

Charakterisierung der Biosorption von Schwermetallen an Algen

vorgelegt von
Diplom-Lebensmittelchemiker
Sven Klimmek

Von der Fakultät III - Prozesswissenschaften
der Technischen Universität Berlin
zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Naturwissenschaften
-Dr. rer. nat.-

genehmigte Dissertation

Promotionsausschuss:

Vorsitzender: Prof. Dr. rer. nat. Wolfgang Rotard
Berichter: Prof. Dr. rer. nat. Hans-Jürgen Stan
Berichter: Prof. Dr. rer. nat. Rainer Buchholz

Tag der wissenschaftlichen Aussprache: 17.06.2003

Berlin 2003

D 83

Abstract

In der vorliegenden Arbeit wurden Grundlagenkenntnisse über den natürlichen Prozess der Biosorption von Schwermetallen an Algen erarbeitet. Die Untersuchungen fanden im Rahmen des Sonderforschungsbereich (Sfb) 193 "Biologische Behandlung industrieller und gewerblicher Abwässer" der Technischen Universität Berlin statt.

Ausgangspunkt der Arbeit stellten Untersuchungen an der Chlorophyceae *C. vulgaris* dar. In einem anschließenden Screening, das sich aus der Charakterisierung der Biosorption an *C. vulgaris* ableitete, wurden 30 weitere Algen aus unterschiedlichen taxonomischen Klassen auf ihre Sorptionsfähigkeiten gegenüber den Schwermetallen Blei, Cadmium, Nickel und Zink untersucht. Die einzelnen Algen zeigten eine große Bandbreite in den Biosorptionsleistungen. Zu den leistungsfähigsten Arten zählten die Chlorophyceae *C. salina*, die Cyanophyceae *S. hoffmani* und *L. taylorii*. Die Biosorptionseigenschaften von *C. salina* und *L. taylorii* wurden im weiteren näher untersucht. *L. taylorii* zeigte im Verlauf der Arbeit besondere Eigenschaften und konnte erfolgreich in ein technisches Verfahren im Kooperationsprojekt überführt werden. Die Untersuchungen an dieser Alge wurden aus diesem Grund um Kupfer erweitert. Die maximalen Kapazitäten an *L. taylorii* wurden mit 0,4 mmol Cd; 0,7 mmol Cu; 0,7 mmol Ni; 1,47 mmol Pb und 0,5 mmol Zn pro g Alge ($Pb > Cu \geq Ni > Zn > Cd$) bestimmt. Das Gleichgewicht zwischen den in Lösung befindlichen Metallen und an der Alge gebundenen war bei *C. salina* und *L. taylorii* praktisch nach 30 min eingestellt. Die beiden Algen zeigten eine ähnliche pH-Abhängigkeit gegenüber den Metallen. So waren ab einem pH-Wert von 3 (pH 4 bei Ni an *L. taylorii*) bis pH 6 bzw. pH 5 bei Cu an *L. taylorii* die Beladungen für die Schwermetalle annähernd konstant. Sinkt der pH unter 3 so nimmt die Beladung deutlich ab. Die Metalle können bei saurem pH-Wert (0,1 N HCl) von den Algen desorbiert werden. Selektivitätsuntersuchungen der Metalle an beiden Algen zeigten eine deutliche Präferenz der Bindung von Blei gegenüber den anderen Metallen aus äquimolaren Lösungen.

In Hinblick auf eine Beeinflussung der Biosorptionseigenschaften der Algen, ist die Kenntnis der chemischen Vorgänge während der Biosorption der Metalle sehr wichtig. Verschiedene chemische und spektroskopische Verfahren wurden zur Charakterisierung eingesetzt. So führte eine gezielte Veresterung der freien Carboxylgruppen der Algenpolysaccharide zu einer deutlichen Erniedrigung der Beladung für die Metalle. FT-IR spektroskopische Untersuchungen und Versuche zur pH-Abhängigkeit unterstrichen die Bedeutung dieser schwach sauren funktionellen Gruppe in der Algenzellwand für die Biosorption. Rasterelektronenmikroskopie (REM) in Kombination mit einer Röntgenmikroanalyse bestätigte, dass die Schwermetalle an der Oberfläche der Algen gebunden sind. Aus den Röntgenspektren der unbeladenen Alge *L. taylorii* wurden überraschend hohe Gehalte an Calcium auf der Oberfläche entdeckt. Erneute Untersuchungen der Biosorption der Schwermetalle an *L. taylorii* in Hinblick auf Calcium in der Lösung ergaben, dass die Schwermetalle im direkten Austausch mit Calcium an der Alge gebunden werden. Somit stellt ein Ionenaustauschprozess den Hauptmechanismus bei der Biosorption an *L. taylorii* dar.

Mit dem Ziel einer Erhöhung der Kapazitäten bzw. einer Beeinflussung der Selektivitäten wurden Experimente zum Einbau zusätzlicher funktioneller Gruppen in die Zellwandpolysaccharide der Algen durchgeführt. Eine Phosphorylierung der freien OH-Gruppen der Algenzellwand von *L. taylorii* mit Phosphorsäure in einer Harnstoffschmelze stellte die erfolgreichste Modifizierungsmethode in dieser Arbeit dar. Der Phosphorgehalt stieg von 0,5 mmol/g auf 4,4 mmol/g bei der phosphorylierten Alge an. Der Anstieg der Phosphorgehalte bewirkte eine enorme Erhöhung der Bindungskapazitäten. Aus den Adsorptionsisothermen an *L. taylorii* ergaben sich maximalen Beladungen von 2,5 mmol Cd; 2,4 mmol Cu; 2,8 mmol Ni; 3,1 mmol Pb und 2,6 mmol Zn pro g Biotrockenmasse ($Pb > Ni > Zn > Cd > Cu$). Die erreichten Beladungen stellen die höchsten in dieser Arbeit beobachteten Beladungen dar.

Danksagung

Die experimentellen Arbeiten für die vorliegende Dissertation wurden in der Zeit von Januar 1997 bis Dezember 2000 am Institut für Lebensmittelchemie der Technischen Universität Berlin durchgeführt. Sie wurden mir durch die finanzielle Förderung der Deutschen Forschungsgemeinschaft im Rahmen des Sonderforschungsbereiches 193 "Biologische Behandlung industrieller und gewerblicher Abwässer" Teilprojekt F2 ermöglicht.

Meinem Doktorvater, Prof. Dr. Hans-Jürgen Stan danke ich herzlich für die Betreuung der Arbeit, seine stets vorhandene Diskussionsbereitschaft und die großzügige Unterstützung in allen wissenschaftlichen und organisatorischen Fragen.

Mein besonderer Dank gilt ferner den Kooperationspartnern im Sonderforschungsbereich für die konstruktive Zusammenarbeit in all den Jahren. Prof. Dr. Buchholz möchte ich darüber hinaus für die Unterstützung und Begutachtung der vorliegenden Arbeit danken. Dr. Gerald Bunke und Dr. Andreas Wilke waren mir durch ihre stete Hilfsbereitschaft und vor allem durch die zahlreichen fachlichen Diskussionen unersetzliche Begleiter während dieser Arbeit.

Meiner Mitarbeiterin Constanze Richter sei an dieser Stelle für die hervorragende Hilfe bei der Bewältigung der zahlreichen Analysen während des Projektes gedankt. Ohne sie wäre die Bearbeitung des Projektes in diesem Zeitraum nicht möglich gewesen.

Am Gelingen dieser Arbeit waren Janko Bartsch, Kristina Thron und Gunnar Lang durch ihre Beiträge im Rahmen von Studien- bzw. Praktikumsarbeiten maßgeblich beteiligt, wofür ich ihnen sehr danke. Für die Durchführung der Elementaranalysen sei Dr. Schulz vom Institut für Organische Chemie der Humboldt Universität zu Berlin gedankt. Herrn Jörg Nissen vom Zelmi der TU Berlin möchte ich für die Aufnahmen am Rasterelektronenmikroskop danken.

Allen Kolleginnen und Kollegen aus dem Arbeitskreis sei an dieser Stelle für die konstruktive und freundliche Arbeitsatmosphäre gedankt. Ursula Wippo, die mich während meiner Diplomarbeit sehr unterstützte und mir die ersten Schritte im Arbeitskreis erleichterte, sei für ihre stete Hilfsbereitschaft und fachliche Diskussionsfreude herzlich gedankt. Meinen Kollegen Dr. Corinna Asmussen und Dr. Patrick Billian sei für ihre vielseitige Hilfe, vor allem bei der Bewältigung der organisatorischen Herausforderungen im Rahmen des Sonderforschungsbereiches sehr gedankt. Darüber hinaus möchte ich mich bei Robert Hatton für seine Hilfe in allen englischen Fragestellungen bedanken. Für ihre Kompetenz und Hilfe in allen praktischen Laborangelegenheiten und im besonderen für alle aufmunternden Gespräche über den Laboralltag hinaus danke ich Dagmar Simmert.

Ein besonderes Dankeschön geht an meine Eltern, die mich während meines Studiums der Lebensmittelchemie immer tatkräftig unterstützt haben.

Meiner Frau Antje sei für ihre Unterstützung und Liebe in all den gemeinsamen Jahren unendlich gedankt.

Teile der vorliegenden Arbeit wurden bereits veröffentlicht:

Publikationen

- Wilke, A.; Klimmek, S.; Stan, H.-J.; Bunke, G.; Buchholz, R. (2002): Development of an Immobilisation Method based on Sodium Cellulose Sulphate for Biosorption of Lead with Cyanophyceae *L. taylorii*. Environ. Sci. Technol. Submitted
- Klimmek, S.; Wilke, A.; Bunke, G.; Buchholz, R.; Stan, H.-J. (2001): Characterization of the Biosorption of Cadmium, Lead, Nickel and Zinc by Algae. Environ. Sci. Technol. 35 (21): 4283-4288
- Klimmek, S.; Stan, H.-J. (2000): Chemical Characterization of the Biosorption of Heavy Metals by Algae. Schriftenreihe Biologische Abwasserreinigung, Band 14: Behandlung von Abwässern mit schwermetallhaltigen Verbindungen, TU-Berlin, 209-227
- Klimmek, S.; Stan, H.-J. (1999a): Chemische Charakterisierung der Biosorption von Schwermetallen an Algen. Abwassertechnik in der Produktion, 5 / 6.9, 1-6
- Klimmek, S.; Stan, H.-J. (1999b): Untersuchungen zur Schwermetalladsorption an Mikroalgen. Lebensmittelchemie 53: 103

Vorträge

- Klimmek, S.; Stan, H.-J. (2001): Biosorption of heavy metals by algae. 4th International Symposium on Green Chemistry, 21.-24. Mai, Jinan, China
- Klimmek, S.; Stan, H.-J. (2000a): Chemical Characterization of the Biosorption of Heavy Metals by Algae. 10. Kolloquium des Sonderforschungsbereichs 193 der TU Berlin: Behandlung von Abwässern mit schwermetallhaltigen Verbindungen, 20.-21. November, Berlin
- Klimmek, S.; Stan, H.-J. (2000b): Chemical Characterization of the Biosorption of Heavy Metals. 2000 Conference on Hazardous Waste Research, 23.-25. Mai, Denver, Colorado
- Klimmek, S.; Stan, H.-J. (1999a): Chemische Charakterisierung der Biosorption von Schwermetallen an Algenbiomasse. 7. Ungarisch-Deutsches Seminar für Verfahrenstechnik der TU Berlin, 3. September, Berlin
- Klimmek, S.; Stan, H.-J. (1999b): Untersuchungen zur Schwermetalladsorption an Mikroalgen. Regionalverbandstagung der Regionalverbände Nord und Nordost der GDCh, 19. – 20. April, Frankfurt/Oder
- Klimmek, S.; Stan, H.-J. (1998a): Chemische Charakterisierung der Biosorption von Blei, Cadmium, Nickel und Zink an Algen. 8. Jahreskolloquium der IGAS, 11. November, Berlin
- Klimmek, S.; Stan, H.-J. (1998b): Chemische Charakterisierung der Biosorption von Schwermetallen an Algen. Interne Arbeitssitzung des GVC/Dechema-Fachausschusses "Produktionsintegrierte Wasser-/Abwassertechnik" , 31. August, Bremen

Posterpräsentationen

- Klimmek, S.; Stan, H.-J. (1999a): Untersuchung der Adsorption von Blei, Cadmium, Nickel und Zink an Algen. 4. GVC-Abwasser-Kongreß, 06.– 09. September, Bremen

- Klimmek, S.; Stan, H.-J. (1999b): Schwermetalladsorption an Algen. 17. Jahrestagung der Biotechnologen, 27.-29. April, Wiesbaden
- Klimmek, S.; Stan, H.-J. (1999c): Untersuchung der Adsorption von Blei, Cadmium, Nickel und Zink an Algen. Colloquium Analytische Atomspektroskopie, 14.-19. März, Konstanz
- Klimmek, S.; Stan, H.-J. (1998a): Chemische Charakterisierung der Biosorption von Schwermetallen an Algen. Colloquium: Produktionsintegrierte Wasser-/ Abwassertechnik, „Abwässer der Metallverarbeitenden Industrie und des Transportgewerbes“, 01.-02. September, Bremen, Universität Bremen
- Klimmek, S.; Stan, H.-J. (1998b): Charakterisierung der Biosorption von Schwermetallen an Algen. Firmengemeinschaftsstand Berlin zur Entsorgung '98, 12.- 16. Mai , Köln
- Klimmek, S.; Stan, H.-J. (1997): Charakterisierung der Biosorption von Schwermetallen an Mikroalgen. Forschungsforum '97, Gemeinschaftsstand des Sonderforschungsbereiches 193 der TU Berlin, 16. - 20. September, Leipzig

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	VI
Abbildungsverzeichnis	VIII
Tabellenverzeichnis	XI
1 Einleitung.....	1
2 Grundlagen	2
2.1 Schwermetalle	2
2.1.1 Blei	3
2.1.2 Cadmium	4
2.1.3 Kupfer	4
2.1.4 Nickel	5
2.1.5 Zink.....	6
2.2 Algen	6
2.2.1 Taxonomie.....	7
2.2.2 Kultivierung von Algen.....	9
2.2.3 Zusammensetzung der Algenzellwand.....	11
2.2.4 Technologische Bedeutung von Algen.....	13
2.3 Verfahren zur Schwermetallentfernung	14
2.3.1 Konventionelle Verfahren	14
2.3.1.1 Grundlagen der Adsorption	15
2.3.1.2 Grundlagen von Ionenaustauschern	17
2.3.2 Biosorption	18
2.3.2.1 Mechanismus der Biosorption	21
2.3.2.2 Möglichkeiten für den industriellen Einsatz	22
3 Problemstellung und Lösungsansätze.....	23

4	Material und Methoden	25
4.1	Materialien.....	25
4.1.1	Algenbiomasse	25
4.1.2	Vergleichssorbenzien	26
4.2	Grundlagen der angewandten analytischen Verfahren.....	27
4.2.1	Atomabsorptionsspektroskopie	27
4.2.1.1	<i>Interferenzen in der GF-AAS</i>	29
4.2.2	Gaschromatographie (GC).....	30
4.2.2.1	<i>Statische Headspace-Gaschromatographie</i>	31
4.2.2.2	<i>Flammenionisationsdetektion</i>	32
4.2.3	Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC).....	32
4.2.3.1	<i>Hochleistungsanionenaustauschchromatographie (HPAEC) mit elektrochemischer Detektion</i>	33
4.2.3.1.1	<i>Gepulster amperimetrischer Detektor (PAD)</i>	33
4.2.4	FT-IR Spektroskopie	34
4.2.5	Rasterelektronenmikroskopie (REM)- Röntgenmikroanalyse	35
4.3	Metallanalytik – Methodenentwicklung.....	37
4.3.1	GF-AAS.....	37
4.3.2	Mikrowellenaufschluss.....	38
4.3.3	Flammenphotometrie.....	39
4.4	Biosorptionsuntersuchungen – Methodenentwicklung	39
4.4.1	Probenvorbereitung	39
4.4.2	Biosorptionsversuche	39
4.4.2.1	<i>Kinetik der Biosorption</i>	40
4.4.2.2	<i>Aufnahmen von Isothermen</i>	40
4.4.2.3	<i>pH- und Salz-Abhängigkeit der Biosorption</i>	41

4.4.2.4	<i>Selektivität der Biosorption</i>	41
4.4.2.5	<i>Anwendung der Biosorption auf ein reales Bleiabwasser</i>	41
4.5	Charakterisierung der Bindungsstellen – Methodenentwicklung	41
4.5.1	Elementaranalyse.....	42
4.5.2	Bedeutung von Carboxylgruppen für die Biosorption	42
4.5.2.1	<i>Blockierung der Carboxylgruppen</i>	42
4.5.2.2	<i>Bestimmung des Carboxylgruppengehalts</i>	42
4.5.2.2.1	Analyse des Methanols mittels HS-GC-FID	42
4.5.3	Untersuchung der Polysaccharide der Algenzellwände	43
4.5.4	Extraktion von Zellwandbestandteilen	45
4.5.4.1	<i>Lipophile Extraktion</i>	45
4.5.4.2	<i>Hydrophile Extraktion</i>	46
4.5.4.3	<i>Alkalische Extraktion</i>	46
4.5.5	FT-IR Spektroskopie	46
4.5.6	Spezifische Oberfläche	46
4.5.7	Rasterelektronenmikroskopie (REM).....	46
4.6	Modifizierung der Biomasse - Methodenentwicklung	47
4.6.1	Phosphorylierung mit Phosphorsäure.....	47
4.6.2	Phosphorylierung mit Phosphorylchlorid.....	47
4.6.3	Phosphorylierung mit Phosphorpentasulfid	47
4.6.4	Carboxymethylierung mit Chloressigsäure	48
4.6.5	Einbau von Carboxylgruppen durch eine zweistufige Oxidation.....	48
5	Ergebnisse	49
5.1	Biosorptionsuntersuchungen	49
5.1.1	Biosorption von <i>C. vulgaris</i>	49
5.1.1.1	<i>Adsorptionsisothermen</i>	49

5.1.1.2	Kinetik.....	51
5.1.1.3	pH-Abhängigkeit.....	51
5.1.2	Screening.....	52
5.1.3	Biosorption von <i>C. salina</i>	55
5.1.3.1	Adsorptionsisothermen.....	55
5.1.3.2	Kinetik.....	57
5.1.3.3	pH-Abhängigkeit.....	58
5.1.3.4	Selektivität der Bindung von Blei, Cadmium, Nickel und Zink.....	59
5.1.4	Biosorption von <i>L. taylorii</i>	61
5.1.4.1	Adsorptionsisothermen – <i>L. taylorii</i>	61
5.1.4.2	Kinetik.....	63
5.1.4.3	pH-Abhängigkeit der Biosorption.....	64
5.1.4.4	Selektivität der Bindung von Blei, Cadmium, Kupfer, Nickel und Zink.....	65
5.1.4.5	Einfluss von Fremdsalzen auf die Biosorption an <i>L. taylorii</i>	68
5.1.4.6	Reinigung eines bleihaltigen Abwasser mit <i>L. taylorii</i>	70
5.1.5	Vergleichssorbenzien.....	71
5.1.5.1	Screening.....	71
5.1.5.2	Dowex 22.....	73
5.1.5.3	Carbion.....	74
5.2	Charakterisierung der Bindungsstellen.....	76
5.2.1	Elementaranalyse der Biosorbenzien.....	76
5.2.2	Bedeutung von Carboxylgruppen für die Biosorption.....	79
5.2.3	Bestimmung der Monosaccharidzusammensetzung der Zellwände.....	81
5.2.4	Extraktion verschiedener Zellwandbestandteile.....	82
5.2.5	Charakterisierung der Oberfläche.....	85
5.2.5.1	Rasterelektronenmikroskopie (REM).....	85
5.2.5.2	Bedeutung von Calcium bei der Biosorption an <i>L. taylorii</i>	88

5.2.5.3	<i>FT-IR Spektroskopie</i>	88
5.2.5.4	<i>Spezifische Oberfläche</i>	89
5.3	Modifizierung der Biomasse	90
5.3.1	Screening von Methoden zur Einführung von funktionellen Gruppen in die Zellwandstrukturen von Algen	90
5.3.2	Synthese von phosphorylierter <i>L. taylorii</i>	92
5.3.3	Charakterisierung der modifizierten <i>L. taylorii</i>	96
5.3.4	Biosorptionseigenschaften von <i>L. taylorii</i> phos.	97
5.3.4.1	<i>Adsorptionsisothermen – L. taylorii phos.</i>	97
5.3.4.2	<i>Kinetik</i>	99
5.3.4.3	<i>pH-Abhängigkeit</i>	100
5.3.4.4	<i>Selektivität der Metallbindung</i>	101
5.3.4.5	<i>Einfluss von Fremdsalzen auf die Biosorption</i>	104
6	Zusammenfassung und Diskussion.....	106
6.1	Biosorptionsuntersuchungen	106
6.2	Charakterisierung der Bindungsstellen	112
6.3	Modifizierung der Biomasse	117
7	Ausblick.....	122
8	Literatur	123
Anhang	133
A	Metallanalytik.....	133
B	Biosorptionsuntersuchungen	137
C	Charakterisierung der Bindungsstellen.....	138
D	Modifizierung der Biomasse	142

Abkürzungsverzeichnis

ϵ_0	Normalpotential
A	Freundlichexponent
AAS	<u>A</u> tom <u>a</u> bsorptionss <u>s</u> pektrometrie oder -spektrometer
Abb.	Abbildung
Abs	Absorbance
B	Langmuirkonstante
BTM	<u>B</u> iot <u>t</u> rocken <u>m</u> asse
Ca	Calzium
Cd	Cadmium
c_{eq}	Gleichgewichtskonzentration
Cu	Kupfer
d	Dichte
EN	<u>E</u> lektronegativität
F	Fläche
FD	Filmdicke
FID	<u>F</u> lammen <u>i</u> onisations <u>d</u> etektor
FT-IR-	<u>F</u> ourier- <u>T</u> ransform- <u>I</u> nfrarot-
g	Gramm
GC	<u>G</u> as <u>c</u> hromatographie
GF – AAS	Graphitrohrfen (graphite furnace) – <u>A</u> tom <u>a</u> bsorptionss <u>s</u> pektrometrie oder -spektrometer
HKL	<u>H</u> ohl <u>k</u> athoden <u>l</u> ampe
HPAEC	Hochleistungsanionenaustauschchromatographie (<u>h</u> igh <u>p</u> erformance <u>a</u> nion <u>e</u> xchange <u>c</u> hromatography)
HPLC	Hochleistungsflüssigchromatographie (<u>h</u> igh <u>p</u> erformance <u>l</u> iquid <u>c</u> hromatography)
HS-GC	<u>H</u> eadspace- <u>G</u> as <u>c</u> hromatographie
ID	Innendurchmesser
ISTD	<u>i</u> nterner <u>S</u> tandard
k	Freundlichkonstante
Kap.	Kapitel
M	molare Masse
MAK	<u>M</u> aximale <u>A</u> rbeitsplatz <u>k</u> onzentration
max.	Maximale
Na	Natrium

Ni	Nickel
P	Phosphor
PAD	gepulster amperimetrischer Detektor (pulsed amperimetric detector)
Pb	Blei
ppb	parts per billion ($\mu\text{g} / \text{L}$)
ppm	parts per million (mg / L)
q_{eq}	Gleichgewichtsbeladung
q_{max}	maximale Beladung nach Langmuir
r^2	Bestimmtheitsmaß
RE	Rückstreu <u>e</u> lektronen
REM	Rasterelektronen <u>m</u> ikroskopie
R_f	<u>R</u> esponse <u>f</u> aktor
r_{ion}	Ionenradius
RSD	relative Standardabweichung (relative <u>s</u> tandard <u>d</u> eviation)
RT	<u>R</u> aum <u>t</u> emperatur
SE	<u>S</u> ekund <u>ä</u> re <u>e</u> lektronen
Tab.	Tabelle
TiC	Gesamt anorganischer Kohlenstoffgehalt (<u>T</u> otal <u>i</u> norganic <u>c</u> arbon)
TOC	Gesamt organischer Kohlenstoffgehalt (<u>T</u> otal <u>o</u> rganic <u>c</u> arbon)
V	<u>V</u> olumen
V_{inj}	Injektionsvolumen
Zn	Zink

Abbildungsverzeichnis

Abb. 2–1:	Struktur ausgewählter saurer Polysaccharide (Kloareg und Quatrano, 1988)	13
Abb. 4–1:	Messzelle des PAD (Firma Dionex).....	34
Abb. 4–2:	HPAEC-PAD-Chromatogramme von Standardmischungen.....	44
Abb. 4–3:	HPAEC-PAD-Chromatogramm der hydrolysierbaren Kohlenhydrate von <i>C. salina</i>	45
Abb. 5–1:	Adsorptionsisothermen nach Langmuir von Cd, Ni, Pb und Zn an <i>C. vulgaris</i>	49
Abb. 5–2:	Linearisierte Adsorptionsisothermen von Cd, Ni, Pb und Zn an <i>C. vulgaris</i> nach dem Adsorptionsmodell von Langmuir	50
Abb. 5–3:	Kinetik der Metallbindung von Cd, Ni, Pb und Zn an <i>C. vulgaris</i>	51
Abb. 5–4:	pH-Abhängigkeit der Biosorption von Cd, Ni, Pb und Zn an <i>C. vulgaris</i>	52
Abb. 5–5:	Adsorptionsisothermen nach Langmuir von Cd, Ni, Pb und Zn an <i>C. salina</i>	56
Abb. 5–6:	Linearisierte Adsorptionsisothermen von Cd, Ni, Pb und Zn an <i>C. salina</i> nach dem Adsorptionsmodell von Langmuir	56
Abb. 5–7:	Kinetik der Metallbindung von Cd, Ni, Pb und Zn an <i>C. salina</i>	57
Abb. 5–8:	pH-Abhängigkeit der Biosorption von Cd, Ni, Pb und Zn an <i>C. salina</i>	58
Abb. 5–9:	Konkurrenz der Bindung von Cd, Ni, Pb und Zn an <i>C. salina</i>	60
Abb. 5–10:	Adsorptionsisothermen nach Langmuir von Cd, Cu, Ni, Pb und Zn an <i>L. taylorii</i>	61
Abb. 5–11:	Linearisierte Adsorptionsisothermen von Cd, Cu, Ni, Pb und Zn an <i>L. taylorii</i> nach dem Adsorptionsmodell von Langmuir	62
Abb. 5–12:	Kinetik der Metallbindung von Cd, Cu, Ni, Pb und Zn an <i>L. taylorii</i>	63
Abb. 5–13:	pH-Abhängigkeit der Biosorption von Cd, Cu, Ni, Pb und Zn an <i>L. taylorii</i>	64
Abb. 5–14:	Konkurrenz der Bindung von Cd, Cu, Ni, Pb und Zn an <i>L. taylorii</i>	66
Abb. 5–15:	Einfluss von Natriumionen auf die Biosorption an <i>L. taylorii</i>	68
Abb. 5–16:	Einfluss von Calciumionen auf die Biosorption an <i>L. taylorii</i>	69
Abb. 5–17:	Kapazitäten der Sorbenzien im Verhältnis zu <i>C. salina</i> und <i>L. taylorii</i>	72

Abb. 5–18: Adsorptionsisothermen nach Langmuir von Cd, Ni, Pb und Zn an Dowex 22...	73
Abb. 5–19: Adsorptionsisothermen nach Langmuir von Cd, Ni, Pb und Zn an Carbion	74
Abb. 5–20: Einfluss einer Methylierung der Carboxylgruppen auf die Biosorption	79
Abb. 5–21: Einfluss verschiedener Extraktionen auf die Biosorption an <i>C. salina</i>	83
Abb. 5–22: Einfluss verschiedener Extraktionen auf die Biosorption an <i>L. taylorii</i>	84
Abb. 5–23: REM - Röntgenanalyse an <i>C. salina</i>	86
Abb. 5–24: REM - Röntgenanalyse an <i>L. taylorii</i>	87
Abb. 5–25: Verteilungsbilder von Pb, Cd, Ni und Zn auf der Oberfläche von <i>L. taylorii</i>	87
Abb. 5–26: FT-IR Spektren von <i>C. salina</i> und <i>L. taylorii</i>	89
Abb. 5–27: Einfluss der Reaktionszeit bei 170 °C auf die Ausbeute, Pb-Beladung und P-Gehalt von <i>L. taylorii</i> phos.	93
Abb. 5–28: Einfluss der Harnstoffkonzentration auf die Ausbeute, Pb-Beladung und P-Gehalt von <i>L. taylorii</i> phos. (T = 170 °C)	93
Abb. 5–29: Einfluss der Phosphorsäurekonzentration auf die Ausbeute, Pb-Beladung und P-Gehalt von <i>L. taylorii</i> phos. (T = 170 °C).....	94
Abb. 5–30: Einfluss der eingesetzten Mengen an Harnstoff und Phosphorsäure auf die Ausbeute, Pb-Beladung und P-Gehalt von <i>L. taylorii</i> phos. (T = 170 °C).....	95
Abb. 5–31: Einfluss der Reaktionstemperatur auf die Ausbeute, Pb-Beladung und P-Gehalt von <i>L. taylorii</i> phos.....	95
Abb. 5–32: FT-IR-Spektren von <i>L. taylorii</i> und <i>L. taylorii</i> phos.	96
Abb. 5–33: REM - Röntgenanalyse an <i>L. taylorii</i> phos.	97
Abb. 5–34: Adsorptionsisothermen nach Langmuir von Cd, Cu, Ni, Pb und Zn an <i>L. taylorii</i> phos.....	97
Abb. 5–35: Linearisierte Adsorptionsisothermen von Cd, Cu, Ni, Pb und Zn an <i>L. taylorii</i> phos. nach dem Adsorptionsmodell von Langmuir	98
Abb. 5–36: Kinetik der Metallbindung von Cd, Cu, Ni, Pb und Zn an <i>L. taylorii</i> phos.	99
Abb. 5–37: pH-Abhängigkeit der Biosorption von Cd, Cu, Ni, Pb und Zn an <i>L. taylorii</i> phos.....	100
Abb. 5–38: Konkurrenz der Bindung von Cd, Cu, Ni, Pb und Zn an <i>L. taylorii</i> phos.....	102

Abb. 5–39: Einfluss von Natriumionen auf die Biosorption an <i>L. taylorii</i> phos.....	104
Abb. 5–40: Einfluss von Calciumionen auf die Biosorption an <i>L. taylorii</i> phos.	105
Abb. 6–1: Screening der Biosorption von Pb, Cd, Ni und Zn an 31 Algen	107
Abb. 6–2: Reaktionsgleichung nach Daul et al. (1954) für die Phosphorylierung der OH-Gruppen	118

Tabellenverzeichnis

Tab. 2–1:	Physiko-chemische Eigenschaften ausgewählter Schwermetalle	2
Tab. 2–2:	Grenzwerte ausgewählter Schwermetalle.....	4
Tab. 2–3:	Übersicht der Taxonomie der Algen (Hoek et al., 1995)	8
Tab. 2–4:	Aufbau und Vorkommen wichtiger saurer Polysaccharide.....	12
Tab. 2–5:	Bindungskapazität ausgewählter Biosorbentien	20
Tab. 4–1:	Untersuchte Algen.....	25
Tab. 4–2:	Vergleichssorbentien	27
Tab. 4–3:	Arbeitsbereiche der untersuchten Metalle mittels GF-AAS.....	38
Tab. 5–1:	Langmuirparameter für Adsorptionsisothermen an <i>C. vulgaris</i>	50
Tab. 5–2:	Biosorptionseigenschaften im Screening von 31 Algenarten.....	53
Tab. 5–3:	Langmuirparameter für Adsorptionsisothermen an <i>C. salina</i>	57
Tab. 5–4:	Selektivität der Metallbindung an <i>C. salina</i>	59
Tab. 5–5:	Langmuirparameter für Adsorptionsisothermen an <i>L. taylorii</i>	62
Tab. 5–6:	Selektivität der Metallbindung an <i>L. taylorii</i>	67
Tab. 5–7:	Chemische Zusammensetzung eines Abwassers aus der Akkumulatorenindustrie	70
Tab. 5–8:	Kapazitäten für Cd, Pb, Ni und Zn an Vergleichssorbentien.....	72
Tab. 5–9:	Langmuirparameter für die Adsorptionsisothermen an Dowex 22	73
Tab. 5–10:	Langmuirparameter für Adsorptionsisothermen an Caribion.....	75
Tab. 5–11:	Elementaranalyse (C, H, N, S und P) der Algen	76
Tab. 5–12:	Elementaranalyse (C, H, N, S und P) der Vergleichssorbentien	78
Tab. 5–13:	Gehalt an Carboxylgruppen in den unbehandelten und behandelten Algen	80
Tab. 5–14:	Monosaccharidzusammensetzung der Zellwände ausgewählter Algen	81
Tab. 5–15:	Bedeutung von Calcium bei der Biosorption an <i>L. taylorii</i>	88
Tab. 5–16:	Ergebnisse der Modifizierungen an der Algenbiomasse	91
Tab. 5–17:	Langmuirparameter für Adsorptionsisothermen an <i>L. taylorii</i> phos.....	99

Tab. 5–18:	Selektivität der Metallbindung an <i>L. taylorii</i> phos.	103
Tab. A–1:	Geräteparameter der GF-AAS.....	133
Tab. A–2:	Parameter des optischen Systems des GF-AAS	133
Tab. A–3:	Temperaturprogramme für die Metalle	134
Tab. A–4:	Parameter des Mikrowellenaufschlusssystem	135
Tab. A–5:	Aufschlussprogramm der Algenbiomasse.....	135
Tab. A–6:	Geräteparameter des Flammenphotometers	135
Tab. A–7:	Chemikalien und Materialien – Anhang A.....	136
Tab. B–1:	Chemikalien, Materialien und Geräte – Anhang B	137
Tab. B–2:	Parameter der Küvettentests von der Dr. Lange GmbH.....	138
Tab. C–1:	Chemikalien, Materialien und sonstige Geräte – Anhang C	138
Tab. C–2:	Geräteparameter der HS-GC-FID.....	140
Tab. C–3:	Geräteparameter der HPAEC-PAD.....	140
Tab. C–4:	Geräteparameter der FT-IR-Spektroskopie	141
Tab. C–5:	Geräteparameter der REM-Röntgenmikroanalyse	142
Tab. D–1:	Chemikalien, Materialien und Geräte– Anhang D	142

1 Einleitung

Die Kenntnis ökotoxikologischer Wirkungen sowie verschärfte gesetzliche Auflagen zur Reduzierung industrieller Emissionen erfordern neue Verfahren zur Abwasserbehandlung. Die Belastung unserer Oberflächengewässer mit Schwermetallen gehört heute zu den großen Umweltproblemen in Deutschland und anderen Industriestaaten. Als Folge früherer teilweise unkritischer Bewertung von Industrieabwässern befinden sich in allen Flüssen größere Depositionen an Schwermetallen gebunden im Flusssediment. Neben diffusen Quellen, die für den Eintrag von Metallen in gelöster Form und als Stäube in die Umwelt verantwortlich sind, werden große Anteile der Schwermetalleinträge durch industrielle Abwässer verursacht, die ungenügend gereinigt in die Vorfluter gelangen. Praktisch stellen jeder metallverarbeitende Betrieb aber auch viele andere Industriebetriebe punktuelle Emissionsquellen dar. Es besteht kein Zweifel, dass diese Schadstoffsenke nicht unbegrenzt belastet werden kann und dass die Gefahr besteht, dass bei Veränderung der Umweltbedingungen im Oberflächengewässer, die abgelagerten Schwermetalle ins Wasser freigesetzt werden und ihre biozide Wirkung entfalten können (Förstner und Salomons, 1991). Deshalb muss jeder weitere Eintrag vermieden werden. Konventionelle Technologien der Schwermetallentfernung, wie chemische Fällung, Ionenaustausch oder elektrochemische Verfahren, sind vor allem im unteren Konzentrationsbereich häufig weder effektiv noch ökonomisch (Wilde und Beneman, 1993).

Im Sonderforschungsbereich (Sfb) 193 "Biologische Behandlung industrieller und gewerblicher Abwässer" der Technischen Universität Berlin werden seit 1997 Grundlagenkenntnisse über die Ausnutzung des natürlichen Prozesses der Biosorption von Schwermetallen an Algen für die Abwasserreinigung erarbeitet. Der Forschungsschwerpunkt dieser Arbeit liegt in der Entwicklung von Methoden zur chemischen Charakterisierung der Biosorptionsvorgänge der Schwermetalle an ausgesuchten Algen. In Kooperation mit der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. R. Buchholz am Institut für Biotechnologie der TU Berlin konnten diese Ergebnisse auf ein anwendungsorientiertes Verfahren zur Abwasserreinigung übertragen werden.

2 Grundlagen

2.1 Schwermetalle

Schwermetalle sind ubiquitär verbreitet und stellen die umfangreichste Gruppe der Metalle dar (> 40 Elemente des Periodensystems). Es sind Metalle, deren spezifisches Gewicht mindestens 5 g/cm^3 beträgt. Die meisten Schwermetalle kommen in der Natur nur in sehr geringen Konzentrationen vor. Einige dieser Metalle sind als Spuren- und Mikronährstoffe für den Stoffwechsel von Mikroorganismen, Pflanzen und Tiere essentiell (Chrom, Kupfer, Eisen, Selen), so z.B. als Bestandteile von Metallproteinen in Enzymen. Andererseits wirken eine Vielzahl von Schwermetallen als elementarer Staub, aber besonders in Form der löslichen Salze schon in sehr geringen Konzentrationen toxisch. Die Schwermetalle gelangen durch natürliche Prozesse (Vulkane, Verwitterung), aber überwiegend durch antropogene Prozesse in Folge der Industrialisierung (Rauchgase, Industrieabwässer, Sondermüll, Autoabgase) in die Umwelt (Römpp, 1992). Dem Bereich Industrieabwasser kommt dabei eine entscheidende Rolle zu.

