

Dipl.-Ing. Gregor Daun, Heidelberg

**Entwicklung und  
Anwendung eines Verfahrens  
zur biologischen Sanierung  
TNT-kontaminierter Böden**

Reihe **15**: Umwelttechnik

Nr. **171**

# Inhaltsverzeichnis

<b>Vorwort</b>	<b>III</b>
<b>Verzeichnis der Abkürzungen und Formelzeichen</b>	<b>XIII</b>
<b>Zusammenfassung</b>	<b>XVII</b>
<b>1 Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1 Altlasten aus der Trinitrotoluolproduktion . . . . .	1
1.2 Gefährdungspotential . . . . .	2
1.3 Gegenmaßnahmen . . . . .	3
1.4 Mikrobieller Abbau von Trinitrotoluol . . . . .	4
1.5 Ziele der Arbeit . . . . .	6
<b>2 Material und Methoden</b>	<b>7</b>
2.1 Organismen . . . . .	7
2.2 Materialien . . . . .	7
2.2.1 Nährlösungen . . . . .	7
2.2.2 Bodenproben . . . . .	7
2.2.2.1 Real kontaminierte Bodenproben . . . . .	8
2.2.2.2 Modellsysteme für die Ton- und die Humusfraktion . .	9
2.2.3 Chemikalien . . . . .	9
2.3 Analytische Methoden . . . . .	9
2.3.1 Bestimmung der optischen Dichte . . . . .	9
2.3.2 Bestimmung der Zelltrockenmasse . . . . .	10
2.3.3 Glucosenachweis . . . . .	10
2.3.4 Nachweis der gebildeten Fettsäuren und Alkohole . . . . .	10

2.3.5	Nachweis der gasförmigen Gärprodukte . . . . .	11
2.3.5.1	Nachweis von Kohlendioxid . . . . .	11
2.3.5.2	Nachweis von Wasserstoff . . . . .	11
2.3.6	Nachweis von Trinitrotoluol, anderen Nitroaromaten und Reduktionsprodukten . . . . .	12
2.3.6.1	Isokratische Methode zum Nachweis von TNT und Reduktionsprodukten . . . . .	12
2.3.6.2	Isokratische Methode zum Nachweis von Triaminotoluol . . . . .	13
2.3.6.3	Gradientenmethode zum Nachweis verschiedener Nitroaromaten und Reduktionsprodukte . . . . .	14
2.4	Aufbau der Versuche zur Reduktion in Lösung . . . . .	15
2.4.1	Fermenterversuche . . . . .	15
2.4.1.1	Probenaufbereitung . . . . .	16
2.4.2	Versuche mit Zellsuspensionen . . . . .	16
2.4.3	Versuche mit Xanthin-Oxidase . . . . .	16
2.5	Aufbau der Versuche zur Sorption . . . . .	17
2.5.1	Vorbehandlung der Bodenproben . . . . .	17
2.5.2	Versuche zur Adsorption . . . . .	18
2.5.2.1	Versuche zur Langzeitadsorption von TNT und seinen Reduktionsprodukten . . . . .	18
2.5.2.2	Versuche zur Kurzzeitadsorption von TNT und seinen Reduktionsprodukten . . . . .	19
2.5.3	Versuche zur Extraktion mit heißem Wasser . . . . .	19
2.5.4	Versuche zur Extraktion mit Heißdampf . . . . .	19
2.5.5	Versuche zur Sorption von TNT in Gemischen aus Wasser und Alkohol . . . . .	20
2.6	Aufbau der Versuche zur Reduktion in Boden-Wasser-Suspensionen . . . . .	20
2.6.1	Fermenteraufbau . . . . .	20
2.6.2	Probenaufbereitung . . . . .	21
2.7	Verwendete Kalkulations- und Simulationsprogramme . . . . .	21

