Abbildung 40:** Verteilung der  $^{14}\text{C}$ -PCB- (TetraCB/PentaCB) Aktivität zwischen gebundener, polarer und wasserlöslicher Aktivität nach sieben Wochen Inkubation mit zwei *Pleurotus* Stämmen.

In der wässrigen Phase waren  $^{14}\text{C}$ -markierte Substanzen vorhanden. Nach Aufkonzentrierung der 150 ml Wasser-Acetonphase fielen eine Vielzahl pilzeigener (phenolischer?) Substanzen aus, die einen Großteil der Aktivität der Wasserphase darstellten. Sie waren anschließend nicht mehr in Lösung zu bringen, daher war eine Weiteraufarbeitung dieses Teils der Proben nicht mehr möglich.

Der größte Teil der mäßig polaren Aktivität der Abbauproben wurde in der Ethylacetatphase der Proben gemessen. Diese Phase wurde getrocknet, in Methanol aufgenommen und an einer präparativen C18-HPLC-Säule nach ihrer Polarität getrennt. Die Hauptfraktionen mit erhöhter Aktivität wurden gepoolt, eingengt und getrocknet. Ein Teil der Probe wurde in Pyridin aufgenommen und mit MSTFA siliert, der andere Teil der Probe mit Diazomethan methyliert. Die Proben wurden im Scan-Modus am GC-MSD über eine 5 %-Phenyl-Siliconsäule im Temperaturgradient 80-305 °C getrennt und die erhaltenen Peaks/Massenspektren mit der PCB-Kontrolle, sowie mit Pilzkontrollen ohne PCBs verglichen (Ergebnisse siehe folgendes Kap. 3.4.4.).

### **3.4.3. $^{36}\text{Cl}$ -markierte chlorierte Biphenyle**

#### **3.4.3.1. $^{36}\text{Cl}$ -PCBs auf Holzspänen**

Durch den Einsatz radioaktiv markierter Verbindungen wurde untersucht, zu welchen Produkten der Abbau von PCBs durch Weißfäulepilze auf Spänen und im Boden führt.

Um über den Verbleib der Chloratome des Moleküls eine Aussage machen zu können, wurden  $^{36}\text{Cl}$  markierte PCBs synthetisiert. Im ersten Versuchsteil wurde eine Synthesestufe aus einem Gemisch von Di-, Tri- und Tetrachlorbiphenylen verwendet (Syn2). Diese wurden auf Holzspänen nach Mischung mit Malzmedium mit verschiedenen Weißfäulepilzen inkubiert. Die Versuche wurden in geschlossenen Begasungsgefäßen durchgeführt und diskontinuierlich 2x/Tag belüftet. Es wurden Fallen mit Isooktan in den Abluftstrom geschaltet, um mögliche flüchtige Metaboliten bzw. den Verlust an Ausgangssubstanzen zu erfassen. In diesen Fallen wurde während des gesamten Inkubationszeitraumes max. 0,2 % der eingesetzten Aktivität gemessen. Der Abbau wurde nach 25 Tagen bestimmt.

In diesem Versuchsansatz wurden geringere Aktivitäten in der Aceton-extrahierten Matrix gefunden als in den Ansätzen mit  $^{14}\text{C}$ -Markierung. Überdies ergab die Bilanzierung eine niedrigere Wiederfindungsquote als bei den  $^{14}\text{C}$ -Ansätzen. Ursache hierfür ist möglicherweise, daß durch die Einbettung der Matrix in Instagel eine geringere Ausbeute an Radioaktivität als durch die Verbrennung der  $^{14}\text{C}$ -Matrix erfolgte.



**Tabelle 27:** Verteilung der eingesetzten Aktivität von  $^{36}\text{Cl}$ -PCBs (überwiegend Tri- und Tetrachlorisomere) zwischen den Phasen, sowie den im Acetonextrakt vorhandenen polaren bis unpolaren Fraktionen.

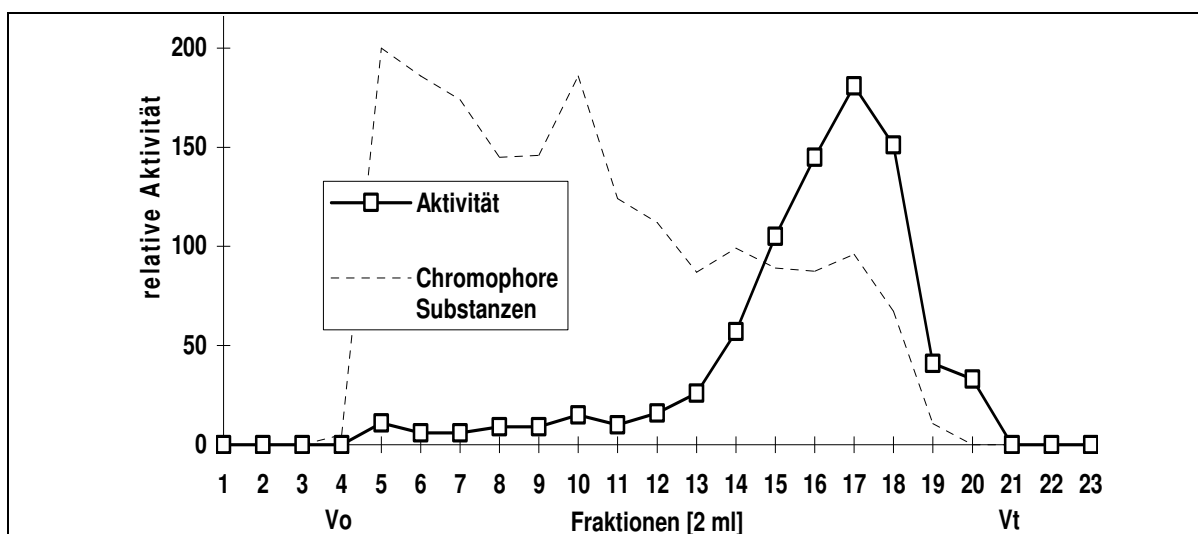
Ansatz	PCB-Restgehalt	Radioaktivität in			Bilanz % v. Ansatz	Acetonakt. geteilt [%v. Ansatz]		
		Späne	Aceton	Luft		n-Hexan	Ethylacetat	H <sub>2</sub> O
Kontrolle	100 %	0 %	92 %	0,1 %	92 %	88,3 %	0,5 %	0,5 %
<i>P. spec.</i> G241	47 %	9 %	69 %	0,0 %	78 %	31,1 %	13,1 %	21,4 %
<i>T. versicolor</i>	58 %	7 %	72 %	0,2 %	79 %	58,3 %	8,6 %	3,6 %
<i>P. ostreatus</i> flo.	68 %	9 %	76 %	0,0 %	85 %	58,5 %	7,6 %	8,4 %

Die mit n-Hexan extrahierbare Aktivität lag teilweise unterhalb des gaschromatographisch bestimmten PCB-Restgehaltes, was auf Bilanzierungsverluste bei der Aktivität des Acetons hinweist. Von besonderem Interesse waren die relativ hohen Konzentrationen an wasserlöslicher Aktivität (Tabelle 27), speziell im Falle der hohen Abbauaktivität von *Pleurotus spec.* G241. Diese wasserlösliche Aktivität war zum größten Teil durch Zugabe von Silbernitrat fällbar, und lag daher als Chloridionen vor (Tabelle 28).

**Tabelle 28:** Fällung der Wasserkonzentrate von Tabelle 27 mit  $\text{AgNO}_3$ .

	Chlorid: Diff. [%]	Restwasser [%]
<i>Pleurotus spec.</i> G241	87 %	13 %
<i>Trametes versicolor</i>	88 %	12 %
<i>Pleurotus ostreatus ssp. florida</i>	84 %	16 %

Die Fraktion der Ethylacetat-löslichen Substanzen von *Pleurotus spec.* G241 (19 % der Aktivität) wurde an einer Sephadex LH 15-Säule mit 100 % Methanol als Laufmittel aufgetrennt. Der größte Teil der Aktivität ließ sich damit von den, in dieser Fraktion vorliegenden gefärbten Stoffen trennen und eluierte zusammen mit niedermolekularen Substanzen (Abbildung 41).