Tab. 2–1: Physiko-chemische Eigenschaften ausgewählter Schwermetalle

	Cd ^a	Cu	Ni	Pb	Zn
Ordnungszahl	48	29	28	82	30
Gruppe ^b	II. N	I. N	VIII. N	IV. H	II. N
M (g/mol)	112,41	63,55	58,69	207,2	65,39
d (g/cm ³)	8,642	8,92	8,91	11,34	7,14
r _{ion} (Å) ^c	1,09	0,87	0,83	1,33	0,88
EN ^d	1,46/1,7	1,75/1,9	1,75/1,9	1,55/1,9	1,66/1,6
ε ₀ (V) ^e	-0,403	+0,34	-0,257	-0,125	-0,763

^a Holleman und Wiberg, 1995

^b Einordnung im Periodensystem der Elemente (H-Hauptgruppe, N-Nebengruppe)

^c Ionenradius der zweifach geladenen Kationen bei Koordinationszahl 6

^d Allred-Rochow/Pauling

^e $M \rightarrow M^{2+} + 2 e^-$ (pH=0)

Die in die Umwelt gelangten Metalle werden von den Primärproduzenten (Mikroorganismen, Pflanzen) angereichert und gelangen so in die Nahrungskette, an dessen Ende der Mensch steht. Auf Grund der gesundheitsgefährdenden Potentiale dieser Schadstoffe sollte auf ihren Einsatz verzichtet werden. Da dies oft aus technologischen Gründen nicht möglich ist, liegt es

in der Verantwortung aller, den Eintrag dieser Schadstoffe so niedrig wie möglich zu halten. Das wird leichter von den Verursachern akzeptiert und technisch realisiert, wenn die Kosten für die Abwasserreinigung nicht zu einer erheblichen Erhöhung der Produktionskosten führen. Die Entwicklung von Techniken zur effektiven und preisgünstigen Schwermetallentfernung bis zu sehr kleinen Restkonzentrationen sind deshalb von großem Interesse (Lahmann und Jander, 1987). Untersuchungen der Biosorption der industriell bedeutenden Schwermetalle Blei, Cadmium, Kupfer, Nickel und Zink sind Schwerpunkt dieser Arbeit. Tab. 2–1 zeigt die physikalischen und chemischen Eigenschaften der ausgewählten Schwermetalle.

2.1.1 Blei

Blei und seine Verbindungen werden bei zahlreichen industriellen Prozessen verwendet. Sie dienen z.B. zur Herstellung von Behältern für aggressive Flüssigkeiten, als Akkumulatormaterial, zur Herstellung von Farben, Verbundmaterialien und Munition. Die bis vor kurzem bedeutsamste Anwendung war der Zusatz von Bleitetraethyl zur Erhöhung der Klopfestigkeit von Kraftstoffen. Die beim Verbrennen entstandenen Bleisalze und -oxide gelangten als fein verteilte Aerosole in die Umwelt, die zu einer starken Umweltbelastung führten. Im Strahlenschutz wird Blei zur Absorption von Röntgen- und Gammastrahlen eingesetzt. (Holleman und Wiberg, 1995; Ewers und Schlipkötter, 1991)

Sowohl elementares als auch gebundenes Blei wirken für Organismen giftig, indem sie u.a. die Synthese des Hämoglobins bzw. Chlorophylls hemmen. Die Aufnahme des Bleis in den Körper erfolgt über den Magen-Darm-Trakt (10% Resorption) und über die Lunge (40-90% Resorption). Das Blei wird von den Erythrocyten des Blutes gebunden, transportiert und anstelle von Calcium in die Knochen eingebaut. Zusätzlich wird Blei in der Leber und in der Niere gespeichert. Die Halbwertszeit von Bleisalzen in den Knochen beträgt 20 Jahre. Bei einer chronischen Bleiexposition werden vor allem das zentrale und periphere Nervensystem (Degeneration der Nervenzellen \Rightarrow Lähmungen), das blutbildende System (Anämie) und die Nieren geschädigt. (Macholz und Lewerenz, 1989; Dekant und Vamvakas, 1994)

Die Kumulation von Blei im Körper zeigt die Notwendigkeit zur Verhinderung weiterer Kontaminationen der Umwelt mit diesem Metall (Tab. 2–2). Der Gesetzgeber hat aus diesem Grunde Grenzwerte zum Schutz des Menschen und der Umwelt für eine Reihe von toxikologisch relevanten Schwermetallen festgelegt, um die Umwelt und den Menschen zu schützen. Eine Auswahl von wichtigen Grenzwerten für die hier relevanten Schwermetalle ist in Tab. 2–2 gegeben.

Tab. 2–2: Grenzwerte ausgewählter Schwermetalle

	Cd	Cu	Ni	Pb	Zn
Abwasser (mg/L) ^a	0,05	0,3	0,5	0,1	0,5
MAK-Wert (mg/m ³) ^b	0,05	0,1 ^c bzw. 1 ^d	-	0,1	-
Trinkwasser (mg/L) ^e	0,005	3 ^f	0,05	0,04	5 ^f

^a Mindestanforderungen für Direkteinleiter nach §7a Wasserhaushaltsgesetz (WHG) (Lühr, 1994)

^b Henschler (2000); ^c atembare Partikel von Cu und CuO (Staub); ^d feinstteilige Partikel von Cu und CuO (Rauch)

^e Dilly (1992) ^f Richtwert

2.1.2 Cadmium

Cadmium und seine Verbindungen haben bei einer Vielzahl von industriellen Prozessen große Bedeutung (z.B. Korrosionsschutz für Metalle, Herstellung von Farben, Batterien und Legierungen, Kernreakorteknik, hier insbesondere Brems- und Kontrollstäbe). Durch diese intensive Nutzung wurde die Umwelt und damit auch die Nahrung des Menschen mit diesem toxischen Metall belastet. Bei einer jährlich um zehn Prozent steigenden Weltproduktion von Cadmium tragen vor allem die Erzverhüttung (Zinkgewinnung), eine unsachgemäße Entsorgung von Ni/Cd-Batterien und Klärschlämme zur Umweltbelastung bei. (Holleman und Wiberg, 1995; Stoeppler, 1991)

Toxikologische Wirkungen auf den Menschen sind Schädigungen der Schleimhäute und der Lunge bei chronischer Exposition von Cadmium über die Atemwege und Schädigungen der Nieren bei chronischer Belastung der Nahrung mit Cadmium. Cadmium reichert sich im menschlichen Organismus an und seine Halbwertszeit beträgt 30 Jahre. Die Hauptspeicherorgane sind Niere und Leber, wobei die Konzentration in den Nieren bei niedrigen Cadmiumdosen bis zu zehnmal höher sind als in der Leber. Bei zusätzlichem Mangel von Calcium und Vitamin D wurden in Japan bei älteren Frauen starke Knochenschmerzen und Knochendeformationen beobachtet (Itai-Itai-Krankheit). Beim Menschen liegen die Cadmiumkonzentrationen in der Nierenrinde in vielen Regionen heute zehn- bis hundertmal höher als vor etwa 50 Jahren. Dieser Befund unterstreicht die Bedeutung für den Schutz der Umwelt vor einer weiteren Kontamination mit Cadmium (Tab. 2–2). (Macholz und Lewerenz, 1989; Dekant und Vamvakas, 1994)

2.1.3 Kupfer

Kupfer ist dem Menschen als Werkstoff und Schmuckwerkstoff schon seit mehr als 9000 Jahren bekannt. Ca. 40% der jährlichen Kupferproduktion werden zur Herstellung von Kupferle-

gierungen verwendet. Aufgrund seiner hervorragenden elektrischen Leitfähigkeit wird ca. die Hälfte der jährlich erzeugten Kupfermengen in der Elektroindustrie eingesetzt. Da sich die elektrische Leitfähigkeit parallel zur Wärmeleitfähigkeit verhält, werden Braukessel, Vakuumpfannen, LötKolben, Destillationsapparaturen, Heiz- und Kühlschlangen usw. in reinem Kupfer oder aus Kupferlegierungen hergestellt. In Form seiner Salze spielt Kupfer wegen der fungiziden Wirkung seit alters her eine bedeutende Rolle im Pflanzenschutz und in Holzschutzmitteln. (Holleman und Wiberg, 1995; Scheinberg, 1991)

Kupfer stellt für den Menschen und höhere Tiere ein essentielles Spurenelement als Bestandteil von Kupferproteinen mit Enzymfunktion dar. Der tägliche Bedarf wird mit 1 bis 2,5 mg und der Gesamtkörperbestand mit 80 bis 120 mg angegeben. Kupfermangel führt zu einer Anämie. Die löslichen Kupferverbindungen sind für den Menschen und andere höhere Organismen nur mäßig giftig und wirken erst in höheren Dosen als Brechmittel. Auch kommt Ihnen ein gewisses mutagenes und carcinogenes Potential zu. Die Inhalation von Dämpfen und Rauch kann sogenanntes Metallfieber verursachen (MAK-Werte, Tab. 2–2). Dagegen stellen Kupferverbindungen für niedere Organismen bereits in geringen Konzentrationen ein starkes Gift dar. Die von Gesetzgeber festgelegten Grenz- bzw. Richtwerte für Kupfer sind in Tab. 2–2 zusammengefasst. (Macholz und Lewerenz, 1989; Römpf, 1992).

2.1.4 Nickel

Die Hauptmenge des erzeugten Nickels findet in Form von Legierungen Anwendung und wird insbesondere von der Stahlindustrie verbraucht, da durch Zusatz einiger Prozente Nickel zum Stahl dessen Härte, Zähigkeit und Korrosionsbeständigkeit stark erhöht wird, besonders in Kombination mit Chrom (Chromnickelstahl). Feinverteilt Nickel kann bei höherer Temperatur beträchtliche Mengen Wasserstoff absorbieren, weshalb es als Hydrierungskatalysator (Raney-Nickel) eine wichtige Rolle spielt. Als letztes sei der Gebrauch von Nickel in Akkumulatoren erwähnt. (Holleman und Wiberg, 1995; Sunderman und Oskarsson, 1991)

Nickel ist für den Menschen und viele andere Lebewesen essentiell. Der Mensch enthält ca. 0,014 mg Ni pro kg. Zur biologischen Rolle ist noch wenig bekannt, doch scheint es am Kohlenhydrat-Stoffwechsel beteiligt zu sein. Stäube, die Nickel oder Nickelverbindungen enthalten, sind sowohl stark toxisch als auch krebserzeugend und lösen bei empfindlichen Personen Dermatitis aus. Lösliche Nickelverbindungen sind beim Verschlucken magen- und darmreizend und können bei lokaler Exposition zu Haut-, Augen- und Atemwegsreizungen führen. Ausgehend von dieser Toxizität wurden Grenzwerte für die zulässigen Konzentrationen an

Nickelverbindungen in Ab- und Trinkwasser erlassen (Tab. 2–2). (Macholz und Lewerenz, 1989; Römpf, 1992)

2.1.5 Zink

Die Hauptmenge des erzeugten Zinks wird zum Verzinken von Stahl (Korrosionsschutz) verwendet. Auch Anstrichstoffe mit hochpigmentierten Zinkstaubfarben und neutralen Bindemitteln werden zum Korrosionsschutz eingesetzt. Große Mengen Zink dienen ferner zur Erzeugung von Legierungen (z.B. Messing). Anwendungen bei der Herstellung von galvanischen Elementen, Druckplatten, als Ätzmittel im Textildruck und als Reduktionsmittel in der Metallurgie sind weiterhin von Bedeutung. (Holleman und Wiberg, 1995; Ohnesorge und Wilhelm, 1991)

Für Menschen, Tiere, Pflanzen und Mikroorganismen ist Zink essentiell (biologisch nach Eisen am wichtigsten). Der Mensch enthält durchschnittlich 40 mg Zink pro kg, wobei Zink Bestandteil von über 200 Enzymen ist. Der Erwachsene benötigt etwa 22 mg Zink pro Tag. Die Toxizität von Zink und den meisten Zinkverbindungen ist im allgemeinen gering. Größere Mengen von Zinksalzen (1-2 g) rufen jedoch äußerlich Verätzungen, innerlich stark schmerzhaft Entzündungen, Übelkeit und Erbrechen beim Menschen hervor. Zinkverunreinigungen in Industrie- und Haushaltsabwässern stellen ebenfalls ein nicht zu unterschätzendes Gefährdungspotential für die Umwelt dar, besonders in Hinblick auf gleichzeitige Kontamination dieser Abwässer mit begleitenden toxischen Schwermetallen (Blei, Cadmium). Einige Gefahren wurden für aquatische Organismen und Pferde bei erhöhter Zinkexposition beschrieben. Die von Gesetzgeber festgelegten Grenz- bzw. Richtwerte für Zink sind in Tab. 2–2 zusammengefasst. (Macholz und Lewerenz, 1989; Römpf, 1992).

2.2 **Algen**

Die Oberfläche der Erde wird zu rund zwei Dritteln von Ozeanen und Seen bedeckt, die bis zu einer Tiefe von 150 Metern von photosynthetisierenden Pflanzen, den Algen, bewohnt werden. Die Algen erbringen wahrscheinlich den größten Teil der Primärproduktion organischer Substanz auf der Erde. Algen sind nicht nur von großer ökologischer, sondern auch von phylogenetischer Bedeutung. Es wird vermutet, daß alle Gruppen der Tiere und Pflanzen im Meer entstanden sind, wo noch jetzt Vertreter uralter evolutionärer Linien zu finden sind.

2.2.1 Taxonomie

Die Einteilung und Gliederung der Algen ist ein Prozess, der nicht als abgeschlossen zu betrachten ist, solange ein Fakt (Physiologie, Genetik) irgendeiner Species unbekannt ist. Um eine bessere Übersicht zu bekommen, wurde versucht die Algen zu klassifizieren. Das jeweilige Klassifikationssystem ist ein vom Menschen künstlich entwickeltes System, um komplexe Zusammenhänge verständlich darzustellen. Es kann deshalb nicht alle Merkmale der Organismen berücksichtigen. Dies gilt in besonderer Weise für die Algen. In den letzten Jahren wurde sowohl mit Hilfe der Elektronenmikroskopie als auch der Molekulargenetik eine umfangreiche Überarbeitung des traditionellen Algenklassifikationssystems durchgeführt. Eine detaillierte Darstellung dieser Klassifizierung würde den Rahmen dieser Arbeit sprengen. Trotzdem soll versucht werden, auf die generellen Strukturen einzugehen.

Die obersten Unterscheidungsebenen sind Reiche, gefolgt von Abteilungen und Klassen. Diese enthalten meistens einen Hinweis auf die Farbe der in ihr eingeordneten Alge. Somit spielen Art und Zusammensetzung des Photosyntheseapparates eine entscheidende Rolle. Weitere Merkmale die zur Gruppeneinteilung führen, sind chemische Zusammensetzung der Reservestoffe und Zellwandzusammensetzung. Innerhalb der Algenabteilungen fasst man dann Gruppen zusammen, deren Merkmal beispielsweise eine analoge Fortpflanzung, Ernährungsweise, Ablauf der Lebenszyklen, Art der Begeißelung der Zellen oder Mitosetyp und Cytokinesetyp ist. In Tab. 2–3 ist die Gliederung der Algen dargestellt. (Hoek et al., 1995)

In den weiteren Ausführungen werden nur die Abteilungen und Klassen näher vorgestellt, aus denen Arten in dieser Arbeit verwendet wurden. Die Abteilung der Cyanophyta (der Blaualgen) nimmt eine Sonderstellung in der Algenwelt ein, da sie dem Reich der Eubacteria (Prokaryota) zugeordnet wird. Blaualgen besitzen beispielsweise keinen Zellkern und keinen Golgi-Apparat. Deshalb wird zum Begriff Cyanophyta als Synonym Cyanobacteria verwendet. Der Abteilung Cyanophyta ist nur eine einzige Klasse untergeordnet, die Cyanophyceae. Diese Klasse enthält mehr als 150 Gattungen und 2000 Arten. Sie sind ubiquitär verbreitet. Eine sehr verbreitete und bekannte Art ist die Alge *Microcystis aeruginosa*. Dies ist eine Süßwasseralge. Sie verursacht in den Sommermonaten giftige Wasserblüten. Das Toxin von *Microcystis aeruginosa* (Microcystin genannt), ein cyclisches Polypeptid, verursacht Nekrose und Blutungen in der Leber. Es sind allerdings nicht alle Stämme dieser Alge toxisch. (Hoek et al., 1995; Graham und Wilcox, 2000)

Tab. 2–3: Übersicht der Taxonomie der Algen (Hoek et al., 1995)

Reich	Abteilung	Klasse*
Eubacteria	Cyanophyta	Cyanophyceae
	Prochlorophyta	Prochlorophyceae
Eukaryota	Glaucophyta	Glaucophyceae
	Rhodophyta	Bangiophyceae
		Florideophyceae
	Heterokontophyta	Chrysophyceae
		Parmophyceae
		Sarcinochrysidophyceae
		Xanthophyceae
		Eustigmatophyceae
		Bacillariophyceae
		Raphidophyceae
		Dictyochophyceae
		Phaeophyceae
		Haptophyta
Cryptophyta	Cryptophyceae	
Dinophyta	Dinophyceae	
Euglenophyta	Euglenophyceae	
Chloroarachniophyta	Chloroarachniophyceae	
Chlorophyta	Prasinophyceae	
	Chlorophyceae	
	Ulvophyceae	
	Cladophorophyceae	
	Bryopsidophyceae	
	Dasycladophyceae	
	Trentepohliophyceae	
	Pleurostrophyceae	
	Klebsormidiophyceae	
	Zygnematophyceae	
	Charophyceae	

* Algenarten aus den hervorgehoben (Fett) Klassen wurden in dieser Arbeit verwendet

Die Abteilung der Rhodophyta, der Rotalgen, ist leicht von den anderen Abteilungen zu unterscheiden. Sie zeichnen sich dadurch aus, dass es keine begeißelten Fortpflanzungszellen der Rotalgen gibt, dass das grüne Chlorophyll durch die Anwesenheit des akzessorischen photosynthetischen Pigments Phycobilin (Phycocerythrin und Phycocyanin) maskiert wird und die sogenannte Floridenstärke als wichtigster Reservestoff vorhanden ist. Die Einteilung der Rotalgen erfolgt in zwei Klassen. Die Bangiophyceae werden in weitere 5 Ordnungen (oder Familien) unterteilt. Zu ihren wichtigsten und am weitesten verbreiteten Vertretern gehören Bangiales und Porphyridiales. Die zweite Klasse bezeichnet man mit dem Namen *Florideophyceae*, die in 13 Ordnungen unterteilt ist. (Hoek et al., 1995; Graham und Wilcox, 2000)

Die Abteilung der Heterokontophyta umfasst 9 Klassen. Charakteristisch ist, dass die begeißelten Zellen heterokont sind, d.h., sie tragen eine lange, nach vorn gerichtete Flimmergeißel und eine kürzere, nach hinten gerichtete Geißel ohne Flimmern.

Zur Klasse der Xanthophyceae (goldbraune Algen) werden etwa 100 Gattungen mit bis zu 600 Arten gezählt. Das wichtigste akzessorische Pigment ist Vaucheriaxanthin. Dieses Pigment ist ebenfalls bei der Klasse der Eustigmatophyceae bedeutend. In dieser Klasse sind nur wenige Gattungen und Arten bekannt, die in Süß- und Salzwasser vorkommen. Eine bedeutende Klasse stellen die Bacillariophyceae (Diatomeen, Kieselalgen) dar, die etwa 250 Gattungen mit 100000 Arten enthält. Kieselalgen kommen im Meer, in Süßwasser und auf feuchtem Boden vor. Das Phytoplankton der Ozeane besteht überwiegend aus Kieselalgen. Das wichtigste akzessorische Pigment ist Fucoxanthin. (Hoek et al., 1995; Graham und Wilcox, 2000)

Die Chlorophyta, oder Grünalgen, umfassen eine der Hauptgruppen der Algen und sind in 11 Klassen unterteilt. Ihre Verbreitung erstreckt sich in alle belebten Bereiche der Erde und ihre Formenvielfalt erschließt alle Variationen. Die Abteilung Chlorophyta kann auf Grund seiner begeißelten Zellen, die isokont sind, d.h. sie tragen meistens zwei Geißeln, die gleich gebaut sind, sich aber in der Länge unterscheiden, leicht von den anderen Algenarten unterschieden werden. Schwieriger gestaltet sich die Abgrenzung der Chlorophyta von Moosen und Grünpflanzen. Die gesamte Abteilung enthält rund 500 Gattungen und etwa 8000 Arten. Zur Klasse der Chlorophyceae zählen etwa 355 Gattungen mit 2650 Arten. Die bekanntesten Vertreter dieser Klasse sind Arten der Gattung *Chlorella*, insbesondere *Chlorella vulgaris*, die durch ihre einfache Kultivierung in zahlreichen wissenschaftlichen Experimenten als Referenz eingesetzt wird. Die Bezeichnung *Chlorella* leitet sich von dem griechischen Wort „*chloros*“, grün und dem lateinischen „*ella*“ was klein bedeutet, ab. (Hoek et al., 1995; Graham und Wilcox, 2000)

2.2.2 Kultivierung von Algen

Für die erfolgreiche Isolierung und Kultivierung einzelner Algenarten ist die Kenntnis geeigneter Nährlösungen bzw. Kulturmedien notwendig. Prinzipiell sollten diese dem natürlichen Biotop der jeweiligen Art in Bezug auf Ionengehalt und Ionenzusammensetzung entsprechen. Eine größere Zahl bewährter halb und vollsynthetischer Nährmedien sind in der Literatur (Schlösser, 1994) detailliert beschrieben und stehen je nach experimenteller Fragestellung zur Verfügung. Für experimentelle Untersuchungen sind vollsynthetische und klar definierte Nährlösungen von Vorteil, da sie die Reproduzierbarkeit der Kultivierung erhöhen. Die Be-

deutung halbsynthetischer Kulturmedien liegt in der Stammhaltung mit minimalem Risiko für selektive Veränderungen und bei der Isolierung bisher nicht kultivierter und in ihren Ansprüchen nicht charakterisierter Algenarten. Oft variiert wird je nach Zielstellung einer Algenkultur die Nährstoffkonzentrationen im Verhältnis zur Wachstumsphase. Ein weiterer wichtiger Faktor ist der pH-Wert der Kultivierung und das in diesem Zusammenhang eingesetzte Puffersystem der Nährlösung. Auch die Art der Nährstoffe spielt in diesem Zusammenhang eine Rolle. Liegt ein Nährstoff mehr als Anion vor (z.B. Stickstoff als Nitrat) so hat dessen Verbrauch einen Einfluss auf die Ionenbilanz. Die Mehrzahl der Algen ist auf eine ausreichende Versorgung mit Spurenelementen angewiesen. Es bietet sich die Verwendung von Erdextrakten an, da diese die benötigten Elemente in algenverfügbarer Form enthalten. Neben den Spurenelementen werden von einigen Algen auch Spurenstoffe (z.B. Vitamine) benötigt. Neben der ausreichenden Versorgung mit Nährstoffen sind für eine erfolgreiche Kultivierung optimale Lichtverhältnisse und Versorgung mit einer anorganischen Kohlenstoffquelle (CO_2) notwendig. (Graham und Wilcox, 2000; Kohl und Nicklisch, 1988)

Die Kultivierungsverfahren lassen sich in homogene und heterogene, sowie nach dem Modus der Nährlösungzugabe in diskontinuierliche, kontinuierliche und semikontinuierliche Kulturen unterscheiden. Die diskontinuierliche oder batch-Kultur (schubweise Kultur) beginnt mit einem kleinen Inokulum in einer im Verhältnis dazu großen Nährlösungsmenge. Die Kultur durchläuft mehrere Wachstumsphasen und stagniert schließlich bzw. beginnt mit einer Inokulation der Algen in frischer Nährlösung. Zur Beschreibung des Wachstumsverlaufs gliedert man die zeitliche Biomassezunahme in fünf Phasen. Die erste nennt man Verzögerungs- oder lag-Phase. Die ergibt sich dadurch, dass sich das Inokulum im frischen Nährmedium an die drastischen Milieuveränderungen in der Regel erst anpassen muss. Darauf folgt die Biomassezunahme in der exponentiellen Wachstumsphase. In ihr findet ungehindertes nichtlimitiertes Wachstum statt. Exponentielles Wachstum tritt nur auf, wenn alle Ressourcen im Sättigungsbereich liegen. Ihr schließt sich eine lange, für die Algenkultivierung typische, lineare Wachstumsphase an. Die Beendigung des linearen Wachstums kann unterschiedliche Ursachen haben: Lichtlimitation durch zunehmende Selbstbeschattung, begrenzte CO_2 -Versorgung oder Limitation durch einen anderen Nährstoff. Die Stagnationsphase oder Übergangsphase schließt sich an das lineare Wachstum an und reicht bis zur stationären Wachstumsphase. Die stationäre Wachstumsphase ist dadurch gekennzeichnet, dass die Wachstumsrate der Sterberate gleicht. In Abhängigkeit von den Wachstumsbedingungen kann sie unterschiedlich lange dauern und schließlich in eine Sterbephase übergehen. Diskontinuierliche Kulturen sind in ihrer technischen Handhabung relativ einfach und für viele Wachstumsuntersuchungen recht gut

geeignet. Der Einfluss von Temperatur, pH-Wert, Ionengesamtkonzentration lässt sich so über die Bestimmung der spezifischen Wachstumsrate in der linearen Wachstumsphase charakterisieren. Im Gegensatz zur batch-Kultur wird bei einer kontinuierlichen Kultur ständig Nährlösung im Austausch gegen die Kultursuspension zugeführt. Dieses Kulturverfahren bietet besondere Vorteile zur Analyse des substratlimitierten Wachstums von Mikroorganismen. (Graham und Wilcox, 2000; Kohl und Nicklisch, 1988)

2.2.3 Zusammensetzung der Algenzellwand

Die Biosorption stellt eine schnelle Anlagerung von Substanzen an der Oberfläche von biologischen Materialien dar (Kap. 2.3.2). Die Oberfläche von Algen wird von der Zellwand gebildet. In den Zellwandstrukturen der Algen sind die Bindungsstellen lokalisiert. Die Algenzellwand ist ein sehr komplexer Verband einer Vielzahl von Polysacchariden und Proteinen. Einzelne Algen können sich in ihrer Oberflächenstruktur stark voneinander unterscheiden, so daß die folgenden Aussagen nur einen Überblick darstellen. In jedem chemischem Strukturdetail sind die Zellwände der Algen bis heute nicht vollständig aufgeklärt. Die Zellwand der Algen lässt sich als ein Zweiphasensystem verstehen, welches sich aus einer kristallinen Stützschiicht und einer amorphen Matrixschicht zusammensetzt. Die kristalline Stützschiicht wird aus neutralen, linearen Polysacchariden gebildet. Die häufigsten Polysaccharide sind α -Cellulose, β -1,4-Mannan und β -1,3-Xylan. Die Stützschiicht der Cyanophyta besteht von den anderen Algen abweichend aus Murein. Murein ist ein Polysaccharid, das sich abwechselnd aus N-Acetylglucosamin und N-Acetylmuraminsäureresten zusammensetzt. (Kloareg und Quatrano, 1988; Hoek et al., 1995)

Die sich der Stützschiicht anschließende Matrixschicht stellt den größten Anteil am Aufbau der Zellwand. Die Matrix besteht aus einer Vielzahl von sauren, anionischen Polysacchariden, die eine große technologische Bedeutung besitzen (Kap. 2.2.4). Im Gegensatz zu den Polysacchariden der Stützschiicht lassen sich die Matrixpolysaccharide mit heißem Wasser extrahieren. Die wichtigsten Träger der negativen Ladungen sind Carboxyl- und Sulfatgruppen der Monomeren der Matrixpolysaccharide. Die Zusammensetzung einiger wichtiger saurer Polysaccharide wird in Tab. 2–4 gegeben. Besonders erwähnt seien wegen ihrer technologischen Verbreitung die Matrixpolysaccharide (Schleim) der Rotalgen. Der Schleim besteht aus Galactanen (Polymeren von Galactose mit Sulfatestergruppen), von denen Carrageen und Agar die wichtigsten sind (Kloareg und Quatrano, 1988). In neueren Arbeiten haben Ray und Lahaie (1995 a, b; 1996) die Polysaccharide der Zellwand der marinen Grünalge *Ulva rigida* extrahiert und charakterisiert. Dabei wurden neben 2 Hemicellulosefraktionen, die aus Glucu-

ronanen und Glucoxylenen bestanden, sulfatierte Polysaccharide aus Glucose, Xylose, Mannose und Protein sowie Ulvan als Hauptbestandteil in seiner chemischen Struktur bestimmt. Ulvan besteht aus Fraktionen, die verschieden verknüpfte Einheiten aus Rhamnose-3-sulfat, Xylose und Glucuronsäure enthalten.

Tab. 2–4: Aufbau und Vorkommen wichtiger saurer Polysaccharide

Funktionelle Gruppe ^a	Polysaccharid	Monomere	Vorkommen
R-COO ⁻	Polyuronide ^b	Galcaturonsäure Glucuronsäure Guluronsäure Mannuronsäure	Cyano-, Rhodo-, Heterokonto-, Chlorophyta
	Alginat ^c	Guluronsäure Mannuronsäure	Phaeophyceae
R-O-SO ₃ ⁻	Carrageen ^d	Galactose-4-sulfat Galactose 3,6-Anhydrogalactose Galactose-2,6-disulfat	Rhodophyta
	Agar ^d	Galactose 3,6-Anhydrogalactose jeder 10. Baustein -SO ₃ H-Gruppe	Rhodophyta
	Fucoidan ^e	Fucose-4-sulfat Desoxygalactose	Phaeophyceae
R-COO ⁻ R-O-SO ₃ ⁻	Ulvan ^f	Rhamnose-3-sulfat Glucuronsäure Xylose	Chlorophyceae

^a Kloareg und Quatrano, 1988

^b Becker et al., 1998; Nicolaus et al., 1999; Paulsen et al., 1998

^c Usov und Klochkova, 1994; Dietrich et al., 1995

^d Stevenson und Furneaux, 1991; Burdin und Bird, 1994; Liao et al., 1996

^e Nishida et al., 1990; Honya et al., 1999

^f Ray und Lahaye, 1995 a, b; 1996

Die Struktur einiger Polysaccharide mit Carboxyl- (Polyuronide) und Sulfatgruppen (Fucoidan) im Molekül sind in der Abb. 2–1 dargestellt.

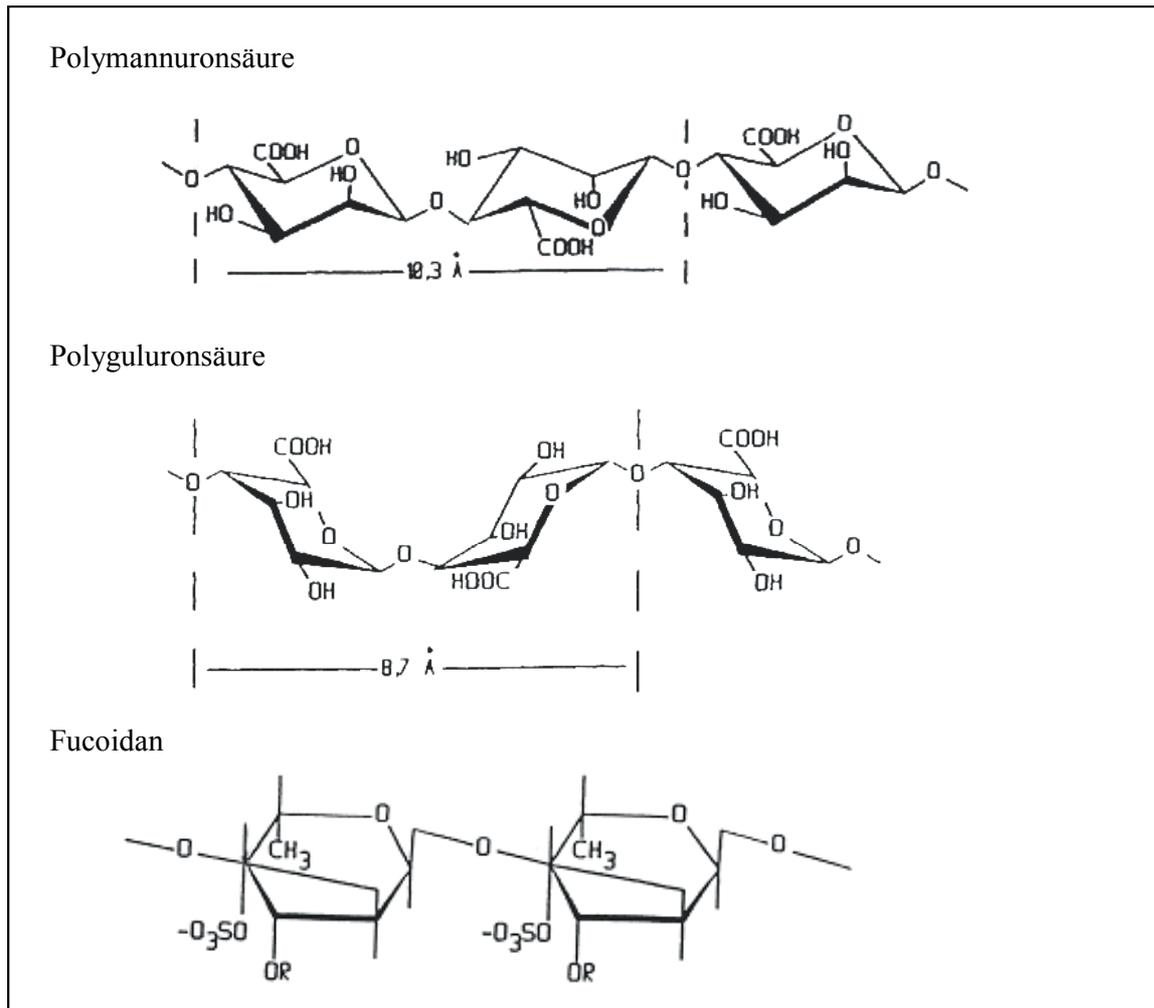


Abb. 2-1: Struktur ausgewählter saurer Polysaccharide (Kloareg und Quatrano, 1988)

2.2.4 Technologische Bedeutung von Algen

Eine Vielzahl von Algeninhaltsstoffen werden in verschiedenen Industriezweigen der Lebensmittelindustrie, Pharmazie und Biotechnologie eingesetzt. Im folgenden sollen auf die Nutzung der wichtigsten Inhaltsstoffe ein wenig näher eingegangen werden.

Proteine, die hohe Anteile an essentiellen Aminosäuren enthalten, finden in der Lebensmittelindustrie für den direkten Verzehr als auch in der Viehzucht als Futterergänzungsmittel Verwendung (Graham und Wilcox, 2000; Anusuya und Venkataraman, 1984).

Lipide (Phospholipide, Glucolipide) und hochgesättigte C₁₆-C₂₂ Fettsäuren werden von einigen Mikroalgen in großen Mengen gebildet und dienen der Behandlung von Hyperlipidämien und Artherosklerose (Dembitzky et al., 1990; Graham und Wilcox, 2000). Patterson et al. (1994) beschreiben eine aktive Hemmung von Viren (Herpes, HIV) durch Sulfolipide einiger Cyanophyta.

Carotinoide und Phycobiliproteine, wie α - und β -Carotin, Echinenon, Canthaxanthin und Astaxanthin, werden überwiegend in der Lebensmittelindustrie als lipophile Farbstoffe eingesetzt (Borowitzka, 1986).

Aus technologischer Sicht am Bedeutesten sind die Polysaccharide und vor allem die Exopolysaccharide der Algenzellwand. Die Exopolysaccharide der Rhodophyta (Carrageen, Agar) und Phaeophyceae (Alginat) finden als Geliermittel und Dispersionskolloide in der Lebensmittel-, Textil-, Papier-, Farb-, Öl- und Detergentienindustrie, sowie in der Pharmazie und Medizin große Verwendung (Kapraun, 1999; White et al., 1999; Graham und Wilcox, 2000). Auch als Antitumorstoffe, Antibiotika und Virus hemmende Substanzen werden Algenpolysaccharide in der Medizin eingesetzt (Itoh et al., 1993; Patterson et al., 1994; Santos et al., 1999; Graham und Wilcox, 2000).

Eine große Bedeutung in der Zukunft wird ein intensives Screening nach weiteren vor allem medizinisch wirksamen Substanzen aus Algen einnehmen, da hier durch die Artenvielfalt natürliche Potentiale vorhanden sind, die heute erst zu einem Bruchteil erforscht und genutzt sind.