<b>3 Anaerobe cometabolische Reduktion von TNT in Lösung</b>	<b>22</b>
3.1 Grundlagen der cometabolischen Reduktion von TNT . . . . .	22
3.1.1 Cometabolismus, Substrat und Cosubstrat . . . . .	22
3.1.2 Oxidation und Reduktion im Gärstoffwechsel . . . . .	23
3.1.3 Biologische Reduktion aromatischer Nitrogruppen . . . . .	25
3.2 Experimente zur cometabolischen Reduktion von TNT . . . . .	27
3.2.1 Variation der Substratzufuhr . . . . .	29
3.2.1.1 Batch-Fermentation zur Reduktion von TNT . . . . .	30
3.2.1.2 Fedbatch-Fermentationen zur Reduktion von TNT . . . . .	32
3.2.2 Variation der TNT-Konzentration . . . . .	36
3.2.3 Cometabolische Reduktion von TNT, 4-ADNT und 2,4-DANT . . . . .	38
3.2.4 Korrelation der Konzentration der Zelltrockenmasse mit der optischen Dichte . . . . .	38
3.2.5 Versuche mit alternativen Substraten . . . . .	40
3.2.6 Versuche zur Reduktion durch wachstumslimitierte Zellsuspensionen in Gegenwart von Glucose . . . . .	41
3.2.6.1 Induktion der cometabolischen Reduktion . . . . .	41
3.2.6.2 Reduktion von TNT bei verschiedenen Zelldichten . . . . .	43
3.2.6.3 Reduktion von TNT bei verschiedenen TNT-Konzentrationen . . . . .	43
3.2.6.4 Konkurrenz von TNT und 4-ADNT bei der Reduktion . . . . .	46
3.2.7 Versuche zur Reduktion mit NADH <sub>2</sub> und Xanthin-Oxidase . . . . .	46
3.3 Modellierung der cometabolischen Reduktion . . . . .	50
3.3.1 Modelldiskriminierung . . . . .	50
3.3.2 Begrenzung auf die Reduktion bis zum TAT . . . . .	50
3.3.3 Volumenbilanz . . . . .	51
3.3.4 Zellwachstum . . . . .	52
3.3.5 Substratverbrauch . . . . .	52
3.3.6 Modelle zur cometabolischen Reduktion von TNT zu TAT . . . . .	55
3.3.7 Cometabolischer Abbau nach Criddle [21] . . . . .	55
3.3.8 Modell I: Cosubstratabbaurrate proportional zur Zellmasse . . . . .	56
3.3.9 Modell II: Cosubstratabbaurrate proportional zur Substratabbaurrate . . . . .	56

3.3.10	Modell III: Cosubstratreduktion durch Abspaltung und kompetitive enzymatische Übertragung von Reduktionsäquivalenten . . .	57
3.3.10.1	Herleitung der kompetitiven Doppelsubstrat-Enzymkinetik . . . . .	58
3.3.10.2	Anwendung der Enzymkinetik auf die Reduktion . . . . .	60
3.3.11	Modell IV: Cosubstratumwandlung durch direkte chemische Reduktion mit Stoffwechselprodukten . . . . .	62
3.3.12	Anpassung der Modellparameter . . . . .	63
3.3.12.1	Modell I . . . . .	64
3.3.12.2	Modell II . . . . .	64
3.3.12.3	Modell III . . . . .	67
3.3.12.4	Modell IV . . . . .	67
3.3.13	Überprüfen der Modelle unter veränderten Anfangs- und Randbedingungen . . . . .	73
3.3.13.1	Modell I . . . . .	73
3.3.13.2	Modell II . . . . .	78
3.3.13.3	Modell III . . . . .	78
3.3.13.4	Modell IV . . . . .	78
3.4	Diskussion der Ergebnisse und Modelle zur Reduktion . . . . .	79
3.4.1	Vergärung der Glucose und beteiligte Organismen . . . . .	79
3.4.1.1	Verhältnis der Mischkultur zum Sauerstoff . . . . .	79
3.4.1.2	Gärprodukte . . . . .	80
3.4.1.3	Kohlenstoffbilanz . . . . .	80
3.4.2	Verlauf der cometabolischen Reduktion . . . . .	80
3.4.3	Beeinflussung der cometabolischen Ausbeute durch Veränderung von Substratzufuhr und Cosubstratkonzentration . . . . .	82
3.4.4	Versuche zum Reduktionsstoffwechsel . . . . .	85
3.4.4.1	Induzierbarkeit der Reduktion . . . . .	85
3.4.4.2	Kompetition . . . . .	85
3.4.4.3	Durch Xanthin-Oxidase katalysierte Reduktion mit NADH <sub>2</sub> . . . . .	85
3.4.5	Modellentwicklung, Parameteranpassung und Übertragbarkeit . . . . .	85
3.4.6	Phänomene und Erklärungsversuche . . . . .	88
3.4.6.1	Abnahme der Reduktionsraten mit dem Reduktionsgrad . . . . .	88
3.4.6.2	Diskussion der Reduktion an einzelnen Versuchen . . . . .	89
3.4.6.3	Diskussion der Tendenzen in den Versuchsreihen . . . . .	90
3.4.7	Ausblick . . . . .	91

