Tagungsbeitrag zu: Jahrestagung der DBG
Titel der Tagung: Böden – eine endliche Ressource
Veranstalter: DBG, September 2009, Bonn
Berichte der DBG (nicht begutachtete online Publikation)
http://www.dbges.de

Einfluss von ETBE und TAME auf Funktion und Diversität der Bodenmikroflora

Johanna Bartling[1]*, Michael Schloter[2], Berndt-Michael Wilke[1]

Zusammenfassung

Unsere Untersuchung zeigt zum ersten Mal, dass die Kraftstoffadditive ETBE (Ethyl tert Butylether) und TAME (Tert Amylmethylether) die Zusammensetzung der Bodenmikroflora ändern und darüber hinaus die Akkumulation von Ammonium und Nitrit im Boden verursachen können.

Diversität; Bodenmikroorganismen; Ethyl tert Butylether; Tert Amylmethylether; Stickstoffkreislauf

Einleitung

Ethyl-tert-butylether (ETBE) und Tert-amylmethylether (TAME) sind sauerstoffhaltige Kohlenwasserstoffe, die in Europa seit 2006 verstärkt Kraftstoffen zugesetzt werden, um deren Verbrennungseigenschaften zu verbessern. Sie gelangen über Leckagen und Unfälle während der Produktion, Lagerung und Verwendung von Kraftstoffen in den Boden. Die bisherigen Untersuchungen hinsichtlich der Bodenökotoxizität beschränken sich auf wenige Studien und auf die Vorgängersubstanz, Methyl tert Butylether (MTBE) (Shahidi Bonjar, 2004; An, 2005; An and Lee, 2008; Bartos et al., 2008). Im Fokus der vorliegenden Untersuchung stehen die Auswirkungen von ETBE- bzw. TAME auf die Vitalitat und Abundanz, sowie auf die Funktion der Bodenmikroflora.

Material und Methoden

Lufa-Standardboden 2.3 (9.4% Ton, 31.9% Schluff; 58.7% Sand; C_{org} 0.98%, pH ($CaCl_2$) 6.4; WHK_{max} 34.4%) wurde mit 5 ml ETBE bzw. TAME pro kg m_T kontaminiert. Der Boden wurde in Glasflaschen und mit zwei verschiedenen Wassergehalten (35% und 50% der WHK_{max}) über maximal sechs Wochen inkubiert. Aufgrund der hohen Wasserlöslichkeit der beiden Verbindungen (ETBE: 12 g l^{-1} bzw. TAME: 20 g l^{-1}) wurde eine Abhängigkeit der Wirkung vom Wassergehalt erwartet.

Jeweils 3 Tage und 6 Wochen nach der Kontamination wurde die substratinduzierte Bodenatmung nach DIN ISO 17155 gemessen. Je 1 h, 48 h, 7 d und 14 d nach der Kontamination wurden die Konzentrationen von Ammonium, Nitrat und Nitrit bestimmt. Dazu wurden Bodenproben mit $CaCl_2$ extrahiert. Anschließend wurde die Ammoniumkonzentration mit der Berthelot-Farbreaktion nach Weatherburn (1967) gemessen. Die Nitratbestimmung erfolgte mittels Messung der UV-Absorption nach Navone (1967), die Nitritkonzentration wurde über eine Farbreaktion nach Hoffmann et al. (2007) gemessen.

Ergebnisse

Die Respirationsmessung der Ansätze mit geringerem Wassergehalt (35% der WHK_{max}) zeigte, dass die aerobe, heterotrophe Mikroflora drei Tage nach der Kontamination verzögert auf die Substratzugabe reagierte als in den unkontaminierten Kontrollböden (Abbildung 1). Interessanterweise konnte gezeigt werden, dass nach sechs Wochen Inkubation der Anstieg zum Respirationsmaximum in den Kontrollböden deutlich später erfolgte als in den Ansätzen mit ETBE bzw. TAME.