2.3 Verfahren zur Schwermetallentfernung

2.3.1 Konventionelle Verfahren

Zur Herabsetzung von Schwermetallemissionen aus Abwasserströmen und der notwendigen Einhaltung der vorgeschriebenen Grenzwerte (Tab. 2–2) werden folgende Verfahren eingesetzt: Fällung, Ionenaustausch, Elektrolyse, Adsorption (Kap. 2.3.1.1) und Membrantrennverfahren. Bei hohen Schwermetallkonzentrationen kommen in erster Linie Fällung und Elektrolyse zum Einsatz. Bei der Fällung werden die Metalle mit Hilfe geeigneter Fällungsmittel in schwerlösliche Metallverbindungen (Hydroxide, Carbonate oder Sulfide) überführt. Diese Verbindungen können vom Wasser durch Filtration getrennt werden. Der entstehende Rückstand ist als Sondermüll zu deponieren. Bei der Elektrolyse wird das elektrochemische Verhalten der Metalle genutzt, um das Abwasser zu reinigen. Die an der Elektrode abgeschiedenen Metalle können leicht wiederverwendet werden. Der Nachteil dieser beiden Verfahren liegt in der unzureichenden Wirksamkeit bzw. zu hoher Kosten bei niedrigen Metallkonzentrationen in der Lösung. Zur Entfernung relativ niedriger Schwermetallkonzentrationen, vorzugsweise unter 500 mg/L, sind Adsorptions-, Membran- und Ionenaustauschtechnologien besonders geeignet. Die Adsorptionsverfahren werden nur noch vereinzelt angewandt, da eine Regeneration des Adsorbens oft nur bedingt möglich ist. Die wichtigsten Adsorbentien stel-

len Aktivkohle, Aluminiumstäube, keramische und pflanzliche Materialien (Cellulose, Xanthate) dar. Zu den Membranverfahren gehören Elektrodialyse und Umkehrosmose. Bei der Elektrodialyse trennen abwechselnd parallel zueinander liegende Kationen- und Anionenaustauschermembranen die konzentrierte Schwermetalllösung von dem durch Anlegen eines elektrischen Feldes schwermetallverarmten Wasser. Bei der Umkehrosmose erfolgt ebenfalls eine Aufkonzentrierung der Schwermetalle durch Membranen. Die treibende Kraft ist ein hoher hydrostatischer Druck anstelle eines elektrischen Feldes. Ionenaustauscher besitzen eine breite Anwendung in der Abwasserreinigung und dienen vor allem zur Reinigung der Abwässer im Bereich der Grenzwerte. Die Schwermetalle werden an einem Ionenaustauschermaterial angelagert und nach Beladung durch geeignete Desorptionsverfahren (Säuren, Salze) wieder entfernt, so dass nach erfolgter Desorption hochkonzentrierte Schwermetalllösungen vorliegen. Die aufkonzentrierte Lösung kann beispielsweise elektrolytisch gereinigt werden. Im Kapitel 2.3.1.2 werden weiterführende Details zum Ionenaustausch gegeben. (Kümmel und Worch, 1990; Brooks, 1991; Wilmoth et al., 1991; Dorfner, 1991; Berends und Hartmeier, 1992; Röhricht et al., 1993)

Im Allgemeinen gilt, je niedriger die Konzentration eines gelösten Metalls ist, umso höher sind Aufwand und Kosten eines technischen Verfahrens für dessen Rückhaltung. Aus diesem Grund wird nach alternativen Verfahren zur Metallentfernung aus Abwässern gesucht. In den letzten zehn Jahren haben dabei Mikroorganismen eine immer wichtigere Rolle in der Suche nach neuen Ansätzen gespielt. Der natürliche Prozess der Biosorption wird bei diesen Anwendungen besonders beachtet. Die Biosorption stellt ein Zusammenwirken einer Reihe von chemischen Reaktionen dar, wobei Adsorptions- und Ionenaustauschprozesse eine besondere Bedeutung besitzen (Kap. 2.3.2). Im folgenden werden deshalb einige wichtige Grundlagen dieser beiden Prozesse näher erläutert. (Volesky, 1990; Veglio und Beolchini, 1997; Brauckmann, 1997; Wase und Forster, 1997; Wong und Tam, 1998; Atkinson et al., 1998; Bailey et al., 1999)

2.3.1.1 Grundlagen der Adsorption

Die Anlagerung von Teilchen an Oberflächen wird als Adsorption bezeichnet. Die Teilchen können Atome, Moleküle oder Ionen sein. Ursache dieser Anlagerung sind Wechselwirkungen der Oberflächenzentren des Adsorbens mit den Inhaltstoffen umgebender Flüssigkeiten und Gase. Bei der Betrachtung der Ursachen der Anlagerung unterscheidet man zwischen der rein physikalischen Adsorption und der Chemisorption. Dabei ist die physikalische Adsorption hauptsächlich auf einer Bindung des Adsorptivs an das Adsorbens durch zwischenmoleku-

lare Kräfte, Van-der-Waalsche Kräfte (Dipolkräfte, Dispersionskräfte, Induktionskräfte) zurückzuführen. Der energetisch stabilere Zustand wird bei der Chemisorption durch chemische Bindungskräfte der funktionellen Gruppen der Adsorberoberfläche analog einer chemischen Bindung durch Elektronentransfer oder durch gemeinsam genutzte Elektronen erreicht. Eine genaue Einteilung einer real auftretenden Adsorption ist nicht immer möglich, da beide Phänomene eine Rolle spielen können. Die Lage des Gleichgewichtes einer chemischen Reaktion bei konstantem Druck und Temperatur wird durch die Konzentration seiner Ausgangsstoffe bestimmt. Eine ähnliche Abhängigkeit liegt auch zwischen Adsorbens- und Adsorptivmenge vor. Für jede Adsorptivkonzentration stellt sich nach hinreichend langer Zeit bei konstanter Adsorbensmenge, Druck und Temperatur, ein bestimmtes Verteilungsgleichgewicht ein. Der zeitliche Verlauf des Adsorptionsprozesses wird als Kinetik der Adsorption bezeichnet. Sie beschreibt den Adsorptionsvorgang bis zum Erreichen des Gleichgewichtszustandes. Nach Einstellung des Gleichgewichtes spricht man bei der Beladung des Adsorbens von Gleichgewichtsbeladung (q_{eq}) und der Konzentration des Adsorptivs in der Lösung von Gleichgewichtskonzentration (c_{eq}). Die Gleichgewichtsdaten für verschiedene Adsorbens-Adsorptiv-Verhältnisse bei konstanter Temperatur lassen sich mit Hilfe von Modellen zur Beschreibung der Adsorptionisothermen auswerten. Diese dienen der Einschätzung und Vergleichbarkeit der Adsorption und bilden die Grundlage für die Auslegung technischer Prozesse. Die bekanntesten Modelle zur Beschreibung von Adsorptionsgleichgewichten sind die nach Langmuir (Gl. 2-1) und Freundlich (Gl. 2-3). (Kümmel und Worch, 1990; Berends und Hartmeier, 1992; Atkins, 1998)

Das Langmuirsche Adsorptionsmodell leitet sich aus theoretischen Überlegungen mit folgenden Annahmen ab: maximale monomolekulare Bedeckung, gleichwertige Adsorptionsstellen und Adsorption/Desorption sind reversibel. Gl. 2-1 beschreibt eine Adsorptionisotherme nach Langmuir:

$$\text{Gl. 2-1: } q_{eq} = q_{max} b c_{eq} / (1 + b c_{eq})$$

In Gl. 2-1 ist q_{max} die maximale Beladungskapazität, q_{eq} die Menge an Metall, welche aus einer gegebenen Lösung aufgenommen wurde, und c_{eq} ist die Gleichgewichtskonzentration des Metalls in Lösung. Die Langmuirkonstante b stellt eine Gleichgewichtskonstante dar, die die Affinität des Metalls zur Algenoberfläche beschreibt. Durch eine einfache Linearisierung ist es möglich die Konstante b und die maximale Metalladsorption q_{max} zu bestimmen:

$$\text{Gl. 2-2: } c_{eq} / q_{eq} = c_{eq} / q_{max} + 1 / (q_{max} b)$$

Durch Auftragen von $c_{\text{eq}}/q_{\text{eq}}$ über c_{eq} ist q_{max} aus dem Anstieg der Geraden berechenbar und b aus dem Wert des Schnittpunkts mit der y -Achse. (Kümmel und Worch, 1990; Atkins, 1998)

Das Adsorptionsmodell nach Freundlich wird in der hier beschriebenen Form ebenfalls für Einstoffisothermen angewendet (Gl. 2–3). Dem Modell liegt ein empirischer Ansatz zugrunde, welcher einen exponentiellen Verlauf der Gleichgewichtsbeladung in Abhängigkeit von der Gleichgewichtskonzentration beschreibt.

$$\text{Gl. 2-3: } q_{\text{eq}} = k c_{\text{eq}}^{1/a}$$

Die linearisierte Form der Gl. 2–3 lautet:

$$\text{Gl. 2-4: } \log q_{\text{eq}} = \log k + a \log c_{\text{eq}}$$

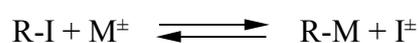
Wird q_{eq} über c_{eq} im doppeltlogarithmischen Maßstab aufgetragen, so kann die Freundlichkonstante k als y -Abschnitt bei $c_{\text{eq}} = 1$ und der Freundlichexponent a aus dem Anstieg der Geraden ermittelt werden. Die Größe von k bzw. a drückt die Adsorbierbarkeit eines Stoffes am entsprechenden Adsorber aus. (Kümmel und Worch, 1990; Atkins, 1998)

2.3.1.2 Grundlagen von Ionenaustauschern

Als Ionenaustauscher finden in der Regel Polymerprodukte Verwendung, die in der Lage sind, aus dem Wasser positiv und negativ geladene Ionen zu binden. Die Eigenschaften der Ionenaustauscher beruhen auf drei Faktoren: den Grundkörper für das Gerüst (Matrix), den Brückenbildnern zur Quervernetzung (Unlöslichkeit in Wasser) und den funktionellen Gruppen (aktiver Teil). Als Grundkörper dienen meist Polymerisationsprodukte (z.B. Polystyrol, Polyacrylat), aber auch Naturstoffe (Lignin, Cellulose, Harze). Als funktionelle Gruppen werden in erster Linie folgende verwendet:

- $-\text{SO}_3^-$ stark saure Kationenaustauscher
- $-\text{COO}^-$ schwach saure Kationenaustauscher
- $-\text{N}(\text{CH}_2\text{COO}^-)_2$ Chelatharze
- $-\text{NR}_3^+$ stark basische Anionenaustauscher (R: $-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ u.a.)
- $-\text{N}(\text{CH}_3)_2\text{H}^+$, $-\text{NH}_2^+$, $-\text{NH}_3^+$ schwach basische Anionenaustauscher.

Die Aufnahme von Metallionen erfolgt meistens im Austausch gegen Na^+ - oder H^+ - Ionen und bei Anionen gegen OH^- oder Cl^- - Ionen. Eine allgemeine Reaktionsgleichung für einen Ionenaustausch lautet :



R ist dabei der unlösliche Anteil mit dem beladenen, auszutauschenden Ion I. M ist das geladene Ion in der Lösung (z.B. Metallion), welches an den Ionenaustauscher gebunden werden soll. Die aufgenommenen Ionen werden meist durch Säure, seltener durch Lauge und Salze, eluiert. Für die Entfernung von Metallionen kommen in der Regel nur selektive, schwach saure Ionenaustauscher und Chelatharze zum Einsatz, die gewöhnlich in der Natriumform vorliegen. (Dorfner, 1991; Röhrich et al., 1993)

2.3.2 Biosorption

Die Beobachtung einer Anreicherung von Schwermetallen im Klärschlamm führte zu ersten Untersuchungen dieses Phänomens. Es wurde entdeckt, dass Mikroorganismen für diese Metallbindung verantwortlich sind (Volesky, 1990; Berends und Hartmeier, 1992). Dabei kann zwischen zwei verschiedenen Mechanismen unterschieden werden (Volesky, 1990; Berends und Hartmeier, 1992; Fehrmann et al., 1993; Wase und Forster, 1997):

a) Biosorption

- Überbegriff für eine Reihe verschiedener chemischer Reaktionen, die zur passiven Anlagerung (Sorption) von Schwermetallen an biologischen Molekülen führen (Komplexierung, Chelatbildung, Ionenaustausch, Adsorption und Mikropräzipitation)
- reversible, schnelle Reaktion der Metallionen mit den funktionellen Gruppen der Zellwandpolymere lebender oder toter Organismen

b) Bioakkumulation

- aktive (langsame) Aufnahme der Metalle durch lebende Organismen, die dabei Energie verbrauchen

Geisweid und Urbach (1982) und Fehrmann und Pohl (1993) berichten, dass ungefähr 90% der insgesamt durch Algenbiomasse aufgenommenen Cadmiummenge in den ersten fünf bis zehn Minuten durch Biosorption angelagert wird und nur 10% des Cadmiums in den folgenden Stunden und Tagen durch Bioakkumulation in den Organismus gelangt.

Mikroorganismen und pflanzliches und tierisches Material, wie z.B. Sägespäne und Chitin, können Biosorbentien mit großer Bindungskapazität für verschiedene Metalle darstellen, wobei auch tote Zellmasse sehr wirksam ist (Holan und Volesky, 1995). In der Mehrzahl wurden die Untersuchungen in den letzten Jahren an toter Biomasse durchgeführt (Greene und Darnall, 1990; Aksu und Kutsal, 1991; Fehrmann und Pohl, 1993; Holan et al., 1993; Holan und Volesky, 1994; Winter et al., 1994; Volesky und Holan, 1995). Nur wenige Artikel beschäftigen sich mit der Untersuchung an lebender Biomasse (Geisweid und Urbach, 1982; Seferlis

und Haritonidis, 1995). Der Einsatz toter Biomasse ist wirtschaftlich besonders interessant, da die Biomaterialien wie synthetische Adsorbentien oder Ionenaustauscher als Reaktorfüllmaterial eingesetzt und mehrfach regeneriert werden können (Winter et al., 1994; Bakkaloglu et al., 1998; Matheickal und Yu, 1996; Winter et al., 1994; Volesky und Holan, 1995).

Volesky und Holan (1995) und Veglio und Beolchini (1997) zeigen in Übersichtsartikeln über die Entfernung von Metallen durch Biosorption, dass Algen, Bakterien, Hefen und Pilze sich als gute Schwermetalladsorber erweisen. In einer Übersichtstabelle werden die Metalle und die jeweiligen als Biosorbentien geeigneten Organismen aufgelistet. Die untersuchten Metalle umfassen Chrom, Kobalt, Nickel, Kupfer, Zink, Cadmium, Silber, Gold, Blei, Thorium und Uran.

Der Wissensstand zur Biosorption der zu untersuchenden Metalle ist in Tab. 2–5 für ausgewählte Biosorbentien beispielhaft dargestellt. Die Zusammenstellung verdeutlicht die hohe Aufnahmefähigkeit verschiedener Biosorbentien für Metalle, wobei zwischen den einzelnen Materialien erhebliche Unterschiede bestehen. Besonders marine Makroalgen haben eine große Bedeutung in der Forschung und Entwicklung von neuen Biosorbentien, weil sie zum Teil höhere Kapazitäten als klassische Ionenaustauscher aufweisen und in unbegrenzter Menge in den Ozeanen vorkommen (Leusch et al., 1995; Leusch et al., 1996; Volesky und Holan, 1995, Garnham, 1997; Yu et al., 1999, Matheickal und Yu, 1999).

Die Eignung von Mikroalgen als Biosorbentien ist dagegen wenig untersucht, obwohl sie eine große biotechnologische Bedeutung als Produzenten von Naturstoffen besitzen und ebenfalls gute Biosorptionseigenschaften zeigen (Fehrmann und Pohl, 1993; Wong und Tam, 1998; Matsunaga et al., 1999; Bunke et al., 1999). Fehrmann und Pohl (1993) zeigten das vor allem Blaualgen in den Untersuchungen hervorragende Biosorptionseigenschaften besitzen. Die Abfallbiomassen der Mikroalgen, beispielsweise aus einer Naturstoffproduktion, sind äußerst kostengünstig (Fehrmann und Pohl, 1993; Sandau et al., 1996).

Tab. 2–5: Bindungskapazität ausgewählter Biosorbentzien

	Biomasse	Einordnung	Beladung (mmol/g)*	Referenz
Cd	<i>Ascophyllum nodosum</i>	Alge	1,73	Holan et al., 1993
	<i>Durvillaea potatorum</i>	Alge	1,18	Yu et al., 1999
	<i>Candida tropicalis</i>	Hefe	0,53	Mattuschka et al., 1993
	<i>Penicillium chrysogenum</i>	Pilz	0,50	Holan und Volesky, 1995
	<i>Ectocarpus silicolosus</i>	Alge	0,36	Winter et al., 1994
	<i>Rhizopus arrhizus</i>	Pilz	0,22	Volesky, 1992
Cu	<i>Bacillus subtilis</i>	Bakterie	2,39	Brierley und Brierley, 1993
	<i>Arthrobacter spezie</i>	Bakterie	2,33	Veglio et al., 1997
	<i>Saragassum fluitans</i>	Alge	1,86	Leusch et al., 1996
	<i>Durvillaea potatorum</i>	Alge	1,30	Matheickal und Yu, 1999
	<i>Candida tropicalis</i>	Hefe	1,26	Mattuschka et al., 1993
	<i>Chlorella vulgaris</i>	Alge	0,67	Aksu et al., 1992
Ni	<i>Saragassum fluitans</i>	Alge	1,28	Leusch et al., 1996
	<i>Fucus vesiculosus</i>	Alge	0,68	Holan und Volesky, 1994
	<i>Ascophyllum nodosum</i>	Alge	0,51	Holan und Volesky, 1994
	<i>Candida tropicalis</i>	Hefe	0,34	Mattuschka et al., 1993
	<i>Rhizopus arrhizus</i>	Pilz	0,31	Fourest und Roux, 1992
	<i>Arthrobacter spezie</i>	Bakterie	0,22	Veglio et al., 1997
Pb	<i>Fucus vesiculosus</i>	Alge	1,79	Holan und Volesky, 1994
	<i>Saragassum fluitans</i>	Alge	1,78	Leusch et al., 1996
	<i>Durvillaea potatorum</i>	Alge	1,55	Matheickal und Yu, 1999
	<i>Rhizopus nigricans</i>	Pilz	0,80	Holan und Volesky, 1995
	<i>Arthrobacter spezie</i>	Bakterie	0,63	Veglio et al., 1997
	<i>Streptomyces longwoodensis</i>	Pilz	0,48	Mattuschka et al., 1993
Zn	<i>Saragassum fluitans</i>	Alge	1,16	Leusch et al., 1996
	<i>Candida tropicalis</i>	Hefe	0,46	Mattuschka et al., 1993
	<i>Ascophyllum nodosum</i>	Alge	0,39	Bakkaloglu et al., 1998
	<i>Rhizopus arrhizus</i>	Pilz	0,31	Tobin et al., 1984
	<i>Pseudomonas syringae</i>	Bakterie	0,12	Cabral, 1992
	<i>Bacillus spezie</i>	Bakterie	0,05	Cotoras et al., 1993

* höchster, beschriebener Beladungswert

2.3.2.1 Mechanismus der Biosorption

Das Biosorptionsmaterial kann als eine Art "biologischer Ionenaustauscher" betrachtet werden. Die Biosorption stellt eine temperaturabhängige Gleichgewichtsreaktion zwischen der Oberfläche der Biomasse und des Metalls in Lösung dar. Diese Adsorptionsvorgänge werden unter isothermen Bedingungen durch die Adsorptionsmodelle von Langmuir und Freundlich beschrieben. Die Biosorption der Schwermetalle wird, wie Christ et al. (1988, 1990, 1992, 1994, 1999) und Volesky und Holan (1995) zeigten, quantitativ am besten durch die Langmuir-Adsorptionsisotherme beschrieben. Nur für kleine Gleichgewichtskonzentrationen in der Lösung gilt die Freundlich-Adsorptionsisotherme, da Freundlich eine max. Beladung der Oberfläche des Adsorbens in seinem Modell nicht vorsieht.

Christ et al. (1988, 1990, 1992, 1994, 1999) untersuchten die Wechselwirkung von Metallen und Protonen mit Algen und konnten dadurch einige chemische Vorgänge bei der Biosorption aufklären. Sie identifizierten verschiedene funktionelle Gruppen, wie negativ geladene Carboxyl- und Sulfatgruppen, aber auch OH-, SH- und NH-Gruppen der Algenzellwand als Bindungsstellen für die Metalle. Ein Ionenaustauschprozess in Abhängigkeit vom pH-Wert konnte als wichtiger Mechanismus der Biosorption an *Vaucheria* gezeigt werden. Desweiteren waren ungeladene Aminogruppen besonders bei der Biosorption von Kupfer an *Vaucheria* beteiligt. Greene und Darnall (1990), zeigten, dass sich der optimale pH-Bereich für die Adsorptionsuntersuchungen von Cadmium und Blei an *Chlorella vulgaris* von pH 5 bis 7 erstreckt.

Gardea-Torresdey et al. (1990) beschreiben in einer Studie an fünf Algenarten ebenfalls die Bedeutung des Carboxylatanions für die Biosorption von Kupfer und Aluminium. Untersuchungen zur Entfernung von Cadmium und Blei mit der Alge *Saragassum fluitans* (Fourest und Volesky, 1996) und Kupfer, Strontium, Cadmium und Blei mit der Pflanze *Datura innoxia* (Lin und Rayson, 1998; Drake et al., 1996) aus wässrigen Lösungen bestätigten die Bedeutung von anionischen, funktionellen Gruppen der Zellwandpolymere (Tab. 2–4) für die Biosorption. Fehrmann und Pohl (1993) bestimmten für eine Vielzahl von Algen den Carboxyl- und Sulfatgruppengehalt und entdeckten einen besonders hohen Gehalt bei den Vertretern der Braunalgen. Die in vielen Arbeiten beschriebene hohe Bindungskapazität von Braunalgen wird durch diese Untersuchungen verständlich (Volesky und Holan, 1995; Matheickal und Yu, 1999; Yu et al., 1999).

Nach Erkennung der Bedeutung von anionischen funktionellen Gruppen auf der Oberfläche für die Biosorption der Metalle wurde versucht, zusätzliche ionenaktive Gruppen in die Zell-

wandpolymere einzubauen (Xie et al., 1996; Meisch und Gauer, 1998; Marshall et al., 1999; Kraemer und Meisch, 1999). In einem kürzlich erschienenen Übersichtsreferat berichten Meisch und Gauer (1998) von der Derivatisierung von Holz und Krabbenschalen zur Erzeugung von Ionenaustauschern für die Entfernung von Blei, Cadmium, Zink, Kupfer, Nickel sowie Kalzium, Eisen und Chrom aus wässrigen Lösungen. In die Biopolymere Cellulose, Hemicellulosen, Lignin und Chitin wurden Phosphorsäure-, Carboxyl-, Ethylendiamino und Iminodiacetatgruppen mit großem Erfolg eingeführt. Die Modifizierung führte sowohl zur Erhöhung der Kapazität als auch der Selektivität gegenüber einzelnen Metallen.

2.3.2.2 Möglichkeiten für den industriellen Einsatz

Die Biosorbentien können für die Verringerung der Schwermetallkonzentrationen in Ab-, Oberflächen- und Grundwässern eingesetzt werden. Es ist eine Reinigung der Wässer bis unter die für Trinkwasser geforderten Grenzwerte möglich (Berends und Hartmeier, 1992). Das biologische Ausgangsmaterial muss durch Immobilisierung so modifiziert werden, dass es wasserunlöslich wird und ein unerwünschter Austrag aus dem Reaktor nicht mehr möglich ist. Außerdem können strömungstechnische Probleme durch die bei der Immobilisierung weitgehend einstellbare Partikelform, -größe und -konsistenz beherrschbar gemacht werden (Hartmeier, 1986; Bunke et al., 1999). Es gibt schon Patente über den Einsatz von toter Biomasse, wie z.B. den AMT-BIOCLAIM-Prozeß, bei dem ein granuliertes Bacillus-Präparat eingesetzt wird (Brierley et al., 1986; Brierley, 1990). Desweiteren ist in den USA ein Biosorptionsmittel aus Algen erhältlich (AlgaSorbTM), das aus immobilisierten Algenzellen in Silicon besteht (Greene et al., 1987). Die Eisu GmbH in Wolfen produziert seit drei Jahren ein preiswertes Biosorbens aus modifizierten Holzabfällen, welches hervorragende Biosorptionseigenschaften besitzt (Kraemer et al., 2000).

Die Vorteile eines Biosorptionsverfahrens liegen zusammenfassend gegenüber den klassischen Verfahren in folgenden Punkten:

- günstige Kostensituation bei Biomaterialien
- hohe Schwermetallbindungskapazität
- Rückgewinnbarkeit der Metalle.

3 Problemstellung und Lösungsansätze

Im Sonderforschungsbereich (Sfb) 193 "Biologische Behandlung industrieller und gewerblicher Abwässer" der Technischen Universität Berlin wurden seit 1997 in zwei Teilprojekten (TP) Grundlagenkenntnisse über die Ausnutzung des natürlichen Prozesses der Biosorption von Schwermetallen an Algen für die Abwasserreinigung erarbeitet. Im Projekt F standen vor allem Mikroalgen im Mittelpunkt, die von ihrem biotechnologischem Potential vielversprechend sind. Die verwendeten Algen wurden in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. R. Buchholz am Institut für Biotechnologie der TU Berlin (TP F3) taxonomisch bestimmt und kultiviert.

Die Ziele des TP F2, in dessen Rahmen die vorliegende Arbeit angefertigt wurde, gliedern sich in folgende Schwerpunkte auf:

- Erarbeitung einer effektiven Analytik der zu untersuchenden Schwermetalle für den Projektbereich F
- Entwicklung einer Methode für ein effizientes Screening einer Vielzahl von Algen zur Erkennung der für die Abwasserreinigung geeignetsten Spezies
- Untersuchungen der Biosorptionseigenschaften ausgewählter Spezies
- Charakterisierung des Mechanismus der Biosorption und Möglichkeiten zur Beeinflussung der Bindungsspezifität und -kapazität durch chemische Modifizierung der Biosorbentien.

Im TP F3 sollten diese Ergebnisse auf ein anwendungsorientiertes Verfahren zur Abwasserreinigung übertragen werden.

Die Vielzahl von zu analysierenden Schwermetallproben aus beiden Projekten erforderte eine sehr effektive Analytik. Der Einsatz der GF-AAS mit entsprechender Automatisierung sollte zeigen, ob sich diese Methode als robust und für die Routineanalytik geeignet erweisen wird, um die Probenmenge zu bewältigen.

Das Ziel der ersten Projektphase besteht in der Etablierung einer Screeningmethode. Die Screeningmethode leitet sich aus Arbeiten mit der Chlorophyceae *Chlorella vulgaris* ab. Die Alge soll als Standard für die Screeninguntersuchungen eingesetzt werden.

Danach sollten die Biosorptionseigenschaften der leistungsfähigsten Algen im Screening weiter untersucht werden. Durch die Aufnahme von Adsorptionsisothermen zur Bestimmung der Kapazitäten, Untersuchungen zur Selektivität, der Einfluss von Faktoren wie pH und Erdalka-

lialze und Desorptionsuntersuchungen sollten diese weiter charakterisiert werden, um schließlich mit einem realem Abwasser überprüft zu werden.

In Hinblick auf eine Anwendung der Algen als Schwermetalladsorbens, speziell für die Beeinflussung der Biosorptionseigenschaften der Algen, ist die Kenntnis der chemischen Vorgänge während der Biosorption der Metalle sehr wichtig. Die Charakterisierung der Bindungsstellen der Metalle an der Oberfläche der Algen ist von besonderer Bedeutung. Eine gezielte Blockierung von funktionellen Gruppen der Algenzellwand sollte zeigen, ob diese Gruppen wirklich entscheidend an der Biosorption beteiligt sind. Mittels Elementaranalyse der Algen, Extraktion von Zellwandbestandteilen und Analyse der Zuckermonomeren der Zellwandpolysaccharide ausgesuchter Algen sollten die Bindungsstellen weiter charakterisiert werden. Schließlich werden spektroskopische Verfahren wie FT-IR Spektroskopie und Rasterelektronenmikroskopie (REM) in Kombination mit einer Röntgenmikroanalyse eingesetzt, um wichtige Erkenntnisse zur Zusammensetzung und Struktur der Algenoberfläche zu gewinnen. Zur weiteren Charakterisierung der Biosorbentien sollten auch Untersuchungen zur spezifischen Oberfläche durchgeführt werden.

Der Schwerpunkt der letzten Projektphase sollten Untersuchungen zur Beeinflussung der Bindungsspezifität und -kapazität durch Einbau zusätzlicher funktioneller Gruppen in die Zellwandpolysaccharide bilden. Dazu werden Verfahren zur Einführung von Carboxyl- und Phosphatgruppen in die Biopolymere ausgewählter Algen auf ihre Anwendbarkeit überprüft.

4 Material und Methoden

4.1 Materialien

Alle verwendeten Chemikalien, sonstigen Materialien und Geräte sind detailliert zu den einzelnen Methoden (Kap. 4.3 - 4.6) im Anhang dargestellt. Auf spezielle Materialien soll in den folgenden zwei Kapiteln näher eingegangen werden

4.1.1 Algenbiomasse

Die verwendeten Algenarten sind aus der Stammsammlung für Algen in Göttingen (SAG) und der Stammsammlung des Instituts für Biotechnology der TU Berlin (ISA) entnommen. Die Algen wurden im Institut für Biotechnologie kultiviert. Zu Details der Kultivierung sei auf die Dissertation von Wilke (2001) verwiesen. Eine Ausnahme stellt die Alge *Vaucheria dichotoma* dar, die von Dr. Henschel direkt in der Ostsee geerntet und dem Projekt zur Verfügung gestellt wurde. In Tab. 4–1 sind die untersuchten Algen aufgelistet.

Tab. 4–1: Untersuchte Algen

Algenklasse	Algenart	Herkunft
Bacillariophyceae	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	SAG 1090-6
Bangiophyceae	<i>Porphyridium purpureum</i>	SAG 112.79
Chlorophyceae	<i>Acinastrum hantzschii</i>	ISA
	<i>Ankistodesmus densus</i>	SAG 202-1
	<i>Chlorella kessleri</i>	SAG 211-11g
	<i>Chlorella salina</i>	SAG 8.86
	<i>Chlorella spezies</i>	ISA
	<i>Chlorella vulgaris</i>	SAG 211-11b
	<i>Dunaliella bioculata</i>	SAG 19-4
	<i>Dunaliella salina</i>	SAG 184.80
	<i>Gloeotilopsis planctonica</i>	SAG 29.93
	<i>Granulocystis verrucosa</i>	SAG 56.81

Algenklasse	Algenart	Herkunft
Chlorophyceae	<i>Koliella spiculiformis</i>	ISA
	<i>Raphidonema spiculiforme</i>	ISA
	<i>Tetraselmis spezie</i>	ISA
Cyanophyceae	<i>Anabaena cylindrica</i>	SAG 1403-2
	<i>Anabena inaequalis</i>	SAG 1403-10
	<i>Arthronema africanum</i>	ISA
	<i>Gloeotrichia longicauda</i>	SAG 32.84
	<i>Lyngbia taylorii</i>	ISA
	<i>Microcystis aeruginosa</i>	SAG 14.85
	<i>Microcystis spezie</i>	ISA
	<i>Nostoc parmeloide</i>	ISA
	<i>Phormidium spezie</i>	ISA
	<i>Scytonema hofmani</i>	ISA
	<i>Spirulina laxissima</i>	SAG B 256.80
	<i>Spirulina maxima</i>	SAG B 84.79
	<i>Spirulina platensis</i>	SAG 257.80
<i>Synechococcus spezie</i>	ISA	
Eustigmatophyceae	<i>Eustigmatos magnus</i>	SAG 36.89
Xanthophyceae	<i>Vaucheria dichotoma</i> ^a	Ostsee, Finnland

^a Die Alge wurde von Dr. D. Henschel (Universität Bremen) im Rahmen eines einmonatigen Forschungsaufenthalts im Sfb 193 bereitgestellt.

4.1.2 Vergleichssorbenzien

Zur Einordnung der Biosorptionsleistungen der Algen wurden andere Sorbenzien unter gleichen Bedingungen untersucht. Die verwendeten Sorbenzien sind in Tab. 4–2 aufgeführt.

Tab. 4–2: Vergleichssorbentien

Sorbens	Spezifikation, Hersteller
Carbion	Ionenaustauscher; Eisu GmbH, Wolfen
Chitosan	Polysaccharid; Prof. Buchholz, Institut für Biotechnologie, TU Berlin
DW 22	Ionenaustauscher; Mallinckrodt Baker, Griesheim
Glucaferm	Abfallbiomasse (<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , Hefe); Prof. Fleischer, Fermentation, Institut für Lebensmitteltechnologie, TU-Berlin
Klo-235	Polysaccharid; Prof. Buchholz, Fermentation, Institut für Biotechnologie, TU Berlin

4.2 Grundlagen der angewandten analytischen Verfahren

4.2.1 Atomabsorptionsspektroskopie

Die Atomabsorptionsspektrometrie ist die Messung einer Absorption von optischer Strahlung durch Atome im Gaszustand. Bei der AAS gilt das Lambert-Beerschen Gesetz (Gl. 4–1), daß heißt, es besteht eine lineare Beziehung zwischen der Extinktion (E), der durchstrahlten Schichtdicke (d) und der Konzentration (c) oder Anzahl der Atome in der Atomisierungseinrichtung.

$$\text{Gl. 4–1: } E = \epsilon * c * d \quad (\epsilon - \text{Absorptionskoeffizient})$$

Die wesentlichen Komponenten eines Atomabsorptionsspektrometers sind

- eine Strahlungsquelle, die das Spektrum des zu bestimmenden Elements aussendet,
- eine Atomisierungseinrichtung,
- ein Monochromator zur spektralen Zerlegung der Strahlung mit einem Austrittsspalt, der die Resonanzlinie aussondert,
- ein Detektor (Photomultiplier) der Strahlungsintensität, gefolgt von einem Verstärker und einem Anzeigegerät für die Meßwertausgabe.

Als Strahlungsquelle werden Hohlkathodenlampen (HKL) verwendet. Eine Hohlkathodenlampe besteht aus einem mit Neon oder Argon unter einem Druck von wenigen Hektopascal gefüllten Glaszylinder, in dem eine Kathode und eine Anode eingeschmolzen sind. Die Kathode hat die Form eines Hohlzylinders und ist aus dem zu analysierendem Element gefertigt. Wird eine Spannung von einigen hundert Volt zwischen den Elektroden angelegt, so entsteht

eine Glimmentladung, die die Gasmoleküle ionisiert. Die positiven Gasionen schlagen aus der Kathode Metallatome heraus und regen diese zur Strahlung ihres spezifischen Emmissionsspektrums an.

Als Atomisierungseinheiten werden bei der AAS die Flammen- oder die Graphitrohrfentechnik verwendet. In der vorliegenden Arbeit wird ausschließlich die Graphitrohrfentechnik angewandt und hier näher beschrieben. Ein Graphitrohrfentechnik besteht aus einem Graphitrohr, das von zwei gekühlten Graphitkontakten gehalten wird, die gleichzeitig der Stromzufuhr dienen. Durch Anlegen einer Spannung von z.B. 8 V und einer Stromstärke von 400 A lässt sich ein solches Graphitrohr durch Widerstandsheizung in wenigen Sekunden auf Temperaturen von etwa 3000 °C bringen. Eine Schutzgasströmung aus Argon verhindert das Verbrennen des Rohrs bei höheren Temperaturen. Es gibt drei verschiedene Ausführungen von Graphitrohren: zum einen normale Rohre aus Graphit, desweiteren pyrolytisch beschichtete Graphitrohre und Graphitrohre mit einer Plattform ("L'vov-Plattform"). Welz und Sperling (1997) und Manning und Slavin (1978) beschreiben eine bis zu 70 %ige Empfindlichkeitssteigerung bei pyrolytisch beschichteten Graphitrohren, die durch Pyrolyse von Kohlenwasserstoffen, z.B. Methan bei etwa 2000°C im Graphitrohr, hergestellt werden. Die Empfindlichkeitssteigerung lässt sich mit einem Verschließen von Rissen oder Fehlstellen im Graphitrohr erklären. Die "L'vov-Plattform" ermöglicht eine Atomisierung der Probe in eine thermisch stabilisierte Atmosphäre hinein, da diese Plattform nicht durch Widerstandsheizung sondern durch Strahlung von der Rohrwand aufgeheizt wird. Slavin et al. (1981) fanden damit weniger Störungen durch Gasinterferenzen. Die Atomisierung der Probe im Graphitrohr wird über ein vorgewähltes Temperaturprogramm gesteuert. Das Temperaturprogramm besteht im Prinzip aus vier verschiedenen Stufen: zum ersten aus einer Trocknung (10-30 s), zum zweiten aus einer thermischen Vorbehandlung, um Begleitsubstanzen möglichst weitgehend abzutrennen, drittens aus der eigentlichen Atomisierungsstufe (2-3 s) und abschließenden aus einer Reinigungsstufe. Zum Atomisieren des Elements wird ein rascher Temperaturanstieg gewählt, da die Atomwolken-dichte und damit die Empfindlichkeit um so größer wird, je schneller die Atomisierung erfolgt. Die Atomisierungstemperatur sollte auch nicht wesentlich überschritten werden, da bei höheren Temperaturen die Ausdehnung des Gases und die Verluste durch Diffusion aus dem Absorptionsraum zunehmen. (Naumer und Heller, 1997; Welz und Sperling, 1997)

Der Meßbereich der GF-AAS liegt in der Größenordnung von pg bis ng bzw. bei Dosier-volumina von üblicherweise 10 bis 50 µl im Konzentrationsbereich von ng/l bis µg/l.

4.2.1.1 Interferenzen in der GF-AAS

Die Anwesenheit von Begleitsubstanzen neben dem zu bestimmenden Element können Störungen (Interferenzen) verursachen. Diese Störungen werden eingeteilt in spektrale und nicht spektrale Interferenzen.