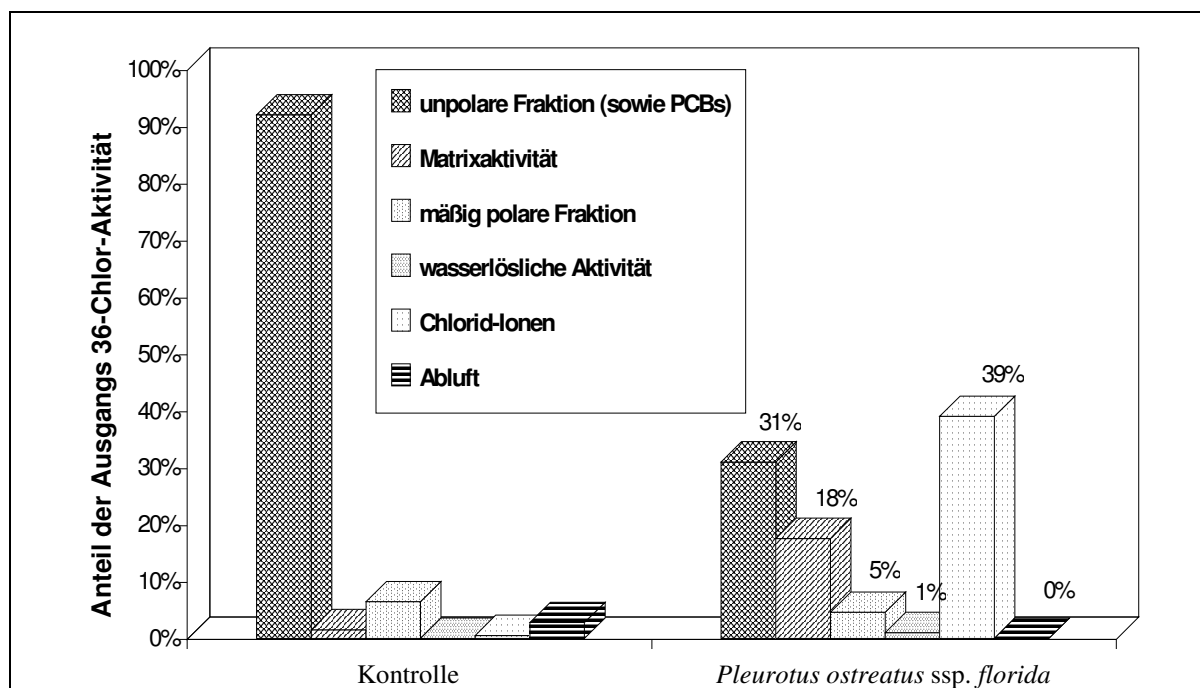


**Abbildung 41:** Gelchromatographische Grobtrennung der Aktivität von höhermolekularen chromophoren Substanzen (400 nm) an Sephadex L15 (Pharmacia) durch Elution mit 100 % Methanol. Säulendimension 14 x 2 cm, Fließgeschwindigkeit  $2,5 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ . Ausschlußvolumen  $V_0$ ;  $V_t$  Bettvolumen der Säule.

In der Analyse der Fraktionen konnten eine Reihe von Metaboliten festgestellt werden, die in Kapitel 3.4.4. dargestellt sind. Es handelte sich hauptsächlich um (Mono- und Di-) chlorierte Benzoesäuren und Benzaldehyde.

In gleicher Versuchsanordnung wurde der Abbau von Mono- und Dichlorbiphenylen (erste Synthesestufe der  $^{36}\text{Cl}$ -PCB-Synthese, Syn1) durch *Pleurotus ostreatus* ssp. *florida* untersucht. Das Wachstum der Ansätze mit *P. ostreatus* wurde bei vollständiger Bedeckung der Matrix mit 'sehr dicht' (+++!) bonitiert.

Dieser Versuch ergab bei einem durchschnittlichen Abbau der Parallelen von 59 % (+/- 11 %) eine ähnliche Verteilung der Radioaktivität wie im Fall der Tri- und Tetrachlorbiphenyle. Durch den höheren Abbau ergab sich aber ein deutlicheres Verteilungsmuster der Abbaufractionen zugunsten der Chloridionen, die in diesem Versuchsansatz fast quantitativ aus der Wasserphase gefällt werden konnten. Sie bildeten mit der auf Spänen gebundenen Aktivität den Hauptanteil der abgebauten PCB-Aktivität (Abbildung 42).

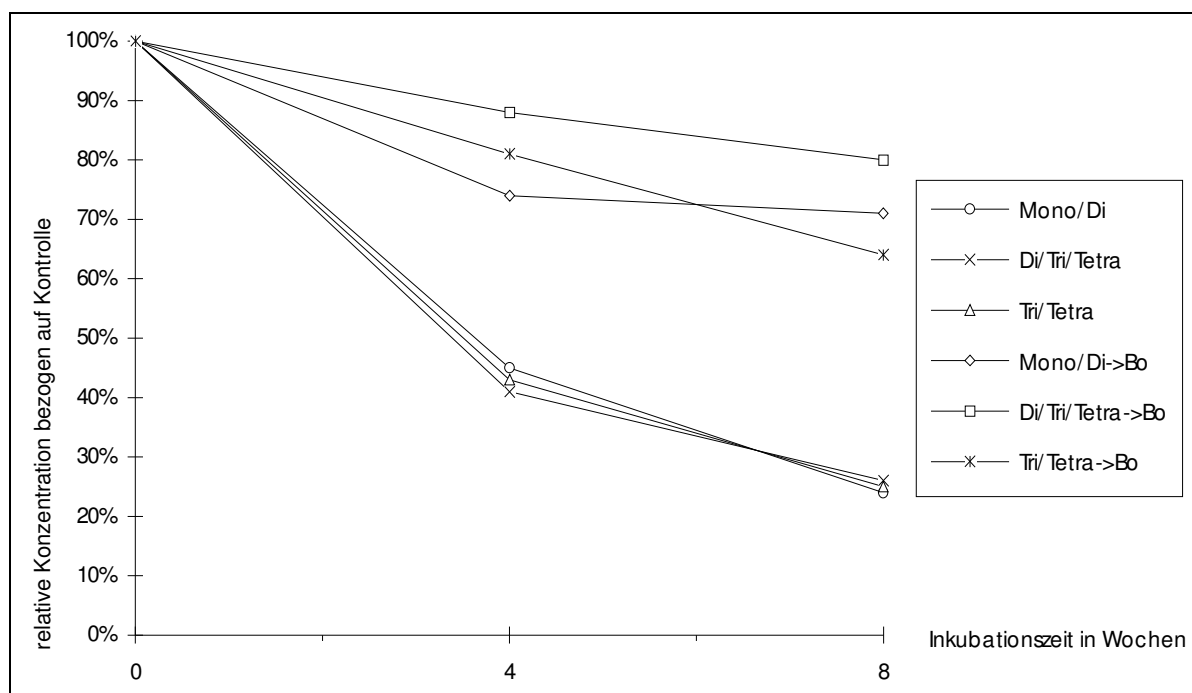


**Abbildung 42:** Verteilung der Aktivität eines Ansatzes von Mono- und Dichlorbiphenylen auf Holzspänen nach dreiwöchiger Inkubation mit *Pleurotus ostreatus* ssp. *florida*.

In der unpolaren Fraktion war wiederum 10 % weniger Aktivität als bei einem Abbau von 59 % zu erwarten gewesen wäre. Der gaschromatographisch über die Gesamtflächen der PCB-Ionenspuren berechnete Summenabbau der PCBs war zu gering abgeschätzt worden. Da die Responsverhältnisse der PCB-Isomeren unterschiedlich sind, war die Extrapolation der PCB-Summe von den DIN-PCB-Standard bei sich änderndem PCB-Muster offensichtlich mit einem Fehler behaftet.