<b>4</b>	<b>Interaktion von TNT und Metaboliten mit Bodenbestandteilen</b>	<b>92</b>
4.1	Grundlagen der Sorption in Böden . . . . .	92
4.1.1	Adsorptionsmechanismen . . . . .	93
4.1.2	Beschreibung von Adsorptionsprozessen . . . . .	94
4.1.3	Adsorptionsgleichgewicht . . . . .	94
4.1.3.1	Reaktionskinetische Herleitung einer Isotherme . . . . .	94
4.1.3.2	Langmuir-Isotherme . . . . .	95
4.1.3.3	Henry-Isotherme . . . . .	95
4.1.3.4	Freundlich-Isotherme . . . . .	95
4.1.3.5	Energetik der Adsorption . . . . .	95
4.1.3.6	Adsorption aus Wasser-Lösungsmittel-Gemischen . . . . .	96
4.1.4	Adsorptionskinetik . . . . .	96
4.1.4.1	Kinetikmodelle . . . . .	97
4.1.4.2	Ein-Speicher-Modell . . . . .	97
4.1.4.3	Zwei-Speicher-Modelle . . . . .	99
4.1.4.4	Modelle mit interpartikulärer Diffusion . . . . .	99
4.1.5	Bestimmung des notwendigen Volumens an Extraktionslösung . . . . .	99
4.1.6	Bodenbestandteile und Adsorptionskapazität . . . . .	100
4.1.6.1	Mineralische Bestandteile, ihre Gestalt und Unterteilung nach Korngrößen . . . . .	100
4.1.6.2	Tonminerale . . . . .	101
4.1.6.3	Organische Bestandteile . . . . .	101
4.1.6.4	Huminstoffe . . . . .	102
4.1.6.5	Organo-mineralische Verbindungen . . . . .	103
4.1.6.6	Spezifische Oberfläche und Kationenaustauschkapazität . . . . .	103
4.1.7	Sorption und Reaktion von Nitro- und Aminoaromaten in Böden . . . . .	103
4.1.7.1	Interaktion mit dem Humus . . . . .	104
4.1.7.2	Adsorption an Minerale . . . . .	105
4.2	Experimente zur Interaktion mit Bodenbestandteilen . . . . .	106
4.2.1	Sorption von TNT, 2-ADNT, 4-ADNT, 2,4-DANT und TAT an Ca-Bentonit . . . . .	106
4.2.1.1	Kinetik der Sorption . . . . .	107
4.2.1.2	Gleichgewicht . . . . .	107