Die einzige bedeutende spektrale Interferenz ist die sog. Untergrundabsorption. Die zusätzliche Absorption von Strahlung durch Moleküle gasförmiger Stoffe und die Strahlungsstreuung an Partikeln verursachen diese Untergrundabsorption. Ursache für diese Interferenz ist eine nicht vollständige Entfernung von Matrixbestandteilen während der Vorbehandlungsphase. Shekiro und Skogerboe (1988) konnten durch Aufnahmen von Absorptionsspektren während der Atomisierung zeigen, dass die Störungen von Natriumchlorid und anderen Chloriden durch eine zusätzliche Molekülabsorption zur eigentlichen Atomabsorption verursacht wurden. Die Spektren der Chloride sind durch breite Absorptionsmaxima in einem Bereich von 200-300 nm gekennzeichnet. Der entscheidende Unterschied zwischen der Atomabsorption und der Molekülabsorption besteht im Spektralbereich der Absorption. Die Atomabsorption hat einen sehr engen Spektralbereich von nur wenigen Tausendstel Nanometer. Im Gegensatz dazu ist die Molekülabsorption relativ breitbandig. Dieser Unterschied wird in der AAS ausgenutzt, um die Interferenzen durch die Untergrundabsorption zu beseitigen. In der GF-AAS wird die Untergrundkorrektur mit einem Kontinuumstrahler oder durch Ausnutzung des Zeeman-Effekts durchgeführt. Für die Untersuchungen wird ein GF-Atomabsorptionsspektrometer mit Kontinuumstrahler (D₂-Lampe) verwendet. Auf eine Erläuterung des Zeeman-Effektes wird deshalb verzichtet. Die Untergrundkorrektur mit einem Kontinuumstrahler beruht auf dem Prinzip, dass die Absorption in rascher Folge (z.B. 50 Hz) abwechselnd mit einem Linienstrahler (Hohlkathodenlampe) und einem Kontinuumstrahler (Deuteriumlampe) gemessen wird. Die Strahlung der Hohlkathodenlampe wird durch die Atom- und die Untergrundabsorption gleichermaßen geschwächt, die des Kontinuumstrahler dagegen praktisch nur durch die Untergrundabsorption, da die Atomabsorption im Vergleich zu der eingestellten Bandbreite (0,2 nm) nur in einem sehr engen Spektralbereich erfolgt. Die Extinktion der Probenatome wird durch Subtrahieren der Extinktion der Kontinuumstrahlung von der der Linienstrahlung bestimmt. Das Kompensationsverfahren funktioniert allerdings nur bis zu einer Untergrundextinktion von 1 zuverlässig. Bei starken spektralen Interferenzen, die nicht mit einer Untergrundkompensation beseitigt werden können, ist der Einsatz von sog. chemischen Modifiern nötig. Der Zusatz solcher Modifier soll ermöglichen, dass die störenden Matrixbestandteile vor dem Atomisierungsschritt aus dem Graphitrohr entfernt werden. Der Modifier kann zum einen den Siedepunkt der Matrix erniedrigen (Matrixmodifier: z.B. Ammonium-

nitrat) oder den Analyten stabilisieren (Analytmodifizier: Palladiumnitrat) und somit höhere Verarschungstemperaturen erlauben. (Naumer und Heller, 1997; Welz und Sperling, 1997; Schlemmer und Radziuk, 1999)

Bei den nicht-spektralen Interferenzen wird die Anzahl Atome des zu bestimmenden Elements im Absorptionsvolumen direkt beeinflusst. In der GF-AAS spielen zwei Arten von nicht-spektralen Interferenzen eine besondere Rolle. Die sogenannte Verdampfungsinterferenz tritt dann auf, wenn das zu bestimmende Element in Anwesenheit einer Begleitsubstanz bei einer niedrigeren Temperatur verflüchtigt wird als in Abwesenheit dieser Substanz. Es besteht die Gefahr, dass während der thermischen Vorbehandlung Verluste an dem zu bestimmenden Element auftreten. Die sog. Gasphaseninterferenz wird beobachtet, wenn das betreffende Element nicht vollständig in Atome dissoziiert. Ursache hierfür kann in einer Stabilisierung des Elements durch die Matrix gesehen werden. Die nicht-spektralen Störungen können durch eine Standardaddition korrigiert werden. (Naumer und Heller, 1997; Welz und Sperling, 1997; Schlemmer und Radziuk, 1999)

4.2.2 Gaschromatographie (GC)

Zur Trennung von Stoffgemischen werden in der chemischen Analytik chromatographische Verfahren eingesetzt. Aufgrund verschiedener Wechselwirkungen der Analyten mit der stationären und der mobilen Phase werden diese unterschiedlich lange zurückgehalten (retardiert), was zur Auftrennung des Gemisches führt. Das Prinzip der Adsorptionschromatographie sind verschieden starke Adsorptionen der Analyten an der stationären Phase. Die Verteilungschromatographie beruht auf unterschiedlichen Verteilungskoeffizienten der Analyten in beiden Phasen.

Die GC, vor allem die Kapillar-GC stellt im Hinblick auf die Messempfindlichkeit und Auflösung der chromatographischen Trennung (Trennleistung) ein besonders leistungsfähiges Verfahren dar. Die flüssige stationäre Phase befindet sich als durchgehender und gleichmäßiger Film von etwa 0,05 bis 10 μm Dicke auf der Innenwand einer Kapillare, die von einem inerten Trägergas als mobile Phase durchströmt wird. Voraussetzung für die GC ist, daß sich die Analyten möglichst unzersetzt verdampfen lassen. Die Maskierung polarer funktioneller Gruppen wie Hydroxyl- oder Carboxylgruppen durch eine Derivatisierung verbessert die Flüchtigkeit und Gaschromatographierbarkeit. Dies geschieht durch die Herabsetzung polarer Wechselwirkungen mit freien Silanolgruppen des Säulenmaterials, die zur unsymmetrischen Signalverbreiterung (Peaktailing) und Substanzverlust führen können.

Die GC kann durch Auswahl von stationären Phasen unterschiedlicher Polaritätsgrade und Optimierung der Temperaturprogramme an verschiedenste Trennprobleme angepasst werden. Die wichtigste Klasse der stationären Phasen bilden die Polysiloxane, die sich durch Einführung verschiedener Substituenten, wie Methyl-, Phenyl-, Vinyl-, Cyanopropyl- und Trifluorpropylgruppen in ihrer Polarität variieren lassen.

Mit der GC können eine Vielzahl empfindlicher sowohl universeller (Flammenionisationsdetektor - FID) als auch selektiver Detektoren (Atomemissionsdetektor, Massenspektrometer) gekoppelt werden.

Ausführliche Grundlagen der Gaschromatographie finden sich in Übersichtsarbeiten von Jennings (1987) und Schomburg (1987). In der vorliegenden Arbeit wurde die Headspace-GC (HS-GC) in Kombination mit einem FID als Detektorsystem angewandt. Im folgenden soll auf Besonderheiten dieser eingesetzten Techniken näher eingegangen werden.

4.2.2.1 Statische Headspace-Gaschromatographie

Die statische Headspace-GC nutzt die Gleichgewichtsverteilung von Analyten zwischen einer flüssigen oder festen Probenmatrix und einem darüber befindlichen Gasraum (*head space*) in einem geschlossenen, thermostatisierten Gefäß. Ein Teil des mit den Analyten beladenen Gasraums wird der gaschromatographischen Analyse zugeführt. In der Praxis erfolgt dies fast immer automatisiert, so dass von einer kombinierten Extraktions-/Injektionsmethode gesprochen werden kann. Die Headspace-GC bietet den Vorteil, dass die Analyten gasförmig ohne Lösungsmittel auf die Säule überführt werden. Dadurch wird die Verunreinigung des Systems mit nicht verdampfbaren Probenbestandteilen vermieden. Lösungsmittelpicks und die damit verbundenen möglichen Interferenzen mit den Analyten treten nicht auf.

Für empfindliche Bestimmungen sind hohe Konzentrationen in der Gasphase günstig. Sie treten bei kleinem Verteilungskoeffizienten und / oder großem Probevolumen (kleinem Phasenverhältnis) auf. Der Verteilungskoeffizient ist umgekehrt proportional zur Henry-Konstante und damit abhängig sowohl vom Dampfdruck als auch von der Wasserlöslichkeit einer Substanz (Schwarzenbach et al., 1993). Deshalb können auch Verbindungen mit niedrigem Dampfdruck analysiert werden, wenn ihre Wasserlöslichkeit gering ist. Quantitative Messungen sind besonders einfach, wenn der Verteilungskoeffizient unabhängig von der Analytkonzentration ist, d.h. im Bereich „ideal verdünnter Lösung“ eines Analyten (Geltungsbereich des Henryschen Gesetzes; Kolb et al., 1995). Dieser Bereich ist stark abhängig von den chemischen Eigenschaften der zu untersuchenden Substanz; er reicht von etwa 0,1% (unpolare, wenig lösliche Verbindungen) bis über 10% (niedere Alkohole; Kolb et al., 1995).

Der lineare Bereich ist damit in den meisten Fällen auch für Messungen wenig „idealer“ Verbindungen ausreichend, da die überwiegende Zahl der Headspace-Anwendungen für diese Substanzen im ppb - ppm Bereich arbeiten.

4.2.2.2 Flammenionisationsdetektion

Das Prinzip des Flammenionisationsdetektors (FID) basiert auf der Verbrennung des GC-Eluates in einer Wasserstoffflamme. Kohlenstoffhaltige Verbindungen bilden bei ihrer Verbrennung positiv geladene Zwischenprodukte (Formylkation), die an einer Kathode in der Nähe der Flamme detektiert werden können. Der FID zeigt nahezu alle Kohlenstoffverbindungen mit annähernd gleicher Empfindlichkeit an (Ausnahmen sind stark oxidierte C₁-Verbindungen wie CO₂, Ameisensäure oder Tetrachlormethan). Er gilt deshalb neben dem Wärmeleitfähigkeitsdetektor als der unselektivste GC-Detektor. Die Nachweisempfindlichkeit der Detektion erreicht 50 pg absolut (Mol et al., 1995).

Vorzüge des FID sind die hohe Stabilität des Signals, die seltenere Kalibriermessungen erlaubt und der große lineare Meßbereich von 6 Größenordnungen (Mol et al., 1995).

4.2.3 Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC)

Die HPLC ist eine trennanalytische Methode für in Flüssigkeiten lösliche Stoffgemische, sie kann aber auch für präparative Zwecke eingesetzt werden. Die mobile Phase ist eine Flüssigkeit (Eluent) und wird im Vergleich zur konventionellen Säulenchromatographie unter hohem Druck durch die Säule gepumpt, wodurch unter anderem die Leistungsfähigkeit gesteigert werden konnte. Im Gegensatz zur GC bei der die Anpassung des Systems an das Trennproblem nur durch Änderung der stationären Phase und bedingt der Temperatur möglich ist, hängt die Trennung bei der HPLC von der Wahl der stationären und (veränderbaren) mobilen Phase und ihrem Zusammenspiel gleichermaßen ab. Aufgrund der unterschiedlichen stationären Phasen werden verschiedene Trennmethode unterschieden: Die Ausschlußchromatographie, die nach Molekülgröße klassifiziert, die NP-HPLC (NP = normal phase, Normalphase), die auf polaren Wechselwirkungen (Adsorptionschromatographie und Verteilungschromatographie) basiert, die RP-HPLC (RP = reverse phase, Umkehrphase), deren Trenneffekt auf apolaren Wechselwirkungen (Adsorptions- und Verteilungschromatographie) beruht und die Ionenaustauschchromatographie, welche aus Wechselwirkungen der ionischen Gruppen der stationären Phase mit den ionischen Probemolekülen resultiert. (Meyer, 1992)

Die HPLC wurde im Rahmen dieser Arbeit für die Bestimmung von Monosacchariden der Zellwandhydrolysate der Algen angewandt. Die Analyse erfolgte mittels Trennung der Zu-

cker an einer Anionenaustauschersäule und anschließender elektrochemischer Detektion (PAD). Die Grundlagen der verwendeten HPLC Methode wird im folgenden näher erläutert.

4.2.3.1 Hochleistungsanionenaustauschchromatographie (HPAEC) mit elektrochemischer Detektion

Zur Analytik der neutralen und sauren Monosaccharide der Zellwandhydrolysate wurden Säulen der Firma Dionex verwendet. Am Beispiel der Anionenaustauschersäule Carbopak PA1 von Dionex soll der Aufbau solcher Säulen gezeigt werden. Das Grundgerüst der Carbopak PA1 besteht aus oberflächensulfonierten Polystyrol-Divinylbenzol (PS-DVB) mit einem Vernetzungsgrad von 5%. Dieses polymere Harz (Teilchendurchmesser 10 μm) zeichnet sich durch hohe mechanische und chemische Stabilität im gesamten pH-Bereich (0-14) aus. Träger der eigentlichen Anionenaustauscherfunktionen sind sehr kleine Latexteilchen mit $-\text{NR}_3^+$ -Gruppen ($\varnothing = 0,1 \mu\text{m}$), die durch elektrostatische Wechselwirkungen auf dem PS-DVB fixiert sind. Analytationen treten nur mit den funktionalisierten Latexteilchen in Wechselwirkung, ein Eindringen in das PS-DVB-Harz ist wegen der elektrostatischen Abstoßung nicht möglich. Aus dieser Säulenkonstruktion resultieren geringe Diffusionswege und ein schneller Massentransport, was sich auf die Trennstufenhöhe positiv auswirkt. Die Retention der Anionen nimmt mit steigendem Molekulargewicht und sinkendem pK_a -Wert zu. Für Saccharide ergibt sich deshalb folgende Elutionsreihenfolge: Zuckeralkohole < Monosaccharide < Disaccharide < Uronsäuren < Oligo- und Polysaccharide. Die Retention der anionischen Analyten ist stark von der Hydroxidionenkonzentration und der Ionenstärke im Eluenten abhängig. Acetat- und Carbonationen im Eluenten verkürzen die Retentionzeit der Analyten wegen ihrer höheren Ionenstärke im Vergleich zu Natriumhydroxid. Zur Detektion der Analyten wird die HPAEC mit elektrochemischen oder massenspektroskopischen Detektoren gekoppelt. Als elektrochemischer Detektor wird heute hauptsächlich der gepulste amperimetrische Detektor (PAD) eingesetzt. (Lee, 1990; Stumm, 1994; Weitzhandler et al., 1996; Wunschel et al., 1997; Cataldi et al., 2000)

4.2.3.1.1 Gepulster amperimetrischer Detektor (PAD)

Der PAD detektiert den elektrischen Strom, der aus der Oxidation der im alkalischen Eluenten gebildeten Oxyanionen resultiert. Der Aufbau der Dünnschicht-Messzelle des in der Arbeit verwendeten Detektors der Firma Dionex ist in Abb. 4–1 dargestellt. Die Messzelle besteht aus einer Drei-Elektroden-Anordnung, die für eine amperimetrische Arbeitsweise (weniger als 10% Stoffumsatz) ausgelegt ist. Zwischen einer Gold-Arbeits Elektrode und einer Silber-Referenzelektrode wird ein geeignetes Messpotential angelegt, das mit Hilfe einer Stahl-

Gegenelektrode (Hilfselektrode) konstant gehalten wird. Das Messpotential wird so gewählt, dass die Analytmoleküle selektiv und empfindlich analysiert werden können. Die Analytmoleküle, die die Messzelle passieren, werden oxidiert, der resultierende Stromfluss wird verstärkt und als Messsignal aufgezeichnet. Bei der gepulsten Arbeitsweise werden in schneller Folge nach dem Messpotential (E1) zwei Potentiale zur Reinigung der Elektrodenoberfläche durchlaufen (1 Zyklus = 720 ms). Bei einem Potential von 0,65 V (E2) werden Oxidationsprodukte entfernt und die Elektrodenoberfläche oxidiert. Das stark negative Potential E3 (-0,8 V) bewirkt die Reduktion des Goldoxidfilms, der die Oxidation von Kohlenhydraten in alkalischer Lösung inhibiert. (Stumm, 1994)

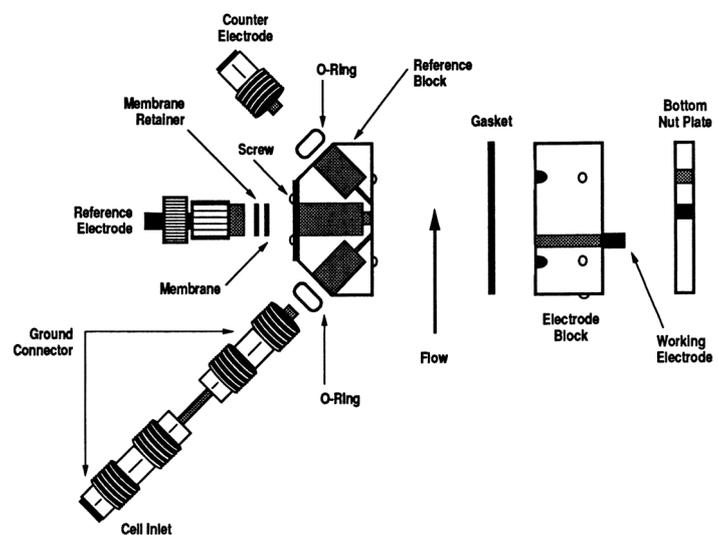


Abb. 4–1: Messzelle des PAD (Firma Dionex)

Um die Potentiale E1-E3 optimal setzen zu können, ist die Kenntnis der elektrochemischen Prozesse, die das jeweilige System aus Eluent, pH-Wert, Analyt und Elektrode charakterisieren und deren Einfluss auf das Signal-Rausch-Verhältnis erforderlich. Mit Hilfe der cyclischen Voltametrie können die geeigneten Messpotentiale ermittelt werden. So findet die Oxidation von Kohlenhydraten zwischen 0 und 0,25 V statt, gleichzeitig steigt jedoch auch der Hintergrundstrom, der aus der Oxidation der Goldelektrode zu Goldoxid resultiert. Das Messpotential wird daher zwischen 0,05 und 0,1 V gewählt. (Larew und Johnson, 1989)

4.2.4 FT-IR Spektroskopie

Die FT-IR Spektroskopie beruht auf einer Anregung von Schwingungen bzw. Rotationen in Molekülen mittels infrarotem Licht. In der FT-IR Spektroskopie werden drei Teilbereiche unterschieden. Das kurzwellige Nahe Infrarot (NIR: 800 nm – 2,5 µm), das Mittlere Infrarot (MIR: 2,5 – 50 µm) und das langwellige Ferne Infrarot (FIR: 50 – 1000 µm). Infrarotaktiv

sind nur Rotationen und Schwingungen von solchen Molekülen, die entweder ein permanentes Dipolmoment aufweisen oder bei denen sich während des Schwingungs- bzw. Rotationsvorganges das Dipolmoment ändert. Die periodische Änderung eines Dipolmoments kann nur mit ganz bestimmten Frequenzen erfolgen. Eine Energieabsorption tritt ein, wenn die Lichtfrequenz mit einer der möglichen Dipolfrequenzen übereinstimmt. Die Intensität der Absorption hängt von der Größe der Dipolmomentänderung und von der Richtung ab, die der Dipol zum Lichtvektor einnimmt. Aus apparativen Gründen wird bei der FT-IR Spektroskopie nicht direkt die spektrale Absorption der Untersuchungssubstanz, sondern die komplementäre Durchlässigkeit oder Transmission T gemessen. In FT-IR Spektren wird die Wellenzahl ν (cm^{-1}) über der Transmission T aufgetragen. Die Fläche unter den Bandenmaxima sind durch die absorbierte Strahlungsenergie charakterisiert. Die Verwendung der Extinktion anstatt der Transmission ist ebenfalls möglich ($E = \lg(100 / T)$). Zum detaillierten apparativen Aufbau sei auf die Literatur verwiesen. (Günzler und Heise, 1996; Naumer und Heller, 1997)

FT-IR Untersuchungen können an Proben in allen Aggregatzustände ausgeführt werden. Für Gase und Flüssigkeiten werden spezielle Küvetten verwendet. Für feste Materialien wird vor allem die KBr-Pressstechnik angewendet, die auch Gegenstand in dieser Arbeit war. Bei dieser wird die Substanz mit reinstem, getrocknetem Kaliumbromid (KBr) verrieben und das Pulver anschließend unter hohem Druck zu KBr-Scheiben verpresst. Die Eigenschaft des *kalten Fluss* bei Drücken von etwa 0,7 – 1,0 GPa der Alkalihalogenide wird hierbei ausgenutzt. Unter diesen Drücken sintert das Material und lässt sich zu einer durchsichtigen, einkristallähnlichen Scheibe verformen. Die KBr-Scheiben sind bis zu einer Wellenzahl von 400 cm^{-1} durchlässig. (Günzler und Heise, 1996; Naumer und Heller, 1997)

4.2.5 Rasterelektronenmikroskopie (REM)- Röntgenmikroanalyse

Der Einsatzbereich der REM dringt immer stärker in alle Bereiche vor, in denen feste Materie untersucht wird und das Lichtmikroskop wegen seiner begrenzten Auflösung nicht ausreichend ist. Das Lichtmikroskop hat eine Auflösungsgrenze von etwa $1 \mu\text{m}$ und die Schärfentiefe bei hohen Vergrößerungen beträgt ebenfalls nur etwa $1 \mu\text{m}$. Das Auflösungsvermögen eines konventionellen REM liegt bei etwa 4 nm , und die Schärfentiefe ist stets ein Vielfaches des lateralen Auflösungsvermögens.

Die Bilderzeugung geschieht beim REM durch sequentielle Übertragung der Informationen aller Bildpunkte, die mit einem Elektronenstrahl abgetastet werden. Der Elektronenstrahl wird von einer Kathode erzeugt und in Richtung Anode beschleunigt. Die Beschleunigungsspannung für die Elektronen erstreckt sich von einigen 100 V bis maximal 50 kV . Der Elekt-

ronenstrahl wird durch entsprechende Linsen bis zur Oberfläche der Probe auf einem Querschnitt von wenigen Nanometern gebündelt. Beim Eintritt der Elektronen (Primärelektronen) in den Festkörper treten verschiedene Arten von Wechselwirkungen mit den Atomen auf. Die von der Oberfläche der Probe emittierten Elektronen werden von Detektoren (Photomultiplier) aufgefangen und zu einem Bild verarbeitet. Die emittierten Elektronen werden nach ihrem Energiegehalt in Rückstreuetelektronen (RE; $E > 50$ eV) und Sekundärelektronen (SE; $E \leq 50$ eV) eingeteilt.

RE haben eine elastische oder eine unelastische Streuung am Kernpotential erfahren. Elastisch gestreute Elektronen erleiden bei dieser Wechselwirkung keine Energieverluste. Bei der unelastischen Streuung verlieren die Elektronen einen Teil ihrer Energie durch Bremsstrahlung im Kernfeld. Die Ausbeute an RE ist Abhängig von der Ordnungszahl des Atoms. Bei gleicher Primärelektronenenergie wird der Rückstreuanteil mit steigender Ordnungszahl größer. Daraus ergibt sich der Kontrast und die relative Empfindlichkeit im RE-Bild. Bereiche der Probe mit Elementen höherer Ordnungszahl sind im RE Bild als deutlich hellere Spots zu erkennen. RE-Bilder sind deshalb bei Fragestellungen zur Elementzusammensetzung der Oberfläche sehr hilfreich.

Zur Betrachtung der Oberfläche und zur Charakterisierung bestimmter Strukturen oder Formen werden hauptsächlich die SE verwendet. SE können die Probe nur aus einer sehr dünnen Schicht von einigen Nanometern an der Oberfläche verlassen, wodurch eine hohe Auflösung der Bilder erreicht werden kann. Als Sekundärelektronen werden Elektronen der Probeatome bezeichnet, die nach der Wechselwirkung mit Primärelektronen oder auch RE die Probe mit einer Energie von durchschnittlich 2-5 eV verlassen.

Die Primärelektronen können bei ausreichender Energie auch innere Elektronenschalen der Probeatome ionisieren. Bei der Rekombination entsteht eine charakteristische Röntgenstrahlung des betreffenden Elementes. Die Röntgenstrahlen werden von einem Detektor (Siliziumdetektor) aufgezeichnet und zu einem Röntgenspektrum der Probe verarbeitet. Die sog. Röntgenmikroanalyse ermöglicht es somit, die Elementzusammensetzung der Oberfläche zu analysieren.

Für weiterführende Details zur REM und Röntgenmikroanalyse wird auf die Übersichtsarbeit von Reimer (1998) verwiesen.

4.3 Metallanalytik – Methodenentwicklung

Details zu den verwendeten Chemikalien und Materialien sind in Tab. A–7 gegeben.

4.3.1 GF-AAS

Die Parameter des verwendeten GF-AAS sind im Anhang Tab. A–1 dargestellt. Die Methodenentwicklung orientierte sich an den DIN Normen für die Metalle und den Vorgaben des GF-AAS Herstellers. Die Analytik der Metalle erfolgte für Cd nach DIN EN ISO 5961 (1995), für Cu nach DIN 38406-7 (1991), für Ni nach DIN 38406-11 (1991), für Pb nach DIN 38406-6 (1981, 1998) und für Zink nach DIN 38406-8 (1980).

Die Temperaturprogramme für die Metalle wurden durch Variation der Vorbehandlungs- und Atomisierungstemperatur optimiert. Im Anhang in Tab. A–3 sind die verwendeten Temperaturprogramme dargestellt. Die Parameter wurden in regelmäßigen Abständen überprüft. Die verwendeten pyrolytisch beschichteten Graphitrohre hatten im Durchschnitt eine Lebensdauer von über 1000 Einzelanalysen. In der Laborroutine wurden deshalb die Graphitrohre nach 1000 Einzelanalysen gewechselt.

Alle Standards und Proben wurden zur Stabilisierung mit einer 0,1 N HNO₃ verdünnt (ISO 5667-3, 1994). Proben, die unverdünnt vermessen wurden, wurden mit konzentrierter Salpetersäure entsprechend angesäuert. Die Haltbarkeit der verwendeten Standardlösungen wurde an den entsprechenden DIN-Normen bzw. den Angaben der Hersteller orientiert. Nach DIN sind saure Lösungen (0,1 N HNO₃) mit einem Gehalt von 10 mg/L Cd, Cu, Ni bzw. Pb mindestens 1 Monat, von 5 mg/L Zn mindestens 1 Woche haltbar. Alle anderen Standards wurden täglich neu angesetzt.

Die Eichung erfolgte mit einer Mikropipettiereinheit (MPE). Es war so nur notwendig, den höchsten Eichstandard herzustellen. Alle weiteren Standards wurden automatisch von der MPE nach entsprechender Programmierung hergestellt. Die Eichung des System erfolgte mit dem entsprechenden Metall täglich. Jede Messreihe wurde mit einer abschließenden Vermessung des höchsten Standards zur Kontrolle der Stabilität des Systems beendet.

Alle Standards und Proben wurden fünffach im GF-AAS vermessen und gemittelt. Die relative Standardabweichung (RSD) der GF-AAS betrug bei allen Versuchen unter 3 %. Die Auswertung erfolgte mittels linearer oder quadratischer Regression der Daten aus der Kalibrierung. Aus den Regressionsdaten wurden die Konzentration des entsprechenden Metalls in der Probe berechnet.

Im Verlauf des Projektes mussten eine Vielzahl von Proben vom ppb bis zum ppm Bereich untersucht werden. Die Mehrzahl der Proben befand sich im ppm-Bereich. Der Standardarbeitsbereich der GF-AAS befindet sich jedoch Abhängig vom Metall im mittleren bis unteren ppb-Bereich. Somit wäre für eine Vielzahl von Proben ein hoher Arbeitsaufwand aufgrund von zusätzlichen Verdünnungen und daraus resultierend ein größerer zufälliger Fehler die Folge. Aus diesem Grunde wurde für jedes Metall neben dem ppb-Arbeitsbereich eine Methode im ppm-Arbeitsbereich entwickelt. Die Empfindlichkeit in der AAS wird neben der Atomisierungstechnik ganz entscheidend von der Wahl der Wellenlänge der Absorptionslinie des Elementes beeinflusst (Kap. 4.2.1). Neben der empfindlichsten Linie gibt es noch weitere Nebenlinien, die von den Metallen absorbiert werden (Welz und Sperling, 1997). Diese sind dann analytisch nutzbar, wenn deren Intensität ausreichend ist, um mit der Untergrundkompensation abgeglichen zu werden. Für alle Metalle konnte jeweils eine verwendbare Wellenlänge gefunden werden, wodurch der Arbeitsbereich des GF-AAS in den ppm Bereich erweitert werden konnte (Anhang Tab. A–2). In Tab. 4–3 sind die verwendeten linearen Arbeitsbereiche für die fünf Metalle dargestellt.

Tab. 4–3: Arbeitsbereiche der untersuchten Metalle mittels GF-AAS

Arbeitsbereich	Cd	Cu	Ni	Pb	Zn
ppb	0,2 - 5	1 – 25	4 - 100	4 - 100	4 – 80
ppm	0,04 - 1	0,04 - 1	0,04 - 1	0,4 - 10	0,4 – 10

Zur Vermeidung von Kontaminationen wurden in den beiden Arbeitsbereichen immer separate Maßkolben, Messbecher usw. verwendet.

4.3.2 Mikrowellenaufschluss

Die Parameter des verwendeten Mikrowellenaufschlussgerätes sind im Anhang Tab. A–4 dargestellt. 200 - 500 mg der Biomasse werden in speziellen PFA Behältern mit 5 ml HNO₃ (65%) und 2 ml H₂O₂ (30%) versetzt und in einen Druckaufschlussbehälter eingesetzt. Der Aufschluss der Probe erfolgte im Mikrowellenofen mit einem speziellen Aufschlussprogramm (Anhang Tab. A–5). Das Programm wurde an Vorschriften des Herstellers angelehnt. Nach dem Abkühlen der Probe wurde das Aufschlussgefäß vorsichtig geöffnet und die Proben in einen 25 mL Maßkolben überführt und mit Wasser aufgefüllt. Um Kontaminationen zu vermeiden und eine Reproduzierbarkeit zu gewährleisten ist es notwendig, dass alle verwendeten Kunststoffgefäße vor jedem Aufschluss mit konzentrierter Salpetersäure gespült werden. In

der Routine wurden jeweils 3-4 parallele Ansätze pro Probe und 2 Blindwerte aufgeschossen. Die Analytik der Metalle erfolgte nach Kap. 4.3.1.

4.3.3 Flammenphotometrie

Die Parameter des verwendeten Flammenphotometers sind im Anhang Tab. A-6 dargestellt. Die Flammenphotometrie wurde zur Analyse von Calcium verwendet, da dieses Element mittels GF-AAS aufgrund von Kontaminationen schwer zu bestimmen ist. Die Durchführung erfolgte analog zu Kap. 4.3.1. Der Arbeitsbereich für Calcium lag zwischen 5 und 25 ppm. Die Auswertung erfolgte mittels linearer Regression der Daten aus der Kalibrierung. Aus den Regressionsdaten wurde die Konzentration des entsprechenden Metalls in der Probe berechnet.

4.4 **Biosorptionsuntersuchungen – Methodenentwicklung**

Details zu den verwendeten Chemikalien, Materialien und Geräten sind in Kap. 4.1 und in Tab. B-1 gegeben.

4.4.1 Probenvorbereitung

Die frischen Algenzellen wurden durch Zentrifugation geerntet. Anschließend wurden die Algen mit Wasser gewaschen, um Nährmedienbestandteilen zu entfernen. Nach Erreichen einer Leitfähigkeit im Waschwasser kleiner 10 $\mu\text{S}/\text{cm}$ und einem pH-Wert kleiner 7, wurde die aufkonzentrierte Algensuspension eingefroren. Die gefrorenen Proben wurden anschließend gefriergetrocknet. Die Klassierung der gefriergetrockneten Biomasse erfolgte nach Zerkleinerung in einem Mörser bzw. bei größeren Chargen mittels einer Labormühle durch Siebe auf eine Größe von $< 250 \mu\text{m}$. Die Lagerung erfolgte im Exsikkator.

4.4.2 Biosorptionsversuche

Die gesamten Versuche wurden in speziellen Zentrifugenröhrchen (10 ml) aus Polycarbonat (PC) durchgeführt. Diese zeichnen sich durch eine hohe Stabilität während der Zentrifugation (bis 50000*g), einer großen Inertheit gegenüber Säuren und Schwermetallen (keine Adsorption an den Wänden) und einer großen Temperaturbeständigkeit (bis 130 °C) aus. Ein weiterer Vorteil bei der Benutzung der PC-Zentrifugenröhrchen ist ihre variable Einfüllmenge.

Für die Biosorptionsexperimente wurden 20 mg Biomasse in 9 ml Metallsalzlösung (pH 5-6) suspendiert. Die Batchversuche wurden nach 30 min durch Zentrifugation (10 min; 10000*g) der Suspension abgebrochen und der Überstand mittels GF-AAS analysiert. Die Versuche

wurden bei Raumtemperatur durchgeführt. Die Kontrolle des pH-Wertes erfolgt vor und nach jedem Batchversuch. Jeder Sorptionsversuch wurde mit wenigsten zwei parallelen Ansätzen durchgeführt. Betrug die RSD der parallelen Ansätze mehr als 5 %, so wurde der Versuch entsprechend wiederholt. Um Kontaminationen und Wechselwirkungen der Metalle mit den Zentrifugenröhrchen festzustellen, wurden zu jedem Versuch Ansätze ohne Biomasse vermessen. Desweiteren erfolgte eine Kontrolle der Biomasse durch Desorption von unbeladenen Algen.

Mit Hilfe der Massenbilanz (Gl. 4–2), unter Berücksichtigung des Blindwertes, konnte anschließend die adsorbierte Metallmenge (q_{eq} , mmol/g) errechnet werden.

$$\text{Gl. 4–2: } c_0 * V + m * q_0 = c_g * V + m * q_{eq}$$

Unter der Voraussetzung, dass die Anfangsbeladung q_0 der Alge vernachlässigbar ist, lässt sich Gl. 4–2 nach q_{eq} der Beladung der Alge im Gleichgewichtszustand umstellen (Gl. 4–3):

$$\text{Gl. 4–3: } q_{eq} = V * (c_0 - c_g) / m$$

V ist das Volumen der Metallsalzlösung, c_0 die Anfangskonzentration, c_g die Gleichgewichtskonzentration und m das Gewicht der Biomasse.

Folgte der Adsorption direkt eine Desorption, so wurde der Überstand durch dekantieren entfernt und der verbleibende Rest ausgewogen, der bei der Auswertung berücksichtigt wurde. Nach Zugabe von 9 ml des Desorptionsmittels wurde die Probe im Überkopfschüttler 30 min geschüttelt. Nach Zentrifugation der Probe wurde der Überstand vermessen (Kap. 4.3.1).

4.4.2.1 Kinetik der Biosorption

Zur Durchführung der Kinetikuntersuchung wurde die Versuchszeit der Biosorptionsversuche variiert. Die weiteren Parameter wurden nicht verändert. Die erste Probe, mit Kontaktzeit 120 min, wurde zum Zeitpunkt t_0 in den Schüttler gestellt. Alle weiteren Proben kamen im entsprechenden Zeitabstand dazu. Zum Zeitpunkt $t_{120} = 120$ min wurden alle Proben gleichzeitig zentrifugiert, und wie in Kap. 4.4.2. weiterbehandelt. Des weiteren wurde zur Bestimmung der *Totzeit* eine Probe nicht geschüttelt, sondern nur mit der Hand kurz aufgeschlemmt und sofort wieder abzentrifugiert.

4.4.2.2 Aufnahmen von Isothermen

Die Aufnahme der Isothermen erfolgte durch Variation der Ausgangskonzentration der Metalle in Lösung. Die weiteren Parameter wurden nicht verändert. Die Isothermen wurden anschließend mit dem Adsorptionsmodell nach Langmuir (Gl. 2–1 und Gl. 2–2) modelliert und

die entsprechenden Parameter q_{\max} und b berechnet. Diese Parameter dienen zum quantitativen Vergleich der Biosorbenzien untereinander.

4.4.2.3 pH- und Salz-Abhängigkeit der Biosorption

Die Untersuchungen erfolgte durch Variation des pH-Wertes bzw. der Salzkonzentration bei konstanter Metallkonzentration. Der pH-Wert wurde mit einer 0,1 N Salzsäure bzw. 0,1 N Natriumhydroxidlösung eingestellt. Als Konkurrenzsalze wurden Calcium und Natrium in verschiedenen Konzentrationen einzeln verwendet. Alle weiteren Parameter wurden nicht verändert.

4.4.2.4 Selektivität der Biosorption

Die Selektivität der Biosorption wurde durch Untersuchung der Konkurrenz der Metalle in äquimolaren Mehrmetalllösungen (2-5) bestimmt. Die Versuche erfolgten durch Variation der Anzahl der Metalle in einer Lösung und durch Variation der Ausgangskonzentrationen der Mehrmetalllösungen. Jeder Versuch wurde mit wenigsten drei parallelen Ansätzen durchgeführt. In den Überständen wurden die entsprechenden Metallkonzentrationen analog 4.3.1 analysiert. Alle weiteren Parameter wurden nicht verändert.

4.4.2.5 Anwendung der Biosorption auf ein reales Bleiabwasser

Ein Akkumulatorenhersteller aus Berlin stellte dem Projektbereich ein Bleiabwasser für Biosorptionsuntersuchungen zur Verfügung. Angaben über die Zusammensetzung des Abwassers wurden von der Firma nicht gegeben. Somit erfolgte vor der eigentlichen Untersuchungen eine chemische Analyse des Abwassers. Die Schwermetalle wurden analog zu Kap. 4.3.1 bestimmt. Zur Beurteilung der weiteren Elementgehalte des Abwassers wurden Analysen mittels AAS und ICP-OES vom Institut für Angewandte Geowissenschaften I der TU Berlin im dortigen geologischen Zentrallabor (GeoLab) durchgeführt. Summenparameter, wie Ammonium-, Nitrat-, Nitrit-, Sulfatgehalt, TOC und TIC, wurden mit den entsprechenden Küvetten-Testsystemen von der Dr. Lange GmbH ermittelt. Die Details zu den verwendeten Tests sind im Anhang in Tab. B-2 zusammengefasst. Die Biosorptionsuntersuchungen mit dem Abwasser erfolgten analog zu Kap. 4.4.2.