### 3.4.3.2. $^{36}\text{Cl}$ -PCBs im Boden

Chlor-36 markierte PCBs wurden im Boden in allen drei Synthesestufen sowohl als Beimischung von Boden zu  $^{36}\text{PCB}$ -belegten Spänen als auch in Form von belegtem Boden mit *Pleurotus ostreatus* angesetzt. Nach 2 ½ Wochen waren alle Proben vollständig durchwachsen. Die erste Probennahme erfolgte nach vier Wochen mit einem Teil der Matrix, die zweite Probennahme fand nach acht Wochen Inkubation mit der verbleibenden Matrix statt. Die gaschromatographisch ermittelten PCB-Restgehalte ergaben folgende Abnahmen (Abbildung 43).



**Abbildung 43:** Abnahme der PCB-Konzentration, errechnet aus der Gesamtfläche der Hauptionspuren der PCB-Isomeren. Bezug auf die gleichartig inkubierte Kontrolle. Drei Syntheschritte mit den hauptsächlichen Chlorierungsstufen, wobei die Radioaktivität einmal auf Spänen lokalisiert war, das andere Mal auf Boden (->Bo).

Bei den auf Boden aufgetragenen PCB-Substraten zeigte sich nach vier Wochen mit einheitlich ca. 80 % Restgehalt eine deutlich geringere Abnahmetendenz als bei den auf Spänen aufgetragenen Substraten mit 41-45 %. Dieser Unterschied setzte sich bis zur achten Woche fort und bestätigt die geringere Abbaubarkeit der PCBs auf Boden, wie dies in Kapitel 3.3.1.4. beschrieben wurde.

Der Abbau der drei Synthesestufen war in diesem Versuch bedeutend besser als in allen vorangegangenen Versuchen mit radioaktiv markierten PCBs und ist vermutlich das Ergebnis der verbesserten Sauerstoffversorgung bei passiver Belüftung. Die erstaunliche Gleichförmigkeit des Abbaus war auf die noch relativ hohen Gehalte des Isomers 15DiCB in den Abbauproben aller drei Syntheschritte zurückzuführen. Die Gesamtabnahme zwischen vier und acht Wochen folgte in erster Linie der Abnahme dieses Isomers.

Die Bestimmung der Aktivitäten in den verschiedenen Phasen zeigte, daß ein Großteil des  $^{36}\text{Cl}$  mit Aceton eluiert werden konnte (Tabelle 29).

**Tabelle 29:** Mittlere Aktivitätsverteilung der Versuchsansätze nach vier und acht Wochen (4/8Wo) Inkubation mit *Pleurotus ostreatus*. Matrixrestgehalt nach vier-stündiger Ultraschallextraktion sowie Verseifung mit 10 % wässriger KOH (Bo:Bode, K: gleichlang inkubierte Kontrolle).

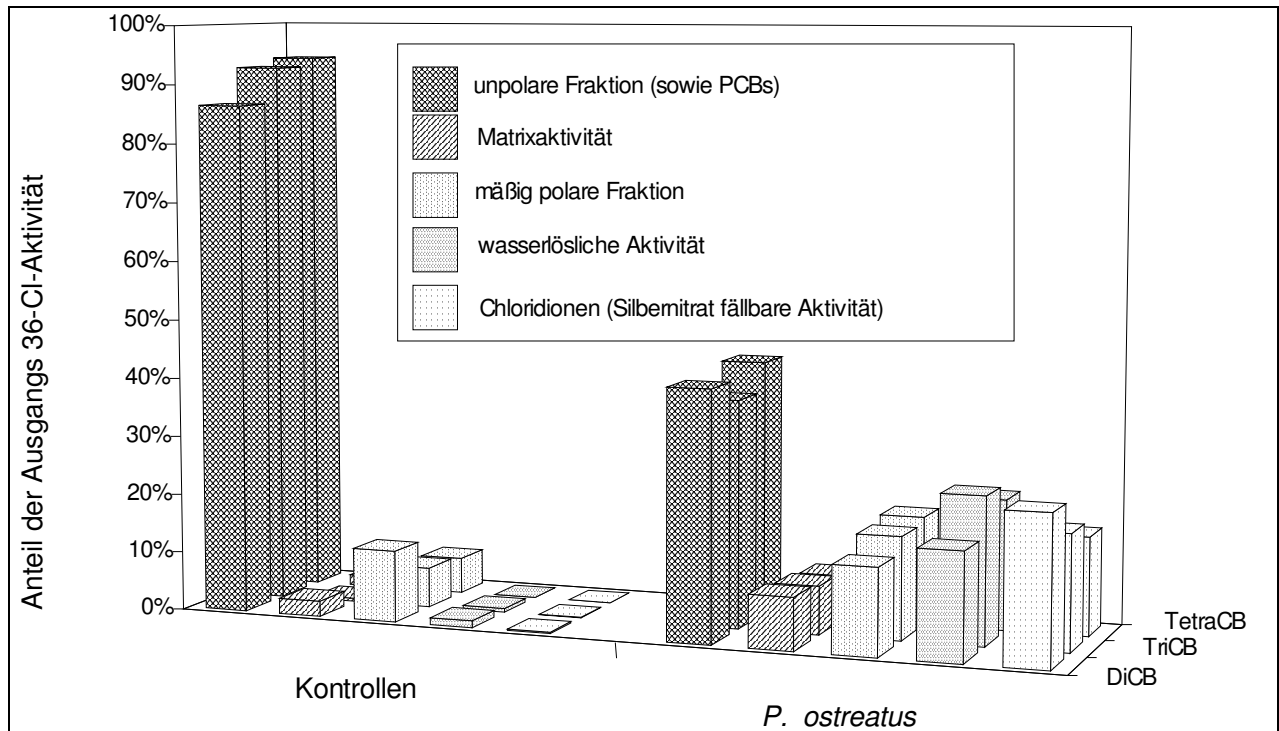
Ansatz	Wo	Aceton	Matrix/H <sub>2</sub> O	Matrix/KOH	Summe
Mono/DiCBs	<b>K</b>	4 81 %	0 %	2 %	83 %
Di/Tri/TetraCBs	<b>K</b>	4 99 %	0 %	1 %	99 %
Tri/TetraCBs	<b>K</b>	4 98 %	0 %	2 %	100 %
Mono/DiCBs		4 85 %	7 %	9 %	101 %
Di/Tri/TetraCBs		4 80 %	6 %	8 %	93 %
Tri/TetraCBs		4 62 %	5 %	6 %	73 %
Mono/DiCBs		8 79 %	7 %	2 %	87 %
Di/Tri/TetraCBs		8 61 %	8 %	0 %	69 %
Tri/TetraCBs		8 58 %	13 %	2 %	74 %
Mono/DiCBs Bo	<b>K</b>	4 91 %	1 %	0 %	93 %
Di/Tri/TetraCBs Bo	<b>K</b>	4 89 %	0 %	0 %	90 %
Tri/TetraCBs Bo	<b>K</b>	4 88 %	4 %	0 %	92 %
Mono/DiCBs Bo		4 89 %	5 %	0 %	94 %
Di/Tri/TetraCBs Bo		4 91 %	2 %	0 %	94 %
Tri/TetraCBs Bo		4 74 %	4 %	1 %	79 %
Mono/DiCBs Bo		8 74 %	3 %	1 %	78 %
Di/Tri/TetraCBs Bo		8 73 %	9 %	0 %	82 %
Tri/TetraCBs Bo		8 75 %	5 %	2 %	82 %

Die geringste prozentuale Wiederfindung in der Gesamtbilanz wurde für die dritte Synthesestufe mit Tri-, Tetra- und geringen Anteilen an Pentachlorbiphenylen erhalten. Es wurde durch mehrstündige Ultraschallextraktion sowie Verseifung mit KOH versucht, die auf dem Holz gebundenen Rückstände zu erfassen, dennoch ist gerade bei den hochchlorierten PCBs nach Dechlorierung und Aktivierung durch die Anbindung des restchlorierten Moleküls an die Spänematrix der größte Verlust an Chloraktivität zu erwarten. Die Einbettung kleiner Matrixmengen in Instagel zeigte kein Aktivität, ergab aber auch Probleme durch Absinken der Bodenpartikel auf den Grund der Szintillationsgefäße.

Die weitere Auftrennung der Acetonextrakte in unpolare, mäßig polare und wasserlösliche Aktivität ist in Abbildung 44 dargestellt.