Bei den ETBE bzw. TAME kontaminierten Böden war in der Respirationskurve nach

[1] Technische Universität Berlin, Institut für Ökologie, FG Abfallbelastung der Landschaft
[2] Helmholtz Zentrum München, Institut für Bodenökologie, Department of Terrestrial Ecogenetics
* johanna.bartling@tu-berlin.de

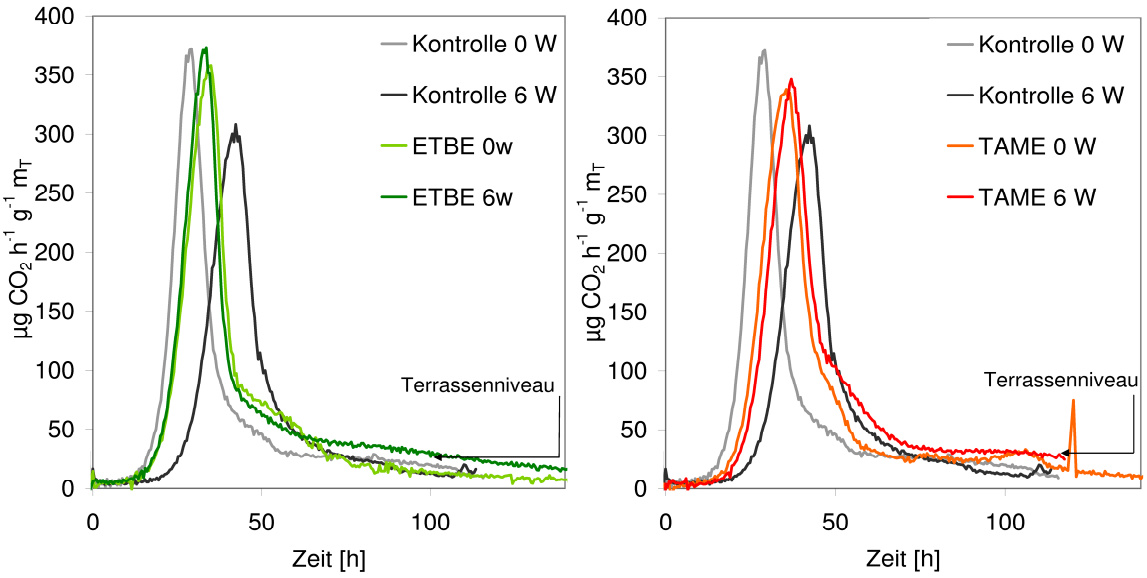

Abbildung 1: Respirationskurven der Ansätze mit einem Wassergehalt von 35% der WHK_{max}. Zeitpunkt der Substratzugabe: 0 h. Links: ETBE- und Kontrollansatz; rechts: TAME- und Kontrollansatz.

dem Peakmaximum eine deutliche Terrasse, d.h. ein anhaltendes, leicht erhöhtes Respirationsniveau zu erkennen.

In den Ansätzen mit höherem Wassergehalt (50% der WHK_{max}) erfolgte die Reaktion der Mikroorganismen auf die Substratzugabe bei frischer Kontamination mit ETBE bzw. TAME ebenfalls verzögert (Abbildung 2). Nach sechs Wochen Inkubation allerdings zeigte sich, dass die Mikroorganismen in den ETBE bzw. TAME kontaminierten Böden nicht nur schneller auf die Substratzugabe reagierten, sondern auch eine signifikant höhere maximale Respirationsleistung erzielten im Vergleich zu den Kontrollböden.

Die Ergebnisse des Monitorings der anorganischen Stickstoffverbindungen Ammonium, Nitrat und Nitrit sind in Abbildung 3 grafisch dargestellt. Auffällig war, dass die Kontrolle im Gegensatz zu den Ansätzen mit ETBE bzw. TAME zu keinem Zeitpunkt Ammonium und Nitrit enthielt. Die Nitratkonzentrationen stiegen in allen Ansätzen während des Versuchsverlaufes leicht an.

Ammonium akkumulierte sowohl in Anwesenheit von TAME, als auch von ETBE.