4.5 Charakterisierung der Bindungsstellen – Methodenentwicklung

Details zu den verwendeten Chemikalien, Materialien und sonstigen Geräten sind im Anhang in Tab. C-1 gegeben.

4.5.1 Elementaranalyse

Die Elementaranalyse der untersuchten Algen wurde in Kooperation mit Dr. Hartmann vom Institut für Organische Chemie der Humboldt Universität zu Berlin durchgeführt. Die Elementgehalte an Kohlenstoff, Wasserstoff, Stickstoff und Schwefel wurden mit dem Elementaranalysator CHNS-932 der Leco Instrumente GmbH, Kirchheim analysiert. Die Analyse des Phosphorgehaltes der Biomassen erfolgte nach einer Methode von Püschel und Wittmann (1960). Nach Aufschluss der Biomasse wurde Phosphor volumetrisch mit einer Cer-Maßlösung (Ind. Eriochrom T) bestimmt.

4.5.2 Bedeutung von Carboxylgruppen für die Biosorption

4.5.2.1 Blockierung der Carboxylgruppen

Die freien Carboxylgruppen der Algen wurden nach einer Methode von Gardea-Torresday et al. (1990) durch eine 48stündige Methylierung blockiert. Die Methylierung erfolgte in salzsauerm Methanol bei Raumtemperatur. 500 mg Algen wurden mit 35 ml Methanol und 0,3 ml konz. Salzsäure auf einem Schüttler 48 Stunden vermischt. Die Reaktion wurde mit Wasser gestoppt und die modifizierte Biomasse neutral gewaschen und wie unter Kap. 4.4.1 aufgearbeitet. Mit den behandelten Algen wurden Adsorptionsversuche analog zu Kap. 4.4.2 durchgeführt.

4.5.2.2 Bestimmung des Carboxylgruppengehalts

Die Bestimmung des Carboxylgruppengehaltes erfolgte durch Hydrolyse der methylierten Algen und Quantifizierung des freigesetzten Methanols. 10 mg der modifizierten bzw. 20 mg der unbehandelten Biomasse wurden mit 1,25 ml Puffer pH 5,0 (0,005 M Natriumcitrat in 0,1 M Natriumchlorid) und 0,1 ml 1 M Natriumhydroxid vermischt. Die Probenvials wurden verschlossen und über Nacht bei 8°C inkubiert. Anschließend wurde nach Zentrifugation der Proben ein aliquoter Teil (800 µl) in entsprechende Headspacegefäße überführt. Nach Zugabe von 150 µl 0,082 M Natriumcitrat (pH 3) und 50 µl internen Standard (0,8 g/L 2-Propanol) erfolgte die quantitative Bestimmung des freigesetzten Methanols mittels Headspace-GC-FID. Zur Kontrolle wurden Ansätze der modifizierten und unbehandelten Algen ohne Zusatz von Natriumhydroxid untersucht.

4.5.2.2.1 Analyse des Methanols mittels HS-GC-FID

Die Parameter des verwendeten HS-GC-FID Systems sind in Tab. C-2 beschrieben. Die Proben und Standards wurden mindestens 60 min im Ölbad des Autosamplers auf 80°C tempe-

riert. Die Spritztemperatur wurde auf 90°C eingestellt, um Kondensation der Analyten und von Wasserdampf in der Spritze zu minimieren. Das Injektionsvolumen betrug 2 ml. Die Quantifizierung des Methanols erfolgte mit einem internen Standard. Als interner Standard wurde 2-Propanol verwendet. Zur Bestimmung des Responsefaktors wurden wässrige Lösungen von Methanol im Konzentrationsbereich von 2 – 200 mg / L verwendet, die den internen Standard in einer Konzentration von 40 mg /L enthielten. Analog zu Kap. 4.5.2.2 betrug das Volumen in den Headspacegefäßen jeweils 1 ml. Die so hergestellten wässrigen Standardlösungen wurden analysiert und der Responsefaktor (R_f) nach Gl. 4–4 bestimmt.

$$\text{Gl. 4–4: } R_f = (F_{\text{ISTD}} m_{\text{Analyt}}) / (F_{\text{Analyt}} m_{\text{ISTD}})$$

F_{ISTD} ist die Peakfläche des internen Standards, F_{Analyt} die Peakfläche des Analyten, m_{Analyt} bzw. m_{ISTD} sind die Gehalte der entsprechenden Substanzen in der Lösung. Die aus den verschiedenen Standards ermittelten Responsefaktoren wurden gemittelt und der resultierende R_f für die Bestimmung der Methanolgehalte der Proben nach Gl. 4–5 verwendet.

$$\text{Gl. 4–5: } m_{\text{Analyt}} = (F_{\text{Analyt}} m_{\text{ISTD}} R_f) / F_{\text{ISTD}}$$

Zur Kontrolle der Zuverlässigkeit der Messung sowie zur Absicherung der Meßwerte wurden bei jeder Messreihe entsprechende Standards vermessen und der R_f überprüft.

4.5.3 Untersuchung der Polysaccharide der Algenzellwände

Zur weiteren Charakterisierung der Bindungsstellen wurden die Polysaccharide der Algenzellwand nach saurer Hydrolyse auf ihre Monosaccharidzusammensetzung mittels HPLC an Anionenaustauschersäulen mit pulsamperometrischer Detektion (HPAEC-PAD) an einer Goldelektrode untersucht.

Die Hydrolyse der Algen (10 – 15 mg) erfolgte mit 2 N Trifluoressigsäure (2 ml) für 1 h bei 125°C unter Stickstoff (Blaschek, 1991). Nach der Hydrolyse wurde die Trifluoressigsäure mit Stickstoff bei 50 °C abgeblasen. Die verbleibenden Hydrolysate wurden in 900 µl Wasser und unter Zugabe von 100 µl des internen Standards (1 g / L Lactose) gelöst, membranfiltriert und auf ihre Monosaccharidgehalte analysiert. Alle Versuche wurden mindestens mit einer Dreifachbestimmung durchgeführt und der Mittelwert der Bestimmung angegeben. Zur Absicherung der Ergebnisse wurden Bildwerte (ohne Trifluoressigsäure) untersucht. Um die Stabilität der einzelnen Kohlenhydrate während der Hydrolyse zu untersuchen, erfolgten Wiederfindungsversuche mit den Standards unter den Hydrolysebedingungen. Die Wiederfindungen für die einzelnen Kohlenhydrate lagen in einem Bereich von 87-105 % und zeigen damit eine ausreichende Stabilität unter den Hydrolysebedingungen.

Die Parameter der verwendeten Kohlenhydratanalytik sind in Tab. C-3 beschrieben. Die Quantifizierung der Zucker erfolgte mit Lactose als internen Standard. Als Kohlenhydratstandards wurden myo-Inositol, Adonitol, Arabinose, Fucose, Fructose, Galactose, Galacturonsäure, Glucose, Glucuronsäure, Maltose, Mannose, Rhamnose, Ribose, Saccharose und Xylose verwendet. Die Standardlösungen (10 g / L) wurden nach ihrer Herstellung portionsweise in 1,5 ml Eppendorfgefäßen eingefroren und bei Bedarf aufgetaut. Zur Bestimmung der Responsefaktoren wurden wässrige Lösungen der Zucker im Konzentrationsbereich von 0,05 – 2 g / L verwendet, die den internen Standard in einer Konzentration von 0,1 g / L enthielten. Die Berechnung der R_f der Standards und die Ermittlung der Probengehalte an den untersuchten Kohlenhydraten erfolgte analog zu Kap. 4.5.2.2.1.

Abb. 4-2 zeigt zwei HPAEC Chromatogramme von den verwendeten Standardmischungen.

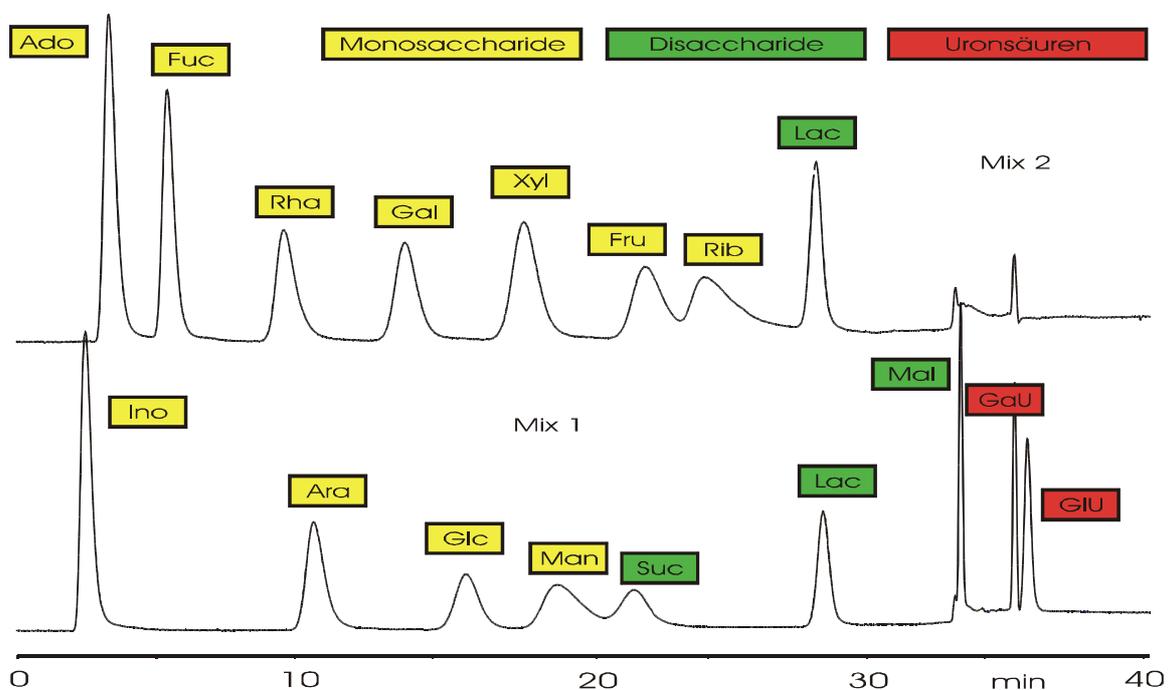


Abb. 4-2: HPAEC-PAD-Chromatogramme von Standardmischungen

$V_{inj} = 20\mu\text{L}$, Mix 1: $c = 0,1 \text{ g/L}$ (Ino = myo-Inositol; Ara = Arabinose; Glc = Glucose; Man = Mannose; Suc = Saccharose; Lac = Lactose; Mal = Maltose, GaU = Galacturonsäure; GIU = Glucuronsäure);

Mix 2: $c = 0,1 \text{ g/L}$ (Ado = Adonitol; Fuc = Fucose; Rha = Rhamnose; Gal = Galactose; Xyl = Xylose, Fru = Fructose, Rib = Ribose);

HPLC Parameter s. Tab. C-3

Der verwendete optimierte Gradient (Tab. C-3) erlaubt die Auftrennung der Kohlenhydrate in Monosaccharide, Disaccharide und Uronsäuren. Die Uronsäuren und auch Polysaccharide werden an der Anionenaustauscherphase stärker gebunden und können erst durch Zusatz von einem stärkeren Anion 0,5 N Natriumacetat zum Eluenten von der Säule eluiert werden.

Zur Untersuchungen der Hydrolyseextrakte der Algen war es nötig zur Quantifizierung der entsprechenden Kohlenhydrate die Extrakte in unterschiedlichen Verdünnungen zu vermessen. In Abb. 4–3 ist ein Chromatogramm der hydrolysierbaren Kohlenhydrate der Alge *C. salina* dargestellt.

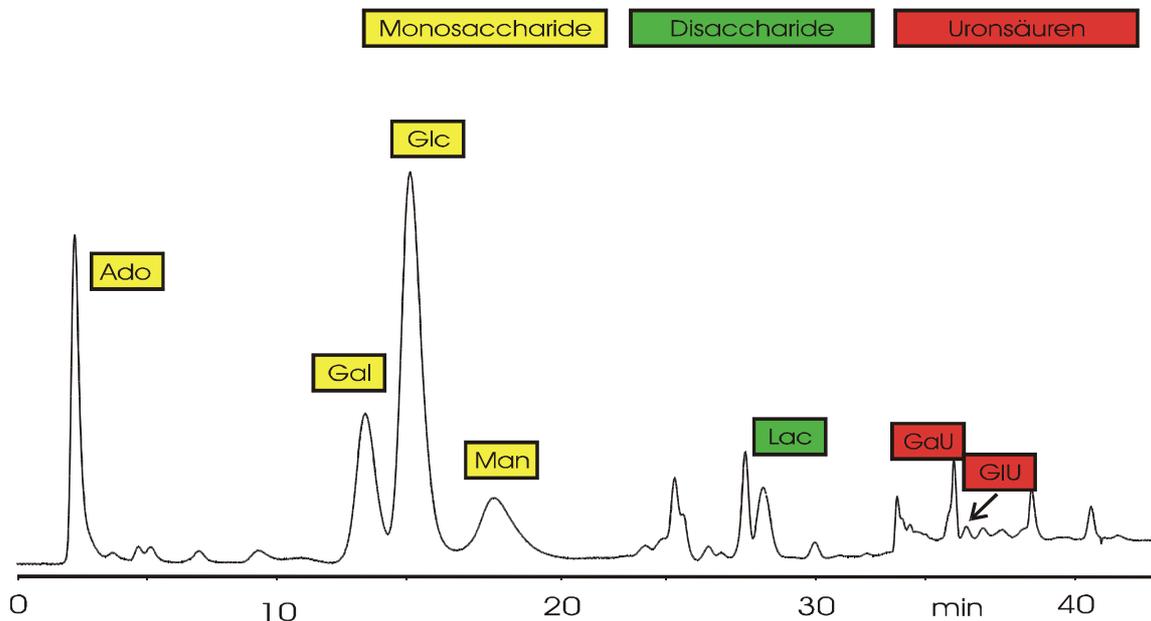


Abb. 4–3: HPAEC-PAD-Chromatogramm der hydrolysierbaren Kohlenhydrate von *C. salina*
 $V_{inj} = 20\mu\text{L}$, HPLC Parameter s. Tab. C–3

Das Chromatogramm zeigt den unverdünnten Extrakt. Als Hauptkomponenten wurden Glucose (Glc), Galactose (Gal), Mannose (Man) und Adonitol (Ado) gefunden. Galacturonsäure ist zu 1% enthalten. Glucuronsäure war nur in geringen Mengen bestimmbar (0,1 %).

4.5.4 Extraktion von Zellwandbestandteilen

Die verwendeten Verfahren orientieren sich an den Untersuchungen von Fehrmann (1993) und Blaschek (1991).

4.5.4.1 Lipophile Extraktion

Die Extraktion wurde an einer Soxhlet-Apparatur vorgenommen. In einen Faltenfilter wurden 2 g Algenbiomasse eingewogen. Der Faltenfilter mit der Algenbiomasse wurde in der Soxhlethülse 20 Stunden mit 200 ml einer Mischung aus Dichlormethan/Methanol (1/1, v/v) extrahiert. Die Soxhlethülse wurde nach der Extraktion mit 100 ml Aceton und 100 ml Millipore-Wasser gewaschen. Anschließend wurde die gesamte Hülse gefriergetrocknet und die Biomasse wie in Kap. 4.4.1 aufgearbeitet. Es folgten Biosorptionsversuche mit Blei und Zink analog zu Kap. 4.4.2.

4.5.4.2 Hydrophile Extraktion

Es wurden 1 g Algenbiomasse eingewogen. Die Algen wurden mit 150 ml Millipore-Wasser 2 Stunden am Rückfluss erhitzt. Die Algen wurden abzentrifugiert und wie in Kap. 4.4.1 aufgearbeitet. Es folgten Biosorptionsversuche mit Blei und Zink analog zu Kap. 4.4.2.

4.5.4.3 Alkalische Extraktion

Es wurden 1 g Algenbiomasse mit 100 ml 0,2%iger Natronlauge 20 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Die Biomasse wurde mit Wasser neutral gewaschen, abzentrifugiert und wie in Kap. 4.4.1 aufgearbeitet. Es folgten Biosorptionsversuche mit Blei und Zink analog zu Kap. 4.4.2.

4.5.5 FT-IR Spektroskopie

Die Parameter der verwendeten Probenvorbereitungsgeräte und des FT-IR Spektrometers sind in Tab. C-4 beschrieben. Zur Untersuchung wurden 1 mg der gefriergetrockneten Algen mit 300 mg KBr vermischt und zu einem Pressling verarbeitet.

4.5.6 Spezifische Oberfläche

Die Bestimmung der spez. Oberflächen ausgesuchter Algen erfolgte durch Dr. P. Lorenz von der Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung (BAM) und Herrn A. Schreiber vom Iwan Stranski Institut für Physikalische und Theoretische Chemie der TU Berlin. Zur Ermittlung der spez. Oberfläche wurde die Methode der Gasadsorption von Stickstoff bei der Temperatur des flüssigen Stickstoffs (77 K) nach DIN 66131 angewandt. Wenn der Wert der spez. Oberfläche unter $1 \text{ m}^2 / \text{g}$ lag, wurde Krypton als Sondenmolekül eingesetzt. Nach dieser Methode wurden Stickstoffisothermen aufgenommen, die mit dem Adsorptionsmodell nach Brunauer, Emmett und Teller (BET) ausgewertet wurden. Die Berechnung der spez. Oberfläche erfolgte aus den Parametern der BET Isotherme.

4.5.7 Rasterelektronenmikroskopie (REM)

Die Parameter des verwendeten Rasterelektronenmikroskops und des energiedispersiven Röntgenmikroanalysesystems sind in Tab. C-5 beschrieben. Die REM Untersuchungen wurden in Kooperation mit J. Nissen von der Zentraleinrichtung Elektronenmikroskopie der TU Berlin durchgeführt. Die Proben wurden vor der Untersuchung mit einer dünnen Kohlenstoffschicht bedampft.

4.6 Modifizierung der Biomasse - Methodenentwicklung

Details zu den verwendeten Chemikalien, Materialien und Geräten sind in Tab. D-1 gegeben. Die nachfolgenden Versuche wurden an *C. salina* bzw. *L. taylorii* durchgeführt.

4.6.1 Phosphorylierung mit Phosphorsäure

Der zusätzliche Einbau von Phosphatgruppen in die Algenzellwand wurde durch eine Veresterung der freien Hydroxylgruppen der Polysaccharide mit Phosphorsäure in Gegenwart von Harnstoff erreicht. Die Versuchsbedingungen sind an eine Methode von Meisch und Gauer (1998) angelehnt, die dieses Verfahren an Holz und Chitin anwendeten. 1 g Algenbiomasse wurden mit 4,48 g Harnstoff und 25 ml 30 %iger Phosphorsäure in einer Petrischale (Ø 15 cm) vermischt. Der Ansatz wurde für 30 min bei Raumtemperatur belassen und anschließend im Trockenschrank bei 70 °C für 60 min vorgetrocknet. Die eigentliche Reaktion erfolgte in einem auf 200 °C vorgeheizten Muffelofen für 2 h. Das Reaktionsgemisch wurde dann in 80 ml Zentrifugengläser überführt und mit Wasser neutral und phosphatfrei gewaschen und analog zu Kap. 4.4.1 aufgearbeitet. Der Phosphatgehalt wurde mit einem Testkit im Überstand bestimmt. Zur Bestimmung der Phosphatgehalte der modifizierten Alge erfolgte eine Elementaranalyse (Kap. 4.5.1). Zur Charakterisierung der Phosphatgruppen auf der Oberfläche wurden FT-IR-spektroskopische Untersuchungen durchgeführt (Kap. 4.5.5).

4.6.2 Phosphorylierung mit Phosphorylchlorid

Die Versuchsbedingungen sind an eine Methode von Gauer (1996) angelehnt. Zu einer Suspension von 1 g Biomasse in 10 ml wasserfreien Pyridin wurden unter Rühren 2,3 g (1,37 ml) Phosphorylchlorid hinzugetropft, worauf das Reaktionsgemisch 90 min bei 60 °C erhitzt wurde. Nach Abkühlen wurde das Produkt abzentrifugiert, dreimal mit 10 ml Pyridin und abschließend mit Wasser gewaschen. Zur Hydrolyse des Säurechlorids wurde das Produkt in 50 ml einer 0,2 M Natriumcarbonatlösung suspendiert und eine Stunde bei RT gerührt. Das Reaktionsprodukt wurde dann mit Wasser neutral und phosphatfrei gewaschen und analog zu Kap. 4.4.1 aufgearbeitet. Zur Bestimmung der Phosphatgehalte der modifizierten Alge erfolgte eine Elementaranalyse (Kap. 4.5.1).

4.6.3 Phosphorylierung mit Phosphorpentasulfid

Die Versuchsbedingungen sind an eine Methode von Yalpani (1992) angelehnt. 1 g Ausgangsprodukt wurden mit 1 g Phosphorpentasulfid vermischt und für 2 h bei 110 °C erhitzt. Das Feststoffgemisch wurde anschließend mit Ethanol und heißem Wasser gewaschen, um

überschüssiges Phosphorpentasulfid zu entfernen. Die modifizierte Biomasse wurde phosphat- und sulfidfrei gewaschen und analog zu Kap. 4.4.1 aufgearbeitet. Zur Bestimmung der Phosphatgehalte der modifizierten Alge erfolgte eine Elementaranalyse (Kap. 4.5.1).

4.6.4 Carboxymethylierung mit Chloressigsäure

Die Versuchsbedingungen sind an eine Methode von Gauer (1996) angelehnt. In einem 100 ml Dreihalskolben wurden 1 g Biomasse in einer Mischung aus 3 g Wasser, 12 g Ethanol und 6,6 g 2-Propanol suspendiert. Anschließend wurden unter N₂-Atmosphäre innerhalb von 20 min 1,4 g Natriumhydroxid (50%), danach innerhalb von 15 min 0,86 g Chloressigsäure (80 %) unter kräftigem Rühren hinzugegeben. Die Suspension wurde daraufhin unter Aufrechterhaltung der N₂-Atmosphäre auf 70 °C erwärmt und 60 min bei dieser Temperatur gerührt. Nach Abkühlen des Reaktionsgemisch wurde das entstandene Produkt abzentrifugiert, mit 1 L heißem Wasser gewaschen und analog zu Kap. 4.4.1 aufgearbeitet.

4.6.5 Einbau von Carboxylgruppen durch eine zweistufige Oxidation

Die Versuchsbedingungen sind an eine Methode von Krämer (1998) angelehnt. 1 g Algenbiomasse wurde unter Lichtausschluss in 50 ml Natriumperjodatlösung (0,1 M) für 6 h bei RT suspendiert. Anschließend wurde das Produkt abzentrifugiert, mit Wasser gewaschen und analog zu Kap. 4.4.1 aufgearbeitet.

500 mg der oxidierten Biomasse wurden in 25 ml Wasser suspendiert und mit 13 mg Titriplex III und 0,4 ml Wasserstoffperoxid (30%) versetzt. Eine Mischung aus 0,45 g Natriumchlorit und 0,125 ml Essigsäure (99 - 100 %) wurde innerhalb von 10 min bei Raumtemperatur zugegeben. Der pH - Wert wurde während des Zutropfens mit einer Natriumhydroxidlösung (2,5 M) bei pH 5 gehalten. Die Mischung wurde anschließend 4 h bei RT gerührt. Am Ende der Reaktion wurde die Reaktionsmischung mit einer Natriumhydroxidlösung (2,5 M) auf pH 9 gebracht. Das Produkt wurde abzentrifugiert, mit Wasser gewaschen und analog zu Kap. 4.4.1 aufgearbeitet.

5 Ergebnisse

5.1 Biosorptionsuntersuchungen

5.1.1 Biosorption von *C. vulgaris*

5.1.1.1 Adsorptionsisothermen

Um die Biosorptionsfähigkeiten (Beladungskapazitäten) der Algen einschätzen zu können, wurden erste Untersuchungen an *C. vulgaris* durchgeführt. Die Adsorptionsisothermen (Einstoff) für alle 4 Metalle zeigen in Abb. 5–1, dass mit steigender Gleichgewichtskonzentration die Beladung der Alge einem Grenzwert zustrebt. Die Isothermen verlaufen zu Beginn steil. Damit werden bereits bei kleinen Anfangskonzentrationen hohe Beladungen erreicht. Das trifft im besonderen für Blei und Cadmium zu. Im unteren Initialkonzentrationsbereich (10 mg/L) wurden beispielsweise über 90% des jeweiligen Metalls aus der Lösung von der Alge entfernt. Mit steigender Anfangskonzentration kommt es zur Sättigung der Metallbindungsstellen an den Algen und damit einem Abflachen der Adsorptionsisothermen.

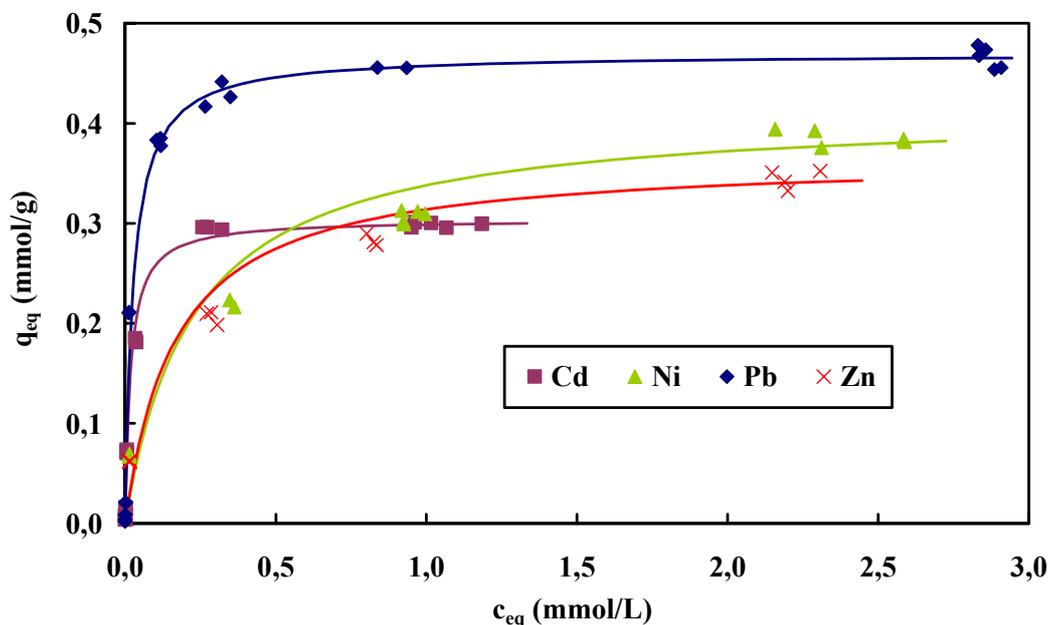


Abb. 5–1: Adsorptionsisothermen nach Langmuir von Cd, Ni, Pb und Zn an *C. vulgaris*. Die Versuche wurden jeweils mit nur einem Metall in Lösung durchgeführt. Parameter s. Kap. 4.4

Die Adsorptionsisothermen in Abb. 5–1 lassen sich mit dem Adsorptionsmodell nach Langmuir (Gl. 2–1) beschreiben. Aus den in Abb. 5–1 dargestellten experimentellen Daten wurden

die entsprechenden Langmuirparameter (Tab. 5–1) berechnet und die resultierende Isotherme ebenfalls als durchgehende Kurve in Abb. 5–1 für jedes Metall abgebildet.

Die linearisierte Form (Gl. 2–2) dieser Adsorptionsisothermen wird in Abb. 5–2 für die Adsorptionsvorgänge an *Chlorella vulgaris* dargestellt. Eine sehr gute Korrelation zwischen den experimentellen Daten und dem Modell ist vor allem für Cd und Pb gegeben ($r^2 > 0,999$). Zn zeigt mit $r^2 = 0,993$ eine gute Korrelation und Ni mit $r^2 = 0,989$ die schlechteste Übereinstimmung mit den experimentellen Daten.

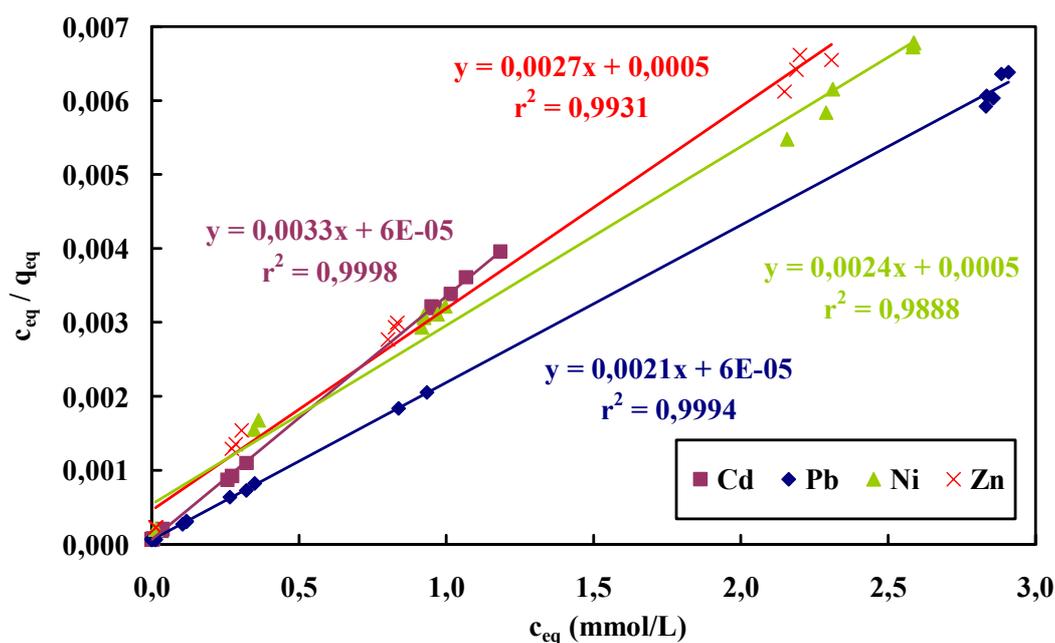


Abb. 5–2: Linearisierte Adsorptionsisothermen von Cd, Ni, Pb und Zn an *C. vulgaris* nach dem Adsorptionsmodell von Langmuir

Die aus den Regressionsgeraden berechneten Werte für die maximale Beladungskapazität (q_{\max}) und der Langmuirkonstanten (b) sind in Tab. 5–1 dargestellt.

Tab. 5–1: Langmuirparameter für Adsorptionsisothermen an *C. vulgaris*

Metall	q_{\max}^a	b^b
Cd	0,30	56
Ni	0,41	4,5
Pb	0,47	38
Zn	0,37	6,0

^a q_{\max} in mmol/g

^b Langmuirkonstante in L/mmol

An *C. vulgaris* wurden maximale Beladungen nach Langmuir von 0,30 mmol Cd; 0,41 mmol Ni; 0,47 mmol Pb und 0,37 mmol Zn pro g BTM erreicht (Pb > Ni > Zn > Cd). Cd und Pb

zeigen eine deutlich größere Langmuirkonstante und damit höhere Affinität zur Alge verglichen mit Ni und Zn. Aus den Werten der Langmuirkonstante ergibt sich folgende Affinitätsreihenfolge: Cd > Pb > Zn > Ni.

5.1.1.2 Kinetik

Die Darstellung der Kinetik der Biosorption der vier Metalle an *C. vulgaris* in Abb. 5–3 verdeutlicht, dass alle vier Metalle unter den gewählten experimentellen Bedingungen sehr schnell gebunden werden. Die Versuche zeigen, dass eine Zeit von weniger als 30 min zur Gleichgewichtseinstellung der vier Metalle ausreichend ist. Bereits nach 3 min waren über 91 % der Gleichgewichtsbeladung der entsprechenden Metalle erreicht.

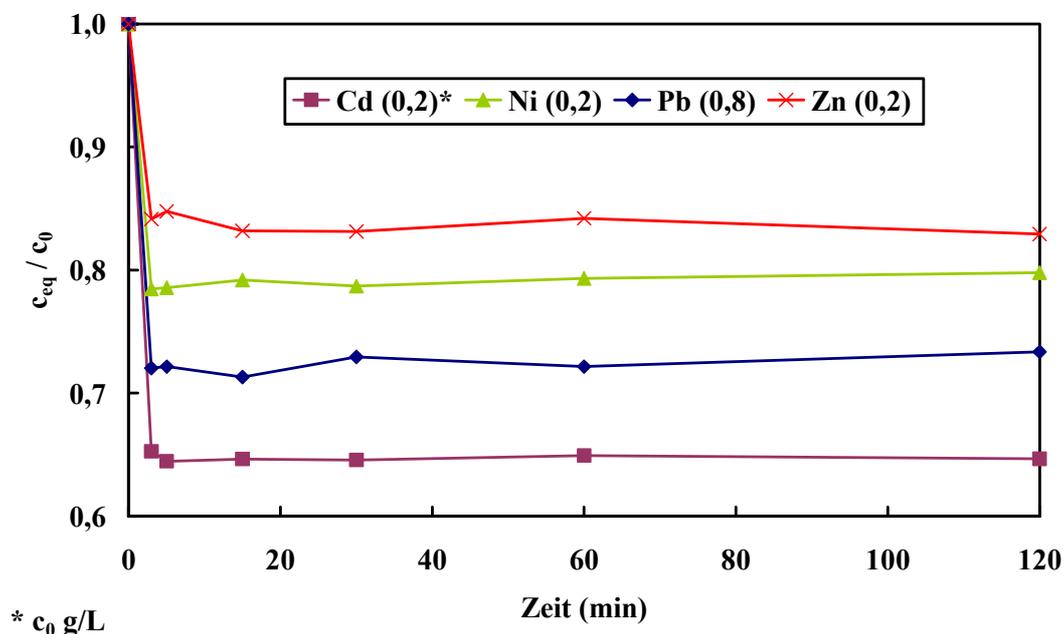


Abb. 5–3: Kinetik der Metallbindung von Cd, Ni, Pb und Zn an *C. vulgaris*. Die Versuche wurden jeweils mit nur einem Metall in Lösung durchgeführt. Parameter s. Kap. 4.4.

Die gewählten Ausgangskonzentrationen für die Untersuchungen liegen für alle Metalle im oberen Sättigungsbereich der Adsorptionsisothermen.

5.1.1.3 pH-Abhängigkeit

Um den Einfluss des pH-Wertes auf die Biosorption an *C. vulgaris* einschätzen zu können, wurden die pH-Abhängigkeit näher untersucht (Abb. 5–4). Die Versuche wurden im pH-Bereich von 1 bis 6 durchgeführt. Der pH-Bereich oberhalb pH 6 wird wegen der beginnenden Fällung von Metallhydroxiden nicht weiter betrachtet. Im pH-Bereich von 4 bis 6 sind die Kapazitäten für Cd, Pb Zn und im pH-Bereich 5 bis 6 für Ni annähernd konstant. Die Konkur-

renz der Protonen um die Bindungsstellen reduziert die Beladungskapazitäten für die Metalle bei niedrigen pH-Werten.

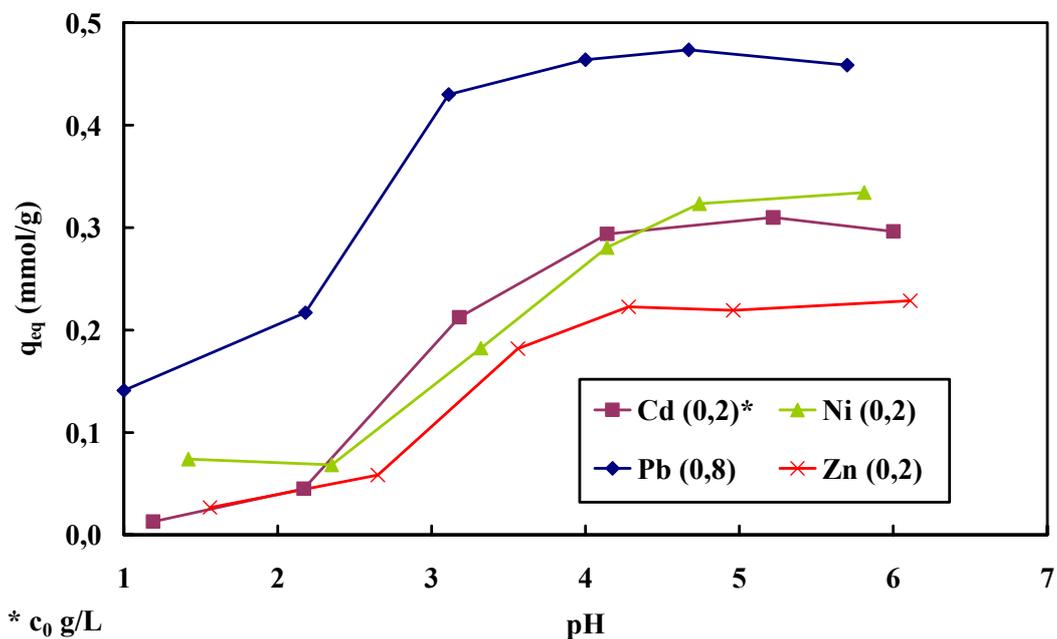


Abb. 5-4: pH-Abhängigkeit der Biosorption von Cd, Ni, Pb und Zn an *C. vulgaris*. Die Versuche wurden jeweils mit nur einem Metall in Lösung durchgeführt. Parameter s. Kap. 4.4

Ein starker Abfall der Beladungskapazitäten konnte für Pb im pH-Bereich von 3 - 1; für Cd von 4 - 1,2; für Ni von 4,7 - 1,4 und für Zn von 4,3 - 1,6 beobachtet werden. Aufgrund der Konkurrenz der Protonen um die Bindungsstellen ist es möglich, die Metalle mit 0,1 N Salzsäure zu über 90 % von *C. vulgaris* zu desorbieren.