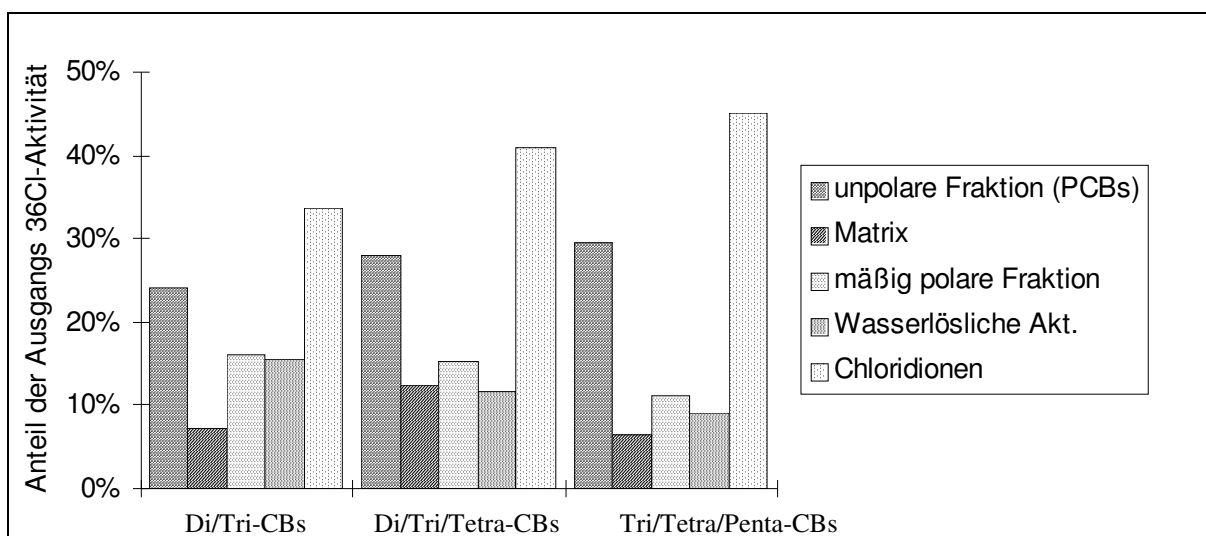
In diesem Versuchsansatz konnte für die drei Synthesestufen eine ähnliche Abnahmerate, sowie eine sehr ähnliche Verteilung der Aktivität zwischen den Phasen beobachtet werden. Obwohl die synthetisierten PCBs bei den drei Chlorierungsstufen in unterschiedlichen Mengenverhältnissen vorlagen, schienen sie ähnlich gut abgebaut zu werden.

Die Bildung von Chloridionen war bei den höherchlorierten PCBs höher als im Fall der Mono- und Dichlorbiphenyle (Syn2), d. h. es kam zu einem höheren Anteil an Dechlorierung eines PCB-Moleküls durch Transformation in nur noch teilchlorierte Metabolite.



**Abbildung 44:** Verteilung der  $^{36}\text{Cl}$ -Aktivität des Acetonextrakts von kontaminierten Holzspänen mit Bodenuntermischung nach vierwöchiger Inkubation mit *Pleurotus ostreatus*. DiCB steht für den ersten Syntheseschritt mit hauptsächlich Dichlorbiphenylen, TriCB für den zweiten Syntheseschritt mit Di- bis Tetrachlorbiphenyl und TetraCB für Syn3 mit Tri- bis Pentachlorbiphenyl.

Nach weiteren vier Wochen Inkubation konnte ein Fortgang der Abnahme der Ausgangssubstanzen beobachtet werden, gefolgt mit dem weiteren Anstieg der Chloridionenaktivität, während die Kontrollen keine Änderung der Aktivitätsverteilung aufwiesen (Abbildung 45). Die in diesem Versuch beobachtete Umwandlungsrate der  $^{36}\text{Cl}$ -PCBs zu Chlorid von über 40 % innerhalb von acht Wochen war der höchste gemessene Mineralisierungsgrad des Chlors aller durchgeführter Versuche.

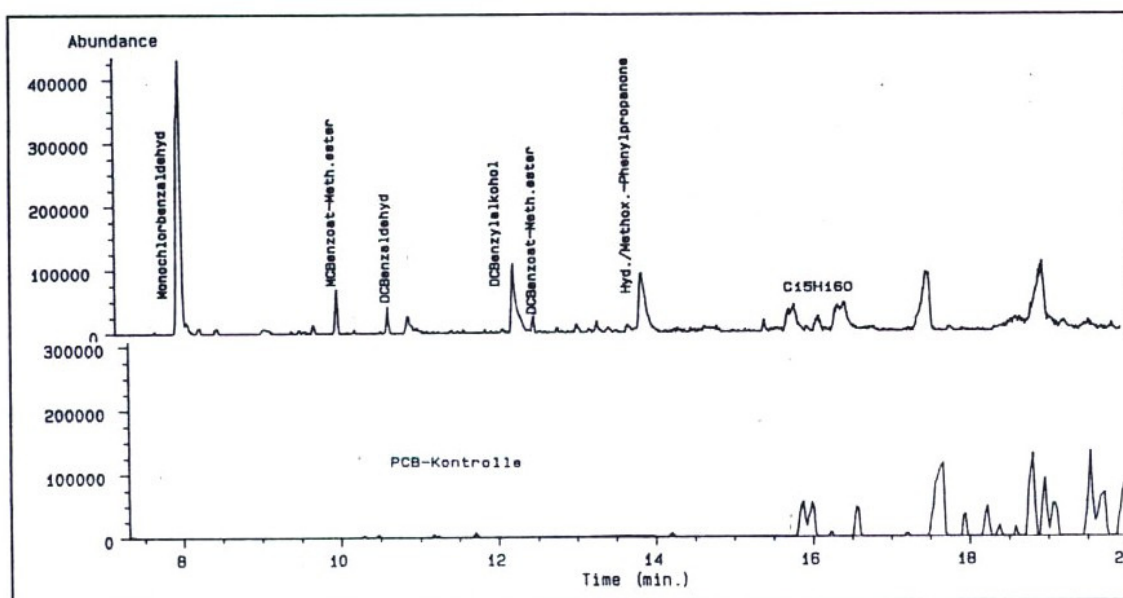


**Abbildung 45:** Verteilung der  $^{36}\text{Cl}$ -Aktivität von  $^{36}\text{Cl}$ -PCB-kontaminierten Holzspänen mit Bodenuntermischung nach achtwöchiger Inkubation mit *Pleurotus ostreatus*.

### 3.4.4 Metaboliten des PCB-Abbaus durch Weißfäulepilze

Beim Abbau der verschiedenen Synthesestufen  $^{14}\text{C}$ - und  $^{36}\text{Cl}$ -markierter PCBs auf Holz und mit Bodenbeimischung wurden die radioaktiven Extrakte auf Metaboliten des PCB-Abbaus hin untersucht. Die Zuordnung von chlorhaltigen Zwischenprodukten gestaltete sich durch das natürliche  $^{35}\text{Cl}/^{37}\text{Cl}$ -Verhältnis von 1 : 0,3 einfacher als es bei den nicht chlorierten Substanzen der Fall war.

Ein Großteil der abgebauten aber nicht mineralisierten Radioaktivität wurde in den Versuchen mit  $^{36}\text{Cl}$ -PCBs in den Ethylacetat-löslichen Fraktionen gefunden. Diese anfangs leicht gelblich gefärbten Proben wurden eingengt und ergaben ein dunkelgelb-braunes Konzentrat. Dieses wurde an Sephadex LC15 von höhermolekularen phenolischen Substanzen des Holzes gereinigt. Während der verschiedenen Abbauprobe konnte keine höhermolekulare Aktivität in den so behandelten Extrakten festgestellt werden. Die Fraktionen mit höchster Aktivität wurden getrocknet, eingengt und nach Methylierung und Silierung auf Metaboliten hin untersucht. Es wurden eine Reihe von Ionenspuren auf potentielle Metaboliten hin analysiert. In mehreren Versuchsansätzen zeigten sich im Massenbereich 134-148 Substanzen mit deutlichem Chlormuster, die in den Kontrollansätzen nicht nachweisbar waren (Abbildung 46).