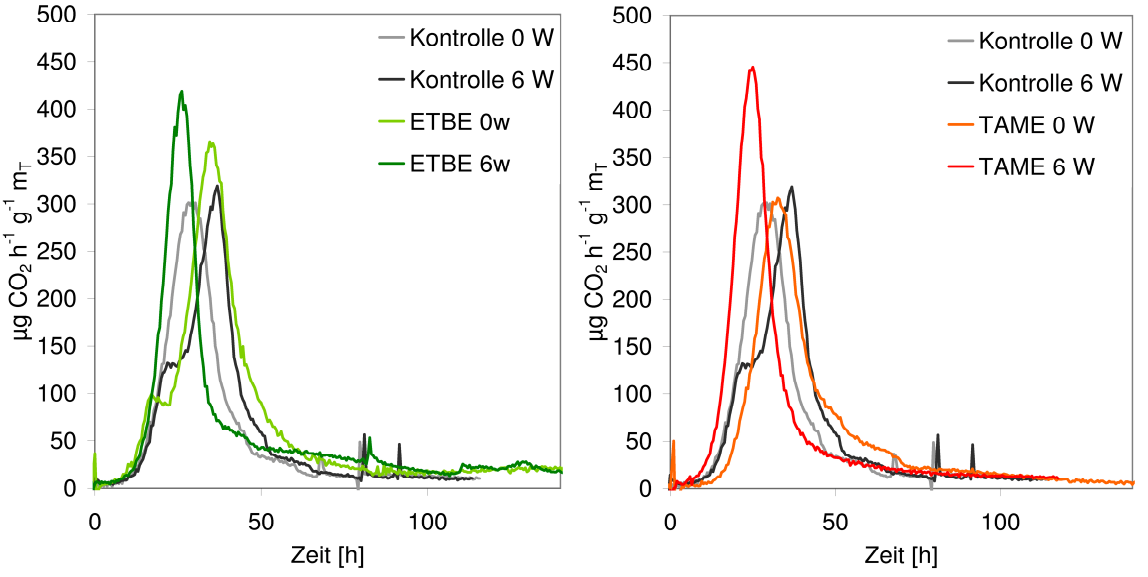

Abbildung 2: Respirationskurven der Ansätze mit einem Wassergehalt von 50% der WHK_{max}. Zeitpunkt der Substratzugabe: 0 h. Links: ETBE- und Kontrollansatz; rechts: TAME- und Kontrollansatz.

Nitrit hingegen reicherte sich vor allem im ETBE kontaminierten Boden an.

Diskussion

Die Änderungen im Kurvenverlauf der Bodenatmungskurven weisen darauf hin, dass sich die Bodenmikroflora mit der Zeit an die Anwesenheit von ETBE bzw. TAME anpasst. Darüber hinaus lassen die Ausbildung von Terrassen in Abbildung 1, sowie die nach sechs Wochen stark erhöhte Respirationsleistung (Abbildung 2) in Anwesenheit von ETBE bzw. TAME den Schluss zu, dass die Mikroflora die Fähigkeit zu mikrobiellem Abbau der beiden Substanzen entwickelte (Bartling et al., 2009).

Die Akkumulation von Ammonium in Anwesenheit von TAME und ETBE zeigt, dass die Ammoniumoxidation als erster Schritt der Nitrifikation gestört ist. Da im vorliegenden Experimentdesign weder extreme pH Werte, noch Sauerstoffmangel vorlagen, scheinen diese beiden Substanzen der Auslöser für die Ammoniumanreicherung gewesen zu sein. Die Anreicherung von Nitrit – vor allem in Anwesenheit von ETBE – könnte sowohl eine Störung der Nitrifkation, als auch der Denitrifkation bedeuten. Hyman et al. (1994) haben in ihrer Arbeit die Wirkung von Dimethylether auf *Nitrosomonas europaea* untersucht. Sie fanden Hinweise darauf, dass Dimethylether die Aktivität der Ammonium-Monooxygenase von *N. europaea* stimulierte und als Folge davon Nitrit akkumuliert. Möglicherweise haben die komplexer aufgebauten Ether ETBE und TAME einen ähnlichen Einfluss auf den Prozess der Nitrifikation.

Die Ergebnisse unserer Untersuchung machen deutlich, dass ETBE und TAME die Funktion der Bodenmikroflora signifikant verändern. Im Fokus der weiteren Forschung stehen die Untersuchung der zum mikrobiellen Abbau fähigen Mikroorganismengemeinschaften, sowie genauere Untersuchungen zur Störung der Stickstofftransformation.