5.1.2 Screening

Die Eigenschaften von *C. vulgaris* wurden als Grundlage für die folgenden Untersuchungen weiterer Algenarten verwendet. Die Screeningexperimente wurden mit einer konstanten Anfangskonzentration für jedes Metall durchgeführt. Dazu wurde einheitlich für jedes Metall die Konzentration gewählt, bei der *C. vulgaris* gesättigt wurde. Daraus ergeben sich für die Batchversuche im Screening folgende Ausgangskonzentrationen: Blei 400 mg/L und Cadmium, Nickel und Zink jeweils 100 mg/L. 30 weitere Algenarten wurden untersucht (12 Arten der Chlorophyceae, 14 Arten der Cyanophyceae, jeweils 1 Art der Bacillariophyceae, Bangiophyceae, Eustigmatophyceae und Xanthophyceae; Tab. 4-1). In Tab. 5-2 sind die Ergebnisse zusammengefasst. Die Anfangskonzentration der einzelnen Metalle ist in Klammern dargestellt.

Tab. 5–2: Biosorptionseigenschaften im Screening von 31 Algenarten
Die Versuche wurden jeweils mit nur einem Metall in Lösung durchgeführt. Parameter
s. Kap. 4.4

Biomasse	Pb (0,4) ^a		Cd (0,1)		Ni (0,1)		Zn (0,1)	
	Ads. ^b	q _{eq} ^c	Ads.	q _{eq}	Ads.	q _{eq}	Ads.	q _{eq}
<i>C. salina</i>	100	0,89	98	0,38	49	0,37	94	0,64
<i>S. hofmani</i>	96	0,85	84	0,33	22	0,17	53	0,37
<i>L. taylorii</i>	97	0,84	81	0,32	56	0,43	50	0,37
<i>A. densus</i>	91	0,80	64	0,24	34	0,26	37	0,23
<i>K. spiculiformis</i>	84	0,71	86	0,34	41	0,28	63	0,42
<i>V. dichotoma</i>	83	0,70	70	0,28	49	0,37	67	0,42
<i>C. kessleri</i>	63	0,55	63	0,24	16	0,12	20	0,14
<i>M. species</i>	62	0,54	63	0,25	27	0,20	35	0,24
<i>N. parmeloïdes</i>	56	0,50	58	0,23	27	0,22	33	0,23
<i>S. maxima</i>	55	0,49	69	0,27	15	0,12	24	0,18
<i>C. vulgaris</i>	55	0,46	69	0,29	43	0,31	44	0,28
<i>G. longicauda</i>	51	0,44	67	0,27	27	0,20	36	0,25
<i>R. spiculiforme</i>	45	0,40	62	0,25	34	0,26	15	0,11
<i>A. hantzschii</i>	46	0,39	68	0,27	33	0,25	39	0,27
<i>S. platensis</i>	44	0,38	72	0,29	51	0,40	54	0,37
<i>P. tricornutum</i>	41	0,36	55	0,23	24	0,19	32	0,23
<i>M. aeruginosa</i>	40	0,35	59	0,23	27	0,21	36	0,25
<i>P. purpureum</i>	38	0,33	45	0,18	26	0,20	27	0,19
<i>T. species</i>	36	0,30	33	0,13	35	0,26	35	0,24

Biomasse	Pb (0,4) ^a		Cd (0,1)		Ni (0,1)		Zn (0,1)	
	Ads. ^b	q _{eq} ^c	Ads.	q _{eq}	Ads.	q _{eq}	Ads.	q _{eq}
<i>G. verrucosa</i>	28	0,24	37	0,15	17	0,13	24	0,16
<i>C. species</i>	26	0,23	48	0,20	22	0,17	14	0,10
<i>A. cylindrica</i>	25	0,22	36	0,14	18	0,14	16	0,11
<i>S. laxissima</i>	25	0,22	55	0,22	17	0,13	26	0,18
<i>G. planctonica</i>	21	0,21	15	0,06	14	0,11	14	0,07
<i>S. species</i>	22	0,19	61	0,24	13	0,09	53	0,36
<i>P. species</i>	22	0,19	43	0,17	23	0,18	16	0,11
<i>A. africanum</i>	22	0,18	43	0,17	19	0,15	27	0,17
<i>E. magnus</i>	19	0,16	22	0,09	16	0,12	8	0,06
<i>D. salina</i>	12	0,10	17	0,07	8	0,06	9	0,06
<i>A. inaequalis</i>	11	0,10	20	0,08	15	0,12	14	0,10
<i>D. bioculata</i>	3	0,02	11	0,05	7	0,05	6	0,04

^a Anfangskonzentration der einzelnen Metalle in g/L

^b Adsorptionseffizienz aus der Lösung in %

^c q_{eq} in mmol/g

Bei den unterschiedlichen Arten von Mikroalgen wurden große Unterschiede bezüglich ihrer Biosorptionskapazitäten für die vier Metalle beobachtet. Blei wurde von den meisten Algen am stärksten adsorbiert. Die Chlorophyceae *C. salina*, die Cyanophyceae *S. hofmani* und *L. taylorii* erwiesen sich insgesamt als die leistungsfähigsten Algen im Screening.

C. salina erreichte Beladungskapazitäten von 0,89 mmol Pb; 0,38 mmol Cd; 0,37 mmol Ni und 0,64 mmol Zn pro g BTM. Für Pb, Cd und Zn konnte die Alge die Metalle fast vollständig aus der Lösung entfernen (Adsorptionseffizienz ≥ 94 %). Die Beladungskapazitäten im Screening für *S. hofmani* betragen 0,85 mmol Pb; 0,33 mmol Cd; 0,17 mmol Ni und 0,37 mmol Zn pro g BTM. *L. taylorii* zeigt Beladungen von 0,84 mmol Pb; 0,32 mmol Cd; 0,43 mmol Ni und 0,37 mmol Zn pro g BTM. *S. hofmani* und *L. taylorii* konnten Pb ebenfalls

praktisch komplett aus der Lösung entfernen (Adsorptionseffizienz $\geq 96\%$). Cd und Ni wurde von beiden Algen zu über 80 % aus der Lösung gebunden. Die Kapazität von Ni für *L. taylorii* ist die größte von allen untersuchten Algen im Screening.

Die Chlorophyceae *K. spiculiformis* und *A. densus* und die Xanthophyceae *V. dichotoma* zeigen ebenfalls gute Adsorptionsergebnisse für alle vier Metalle. *K. spiculiformis* und *V. dichotoma* besitzen eine beachtliche Kapazität für Zn mit jeweils 0,42 mmol Zn pro g BTM im Vergleich zu den untersuchten Algen.

Bei den meisten weiteren Algen sinken mit der Kapazität für Blei auch die Kapazitäten für die anderen Metalle. *S. platensis* besitzt dagegen hervorragende Beladungskapazitäten für Ni (0,40 mmol/g BTM) und Zn (0,37 mmol/g BTM), die mit den besten Algen vergleichbar sind.

Im Vergleich zu den leistungsfähigen Algen ist die Chlorophyceae *D. bioculata* nur in der Lage 3 % Blei, 11 % Cadmium, 7 % Nickel and 6 % Zink aus den vorgegebenen Lösungen zu binden.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden die Biosorptionseigenschaften der leistungsfähigen Algen *C. salina* und *L. taylorii* näher untersucht.

5.1.3 Biosorption von *C. salina*

5.1.3.1 Adsorptionsisothermen

Zur Ermittlung der maximalen Kapazitäten von *C. salina* unter den gegebenen Bedingungen wurden analog zu *C. vulgaris* Adsorptionsisothermen aufgenommen. Die Adsorptionsisothermen der einzelnen Metalle an *C. salina* sind in Abb. 5–5 dargestellt.

Die Adsorptionsisothermen lassen sich mit dem Adsorptionsmodell nach Langmuir (Gl. 2–1) beschreiben. Aus den in Abb. 5–5 dargestellten experimentellen Daten wurden die entsprechenden Langmuirparameter (Tab. 5–3) berechnet und die resultierende Isotherme ebenfalls als durchgehende Kurve in Abb. 5–5 für jedes Metall abgebildet.

Die linearisierte Form (Gl. 2–2) dieser Adsorptionsisothermen wird in Abb. 5–6 für die Adsorptionsvorgänge an *C. salina* dargestellt. Eine sehr gute Korrelation zwischen den experimentellen Daten und dem Modell ist vor allem für Pb wiederum gegeben ($r^2 > 0,999$). Cd und Zn zeigen mit einem r^2 von 0,996 bzw. 0,997 eine gute Korrelation. Die Isotherme von Ni besitzt mit $r^2 = 0,981$ die schlechteste Übereinstimmung mit den experimentellen Daten, was ebenfalls bei *C. vulgaris* beobachtet werden konnte.

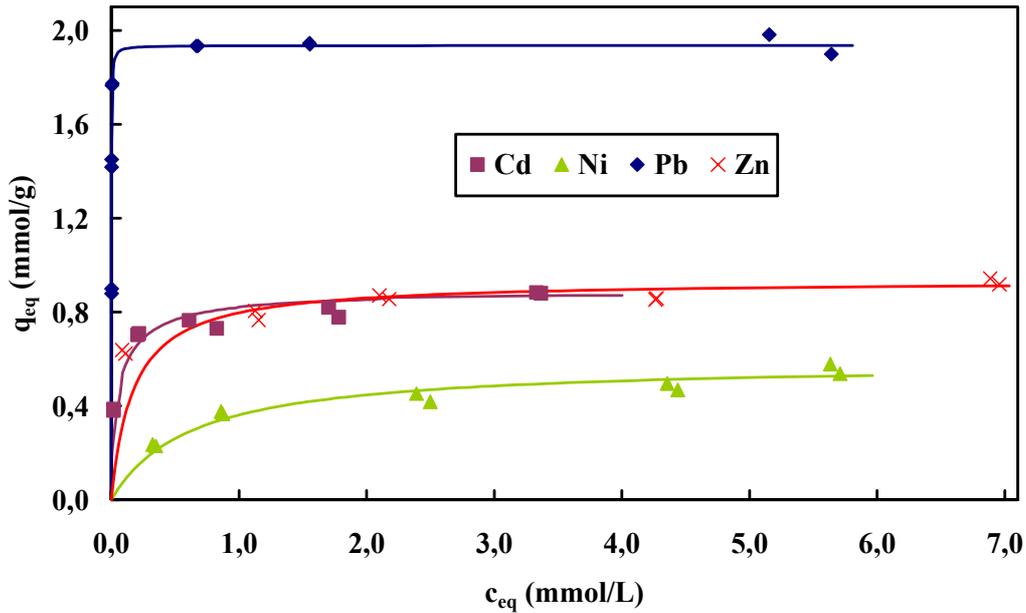


Abb. 5-5: Adsorptionsisothermen nach Langmuir von Cd, Ni, Pb und Zn an *C. salina*. Die Versuche wurden jeweils mit nur einem Metall in Lösung durchgeführt. Parameter s. Kap. 4.4

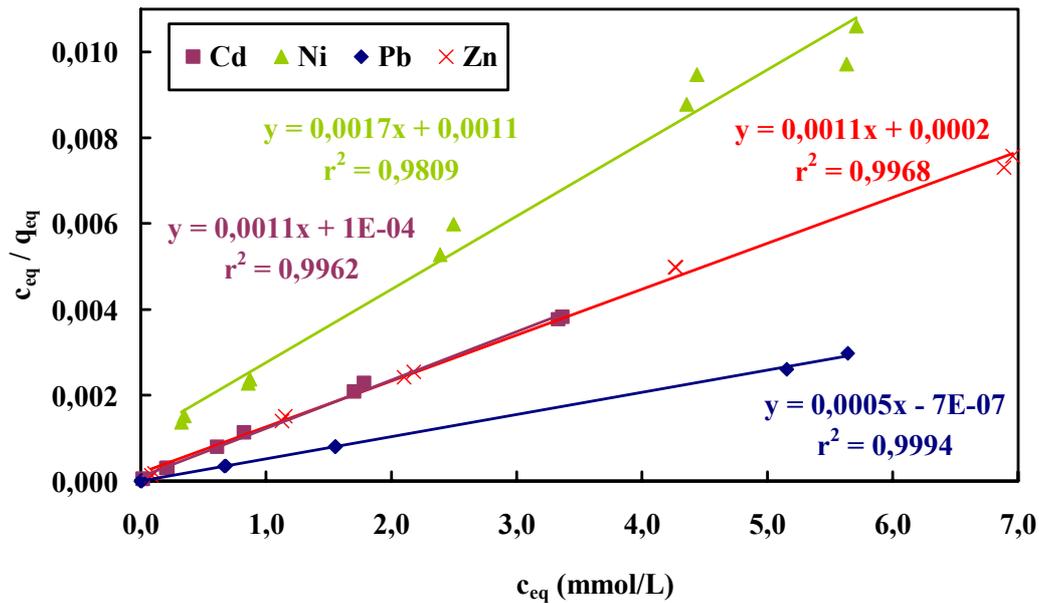


Abb. 5-6: Linearisierte Adsorptionsisothermen von Cd, Ni, Pb und Zn an *C. salina* nach dem Adsorptionsmodell von Langmuir

Die aus den Regressionsgeraden berechneten Werte für die maximale Beladungskapazität (q_{max}) und der Langmuirkonstanten (b) sind in Tab. 5-3 dargestellt. An *C. salina* wurden maximale Beladungen nach Langmuir von 0,89 mmol Cd; 0,59 mmol Ni; 1,94 mmol Pb und 0,93 mmol Zn pro g BTM erreicht (Pb > Zn > Cd > Ni).

Pb zeigt eine sehr viel größere Langmuirkonstante und damit höhere Affinität zur Alge verglichen mit den anderen Metallen. Aus den Werten der Langmuirkonstante ergibt sich folgende Affinitätsreihenfolge: Pb > Cd > Zn > Ni.

Tab. 5–3: Langmuirparameter für Adsorptionsisothermen an *C. salina*

Metall	q_{\max}^a	b^b
Cd	0,89	12
Ni	0,59	1,6
Pb	1,94	707
Zn	0,93	5,8

^a q_{\max} in mmol/g

^b Langmuirkonstante in L/mmol

5.1.3.2 Kinetik

Analog zu *C. vulgaris* zeigen die kinetischen Untersuchungen an *C. salina* (Abb. 5–7), dass bereits nach wenigen Minuten ein Grossteil der Metalle gebunden sind. Die Biosorption der Metalle Pb, Cd und Zn ist nach 15 Minuten im Gleichgewicht.

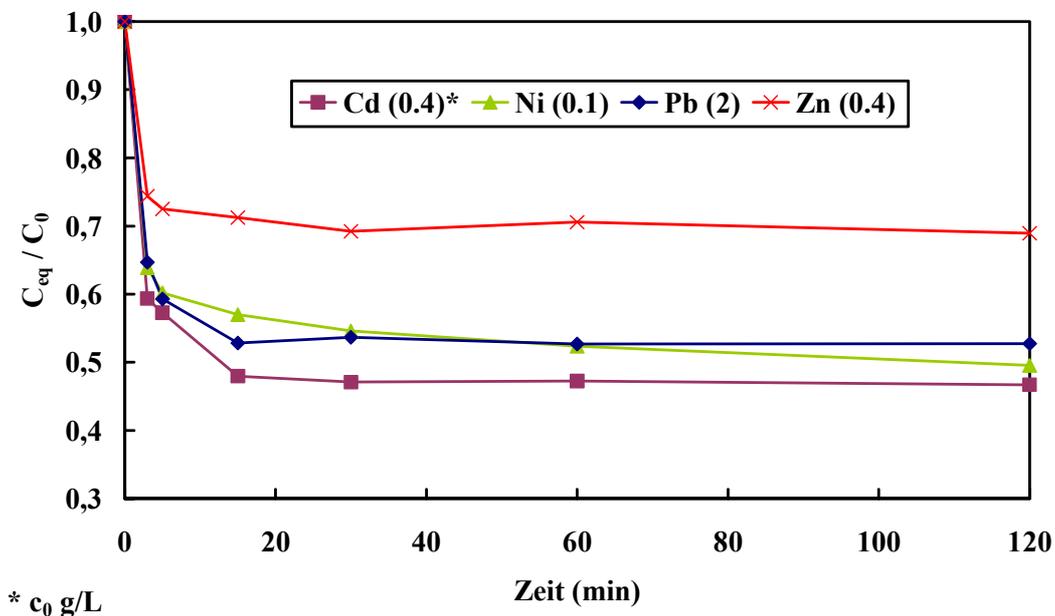


Abb. 5–7: Kinetik der Metallbindung von Cd, Ni, Pb und Zn an *C. salina*

Die Versuche wurden jeweils mit nur einem Metall in Lösung durchgeführt. Parameter s. Kap. 4.4.

Eine Ausnahme stellt die Anlagerung von Ni an der Alge dar, wo über den gesamten Zeitraum eine leichte Zunahme der Beladung zu beobachten war. *C. salina* konnte nach 30 min

im Mittel 46 % der vorgegeben Nickelmenge aus der Lösung entfernen, nach 120 Minuten waren 51 % der vorhandenen Nickelionen adsorbiert.

5.1.3.3 pH-Abhängigkeit

Die Bedeutung des pH-Wertes für die Biosorption konnte bereits bei *C. vulgaris* gezeigt werden (Kap. 5.1.1.3). Das pH-Profil (pH/Metallbeladung) einer Alge stellt den Arbeitsbereich der Biosorption für die einzelnen Metalle dar. Für die Optimierung der Biosorption, als auch für eine Anwendung in realen Abwässern ist die Kenntnis der pH-Abhängigkeit sehr wichtig. Die pH-Abhängigkeit der Biosorption von *C. salina* gegenüber den 4 Metallen ist in Abb. 5–8 gezeigt.

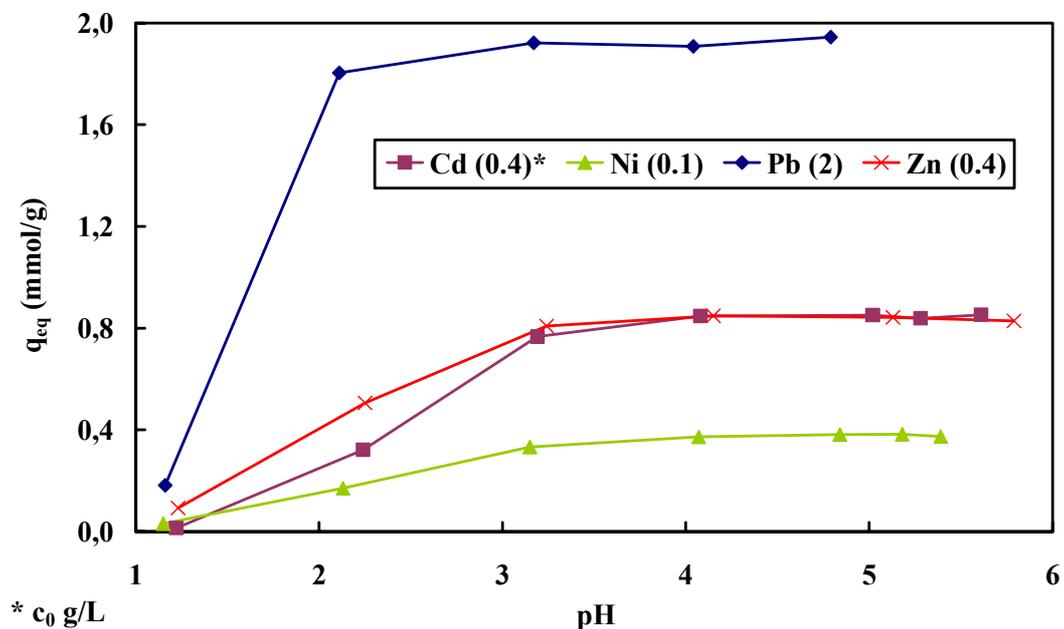


Abb. 5–8: pH-Abhängigkeit der Biosorption von Cd, Ni, Pb und Zn an *C. salina*
Die Versuche wurden jeweils mit nur einem Metall in Lösung durchgeführt. Parameter s. Kap. 4.4

Wie bei *C. vulgaris* konnte auch bei *C. salina* ein pH-Bereich beobachtet werden, in dem die Beladungen sich nur geringfügig ändern. Im pH-Bereich von 3 bis 6 sind die Kapazitäten für Cd, Ni, Zn und ab pH 2 für Pb annähernd konstant. Bei höheren Protonenkonzentrationen nimmt die Konkurrenz um die Bindungsstellen zu, was in einem starken Abfall der Beladungen resultiert. Bei einem pH-Wert von nahe 1 sind die Beladungen nur noch ein Bruchteil von denen im schwach sauren Bereich, was die Möglichkeit der Desorption der Metalle im sauren pH-Bereich (pH 1) bietet.

5.1.3.4 Selektivität der Bindung von Blei, Cadmium, Nickel und Zink

Reale Abwässer stellen meist ein Gemisch vieler Metallkationen dar. Neben der Betrachtung der Kapazität des Biosorbens ist es deshalb ebenfalls wichtig zu untersuchen, ob einige Metallkationen bevorzugt gegenüber anderen von der Alge sorbiert werden können.

Die Selektivität der Alge *C. salina* gegenüber den 4 bisher untersuchten Metallen wurde durch Versuche zur Konkurrenz der Metalle in äquimolaren Lösungen bestimmt. Die Tabelle Tab. 5–4 und die Abbildung Abb. 5–9 fassen die Untersuchungen zusammen.

Tab. 5–4: Selektivität der Metallbindung an *C. salina*

n_{Me}^b	C_0^c	Pb ^a		Cd		Ni		Zn		Σq_{eq}
		Ads. ^d	q_{eq}^e	Ads.	q_{eq}	Ads.	q_{eq}	Ads.	q_{eq}	
4	0,5	99	0,23	70	0,16	21	0,05	72	0,16	0,60
	1,0	100	0,48	45	0,26	9	0,05	53	0,25	1,04
	2,0	100	1,00	26	0,29	3	0,03	26	0,24	1,56
	3,0	100	1,30	23	0,30	4	0,04	11	0,14	1,78

^a RSD (n=3) $\leq 3\%$ Pb, $\leq 8\%$ Cd; $\leq 17\%$ Ni und $\leq 10\%$ Zn

^b Anzahl der Metalle in Lösung

^c Anfangskonzentration der 4-Metall-Lösungen mit gleicher molarer Konzentration der einzelnen Metalle in mmol/L

^d Adsorptionseffizienz aus der Lösung in %

^e q_{eq} in mmol/g

In direkter Konkurrenz aller 4 Metalle um die Bindungsstellen an *C. salina* konnte gezeigt werden, dass Pb bevorzugt gebunden wird. Wie Abb. 5–9 verdeutlicht, ist nur für Pb ein deutlicher Anstieg der Beladung bei ansteigender Metallkonzentration in der Lösung zu beobachten. Bei der höchsten Konzentration (3 mmol/L) hat die Alge Blei vollständig aus der Lösung entfernt. Cd und Zn sind bereits in der Sättigung. Die erreichten Beladungen für Cd und Zn sind deutlich niedriger im Vergleich zu den einzelnen Isothermen. Cd und Zn zeigen über den untersuchten Konzentrationsbereich einen ähnlichen Verlauf der Beladungen. Erst bei der höchsten Konzentration wird die Beladung von Zink deutlich geringer gegenüber Cadmium. Die Beladung von Cadmium ist konstant.

Ni wird fast vollständig von den Bindungsstellen an der Alge verdrängt. Die Beladung von Ni an *C. salina* betrug weniger als ein zehntel der maximalen Beladung an der Alge aus der Einstoffisotherme.

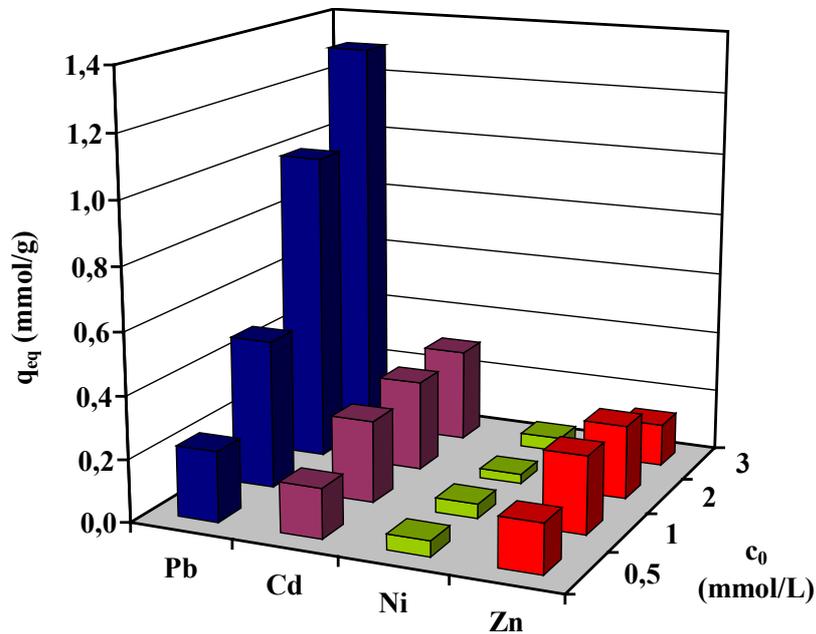


Abb. 5–9: Konkurrenz der Bindung von Cd, Ni, Pb und Zn an *C. salina*. Die Versuche wurden mit 4-Metall-Lösungen (gleiche molare Konzentration der einzelnen Metalle) unterschiedlicher Anfangskonzentrationen (c_0) durchgeführt. Parameter s. Kap. 4.4

Aus den ermittelten Daten lässt sich folgende Selektivitätsreihenfolge für eine Mischung der 4 Metalle ableiten: $Pb \gg Cd \geq Zn \gg Ni$.

5.1.4 Biosorption von *L. taylorii*

Im folgenden sind die Ergebnisse zur Biosorption an der Cyanophyceae *L. taylorii* dargestellt. Die Untersuchungen stellen die umfangreichsten in dieser Arbeit dar, die an einer Algenart durchgeführt wurden. Die Alge konnte im Kooperationsprojekt erfolgreich für die Entwicklung eines Verfahrens zur Abwasserreinigung eingesetzt werden (Wilke, 2001). Weiterhin erfolgten an *L. taylorii* erfolgreich Modifizierungen, die zu einem neuen Biosorbens mit hervorragenden Biosorptionseigenschaften führte (Kap. 5.3).

Die Frage nach der Biosorption von weiteren Schwermetallkationen an *L. taylorii* wurden im Verlauf des Projektes immer stärker gestellt, besonders nach der vielversprechenden Anwendung mit realen Abwässern. Im Rahmen einer Praktikantenarbeit konnten umfangreiche Daten zur Biosorption des industriell bedeutenden Metalls Kupfer (Cu) an *L. taylorii* erarbeitet werden. Die Ergebnisse werden im folgenden mit den anderen 4 Metallen beschrieben.

5.1.4.1 Adsorptionsisothermen – *L. taylorii*

Die Adsorptionsisothermen (Einstoff) in Abb. 5–10 verdeutlichen, dass Pb auch an *L. taylorii* die höchsten Beladungen erreicht.

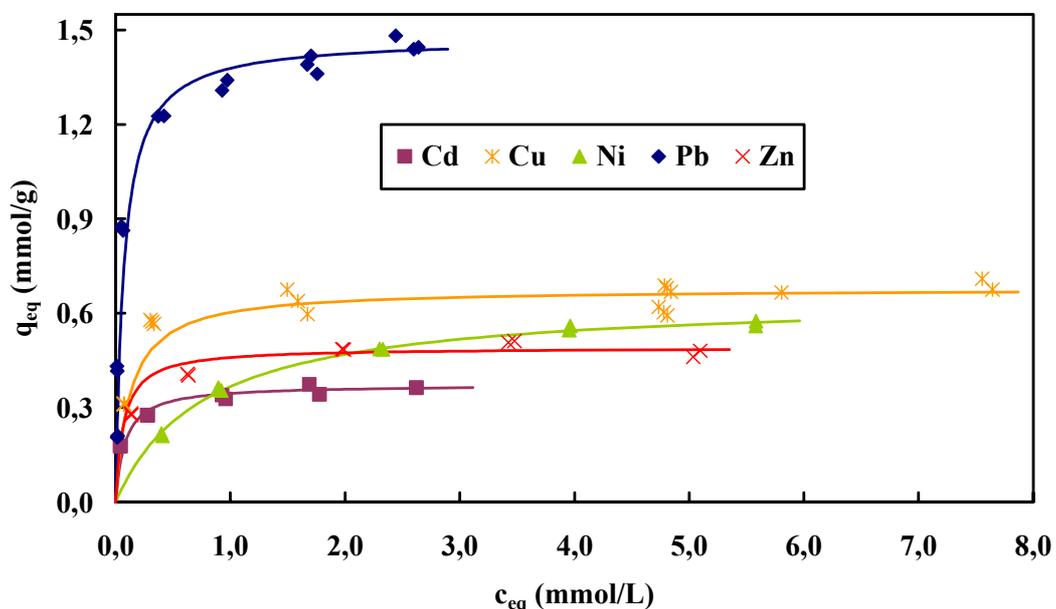


Abb. 5–10: Adsorptionsisothermen nach Langmuir von Cd, Cu, Ni, Pb und Zn an *L. taylorii*. Die Versuche wurden jeweils mit nur einem Metall in Lösung durchgeführt. Parameter s. Kap. 4.4

Der Verlauf der Isothermen von Pb, Cu, Zn und Cd sind ähnlich. Ni zeigt einen deutlich flacheren Verlauf. Die Langmuirparameter wurden aus den Geradengleichungen (Abb. 5–11)

der nach Langmuir (Gl. 2–1 u. Gl. 2–2) linearisierten experimentellen Daten berechnet. Die daraus resultierenden Isothermen für die einzelnen Metalle sind in Abb. 5–10 eingezeichnet.

Die Geraden in Abb. 5–11 zeigen eine gute Korrelation der experimentellen Daten mit dem Modell nach Langmuir mit einem r^2 von 0,999 für Pb und Ni; 0,998 für Cd; 0,995 für Zn und 0,992 für Cu.

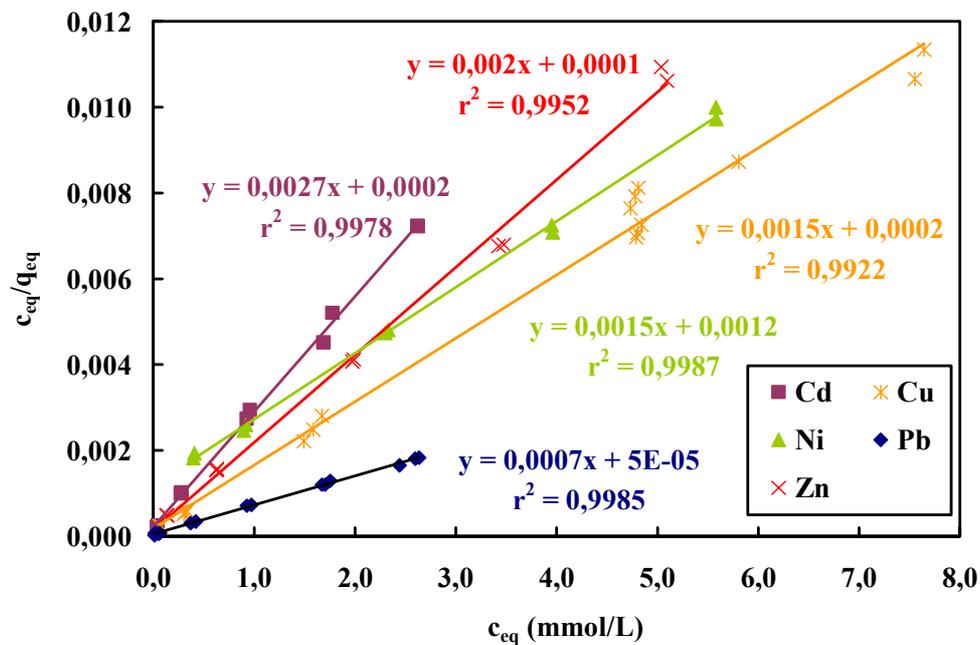


Abb. 5–11: Linearisierte Adsorptionsisothermen von Cd, Cu, Ni, Pb und Zn an *L. taylorii* nach dem Adsorptionsmodell von Langmuir

Die aus den Regressionsgeraden berechneten maximalen Beladungskapazitäten und Langmuirkonstanten sind in der folgenden Tabelle abgebildet (Tab. 5–5).

Tab. 5–5: Langmuirparameter für Adsorptionsisothermen an *L. taylorii*

Metall	q_{\max}^a	b^b
Cd	0,37	13
Cu	0,68	8,1
Ni	0,65	1,3
Pb	1,47	14
Zn	0,49	15

^a q_{\max} in mmol/g

^b Langmuirkonstante in L/mmol

Zusammengefasst lässt sich folgende Reihenfolge der maximalen Kapazitäten für die Metalle an der Alge aufstellen:

$$\text{Pb} > \text{Cu} \geq \text{Ni} > \text{Zn} > \text{Cd.}$$

Die Affinitäten (Langmuirkonstante) für Cd, Cu, Pb und Zn gegenüber den Bindungsstellen an der Alge sind in einer Größenordnung (Affinitätsreihenfolge: $\text{Zn} \geq \text{Pb} \geq \text{Cd} > \text{Cu} > \text{Ni}$). Die Affinität von Ni beträgt etwa ein zehntel der von Zn.

5.1.4.2 Kinetik

Der kinetische Verlauf der Biosorption an *L. taylorii* zeigt einen ähnlichen Verlauf verglichen mit *C. vulgaris* und *C. salina*. Die Kinetik des neu untersuchten Metalls Cu ist mit den anderen Metallen vergleichbar.

Setzt man die Adsorption nach 120 min als 100%, so zeigt sich das nach 3 min bereits 81 % des vorhandenen Pb, 90 % Cd, 83 % Ni, 86% Zn und 95% des vorhandenen Cu adsorbiert waren. Der Biosorptionsprozess an der Alge ist nach 30 min praktisch vollständig abgeschlossen. Für Ni und Zn konnten bis zum Zeitpunkt 30 min ein deutlicher linearer Verlauf der Kinetik beobachtet werden. Die gewählten Ausgangskonzentrationen für die Untersuchungen liegen für alle Metalle im oberen Sättigungsbereich der Adsorptionsisothermen.

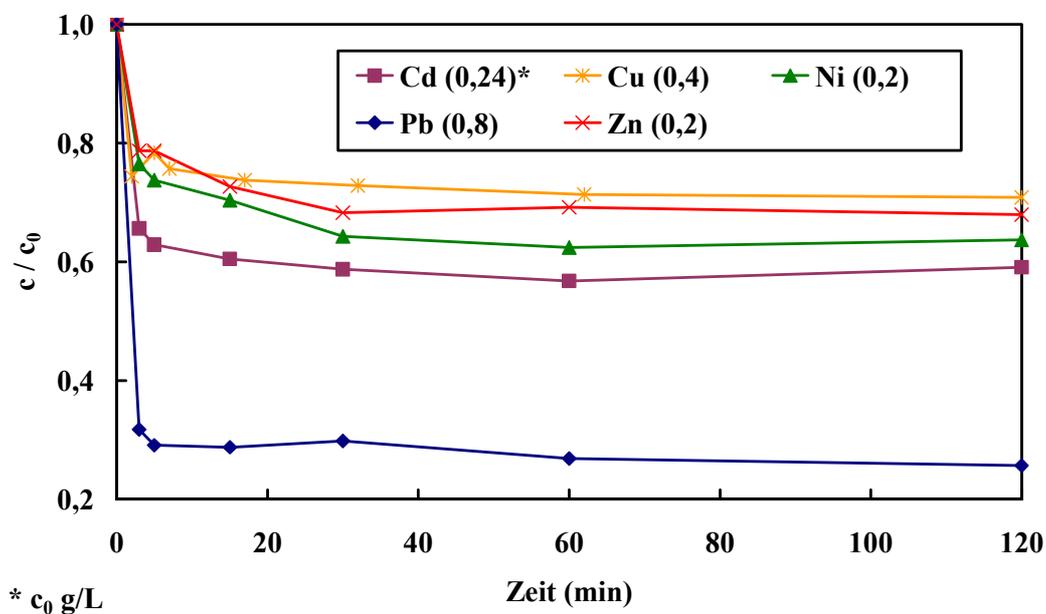


Abb. 5–12: Kinetik der Metallbindung von Cd, Cu, Ni, Pb und Zn an *L. taylorii*
Die Versuche wurden jeweils mit nur einem Metall in Lösung durchgeführt. Parameter s. Kap. 4.4.

5.1.4.3 pH-Abhängigkeit der Biosorption

Das pH Profil von *L. taylorii* (Abb. 5–13) verdeutlicht, dass erneut ein pH-Bereich für alle fünf Metalle vorhanden ist, in dem sich die Beladungen nur geringfügig ändern. Diese Eigenschaft ist bedeutend, da in der Anwendung Schwankungen des pH-Wertes im Abwasser keine starken Schwankungen in der Beladung erwarten lassen.