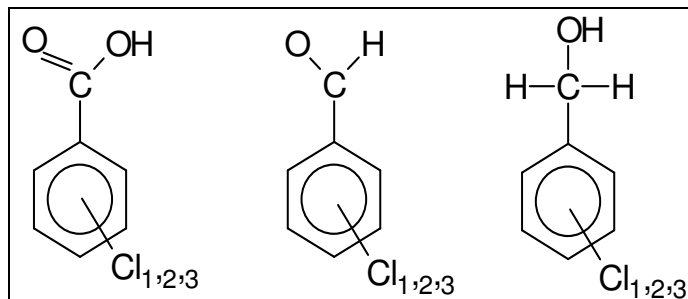


**Abbildung 46:** MS-Ionenspur 134-148 des unpolaren Extraktes von PCB(Syn2)-kontaminierten Holzspänen mit *Pleurotus ostreatus* nach vier Wochen Inkubation.

Diese Substanzen wurden während des Abbaus der PCBs durch Weißfäulepilze gebildet. Die Bildung dieser Metaboliten konnte sowohl auf PCB-kontaminierten Holzspänen als auch bei Zumischung von Boden festgestellt werden.

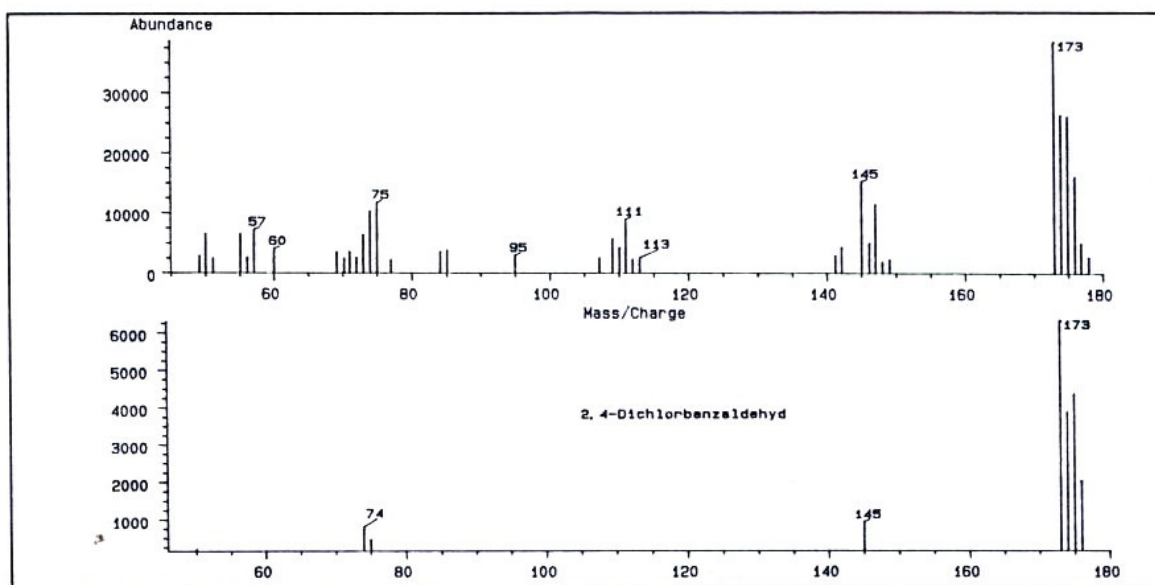
Es handelte sich dabei in erster Linie um chlorierte Aromaten. Bei diesen waren in bedeutenden Konzentrationen die verschiedenen Oxidationsstufen der Methylgruppe des mehrfach chlorierten Toluols vertreten (Abbildung 47).

Die Entstehung von Chlorbenzoesäuren beim Abbau von PCBs durch Weißfäulepilze konnte sowohl durch Methylierung (mit Diazomethan) wie Silylierung (mit MSTFA) der freien Säuren nachgewiesen werden (Massenspektren im Anhang, A23-24, Abbildung 13-15). Isomere der einzelnen Chlorierungsstufen konnten ebenfalls



**Abbildung 47:** Metaboliten des Abbaus der PCBs: verschiedene Oxidationsstufen des Chlortoluols

festgestellt werden. Die Identifizierung der reduzierten Formen erfolgte neben dem Vergleich mit Bibliotheksspektren durch Spektrenvergleich mit den Standardsubstanzen 2,4- und 2,5-Dichlorbenzoesäure, 2,4-Dichlorbenzaldehyd (Abbildung 48) und 2,4-Dichlorbenzylalkohol. Chlorbenzylalkohole wurden als MSTFA-Derivate bestimmt. In den nicht derivatisierten Proben eluierten Di- und Trichlorbenzylalkohole auch mit freier Hydroxylgruppe. Die Spektren dazu finden sich im Anhang, A25, Abb 17-19.

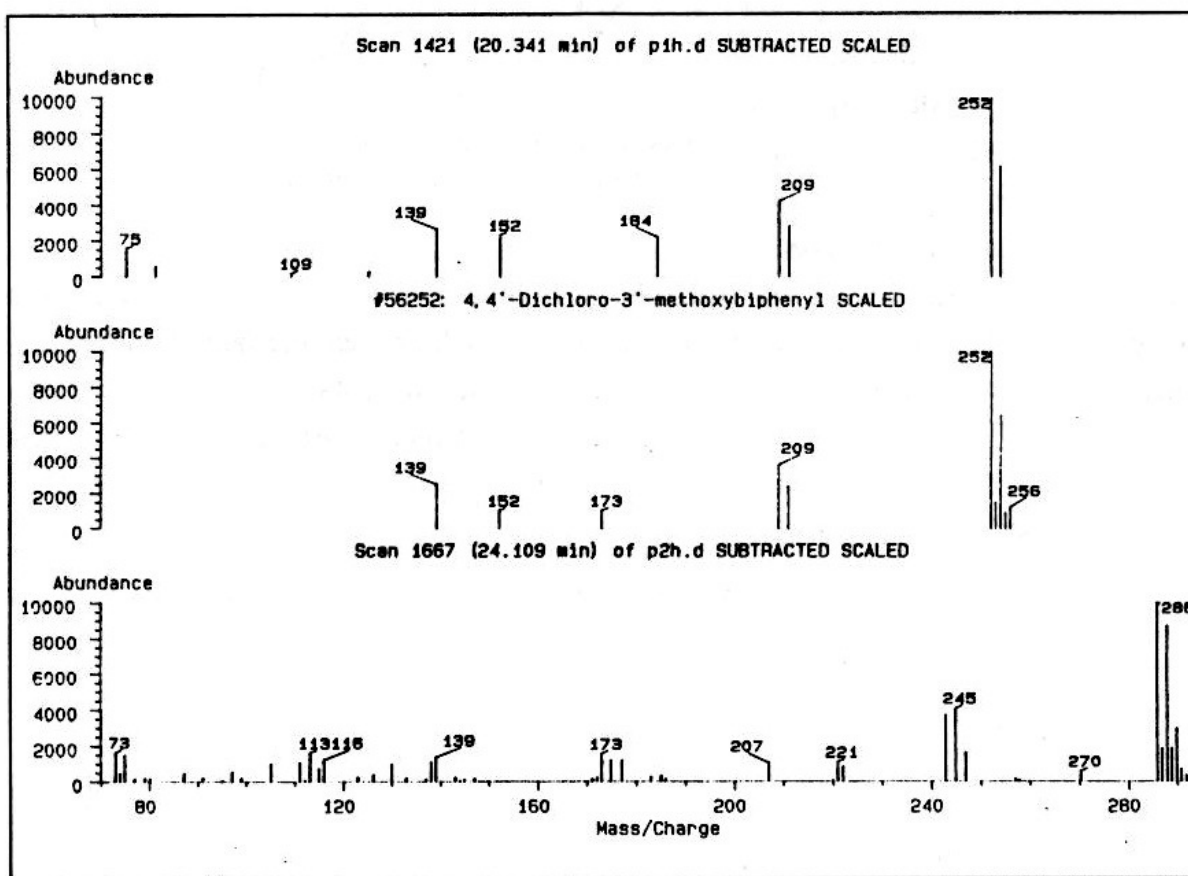


**Abbildung 48:** Vergleich von Dichlorbenzaldehyd der Probe und 2,4-Dichlorbenzaldehyd Massenspektren - die Substanz wies eine unterschiedliche Retentionszeit auf, was auf ein anderes Isomer schließen läßt.