4.2.2	Sorption von TNT, 4-ADNT, 2,4-DANT und TAT an Huminsäuren	109
4.2.3	Sorption bei Variation der Temperatur . . . . .	111
4.2.3.1	Temperaturabhängigkeit der Adsorption von TNT, 2-ADNT und 2,4-DANT an Ca-Bentonit . . . . .	112
4.2.3.2	Extraktion von TNT aus Boden A in Wasser . . . . .	114
4.2.3.3	Extraktion von TNT aus Boden A mit Heißdampf . . . . .	115
4.2.4	Sorption in Wasser-Lösungsmittel-Gemischen . . . . .	116
4.2.4.1	Adsorption von TNT an Ca-Bentonit aus Wasser-Methanol-Gemisch . . . . .	116
4.2.4.2	Extraktion von TNT aus Boden A mit Wasser-Methanol-Gemischen . . . . .	117
4.2.4.3	Extraktion von TNT aus Boden C mit Wasser-Ethanol-Gemischen . . . . .	118
4.2.4.4	Mindestbedarf an Extraktionslösung . . . . .	118
4.2.4.5	Kinetik der Desorption . . . . .	120
4.3	Diskussion der Sorption von TNT und Metaboliten . . . . .	123
4.3.1	Kinetik der Adsorption und Desorption . . . . .	123
4.3.1.1	Kinetik der Adsorption . . . . .	123
4.3.1.2	Kinetik der Desorption . . . . .	124
4.3.2	Extraktion von TNT aus kontaminierten Böden . . . . .	124
4.3.2.1	Extraktion von TNT aus kontaminierten Böden bei erhöhter Temperatur . . . . .	125
4.3.2.2	Extraktion von TNT aus kontaminierten Böden mit Wasser-Alkohol-Gemischen . . . . .	125
4.3.2.3	Mindestbedarf an Extraktionslösung . . . . .	126
4.3.2.4	Technische Lösungen bei der Bodenwäsche . . . . .	126
4.3.3	Adsorption von TNT und Metaboliten an Bodenbestandteile . . . . .	126
4.3.3.1	Adsorption von TNT an Bodenbestandteile . . . . .	127
4.3.3.2	Adsorption von ADNT an Bodenbestandteile . . . . .	127
4.3.3.3	Adsorption von DANT an Bodenbestandteile . . . . .	127
4.3.3.4	Adsorption von TAT an Bodenbestandteile . . . . .	128
4.3.3.5	Erwartungen für die direkte biologische Behandlung TNT-kontaminierter Böden . . . . .	128

<b>5</b>	<b>Anaerobe biologische Behandlung TNT-kontaminierter Böden</b>	<b>129</b>
5.1	Literatur zur mikrobiellen Behandlung TNT-kontaminierter Böden . . .	129
5.1.1	Kompostierung TNT-kontaminierter Böden . . . . .	129
5.1.2	Behandlung TNT-kontaminierter Böden in Suspensionen . . . .	130
5.1.3	Untersuchung TNT-kontaminierter Böden in Perkolationsssäulen	131
5.2	Versuche zur anaeroben Behandlung TNT-kontaminierter Böden . . . .	132
5.2.1	Behandlung von künstlich kontaminiertem Ca-Bentonit . . . . .	134
5.2.2	Behandlung von künstlich kontaminierten Huminsäuren . . . . .	138
5.2.3	Behandlung von Boden A . . . . .	139
5.2.4	Behandlung von Boden C . . . . .	140
5.2.5	Behandlung von Boden B . . . . .	142
5.2.5.1	Aerobe Nachbehandlung von Boden B . . . . .	143
5.2.6	Behandlung von Boden B nach künstlicher Kontamination mit radioaktiv markiertem <sup>14</sup> C-TNT . . . . .	144
5.3	Erprobung im technischen Maßstab . . . . .	145
5.3.1	Sanierungsziel . . . . .	145
5.3.2	Technische Durchführung . . . . .	145
5.3.2.1	Anaerobe Phase . . . . .	145
5.3.2.2	Aerobe Phase . . . . .	146
5.3.3	Chemische Kontrolle . . . . .	146
5.3.4	Ökotoxikologische Kontrolle . . . . .	148
5.3.4.1	Aquatische Ökotox-Tests am Fraunhofer-IUCT . . . . .	148
5.3.4.2	Terrestrische Ökotox-Tests am Fraunhofer-IUCT . . . . .	148
5.3.4.3	Pflanz- und Elutionsversuche unter natürlichen Witterungsbedingungen . . . . .	149
5.4	Diskussion der anaeroben Behandlung TNT-kontaminierter Böden . . . .	150
5.4.1	Direkte mikrobielle Bodenbehandlung statt Behandlung von Extrakten . . . . .	150
5.4.2	Anaerobe und aerobe Behandlung . . . . .	150
5.4.3	Immobilisierung statt Mineralisierung . . . . .	151
5.4.4	Formen der Immobilisierung . . . . .	151
5.4.5	Substratbedarf . . . . .	153
5.4.6	Probleme der Übertragung in den technischen Maßstab . . . . .	153

5.4.7	Bewertung des Verfahrens . . . . .	154
5.4.7.1	Restbelastung . . . . .	155
5.4.7.2	Immobilisierte Schadstoffe . . . . .	155
5.4.7.3	Ökotoxikologische Tests . . . . .	156
5.4.8	Ausblick . . . . .	157
<b>Literaturverzeichnis</b>		<b>158</b>