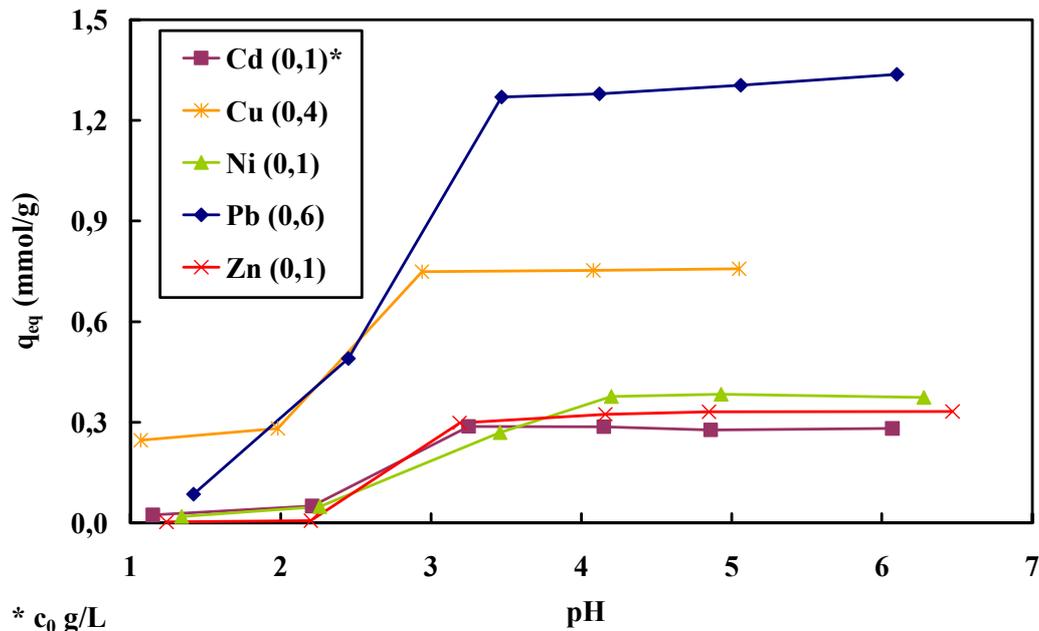


Abb. 5–13: pH-Abhängigkeit der Biosorption von Cd, Cu, Ni, Pb und Zn an *L. taylorii*
Die Versuche wurden jeweils mit nur einem Metall in Lösung durchgeführt. Parameter s. Kap. 4.4

Die Beladungen für Blei, Cadmium und Zink sind ab pH 3 bis pH 6, für Kupfer im Bereich ab pH 3 bis pH 5 und für Nickel ab pH 4 bis 6 annähernd konstant. Im sauren Bereich ($\text{pH} < 3$) nimmt die Biosorption für Pb, Cd, Ni und Zn stark ab. Eine Ausnahme stellt das Kupfer dar, das selbst bei pH 1 noch eine deutliche Beladungskapazität zeigt.

Untersuchungen oberhalb pH 5 für Kupfer und oberhalb pH 7 für die anderen Metalle wurden wegen der einsetzenden Fällung von Metallhydroxiden nicht durchgeführt.

Die starke Abnahme der Beladungskapazitäten im sauren pH-Bereich kann somit zur Desorption der Metalle einer beladenen Alge verwendet werden. Im Mittel konnten Pb, Cd, Ni oder Cu zu über 90 % von einer zuvor beladenen Algen im Batchversuch mit 0,1 N Salzsäure desorbiert werden. Aus dem pH Profil waren Probleme in der Desorption von Cu erwartet worden, die jedoch nicht beobachtet wurden. Zn konnte im Mittel nur zu 70 % von der Alge mit 0,1 N Salzsäure desorbiert werden.

5.1.4.4 Selektivität der Bindung von Blei, Cadmium, Kupfer, Nickel und Zink

Inwieweit Selektivitäten von *L. taylorii* für die Bindung der Metalle vorhanden sind, konnte durch Untersuchungen zur Konkurrenz der Metalle in äquimolaren Lösungen bestimmt werden. In Tab. 5–18 sind die Daten zu den Versuchen zusammengefasst dargestellt. Abb. 5–14 A-C verdeutlicht die Abhängigkeiten der einzelnen Metalle zueinander und dient der Übersichtlichkeit.

Ausgehend von einer Mischung von Cd, Ni, Pb und Zn wurde untersucht, wie sich die Beladungen für die vier Metalle bei steigenden Metallkonzentrationen verhalten. Abb. 5–14 B zeigt deutlich, dass mit steigender Ausgangskonzentration von Pb, wie im Einzelversuch, die Beladung ebenfalls steigt. Die Beladungen von Ni und Zn verhalten sich über dem untersuchten Bereich annähernd konstant, jedoch sind die Beladungen auf sehr niedrigem Niveau. Mit steigender Anfangskonzentration der Metalle wird die Bindung von Cd im Gegensatz zum Pb immer stärker beeinflusst. Bei einer Anfangskonzentration von 3 mmol/L konnte eine Biosorption von Cd nicht mehr nachgewiesen werden. Die starke Verdrängung von Cd durch Pb bei höheren Anfangskonzentrationen konnte durch Versuche in einer Lösung von Cd und Pb bestätigt werden. Wie aus Tab. 5–6 ersichtlich, nimmt die Beladung von Cd rapide ab mit steigender Beladung von Blei. Die Selektivität in einer 4 Metalllösung lässt sich in folgender Reihenfolge zusammenfassen: $Pb \gg Zn > Ni > Cd$.

Wird Cu in die Betrachtung der Konkurrenz mit hinzugenommen, so zeigt sich, dass Cu vom Blei nicht wie Cd, Ni und Zn so dominierend von den Bindungsstellen verdrängt wird. Wie in Abb. 5–14 A dargestellt, werden Pb und Cu bevorzugt gebunden und erst bei einer Konzentration von 3 mmol/L verdrängt Pb deutlich das Cu von den Bindungsstellen. Cd und Ni werden wieder auf niedrigem Niveau gebunden und sind somit stark von Pb und Cu beeinflusst. Das trifft auch für Zn zu, jedoch konnte die Alge beim Konzentrationsniveau 0,5 mmol/L noch 79 % Zn aus der Lösung entfernen. Bei einer Anfangskonzentration der 5 Metalllösung von 1 mmol/L brach die Beladungskapazität von Zn stark ein. Die Alge adsorbierte nur noch 3 % des in der Lösung enthaltenen Zinks. Die Gesamtbeladung an den 5 Metallen auf der Alge ist vom Konzentrationsniveau 0,5 mmol/L auf 1 mmol/L annähernd konstant geblieben (s. Tab. 5–6). Ein großer Unterschied konnte jedoch in der Beladung von Pb beobachtet werden. Bei 0,5 mmol/L konnte die Alge das Pb fast vollständig aus der Lösung entfernen (97 %), wohingegen bei 1 mmol/L eine Sättigung der Bindungsstellen beobachtet wurde (Adsorption Pb aus der Lösung 63 %). Für eine Lösung aus allen fünf Metallen lässt sich folgende Selektivität ableiten: $Pb > Cu \gg Cd > Ni > Zn$.

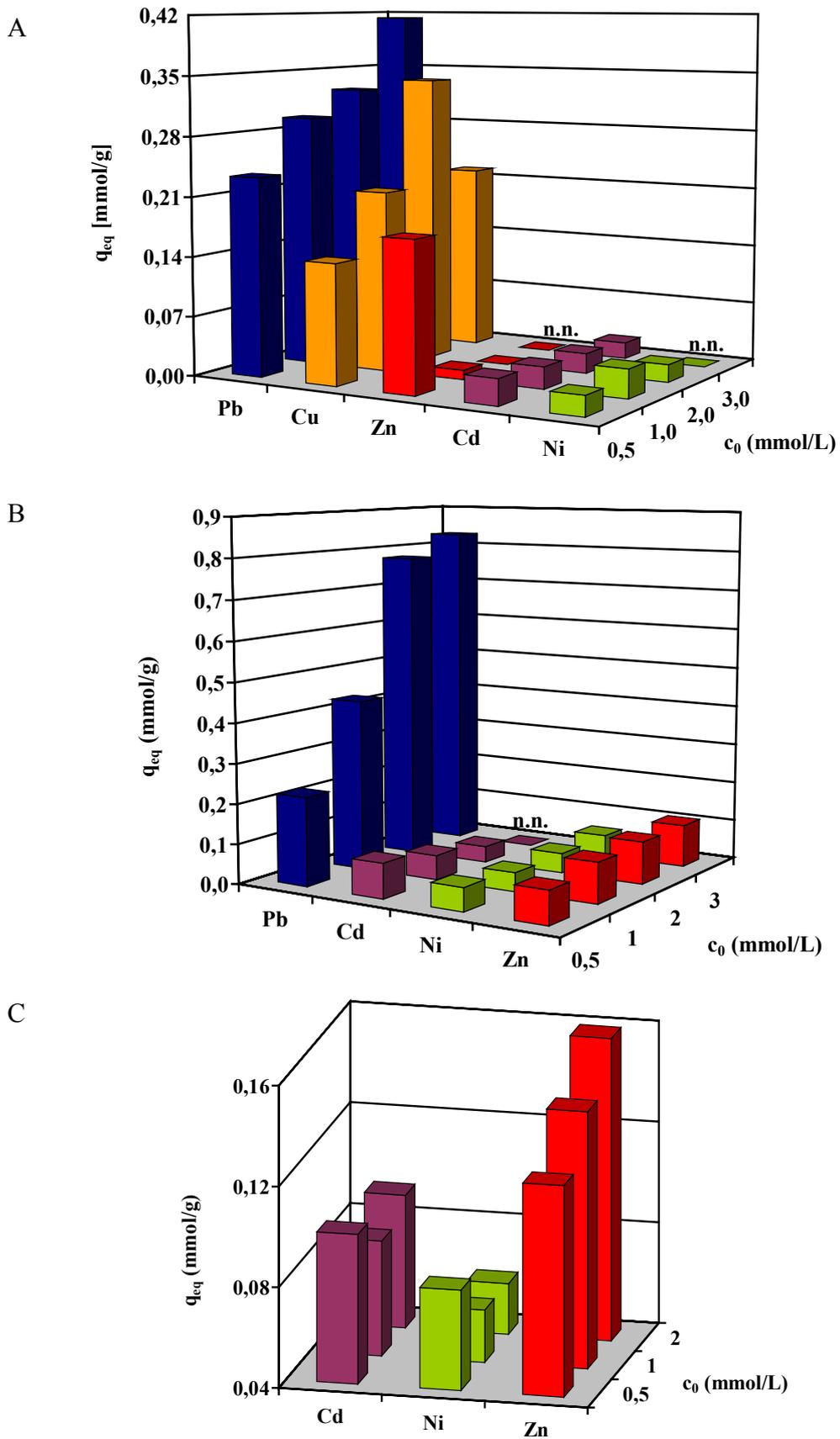


Abb. 5–14: Konkurrenz der Bindung von Cd, Cu, Ni, Pb und Zn an *L. taylorii*
 Die Versuche wurden mit Mehrmetall-Lösungen (gleiche molare Konzentration der einzelnen Metalle) unterschiedlicher Anfangskonzentrationen (c_0) durchgeführt.
 n.n. – Biosorption nicht nachweisbar. Parameter s. Kap. 4.4

Tab. 5–6: Selektivität der Metallbindung an *L. taylorii*

n_{Me}^b	c_0^c	Pb ^a		Cu		Cd		Ni		Zn		Σq_{eq}
		Ads. ^d	q_{eq}^e	Ads.	q_{eq}	Ads.	q_{eq}	Ads.	q_{eq}	Ads.	q_{eq}	
5	0,5	97	0,23	74	0,14	14	0,03	11	0,02	79%	0,18	0,60
	1,0	63	0,30	55	0,21	6	0,03	8	0,03	3%	0,01	0,58
	2,0	36	0,32	42	0,34	3	0,02	2	0,02	n.n.		0,71
	3,0	29	0,41	20	0,22	1	0,02	n.n. ^f		n.n.		0,65
4	0,5	99	0,22			39	0,09	25	0,06	37	0,08	0,45
	1,0	97	0,43			14	0,06	10	0,05	23	0,10	0,64
	2,0	88	0,78			3	0,04	6	0,05	12	0,11	0,98
	3,0	60	0,83			n.n.		4	0,05	8	0,11	0,99
3	0,5					54	0,10	36	0,08	69	0,12	0,30
	1,0					22	0,09	15	0,06	42	0,14	0,29
	2,0					11	0,09	7	0,06	21	0,16	0,31
2	0,5	100	0,23			70	0,15					0,38
	1,0	99	0,49			21	0,09					0,58
	2,0	97	0,92			3	0,03					0,95
	3,0	79	1,16			n.n.						1,16

^a RSD ($n=3$) $\leq 4\%$ Pb; $\leq 6\%$ Cu; $\leq 10\%$ Cd (außer $n_{Me}=5$, $c_0=2,0$ mmol/L, RSD = 28%, $c_0=3,0$ mmol/L, RSD = 40%); $\leq 10\%$ Ni (außer $n_{Me}=5$, $c_0=2,0$ mmol/L, RSD = 40%) und $\leq 7\%$ Zn

^b Anzahl der Metalle in Lösung

^c Anfangskonzentration der Mehrmetalllösungen mit gleicher molarer Konzentration der einzelnen Metalle in mmol/L

^d Adsorptionseffizienz aus der Lösung in %

^e q_{eq} in mmol/g

^f Biosorption nicht nachweisbar

Bei *L. taylorii* ist die Konkurrenz der Metalle Cd, Ni und Zn um die Bindungsstellen in Gegenwart von Pb und Cu schwerer einzuschätzen. Deshalb wurden weitere Untersuchungen zur Selektivität der Metallbindung in Abwesenheit von Pb und Cu durchgeführt. Die Ergebnisse verdeutlichen, dass bei *L. taylorii* auch zwischen diesen Metallen eine Konkurrenz zu beobachten ist (s. Abb. 5–14 C).

Zn wird gegenüber Cd und Ni bevorzugt gebunden. Ni wird bei steigenden Konzentrationen der anderen Metalle am stärksten von den Bindungsstellen verdrängt. Über den gewählten Anfangskonzentrationsbereich bleibt die Gesamtbeladung der Metalle auf der Alge annähernd konstant (s. Tab. 5–6). Die Selektivitätsreihe kann wie folgt aufgestellt werden: $Zn > Cd > Ni$.

5.1.4.5 Einfluss von Fremdsalzen auf die Biosorption an *L. taylorii*

Mit der Anwendung der Cyanophyceae *L. taylorii* in einem technischen Verfahren, das zur Reinigung von Industrieabwässern entwickelt wurde, stellte sich die Frage nach der Bedeutung von ein- und zweiwertigen Fremdkationen für die Biosorption der untersuchten Schwermetalle. Für die Untersuchungen wurde das einwertige Natriumion (Natriumchlorid) und das zweiwertige Calciumion (Calciumchlorid) ausgewählt. In den Abbildungen Abb. 5–15 und Abb. 5–16 sind die Ergebnisse grafisch dargestellt. Der untersuchte Konzentrationsbereich für die beiden Metallionen erstreckt sich zwischen 0,4 g/L bis 20 g/L. Die Schwermetallkonzentrationen in den Lösungen lagen im Sättigungsbereich der Alge (0,1 – 0,4 g/L).

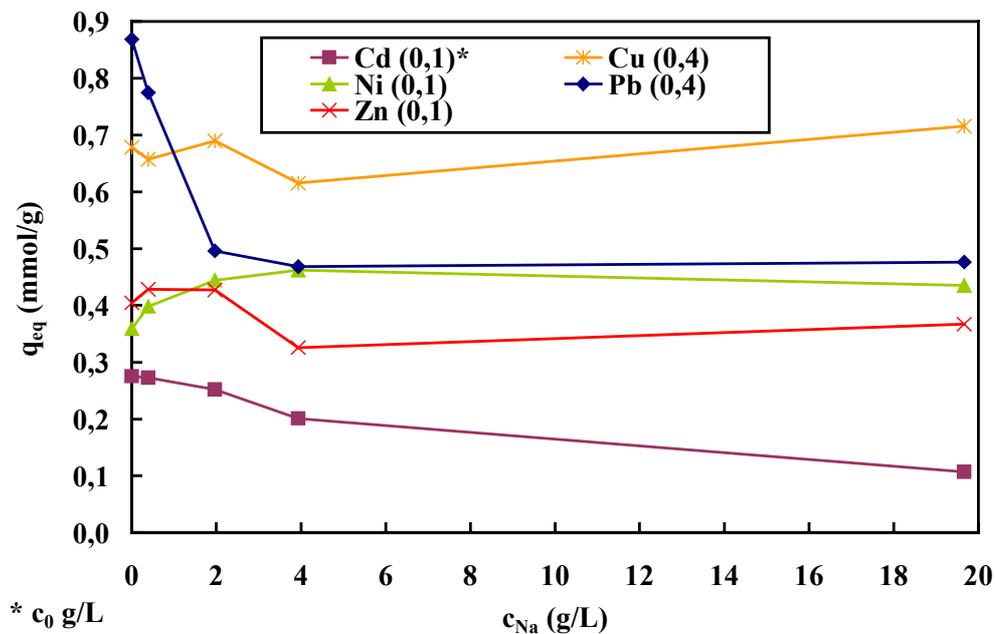


Abb. 5–15: Einfluss von Natriumionen auf die Biosorption an *L. taylorii*

Die Versuche wurden jeweils mit nur einem Metall in Lösung durchgeführt. Parameter s. Kap. 4.4.

Ein Einfluss von Na auf die Biosorption von Cu und Ni konnte nicht festgestellt werden (Abb. 5–15). Die Beladung von Cu blieb über den betrachteten Konzentrationsbereich annähernd konstant. Bei Ni konnte ein leichter Anstieg der Beladung beobachtet werden. Bis zu einer Konzentration an Na von 2 g/L ist die Beladung von Zn an *L. taylorii* unverändert. Die Beladung sinkt um 8 % bei Anwesenheit von 20 g/L an Na.

Die Konkurrenz von Na ist besonders stark bei Pb vorhanden, wo bereits bei einer Konzentration von 0,4 g/L Na die Beladung um 18 % und bei 2 g/L Na auf 43 % der ursprünglichen Beladung sinkt. Ein weitere Erhöhung der Na-Gehalte verringert die Beladung nur noch geringfügig. Mit steigender Na Konzentration sinkt die Beladung von Cd um 60 % (bei 20 g/L Na). Bis zu 2 g/L Na in der Cd Lösung konnte nur eine geringe Abnahme der Beladung registriert werden.

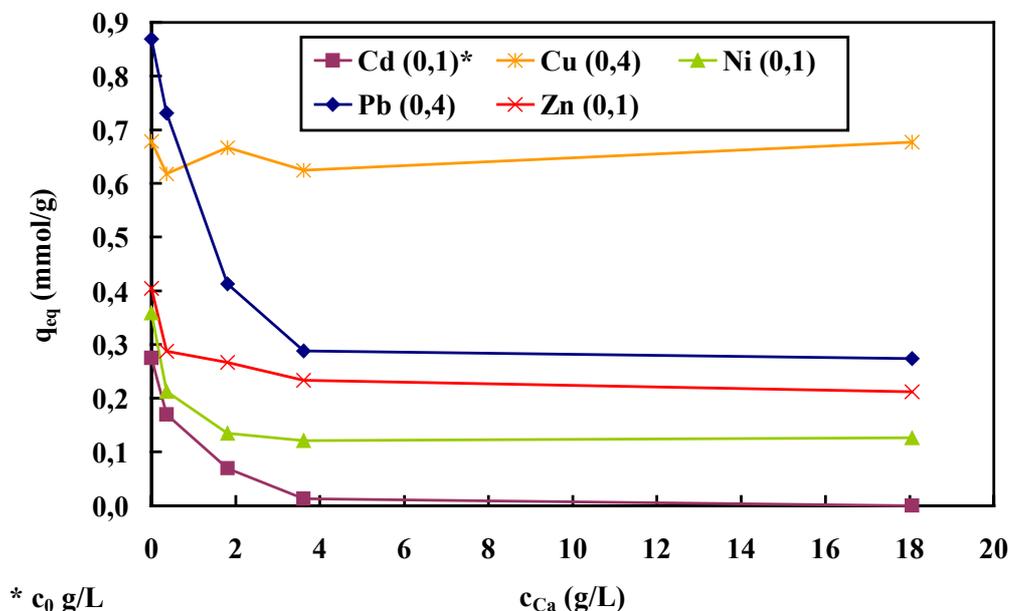


Abb. 5–16: Einfluss von Calciumionen auf die Biosorption an *L. taylorii*
Die Versuche wurden jeweils mit nur einem Metall in Lösung durchgeführt. Parameter s. Kap. 4.4.

Der Einfluss von Ca demgegenüber ist deutlich größer (Abb. 5–16). Als Ausnahme muss hier das Cu benannt werden, wo wiederum keine signifikante Änderung der Beladungen bei steigenden Ca-Gehalten beobachtet werden konnte. Schon ein Gehalt von 0,4 g/L Ca in den Schwermetalllösungen führte zu einer Erniedrigung der Beladung von Cd um 40%, Ni um 42 %, Pb um 16% und Zn um 28%. Wird die Ca Konzentration weiter erhöht, so nehmen die Beladungen bis zu einer Ca Konzentration von 4 g/L ebenfalls ab und bleiben bei 18 g/L Ca in der Lösung annähernd konstant. Die Beladungen sinken bei 18 g/L Ca um 70% für Pb,

64% für Ni und 48% für Zn. Eine Beladung mit Cd war bei diesem Ca-Gehalt nicht mehr nachzuweisen.

5.1.4.6 Reinigung eines bleihaltigen Abwasser mit *L. taylorii*

Die Entwicklung eines Verfahrens zur Abwasserreinigung auf Basis von *L. taylorii* wurde mit der Anwendung an einem realen Abwasser abgeschlossen. Dem Projektbereich wurde zu diesem Zweck von einem Akkumulatorenhersteller aus Berlin ein bleihaltiges Abwasser bereitgestellt. Angaben über die Zusammensetzung des Abwassers wurden von der Firma nicht gegeben. Somit erfolgte vor den eigentlichen Untersuchungen eine chemische Analyse des Abwassers. Die Summenparameter Leitfähigkeit (L), pH, TIC und TOC, sowie der Gehalt an Bor, Barium, Blei, Cadmium, Calcium, Eisen, Magnesium, Mangan, Ammonium, Nickel, Strontium, Vanadium, Zink, Nitrat, Nitrit und Sulfat wurden bestimmt und sind in Tab. 5–7 zusammenfassend dargestellt.

Tab. 5–7: Chemische Zusammensetzung eines Abwassers aus der Akkumulatorenindustrie

Parameter	Messwert ¹⁾	Parameter	Messwert	Parameter	Messwert
Pb (mg/L)	2,8	Cd (mg/L)	0,04	V (mg/L)	<0,1
L (µS)	1700	Fe (mg/L)	<0,1	Zn (mg/L)	1,21
pH	5,67	Mg (mg/L)	1,5	NO ₃ (mg/L)	3,6
TIC (mg/L)	92	Mn (mg/L)	<0,1	NO ₂ (mg/L)	3,6
TOC (mg/L)	n.n.	Na (mg/L)	<10	SO₄ (mg/L)	847
B (mg/L)	0,2	NH ₄ (mg/L)	0,1		
Ba (mg/L)	<0,1	Ni (mg/L)	0,05		
Ca (mg/L)	793	Sr (mg/L)	0,9		

¹⁾ Messbedingungen s. Kap. 4.4.2.5.

²⁾ n.n. – nicht nachweisbar

Der Bleigehalt des Abwasser betrug 2,8 mg/L. Als mengenmäßig bedeutenste Ionen in der Lösung konnten Ca und Sulfationen analysiert werden. Wie in Kap. 5.1.4.5 gezeigt, konkurrieren Ca Ionen mit Pb um die Bindungsstellen an *L. taylorii*. In der Größenordnung vom Blei konnten die Metalle Magnesium, Strontium und Zink bestimmt werden.

Vor dem Einsatz des Abwassers bei den Biotechnologen wurde untersucht, ob das vorhandene Blei bei Anwesenheit einer Vielzahl von Konkurrenzionen von der Alge im Batchversuch gebunden werden kann. Die Untersuchungen erfolgten unter Standardbedingungen (s. Kap. 4.4.2). Nach 30 Minuten war die Konzentration der Pb Ionen von 2,8 mg/L auf 0,3 mg/L gesunken. 89 % der vorhandenen Pb Ionen im Abwasser wurde von der Alge gebunden. *L. taylorii* war somit in der Lage aus einem komplexen Abwasser das Schwermetall zu entfernen und die Reinigung des Abwassers mit einer Festbettkolonne, die mit immobilisierter *L. taylorii* gefüllt war, konnte erwartungsvoll im Kooperationsprojekt begonnen werden (Wilke, 2001).

5.1.5 Vergleichssorbenzien

Im Verlauf der Arbeit wurden dem Projekt verschiedene Sorbenzien zur Verfügung gestellt, um die Leistungsfähigkeit mit anderen biologischen Materialien als auch mit neuen Ionenaustauschern zu vergleichen. Vom Institut für Biotechnologie der TU Berlin wurden uns für Vergleichszwecke zwei Polysaccharide aus der Fermentation (Glucferm und Klo-235) und das Polysaccharid Chitosan überlassen. Als Vertreter neuer Kationenaustauscher wurde von der Firma Baker das Austauscherharz DW 22 und von der Firma Eisu ein Kationenaustauscher auf Holzbasis (Carbion) bereitgestellt. Detaillierte Informationen über die Herstellung der beiden Ionenaustauscher war von den Firmen nur schwer zu beziehen. DW 22 ist ein Austauscher auf Basis von Thiolgruppen. Carbion wurde auf Basis modifizierter Holzabfälle (Einbau von funktionellen Gruppen in die Cellulosematrix) entwickelt.

5.1.5.1 Screening

Analog zur den Versuchen mit Algen erfolgte ein Screening unter den Standardbedingungen. In Tab. 5–8 sind die erzielten Ergebnisse zusammengefasst und mittels Abb. 5–17 ist ein direkter Vergleich mit den beiden leistungsfähigen Algen *C. salina* und *L. taylorii* möglich.

DW 22 und Carbion zeigen hervorragende Eigenschaften unter den Screeningbedingungen und konnten die vier Metalle jeweils vollständig aus den Lösungen entfernen. Vor allem die Kapazitäten für Ni sind im Vergleich mit den *C. salina* und *L. taylorii* hervorzuheben.

Glucferm zeigt gute Beladungen für Pb und Cd, jedoch deutlich geringere für Ni und Zn. Klo-235 konnte nur 11 bis 13 % der Metalle aus der Lösung binden. Eine Sorption von Pb, Ni und Zn an Chitosan wurde nicht nachgewiesen. Chitosan konnte jedoch 24 % der Cd Ionen aus der Lösung entfernen.

Tab. 5–8: Kapazitäten für Cd, Pb, Ni und Zn an Vergleichssorbentien
Die Versuche wurden jeweils mit nur einem Metall in Lösung durchgeführt. Parameter s. Kap. 4.4

Sorbens	Pb (0,4) ^a		Cd (0,1)		Ni (0,1)		Zn (0,1)	
	Ads. ^b	q _{eq} ^c	Ads.	q _{eq}	Ads.	q _{eq}	Ads.	q _{eq}
DW 22	100	0,87	100	0,42	99	0,77	99	0,67
Carbion	99	0,86	99	0,40	99	0,76	98	0,68
Glucaferm	73	0,64	56	0,22	4	0,03	24	0,17
Klo-235	12	0,10	13	0,05	13	0,10	11	0,08
Chitosan	n.n.		24	0,10	n.n.		n.n.	

^a Anfangskonzentration der einzelnen Metalle in g/L

^b Adsorptionseffizienz aus der Lösung in %

^c q_{eq} in mmol/g

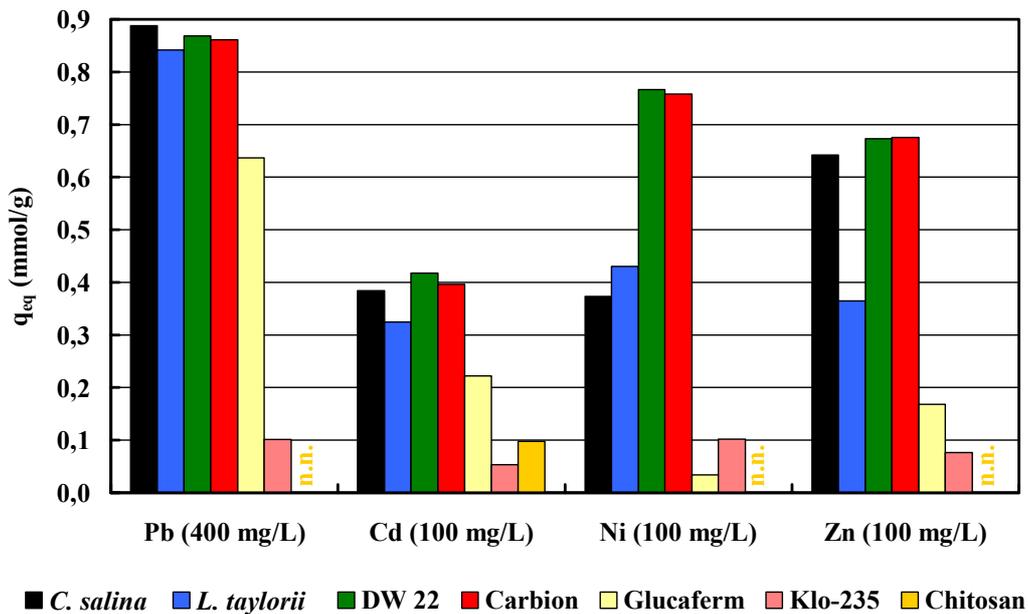


Abb. 5–17: Kapazitäten der Sorbentien im Verhältnis zu *C. salina* und *L. taylorii*

Die volle Leistungsfähigkeit der beiden Ionenaustauscher und damit der direkte Vergleich mit den Algen wurde durch Aufnahme der entsprechenden Isothermen eingeschätzt. Die folgenden Kapitel beschreiben die Adsorptionsisothermen an DW 22 und Carbion.

5.1.5.2 Dowex 22

Analog zu den Algen wurde durch Variation der Anfangskonzentration der einzelnen Metalle in der Lösung die entsprechenden Einstoffisothermen an DW 22 ermittelt. Abb. 5–18 stellt die einzelnen Datenpunkte und die mit dem Modell nach Langmuir (Gl. 2–1 u. Gl. 2–2) ermittelten Isothermen (durchgehende Linie) dar.

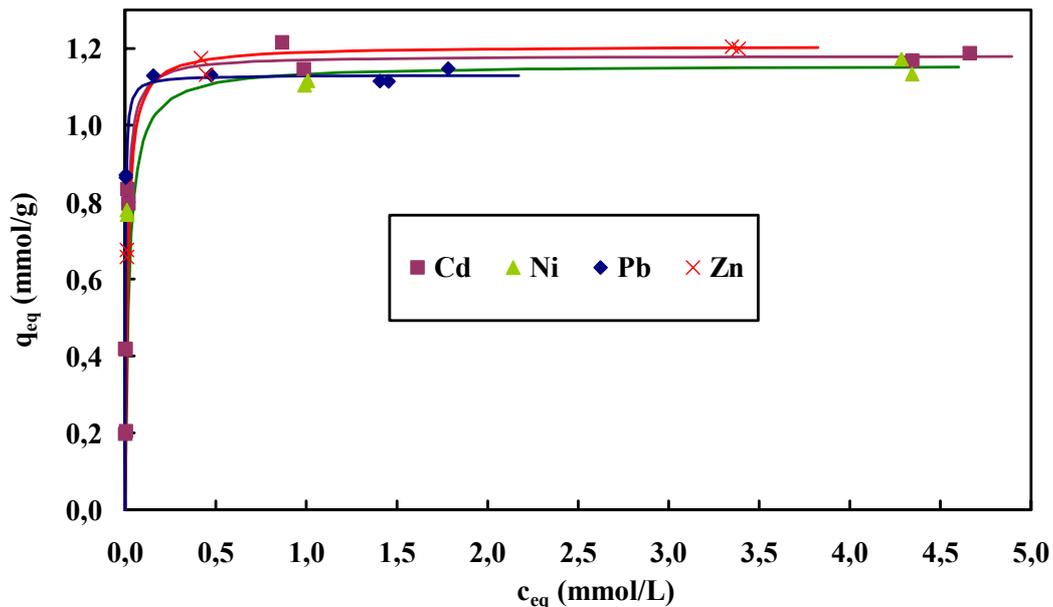


Abb. 5–18: Adsorptionsisothermen nach Langmuir von Cd, Ni, Pb und Zn an Dowex 22
Die Versuche wurden jeweils mit nur einem Metall in Lösung durchgeführt. Parameter s. Kap. 4.4

Die Isothermen verdeutlichen, dass deren Verlauf und die maximalen Kapazitäten für die vier Metalle sehr ähnlich sind. Die einzelnen Parameter der Langmuirisothermen (Tab. 5–9) unterstreichen diese Beobachtung. Im Unterschied zu den Algen konnte eine Dominanz von Pb hinsichtlich der Kapazitäten nicht beobachtet werden. In der Affinität (Konstante b) zur Oberfläche zeigen sich aber Unterschiede.

Tab. 5–9: Langmuirparameter für die Adsorptionsisothermen an Dowex 22

Metall	q_{\max}^a	b^b	r^2
Cd	1,18	110,28	0,9999
Ni	1,16	48,00	0,9994
Pb	1,13	401,27	0,9996
Zn	1,21	75,11	0,9999

^a q_{\max} in mmol/g

^b Langmuirkonstante in L/mmol

Aus den Daten der Langmuirkonstanten b ergibt sich folgende Affinitätsreihenfolge: $\text{Pb} > \text{Cd} > \text{Zn} > \text{Ni}$. Wie auch bei den Algen hat Ni die kleinste Affinität zum Sorbens.

Die besonderen Beladungseigenschaften von *C. salina* und *L. taylorii* gegenüber Pb ergeben eine höhere Beladungskapazität für dieses Metall im Vergleich zum Ionenaustauscher. Für die anderen Metalle zeigt der Ionenaustauscher deutlich höhere Beladungen. Eine vollständige Desorption der Metalle vom DW 22 war erst mit einer Salzsäurelösung von $> 1 \text{ mol/L}$ möglich.

5.1.5.3 Carbion

Der einzige kommerziell erhältliche Ionenaustauscher auf Basis von Abfallbiomasse (Holzspäne) in Deutschland ist Carbion. Nach Angabe des Herstellers wurde durch Einführung von funktionellen Gruppen in das Cellulosegerüst der Holzspäne ein leistungsfähiger Ionenaustauscher entwickelt. Die Adsorptionsisothermen nach Langmuir für Cd, Ni, Pb und Zn in Abb. 5–19 zeigen, dass die erzielten Beladungskapazitäten für die einzelnen Metalle die höchsten bisher gemessenen darstellen.

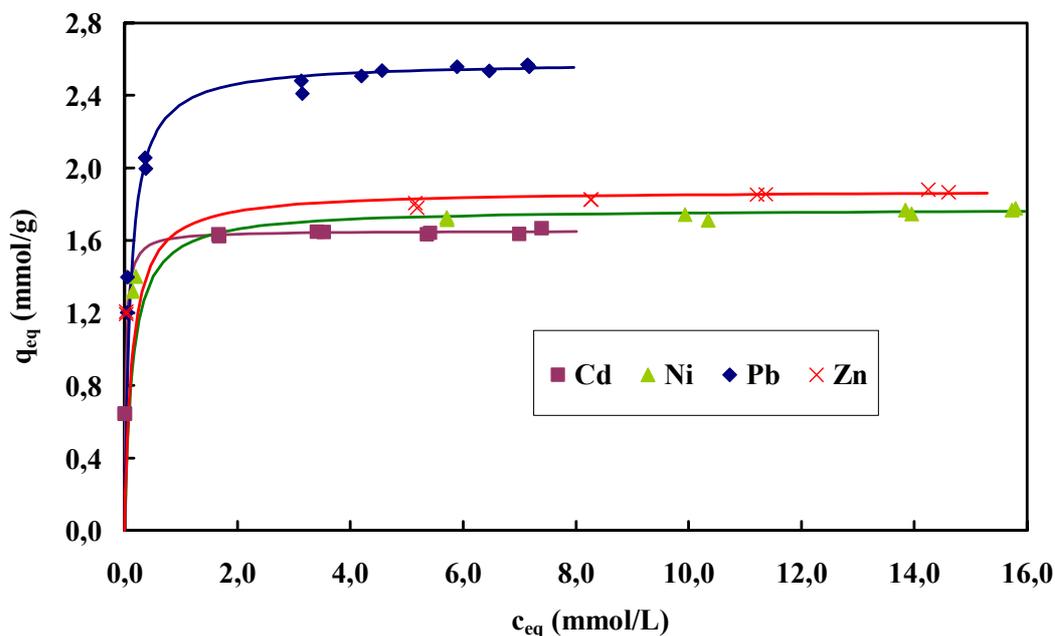


Abb. 5–19: Adsorptionsisothermen nach Langmuir von Cd, Ni, Pb und Zn an Carbion
Die Versuche wurden jeweils mit nur einem Metall in Lösung durchgeführt. Parameter s. Kap. 4.4

Die Kapazität für Pb ist wie bei den Algen deutlich größer im Verhältnis zu den anderen Metallen. Die maximale Beladung nach Langmuir (Tab. 5–10) für Pb beträgt $2,6 \text{ mmol/g}$. Die maximalen Beladungen für Cd, Ni und Zn liegen im Bereich von $1,7 - 1,9 \text{ mmol/g}$. Ni zeigt wiederum die geringste Affinität zur Oberfläche.