Sowohl Mono- und Dichlorbenzoat als auch die reduzierten Formen des Mono- und Dichlorbenzaldehyds waren nach zwei bis fünf Wochen Inkubation mit *Pleurotus ostreatus* in

einer Reihe von Versuchsansätzen nachweisbar. Ebenso waren sie in den mit industriellen PCB-Gemischen angesetzten Abbaubersuchen auf Spänematrix feststellbar.

Da die Aktivität der unpolaren Fraktion im Fall der Inkubation  $^{36}\text{Cl}$ -markierter PCBs auf Spänen (im Boden) bis zu 10-15 % über dem durch GC-MS-Messung berechneten PCB-Gehalt lag, war die Anwesenheit von unpolaren Metaboliten zu vermuten. Nach Aufkonzentrierung und säulenchromatographischer Reinigung der Radioaktivität (über Silicagel 60) konnten bei der GC-MS-Untersuchung im Scan-Modus in den Fraktionen methoxylierte Chlorbiphenyle identifiziert werden.



**Abbildung 49:** Vergleich des Proben-Massenspektrums (oben) von Dichlormethoxybiphenyl mit dem WILEY-Bibliotheksvorschlag (mitte), sowie ein Trichlormethoxybiphenyl (unten) aus dem unpolaren Extrakt nach vierwöchiger Inkubation von *P. ostreatus* mit PCB kontaminiertem Stroh (Syn2).

Die Identifizierung der Spektren konnte im Fall des Dichlor-Methoxybiphenyls über die Spektrenbibliothek bestätigt werden. Das Zerfallsmuster der höherchlorierten Polychlor-Methoxybiphenyle entsprach diesem Vorschlag mit dem entsprechenden Chlorzuschlag des Moleküls. Zum Vergleich sind die Spektren der beiden Chlorierungsstufen mit Spektrenvergleich dargestellt (Abbildung 49). Die jeweils vorliegenden Isomere konnten nicht identifiziert werden. Weder für das in den Proben gefundene Massenmuster 139/151/173/209 noch für 139/151/152/165/209 ließ sich mit den in der Sammlung der Bibliothek vorhandenen Isomeren 4,4'-Dichlor-3'-Methoxybiphenyl, 2,5-Dichlor-4 (oder 3)-Methoxybiphenyl,



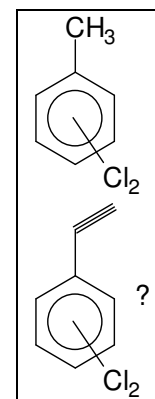
2,5-Dichlor-4'-Methoxybiphenyl, 2,5-Dichlor-3'-Methoxybiphenyl oder 2,5-Dichlor-3'-Methoxybiphenyl eine vollständige Übereinstimmung erzielen.

Im Auslauf der Silicagelsäule konnten in der unpolaren Fraktion (ohne Derivatisierung!) methylierte Chlorbenzoesäuren und Chlorbenzaldehyde nachgewiesen werden (Anhang, A24, Abbildung 16). Die in-situ Methylierung von Chlorbenzoesäure war unerwartet, doch bei Analyse nicht derivatisierter Ethylacetat-Fractionen konnte diese Substanz ebenfalls in Spuren nachgewiesen werden. Sie wurde also bei der Weiterbehandlung des Acetonextrakts zwischen der unpolaren und mäßig polaren Phase verteilt.

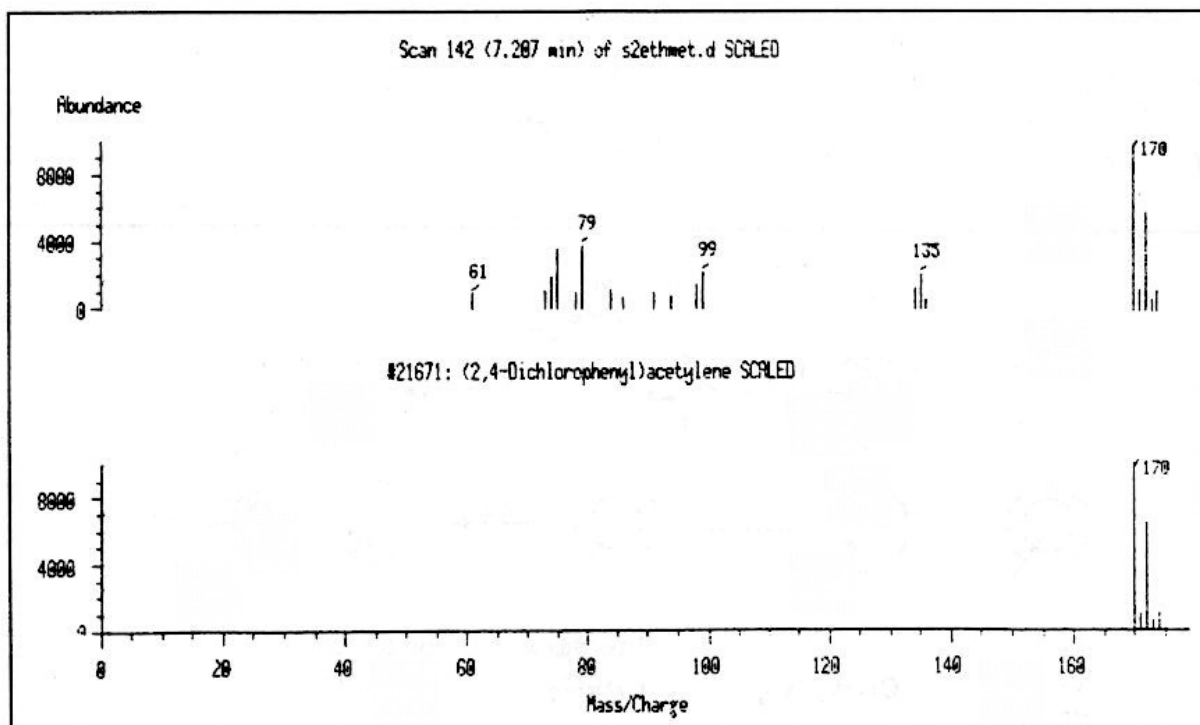
In geringen Spuren konnten weitere chlorierte Derivate durch Vergleich mit den Vorschlägen der Spektrenbibliothek bestimmt werden (Abbildung 50, Massenspektrum in Anhang, A26, Abbildung 20-22).

So tauchte im Abbauextrakt in geringen Mengen das Dichlortoluol mit  $m/z=160$  (74 %),  $162$  (50 %),  $125$  (100 %),  $127$  (33 %) und  $89$  (54 %) nach 6,0 min Retentionszeit auf, dies jedoch nur im Abbauextrakt des zweiten Syntheseschrittes.

In Spuren eluierte bei 7,21 min (Ofentemperatur  $130\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) ein Substanz mit Chlormuster, deren Summenformel der von Dichlorphenylacetylen entsprach. Es zeigte ein Molekilion von  $170/172$  (100 %/55 %) mit nachfolgender Abspaltung von Chlor/HCl: Massenbruchstück  $135$  (18 %) und HCl:  $99$  (17 %). Diese Substanz konnte nur in dem Ansatz mit der höchsten PCB-Konzentration gefunden werden (Abbildung 51).



**Abb. 50:**  
Dichlortoluol und  
Dichloracetylen.



**Abbildung 51:** Massenspektrum einer mäßig flüchtigen Chlorverbindung mit der möglichen Summenformel  $\text{C}_8\text{H}_4\text{Cl}_2$ .

Durch die geringe Konzentration und das einmalige Auftreten konnte die Identifikation nicht fortgesetzt werden. Es ist möglich, daß es sich dabei um eine Bruchstück einer Verbindung mit höherem Molekulargewicht handelt.