Literatur

An, Y.J., 2005. Assessing soil ecotoxicity of methyl tert-butyl ether using earthworm bioassay; closed soil microcosm test for volatile organic compounds. Environmental Pollution 134, 181-186.

An, Y.J., Lee, W.M., 2008. Comparative and combined toxicities of toluene and methyl tert-butyl ether to an Asian earthworm *Perionyx excavatus*. Chemosphere 71, 407-411.

Bartling, J., Kotzerke, A., Mai, M., Esperschütz, J., Buegger, F., Schloter, M., Wilke, B.-M., 2009. Microbial community structure and function during abnormal curve development of substrate induced respiration measurements. Chemosphere DOI: 10.1016/j.chemosphere.2009.10.024.

Bartos, P., Balazs, M., Kiss, I., Bihari, Z., Kelemen, O., Mecs, I., 2008. Toxic effect of methyl tert-butyl ether on growth of soil isolate *Pseudomonas veronii* T1/1. World Journal of Microbiology & Biotechnology 24, 875-878.

Hoffmann, H., Schloter, M., Wilke, B.M., 2007. Microscale-scale measurement of potential nitrification rates of soil aggregates. Biology and Fertility of Soils 44, 411-413.

Hyman, M.R., Page, C.L., Arp, D.J., 1994. Oxidation of methylfluoride and dimethyl ether by ammonia monooxygenase in *Nitrosomonas Europaea*. Applied and Environmental Microbiology 60, 3033-3035.

Navone, R., 1967. Proposed direct ultraviolet determination of nitrate. Journal of American Water Works Association 59, 1193-1195.

Shahidi Bonjar, G.H., 2004. Potential Ecotoxicological Implication of Methyl tert-butyl ether (MTBE) Spills in the Environment. Ecotoxicology 13, 631-635.

Weatherburn, M.W., 1967. Phenol-Hypochlorite Reaction for Determination of Ammonia. Analytical Chemistry 39, 971-974.

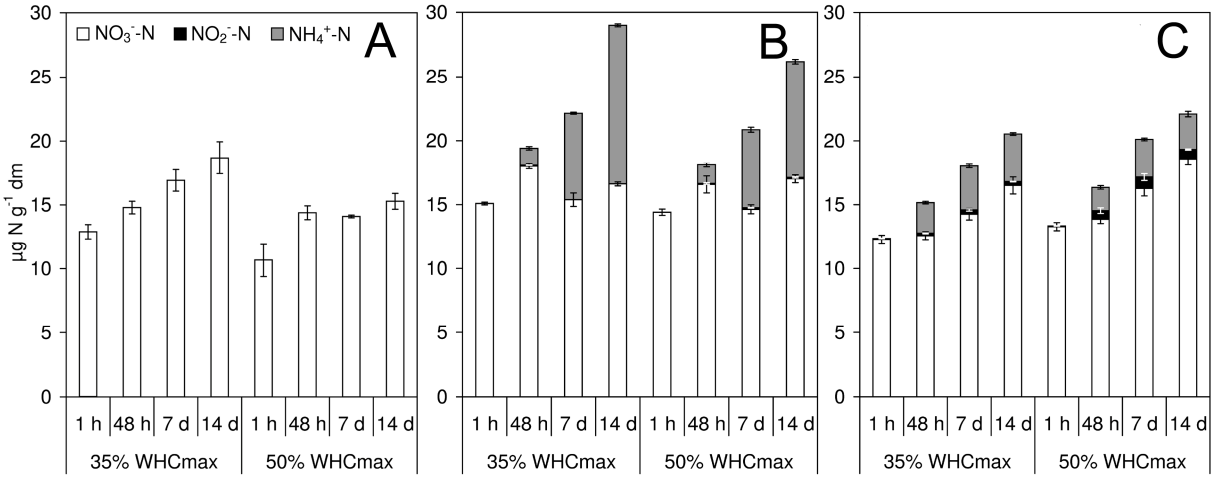

Abbildung 3: Konzentrationen von Nitrat-N, Nitrit-N und Ammonium-N im Kontrollansatz (A), im TAME kontaminierten Boden (B) und im ETBE kontaminierten Boden (C).