Sehr deutlich konnte in den Abbauproben ein Trichlorbenzolisomer (Abbildung 52) mit dem Molekülion von 180, 182, 184 (100 % / 96 % / 28 %), der Chlorabspaltung bis 145, 147 (37 % / 23 %), der zweiten HCl-Abspaltung bis 109, 111 (22 % / 22 %) und dem Kohlenstoffgerüst mit 74 (29 %) bei 6,74 min erkannt werden (Anhang, A26, Abbildung 22 ).

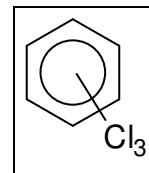


Abbildung 52:  
Trichlorbenzol

Eine Substanz mit deutlichem Chlorisotopenmuster konnte in einer drei Wochen alten Kultur eines  $^{36}\text{Cl}$ -PCB-inkubierten Ansatzes ausgemacht werden. Die Substanz eluierte bei 16,8 min (ca. 240 °C), so daß es sich nicht um das vom Computer vorgeschlagene leichter flüchtige Dichlorstyrol mit dem MG von 172 handeln konnte. Als mögliches zugehöriges Molekülion konnte den Ionen 172/174 in dem erhaltenen Massenspektrum das Ionenpaar 230/232 zugeordnet werden. Dies entspricht der Summenformel von  $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{OCl}_2$ .

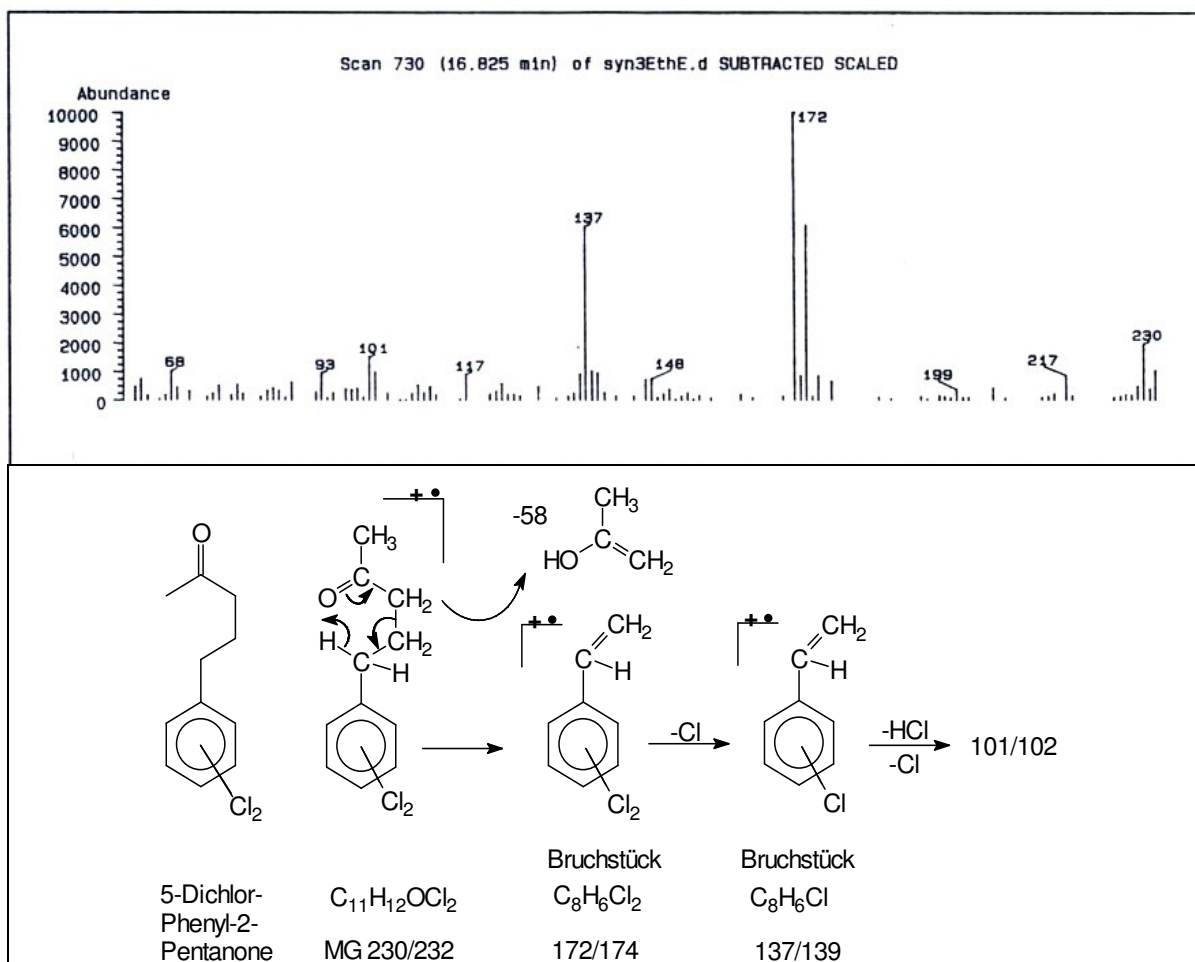
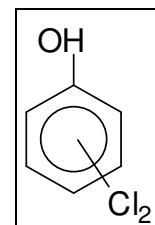


Abbildung 53: Massenspektrum und mögliche Zerfallsreaktionen einer Substanz der Zusammensetzung  $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{OCl}_2$  im Massenspektrometer.

Das Abspaltungsprodukt 58 würde sich dann aus der McLafferty-Umlagerung einer Oxogruppe erklären, was 5-Dichlorphenyl-2-Pentanone als zu diskutierende Substanz ergab (Abbildung 54). Das Chromatogramm zeigte weitere Ionen wie 217, 199, 93, und 68, die aber leicht verschobene Elutionsmaxima aufwiesen und daher eine Überlagerung anderer Substanzen darstellten.

In aufgereinigten silierten Ethylacetatfraktionen konnte desweiteren ein Dichlorphenol identifiziert werden (Abbildung 54). Es wurde als TMS-Derivat mit der Masse 234/236, der Abspaltung von  $\text{CH}_3$  zu 219/221, einer Abspaltung von  $\text{HCl}$  (183/185) und der Dimethylsilicongruppe zu 125/127 mit 98 % Wahrscheinlichkeit identifiziert (Anhang, A26, Abbildung 21). Es handelte sich dabei jedoch nicht um ein Hauptabbauprodukt sondern lag in Spuren vor.



**Abbildung 54:**  
Dichlorphenol

Die Verteilung der Metaboliten auf die verschiedenen Fraktionen ist für den Abbau der drei  $^{36}\text{Cl}$ -Synthesestufen mit *Pleurotus ostreatus* dargestellt. In diesen Ansätzen wurde eine Vielzahl der besprochenen Metaboliten identifiziert. Durch den Vergleich mit Standardsubstanzen konnte die Verteilung der Metaboliten halbquantitativ bestimmt werden (Tabelle 30).

**Tabelle 30:** Geschätzte Anteile der Metaboliten (-M als Methylester im nicht derivatisierten Extrakt) an der Ausgangskonzentration der PCBs. Ermittelt durch Flächenvergleich (bei mehreren isomeren Peaks nach Summierung) mit den vorhandenen Standards und rückgerechnet über die Aufarbeitungs- und Konzentrationsschritte auf die ursprüngliche Konzentration im Ansatzgefäß. Zusätzliche Substanzen aufgeteilt in deutlich im Total-Ionenchromatogramm erkennbare Substanzen (++) und solche, die nur durch Suche auf den entsprechenden Ionenspuren erkennbar waren (+).

	Syn I		Syn II		Syn III	
	Ethylac.	n-Hexan	Ethylac.	n-Hexan	Ethylac.	n-Hexan
Monochlorbenzoesäure	0,1-1 %	-Me: 1-5 %	0,1-1 %	-M:<0,1 %	-	-
Dichlorbenzoesäure	-	-	0,1-1 %	-M:<0,1 %	-	-M: 1-5 %
Trichlorbenzoesäure	-	-	<0,1 %	-	-	-
Monochlorbenzaldehyd	1-5 %	1-5 %	1-5 %	5-15 %	0,1-1 %	1-5 %
Dichlorbenzaldehyd	-	-	-	<0,1 %	-	0,1-1 %
Monochlorbenzylalkohol	-	-	-	-	-	-
Dichlorbenzylalkohol	-	-	1-5 %	0,1-1 %	1-5 %	-
Trichlorbenzylalkohol	-	-	-	-	-	0,1-1 %
Methoxychlorbiphenyle				++		+
Chloraromaten	+		++		++	
geschätzte Summe identifizierter Aktivität	1-5 %	1-5 %	5-15 %	5-15 %	1-10 %	1-5 %

Es wurde versucht, die wasserlösliche Aktivität, die nach vier Wochen teilweise über 20 % der eingesetzten Aktivität repräsentierte, zu identifizieren. Nach gelchromatographischer Reinigung konnte an der HPLC keine befriedigende Trennung vorgenommen werden, da die Aktivität bei verschiedenen Methanol/Wassergemischen immer im Ausschlußvolumen der Säule eluierte. In dem Extrakt konnten nach Sylierung mit MSTFA durch den hohen Anteil an Zuckern und polaren Zellbestandteilen keine Metaboliten mit Chlormuster identifiziert werden. Auch die Suche nach speziellen Ionen des theoretischen Abbauweges:

PCB -> Chlorbenzoat -> Chlorbrenzcatechin (-TMS; MG-15: 273/275 bzw.

Dichlor- 307/309) -> Chlormuconat (-TMS; MG-15: 305) / Chlor-3-oxo-Adipat (-TMS; MG-15: 323/325)

sowie auf Chlorphenol-, Chlorhydroxybiphenyl- oder Chlorbenzylalkohol-Glucose-Konjugate (bei mehrfach -TMS derivatisierten Molekülen wurde nach MG-195-Ionen gesucht), ergab keinen Hinweis auf diese Zwischensubstanzen.

Alle Zwischenprodukte, die durch die  $^{36}\text{Cl}$  Markierung identifiziert worden waren, müßten theoretisch auch bei der Markierung des Kohlenstoffgerüsts in den radioaktiven Fraktionen vorliegen. Zusätzlich sollten aber auch nicht chlorierte Metabolite vorhanden sein, die Aufschluß über den Abbauweg des Biphenylkörpers geben können. Von besonderem Interesse waren daher (möglicherweise noch aromatische) Verbindungen, die nicht in der Pilzkontrollansätzen vorhanden waren.

Beim Vergleich der Extrakte aus den  $^{14}\text{C}$ -PCB-Abbauversuchen mit den Kontrolleextrakten zeigten sich in allen Fraktionen die besprochenen chlorierten Metaboliten.

Die radioaktiven HPLC-Fraktionen des Ansatzes  $^{14}\text{C}$ -PCB auf Holzspänen wurden näher untersucht. Auf den Ionenspuren der schon bekannten chlorierten Metaboliten zeigten sich dabei in erster Linie chlorierten Benzoessäurederivate. Chlorbenzaldehyd und Chlorbenzylalkohol wurden dabei als dominierende Oxidationsstufe identifiziert.

Darüberhinaus konnten in den Fraktionen verschiedene Substanzen nachgewiesen werden, die entweder in den Kontrollen mit Pilz (ohne PCBs) gar nicht oder in deutlich geringerem Verhältnis (< 1:5) gefunden werden konnte.

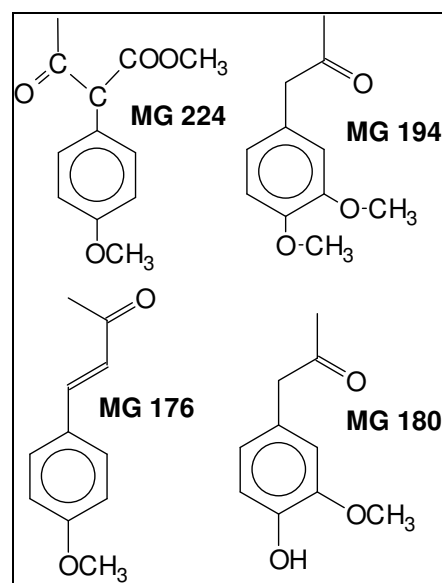
An nicht chlorierten Verbindungen konnte mit hoher Signalintensität ein Benzoessäurederivat (MG 224), eine Methoxy-Benzaldehyd (MG 136) und Anisylidenaceton (MG 176), sowie verschiedene Substanzen der vermuteten Zusammensetzung  $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{O}_3$  (MG 194, Anhang A27, Abbildung 23) nachgewiesen werden (Abbildung 55). Die abgebildeten Substitutionsmuster sind willkürlich.

Der Bibliotheksvorschlag des Benzoessäurederivats, 4-Hydroxy-2-Methoxy-3,5,6-trimethyl-Benzoessäuremethylester, wurde mit nur 78 % Wahrscheinlichkeit der realen Zusammensetzung nicht gerecht. Bei einer Summenformel von  $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_4$  (MG 224), der Abspaltung einer Methoxygruppe (-31 ->193) und einem Bruchstück von 119 ( $\text{C}_8\text{H}_7\text{O}$ ?) sind eine Reihe von Verbindungen denkbar, die aus einem Methoxy-Phenyl- $\text{C}_4$ -Gerüst abgeleitet werden

können. So z. B. 2-Methoxyphenyl-3-Keto-Buttersäuremethylester wie in Abbildung 55 dargestellt. Chromatogrammvergleich von Probe und Pilz-Kontrolle dieser Verbindung und der Substanz Methoxy-Benzaldehyd, sowie Massenspektrum und Massenspektrumvorschlag der Computer-Bibliothek sind im Anhang (A 28, Abbildung 24/25) dargestellt.

Mit hoher Signalintensität wurde auch die Substanz Anisylidenaceton (MG 176) in zwei isomeren Formen nur in den Abbauproben detektiert. Ein Vergleich der Massenspektren zu beiden Retentionszeiten mit dem Spektrenvergleich ist im Anhang (A29, Abbildung 26) dargestellt.

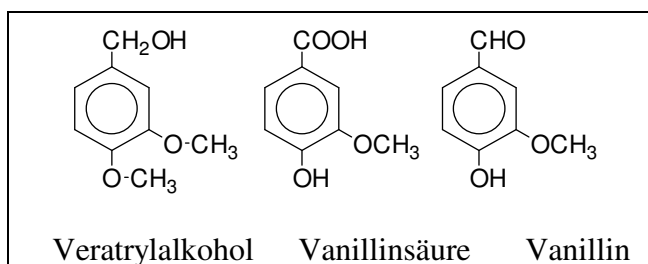
Desweiteren wurde in den Abbau-Fractionen geringe Mengen einer hydroxylierten und methoxylierten Verbindung der Masse 180 gefunden (Abbildung 55). Möglicherweise handelt es sich um Hydroxy-Methoxyphenyl-Propanon mit den Massenbruchstücken von  $m/z=66$  (9 %), 77 (11 %), 94 (18 %), 122 (23 %), 137 (100 %) und 180 (22 %).



**Abbildung 55:** Nichtchlorierte aromatische Verbindungen, die als Metaboliten des PCB-Abbau vermutet werden.

Bei den besprochenen möglichen Metaboliten handelt es sich um Verbindungen, die dem Veratrylalkohol (3,4-Dimethoxy-Benzylalkohol, MG 168) verwandt sind.

Veratrylalkohol, sowie oxidierte Formen, bzw. Vanilinderivate konnte in den Abbau- und Pilzkontrollansätzen mit *Pleurotus ostreatus* ssp. *florida* je nach Aufarbeitung und verwendeter Fraktion in wechselnden Konzentrationen gefunden werden (Abbildung 56).



**Abbildung 56:** Substanzen, die in wechselnden Konzentrationen im Abbau- und Kontrollansatz gefunden werden konnten

Eine Zuordnung dieser Verbindungen zu den Abbauprodukten, wie im Fall des Anthracenabbaus, ergab sich nicht.

Der Weißfäulepilz *Phanerochaete chrysosporium* kann während des Wachstums eine Reihe von aromatischen Verbindungen *de novo* bilden, so vor allem Veratrylalkohol und Derivate (LUNDQUIST & KIRK 1978, SHIMADA & HIGUCHI 1983). Dies scheint trotz der Unterschiede in der Enzymausstattung unter bestimmten Bedingungen auch für die Gattung *Pleurotus* zu gelten.