Tab. 5–10: Langmuirparameter für Adsorptionsisothermen an Carbion

Metall	q_{\max}^a	b^b	r^2
Cd	1,65	45,51	0,9998
Ni	1,77	7,39	0,9996
Pb	2,58	10,11	0,9996
Zn	1,88	7,66	0,9996

^a q_{\max} in mmol/g^b Langmuirkonstante in L/mmol

Die Metalle konnten mit einer 0,1 N Salzsäurelösung nicht vom Carbion desorbiert werden. Versuche mit einer 3 N Salzsäurelösung zeigten, dass 62 % des gebundenen Pb, 91 % Cd, 85 % Ni und 11 % Zn desorbiert werden konnten.

5.2 Charakterisierung der Bindungsstellen

Ausgehend von Arbeiten von Crist et al. (1992, 1994, 1999), die die Bedeutung von funktionellen Gruppen für die Biosorption von Schwermetallen an Algen zeigten, wurden die Bindungsstellen auf der Oberfläche der Algen charakterisiert. Träger der funktionellen Gruppen (z.B. Carboxyl-, Hydroxyl-, Sulfonsäure- und Aminogruppen) in der Zellwand der Algen sind vor allem Polysaccharide und in diese eingebettete Proteine.

5.2.1 Elementaranalyse der Biosorbentzien

Zur Abschätzung der Gehalte an funktionellen Gruppen, die sich aus den Heteroatomen N, S und P zusammensetzen, wurde eine Elementaranalyse der im Screening eingesetzten Algen und der Vergleichssorbentzien durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tab. 5–11 und Tab. 5–12 zusammengefasst. Die experimentellen Bedingungen sind in Kap. 4.5.1 erläutert.

Die Daten in Tab. 5–11 wurden nach der Biosorptionsleistung der im Screening eingesetzten Algen sortiert (*C. salina* bis *D. bioculata*).

Tab. 5–11: Elementaranalyse (C, H, N, S und P) der Algen

Spezies ^a	Elementgehalte %					Σ	molarer Gehalt mmol / g Biomasse		
	C	H	N	S	P		N	S	P
<i>C. salina</i>	46	6,7	6,1	0,82	1,6	61	4,3	0,26	0,52
<i>S. hofmani</i>	40	6,3	5,9	0,19	3,4	56	4,2	0,06	1,1
<i>L. taylorii</i>	40	6,1	6,0	0,30	1,5	54	4,3	0,09	0,47
<i>A. densus</i>	43	6,4	6,5	0,44	3,5	60	4,7	0,14	1,1
<i>K. spiculiformis</i>	41	5,8	10,0	0,76	1,8	59	7,2	0,24	0,57
<i>V. dichotoma</i>	44	5,7	3,7	0,89	0,72	55	2,6	0,28	0,23
<i>C. kessleri</i>	47	6,7	6,9	0,38	2,0	63	4,9	0,12	0,65
<i>M. spezies</i>	46	6,3	10,8	0,77	1,7	66	7,7	0,24	0,56
<i>S. maxima</i>	49	7,9	10,8	0,54	1,8	70	7,7	0,17	0,57
<i>C. vulgaris</i>	46	6,6	7,4	0,64	1,6	62	5,3	0,20	0,51
<i>G. longicauda</i>	44	6,6	6,4	0,18	1,4	58	4,5	0,05	0,46
<i>R. spiculiforme</i>	49	7,4	10,5	0,69	2,8	71	7,5	0,22	0,90

Spezies ^a	Elementgehalte %					Σ	molarer Gehalt mmol / g Biomasse		
	C	H	N	S	P		N	S	P
<i>A. hantzschii</i>	40	6,0	5,1	0,74	1,1	53	3,6	0,23	0,36
<i>S. platensis</i>	50	6,9	10,8	0,58	2,1	70	7,7	0,18	0,68
<i>P. tricorutum</i>	55	7,7	4,6	0,92	1,5	69	3,2	0,29	0,49
<i>M. aeruginosa</i>	49	7,0	6,6	0,76	1,6	65	4,7	0,24	0,51
<i>P. purpureum</i>	43	6,7	2,4	0,99	1,6	55	1,7	0,31	0,53
<i>G. verrucosa</i>	50	7,3	1,8	0,14	2,0	61	1,3	0,04	0,64
<i>C. spezies</i>	49	7,3	4,9	0,76	1,5	63	3,5	0,24	0,49
<i>A. cylindrica</i>	49	6,9	9,3	0,46	1,9	68	6,6	0,14	0,62
<i>S. laxissima</i>	52	7,3	11,9	0,65	1,6	73	8,5	0,20	0,52
<i>G. planctonica</i>	50	7,7	3,1	0,32	1,2	62	2,2	0,10	0,39
<i>S. spezies</i>	38	5,8	7,9	0,36	2,3	54	5,7	0,11	0,73
<i>P. spezies</i>	44	6,5	5,9	0,27	1,9	58	4,2	0,08	0,62
<i>A. africanum</i>	46	6,8	7,9	0,37	2,1	63	5,6	0,12	0,68
<i>E. magnus</i>	59	8,7	2,0	0,19	1,6	71	1,4	0,06	0,51
<i>D. salina</i>	47	7,1	6,6	0,26	2,5	64	4,7	0,08	0,79
<i>A. inaequalis</i>	47	7,1	4,9	0,15	2,3	61	3,5	0,05	0,76
<i>D. bioculata</i>	47	6,6	1,6	0,07	1,5	57	1,1	0,02	0,50

^a *N. parmelloides* und *T. spezies* wurden nicht untersucht.

Die untersuchten fünf Elemente stellen 53 bis 73 % der Algenbiomasse dar. Das Element Sauerstoff wird zum großen Teil den verbleibenden Rest einnehmen. Erwartungsgemäß ist der C-Gehalt der Biomasse mit 38 bis 59 % am größten. Der H-Gehalt wurde von 6 bis 9 % bestimmt. Unter den Heteroatomen stellt N mit einem Gehalt von 2 bis 11 % (1 - 8 mmol/g Alge) das wichtigste Element, gefolgt von P mit einem Gehalt von 1 bis 3,5 % (0,2 – 1 mmol/g Alge) dar. Der S-Gehalt liegt in einem Bereich von 0,1 bis 1 % (0,02 – 0,3 mmol/g Alge).

Bei Betrachtung der Heteroatome N, S und P lässt sich kein direkter Zusammenhang mit den unterschiedlichen Beladungskapazitäten der einzelnen Algen erkennen. So zeigen die Chlorophyceae *R. spiculiforme*, die Cyanophyceae *S. platensis* und die Cyanophyceae *M. spezies* die höchsten Gehalte an den Elementen N, S und P. *C. salina* befindet sich nach ihrem Gehalt an N, S und P auf Rang 13 der untersuchten Algen. *L. taylorii* zeigt eine noch geringeren Gehalt an Heteroatomen als *C. salina* und reiht sich auf Rang 24 aller untersuchten Algen ein. Funktionelle Gruppen aus diesen Heteroatomen spielen bei der Biosorption der betrachteten Metalle an den beiden Algen somit nur eine untergeordnete Rolle.

Die Ergebnisse der Vergleichssorbenzien in Tab. 5–12 zeigen einen deutlichen Zusammenhang zwischen den Gehalten an P bzw. S in den kommerziellen Ionenaustauschern Carbion bzw. DW 22.

Carbion weist einen P-Gehalt von 10 % (3,3 mmol/g Sorbens) auf, was auf eine Phosphorylierung der Holzmatrix schließen lässt. Verfahren zur Phosphorylierung von Holz sind in der Literatur als sehr erfolgreich beschrieben worden (s. Kap. 2.3.2.1). Der Ionenaustauscher DW 22 besitzt erwartungsgemäß einen sehr hohen S-Gehalt von 37 % (11,5 mmol/g Sorbens), da laut Herstellerangaben endständige Thiolgruppen für den Ionenaustausch verantwortlich sind.

Tab. 5–12: Elementaranalyse (C, H, N, S und P) der Vergleichssorbenzien

Spezies	Elementgehalte %					Σ	Molarer Gehalte mmol / g Sorbens		
	C	H	N	S	P		N	S	P
Carbion	32,5	5,5	6,2	0,05	10,1	54,3	4,4	0,01	3,3
DW 22	32,8	3,4	0,2	37,0	1,6	75,0	0,2	11,5	0,5
Glucaferm	43,2	6,4	1,0	0,04	1,2	51,8	0,7	0,01	0,4
Klo-235	41,2	6,6	8,0	< 0,02	1,3	57,1	5,7	-	0,4
Chitosan	41,6	6,6	5,6	< 0,02	1,2	55,1	4,0	-	0,4

Die drei biologischen Materialien zeigten keine Besonderheiten und waren bis auf ihren N-Gehalt sehr ähnlich. Der S-Gehalt war wie bei den Algen sehr gering.

5.2.2 Bedeutung von Carboxylgruppen für die Biosorption

Der in der Literatur angedeutete große Einfluss der Carboxylgruppe auf die Biosorption von Metallen aus wässrigen Lösungen wurde im folgenden an ausgewählten Algen untersucht.

Die freien Carboxylgruppen der Algen wurden nach einer Methode von Gardea-Torresday et al. (1990) durch eine 48stündige Methylierung blockiert. Die Methylierung erfolgte in salzsaurem Methanol bei Raumtemperatur. Details zu der verwendeten Methode sind in Kap. 4.5.2 beschrieben.

Für die Untersuchungen wurden sechs Algenarten mit verschiedenen Biosorptionseigenschaften ausgewählt. Abb. 5–20 stellt die Ergebnisse der Adsorptionsversuche an den modifizierten Algen im Vergleich zu den unbehandelten Algen dar. Auf der Y-Achse ist der Quotient aus der Aufnahmekapazität der modifizierten Alge zur unbehandelten Alge für die vier Metalle aufgetragen. Auf der X-Achse sind die einzelnen Metalle und in Klammern die Anfangskonzentration der jeweiligen Metalllösung dargestellt.

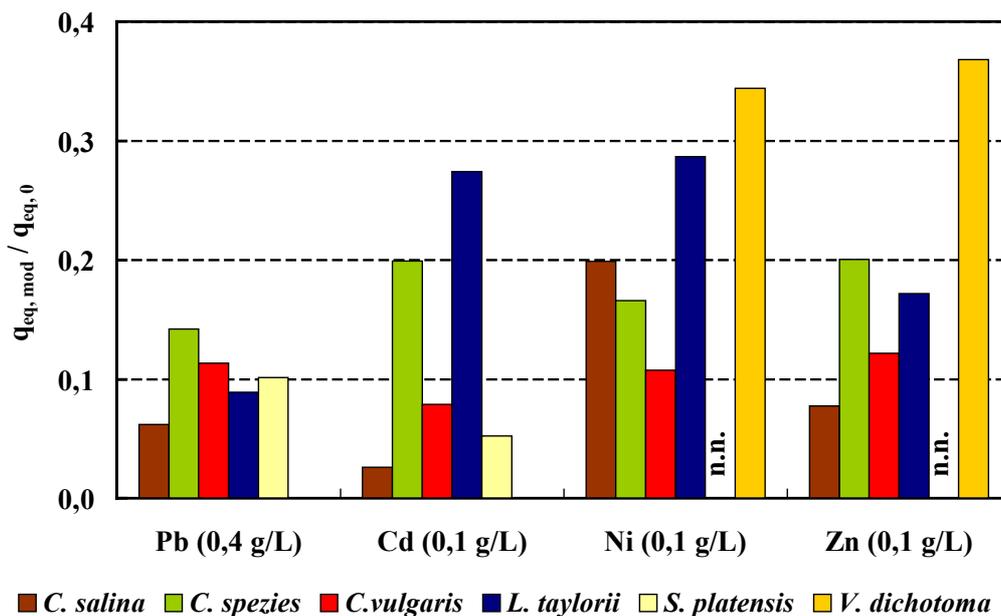


Abb. 5–20: Einfluss einer Methylierung der Carboxylgruppen auf die Biosorption
Die Versuche wurden jeweils mit nur einem Metall in Lösung durchgeführt. Parameter s. Kap. 4.4 (für *V. dichotoma* wurden die Beladung nur für Ni und Zn bestimmt); $q_{eq, mod}$ – Beladung der modifizierten Alge, $q_{eq, 0}$ – Beladung der unbehandelten Alge, n.n. – Beladung nicht nachweisbar

Die modifizierten Algen zeigten eine deutlich verringerte Adsorptionsfähigkeit für die Metalle. Die Beladungskapazität von *C. salina* verringert sich um über 90 % für Pb, Cd und Zn und um 80 % für Ni. Die Chlorophyceae *C. spezies* zeigte verringerte Beladungen im Bereich von 80 bis 86 % für die Metalle. Die Kapazitäten von *C. vulgaris* verringerten sich um 90 %.

L. taylorii verlor nach der Methylierung 90 % seiner Kapazität für Pb, über 70 % für Cd und Ni und über 80 % für Zn. An der Cyanophyceae *S. platensis* konnte unter den gewählten Bedingungen nach der Methylierung für Nickel und Zink eine Adsorption nicht mehr nachgewiesen werden. An *V. dichotoma* konnte eine Erniedrigung um 66 % für Ni und 63 % für Zn beobachtet werden.

Um den Nachweis zu erbringen, dass die Methylierung erfolgreich war und um eine quantitative Abschätzung der blockierten Carboxylgruppen zu erhalten, wurde nach der Hydrolyse der Algen das freigesetzte Methanol bestimmt. Details zu der verwendeten Methode sind in Kap. 4.5.2 angegeben. Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle (Tab. 5–13) zusammengefasst.

Tab. 5–13: Gehalt an Carboxylgruppen in den unbehandelten und behandelten Algen

Spezies	unbehandelt ^a	methyliert ^{a, b}
	c _{Methanol} (mmol / g)	c _{Methanol} (mmol / g)
<i>C. salina</i>	0,03	0,80
<i>C. spezies</i>	0,03	0,34
<i>C. vulgaris</i>	0,03	0,81
<i>L. taylorii</i>	0,02	0,90
<i>S. platensis</i>	0,01	0,81
<i>V. dichotoma</i>	0,02	0,52

^a Versuchsdurchführung und –bedingungen s. Kap. 4.5.2.2

^b RSD (n≥4) ≤ 9 %

Die Hydrolyse von unbehandelten Algen als Kontrollversuche ergab, daß in den Algen die Carboxylgruppen weitgehend frei vorliegen. Der Veresterungsgrad der natürlichen Algen ist nur gering.

Die methylierten Algen ergaben Gehalte an Methanol nach der Hydrolyse von 0,3 bis 0,9 mmol/g Alge. Die gefundenen Methanolgehalte entsprechen einem Carboxylgruppengehalt von 0,3 bis 0,9 mmol/g Alge. Diese Ergebnisse korrelieren mit den Biosorptionsversuchen an den methylierten Algen und zeigen, dass Carboxylgruppen an der Biosorption entscheidend beteiligt sind. Die höchsten Carboxylgruppengehalte wurden bei *L. taylorii*, *C. salina*, *C. vulgaris* und *S. platensis* gefunden und zeigen, daß noch andere wichtige Faktoren einen Beitrag zur Biosorption leisten. Die Biosorptionseigenschaften von den beiden leistungsfähigsten Algen unterscheiden sich deutlich von *C. vulgaris* und *S. platensis*.

5.2.3 Bestimmung der Monosaccharidzusammensetzung der Zellwände

Die vorhergehenden Untersuchungen zeigten die Bedeutung der Carboxylgruppen bei der Biosorption der vier Schwermetalle an ausgewählten Algen. Es ist bekannt, daß ein großer Teil der Carboxylgruppen in den Zellwandpolysacchariden der Algen lokalisiert sind (s. Kap. 2.2.3). Die sogenannten Uronsäuren (z.B. Galacturonsäure und Glucuronsäure) sind die monomeren Bestandteile dieser sauren Polysaccharide. Zur weiteren Charakterisierung der Bindungsstellen wurden die Polysaccharide der Zellwand ausgewählter Algen nach saurer Hydrolyse auf ihre Monosaccharidzusammensetzung untersucht. Die untersuchten Algen wurden dafür wiederum hinsichtlich unterschiedlicher Biosorptionseigenschaften ausgesucht.

Für die Bestimmung der freigesetzten Monosaccharide wurde eine HPLC-Methode an Anionenaustauschersäulen mit pulsamperometrischer Detektion (HPAEC-PAD) an einer Goldelektrode etabliert. Die Methode ermöglicht die Trennung von Monosaccharid- bis Oligosaccharidgemischen. Die gleichzeitige Bestimmung der besonders interessierender Uronsäuren ist in einer Analyse zusammen mit den neutralen Monosacchariden möglich. Details zu der Methode und HPAEC-Chromatogramme sind in Kap. 4.5.3 im Experimentellen Teil dargestellt. In Tab. 5–14 sind die Ergebnisse der Untersuchungen der Zellwandpolysaccharide von sieben Algen zusammengefasst.

Tab. 5–14: Monosaccharidzusammensetzung der Zellwände ausgewählter Algen

Spezies	Monosaccharidgehalt (% Alge)		Anteil der hydrolysierbaren Monosaccharide (% bezogen auf Gesamtgehalt) ^a							
	Gesamt	Uronsäuren	Ado	Fuc	Rha	Gal	Glc	Man	GaU	GIU
<i>C. salina</i>	12	1,1	0,7	1,0	1,7	21,2	51,1	15,1	8,7	0,6
<i>L. taylorii</i>	34	1,9	1,2	0,6	1,8	4,9	78,9	7,0	5,2	0,4
<i>S. platensis</i>	21	2,2	-	9,3	1,4	-	78,8	-	8,1	2,4
<i>P. purpureum</i>	74	4,2	2,0	0,6	-	8,5	68,5	14,8	1,3	4,4
<i>G. verrucosa</i>	23	0,2	3,1	0,2	27,4	15,1	32,8	20,5	0,7	0,2
<i>C. spezies</i>	34	1,0	5,3	1,4	-	4,5	76,2	9,4	1,7	1,4
<i>E. magnus</i>	22	0,8	22,4	13,1	7,6	-	53,1	-	2,5	1,3

^a Ado = Adonitol; Fuc = Fucose; Rha = Rhamnose; Gal = Galactose; Glc = Glucose; Man = Mannose; GaU = Galacturonsäure; GIU = Glucuronsäure

Die Gesamtgehalte an hydrolysierbaren Monosacchariden lagen in einem Bereich von 12 % bei *C. salina* und 74 % bei *P. purpureum*. Die Bestimmung der Uronsäuren ergab Gehalte im Bereich von 0,2 % (0,01 mmol/g Alge) bei *G. verrucosa* bis 4,2 % bei *P. purpureum* (0,2 mmol/g Alge).

Als neutrale Komponenten der hydrolysierten Polysaccharide wurden Glucose, Galactose, Mannose, Rhamnose, Fucose und Adonitol gefunden. Glucose, Galactose und Mannose stellen die mengenmäßig wichtigsten Kohlenhydrate in den Hydrolysaten von *C. salina*, *L. taylorii*, *P. purpureum*, *G. verrucosa* (zusätzlich noch Rhamnose) und *C. spezies* dar. Das Hydrolysat der Cyanophyceae *S. platensis* setzt sich zu 79 % aus Glucose zusammen. Die Hauptmonosaccharide, die bei der Untersuchung von *E. magnus* bestimmt werden konnten, waren Glucose, Adonitol und Fucose.

Die Uronsäuren Galacturon- und Glucuronsäure konnten in allen Hydrolysaten bestimmt werden. Mit Ausnahme von *P. purpureum* waren die Galacturonsäuregehalte höher als die Glucuronsäuregehalte. Der Anteil der Uronsäuren an dem Gesamtkohlenhydratgehalt der Algenhydrolysate betrug unter 9 % für Galacturonsäure und unter 5 % für die Glucuronsäure.

Ein direkter Zusammenhang zwischen der Zusammensetzung, vor allem mit dem Anteil an Uronsäuren, und den unterschiedlichen Biosorptionskapazitäten war nicht zu erkennen.

5.2.4 Extraktion verschiedener Zellwandbestandteile

Um die Bedeutung der Zellwandkomponenten im Biosorptionsprozess weiter zu untersuchen, wurden verschiedene Extraktionen angewendet. An *C. salina* und *L. taylorii* wurden lipophile, hydrophile und alkalische Extraktionen durchgeführt. Die Durchführung der Extraktionen ist in Kap. 4.5.4 detailliert beschrieben.

In Abb. 5–21 und Abb. 5–22 sind die Auswirkungen der Extraktionen auf die Biosorptionseigenschaften an *C. salina* und *L. taylorii* für Blei und Zink zusammengefasst.

Der Rückstand der lipophil extrahierten *C. salina* weist eine leicht höhere Beladung auf als die ursprüngliche Biomasse. Eine hydrophile oder alkalische Extraktion führte bei *C. salina* zu einer Erniedrigung der Beladung für Pb des erhaltenen Rückstandes. Die Beladung für Zn steigt nach lipophiler und alkalischer Extraktion an und verringert sich nach hydrophiler Extraktion (100 °C). Eine Beurteilung der Bedeutung der extrahierten Zellwandbestandteile wird erst durch Bezug der Beladung auf die ursprüngliche Biomasse möglich (Abb. 5–21B). Die

Extraktionen bewirken eine Aufkonzentrierung der verbleibenden Bindungsstellen auf der Alge, was zu einer Erhöhung der Beladungen führen kann.

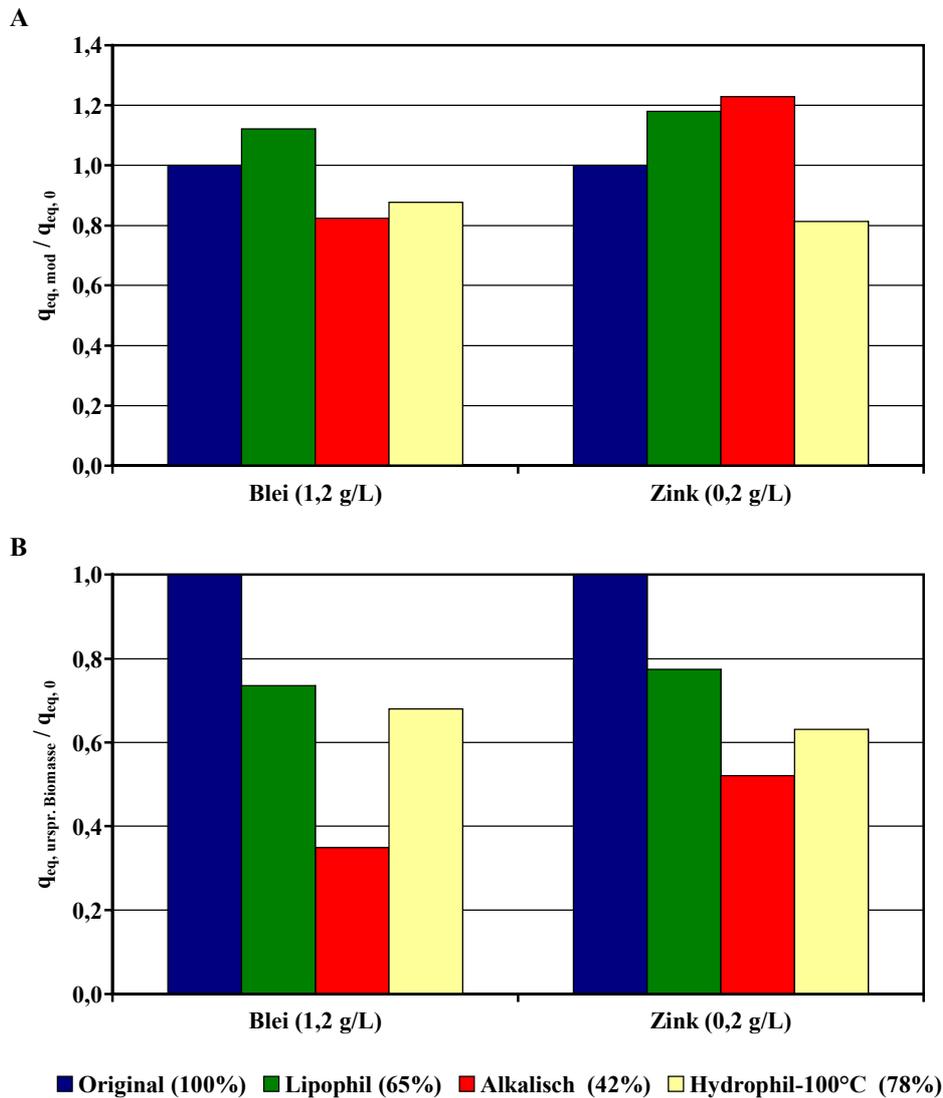


Abb. 5–21: Einfluss verschiedener Extraktionen auf die Biosorption an *C. salina*

A - Beladung bezogen auf Rückstand;

B - Beladung bezogen auf ursprüngliche Biomasse

($q_{eq, mod}$ – Beladung der modifizierten Alge, $q_{eq, urpr. Biomasse}$ – Beladung der modifizierten Alge bezogen auf die ursprünglich eingesetzte Biomasse, $q_{eq, 0}$ – Beladung der unbehandelten Alge, () in der Legende – verbleibende Biomasse nach Extraktion)

Ein Bezug der Beladungen auf die ursprüngliche Biomasse (Abb. 5–21B) zeigt, dass durch alle drei Extraktionen Bindungsstellen für die beiden Metalle extrahiert wurden. Durch die alkalische Extraktion, mit der 58 % der Algenbiomasse extrahiert werden konnte, verringert sich die Beladung für Pb um über 65 % und für Zn um 48 %. Es konnte eine stärkere Beeinflussung der Biosorption von Pb gegenüber Zn beobachtet werden. Die lipophile Extraktion ergab eine geringere Abnahme der Biosorptionsleistung von Pb um 26 % und Zn um 23 %. Eine wässrige Extraktion bei 100 °C führte zu einem Verlust von 22 % der Biomasse und eine deutliche Abnahme der Beladungen. Die Beladungen der Rückstände bei *C. salina* zei-

gen, dass ein Großteil der Bindungsstellen in dem nicht extrahierbaren Zellwandgerüst lokalisiert sind.

Diese Beobachtung zeigt sich bei den Ergebnissen der Extraktionen an *L. taylorii* noch verstärkt. Die verbleibende Biomasse zeigte nach den einzelnen Extraktionen höhere Beladungen als die unbehandelten Algen (Abb. 5–22A).

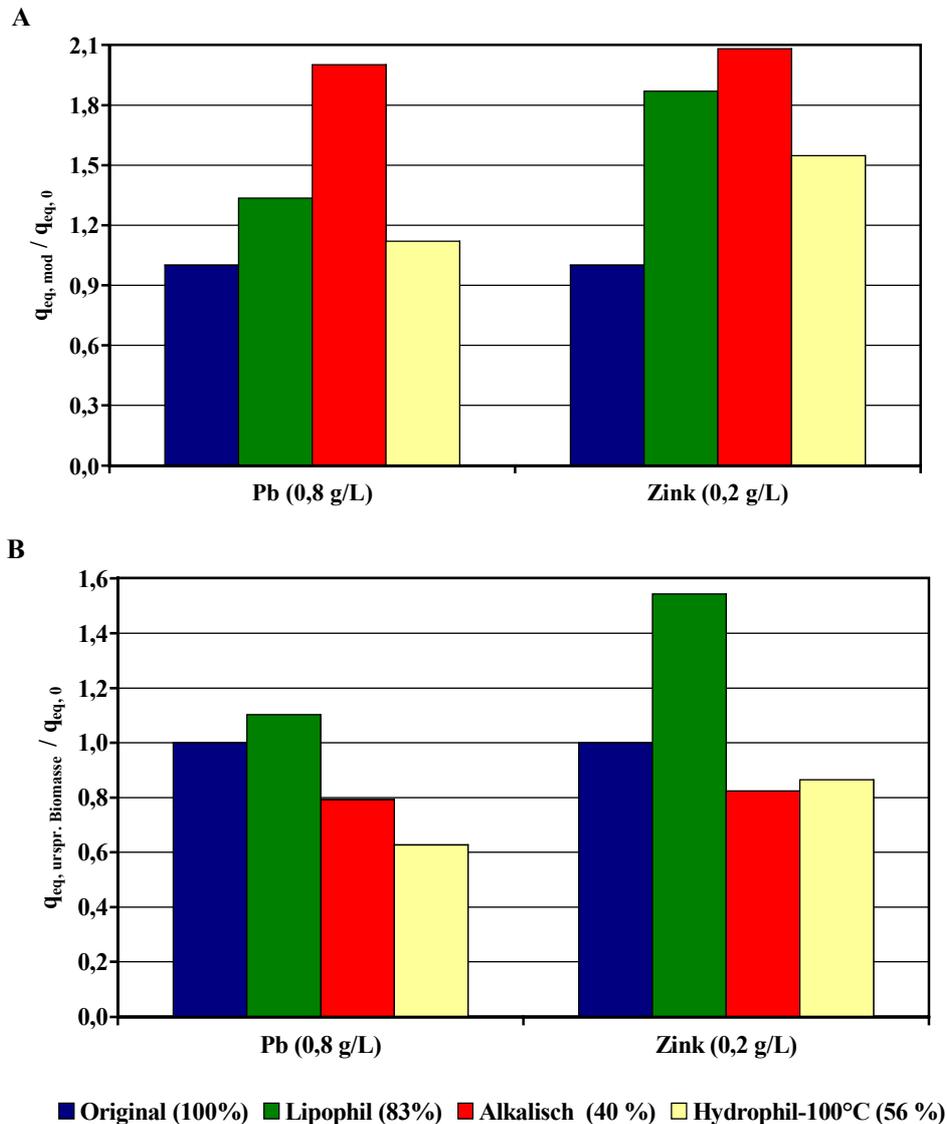


Abb. 5–22: Einfluss verschiedener Extraktionen auf die Biosorption an *L. taylorii*

A - Beladung bezogen auf Rückstand;

B - Beladung bezogen auf ursprüngliche Biomasse

($q_{eq, mod}$ – Beladung der modifizierten Alge, $q_{eq, urspr. Biomasse}$ – Beladung der modifizierten Alge bezogen auf die ursprünglich eingesetzte Biomasse, $q_{eq, 0}$ – Beladung der unbehandelten Alge, () in der Legende – verbleibende Biomasse nach Extraktion)

Um Aussagen über die Bedeutung der extrahierten Zellwandbestandteile für die Biosorption zu erhalten, wurde wiederum die Beladung auf die ursprüngliche Biomasse bezogen (Abb. 5–22B). Es zeigte sich, dass eine lipophile Extraktion mit Methanol und Dichlormethan die Adsorptionskapazitäten für die Metalle noch erhöht. Die alkalischen Extraktionen zeigten eine

Verringerung der Biosorptionsleistungen für beide Metalle von etwa 20 %. Die Polysaccharide, die durch die alkalische Behandlung extrahiert wurden (60 % der Biomasse), spielen eine weit geringere Rolle für die Biosorption der Metalle als bei *C. salina*. Durch eine wässrige Extraktion konnten 44 % der Zellwandbestandteile extrahiert werden, die zu einer Abnahme der Kapazitäten der verbleibenden Biomasse von 37 % für Pb und 13 % für Zn führte. Die Mehrzahl der Bindungsstellen für die Metalle an *L. taylorii* befinden sich auf dem nicht extrahierbaren Zellwandgerüst.

Die Kenntnis des Extraktionsverhaltens der Algen in Hinblick auf ihre Biosorptionseigenschaften ist auch aus Sicht der technischen Nutzung von Abfallbiomasse als Biosorbens von großer Wichtigkeit, weil solche Extraktionen in der Naturstoffisolierung aus Algen häufig angewendet werden (s. Kap. 2.2.4).

5.2.5 Charakterisierung der Oberfläche

Die vorhergehenden Kapitel beschäftigten sich mit Charakterisierung der Bindungsstellen durch chemische Verfahren, die die Zellwandstrukturen der Oberfläche der Algen veränderten, um sie dadurch näher zu analysieren. Die folgenden Kapitel benutzen zur Charakterisierung der Bindungsorte nun zerstörungsfreie physikalische und spektroskopische Methoden. Die spektroskopischen Methoden ermöglichen eine direkte Beobachtung der Bindungsorte.

5.2.5.1 Rasterelektronenmikroskopie (REM)

Die Grundlagen der Rasterelektronenmikroskopie in Kombination mit einer Röntgmikroanalyse sind in Kap. 4.2.5 dargelegt. Für die experimentellen Bedingungen sei auf Kap. 4.5.7 verwiesen. Die REM in Kombination mit einer Röntgenmikroanalyse ist für die Bestimmung der Elementzusammensetzung der Oberfläche und der Verteilung der Metalle auf der Biomasse ein äußerst hilfreiches System. Die Elementzusammensetzung gerade in Hinblick auf das Vorhandensein weiterer Metalle ist bei den Untersuchungen von Bedeutung. Die Bindungsstellen der Metalle konnten durch diese spektroskopische Methode auf der Oberfläche der Algen näher lokalisiert werden.

Die Untersuchungen wurden mit unbeladenen und beladenen Biomassen von *C. salina* und *L. taylorii* durchgeführt. Abb. 5–23A und Abb. 5–24A zeigen jeweils typische REM Aufnahmen von *C. salina* und *L. taylorii*. Das REM Bild von *C. salina* stellt eine Nahaufnahme der Oberfläche dar. Es sind die ineinander zerknäulten Zellwandpolymere sichtbar. Die Abbildung von *L. taylorii* lässt einen Blick auf die zerklüftete Oberfläche eines Algenpartikels zu.

Zur Analyse der Elemente auf der Oberfläche der Algen wurden die durch die Anregung mit dem Elektronenstrahl von den einzelnen Elementen emittierten Röntgenstrahlen aufgezeichnet und in entsprechenden Spektren dargestellt. In Abb. 5–23 sind die Röntgenspektren der natürlichen (Abb. 5–23B) und mit Pb beladenen (Abb. 5–23C) Oberfläche von *C. salina* dargestellt.

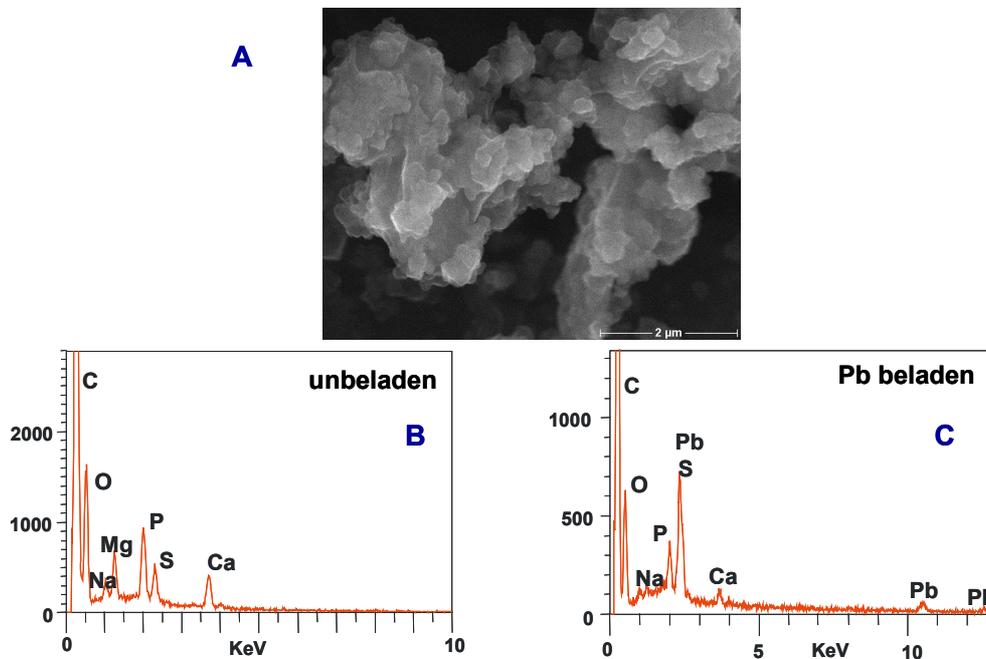


Abb. 5–23: REM - Röntgenanalyse an *C. salina*
(A – REM-Aufnahme, B – Röntgenspektrum der natürlichen Alge, C - Röntgenspektrum der mit Pb beladenen Alge)

Das Spektrum der unbehandelten *C. salina* verdeutlicht, dass neben den schon bekannten Elementen (C, O, P und S) auch deutliche Gehalte an den Metallen Mg und Ca auf der Oberfläche vorhanden sind. Geringe Gehalte an Na konnten ebenfalls bestimmt werden. Die Röntgenanalyse an *C. salina* nach Biosorption von Pb bestätigt das Vorhandensein von Pb auf der Alge mit einem gleichzeitig verringerten Gehalt an Ca. Mg konnte nicht detektiert werden.

Das Röntgenspektrum der unbehandelten Alge *L. taylorii* (Abb. 5–24B) zeigt die gleichen Elemente auf der Oberfläche wie bei *C. salina*. Die Gehalte an Ca sind jedoch um ein Vielfaches höher. Na und Mg sind nur schwach detektierbar. Die Beladung der Alge mit Pb führt zu dem erwarteten starken Pb Signal im Spektrum und einem beträchtlich niedrigerem Signal für Ca.

Die Beladungen der Algen mit Cd, Ni und Zn führt zu ähnlichen Spektren. Die Signale der Schwermetalle sind aufgrund der geringeren Beladung nur entsprechend verringert.

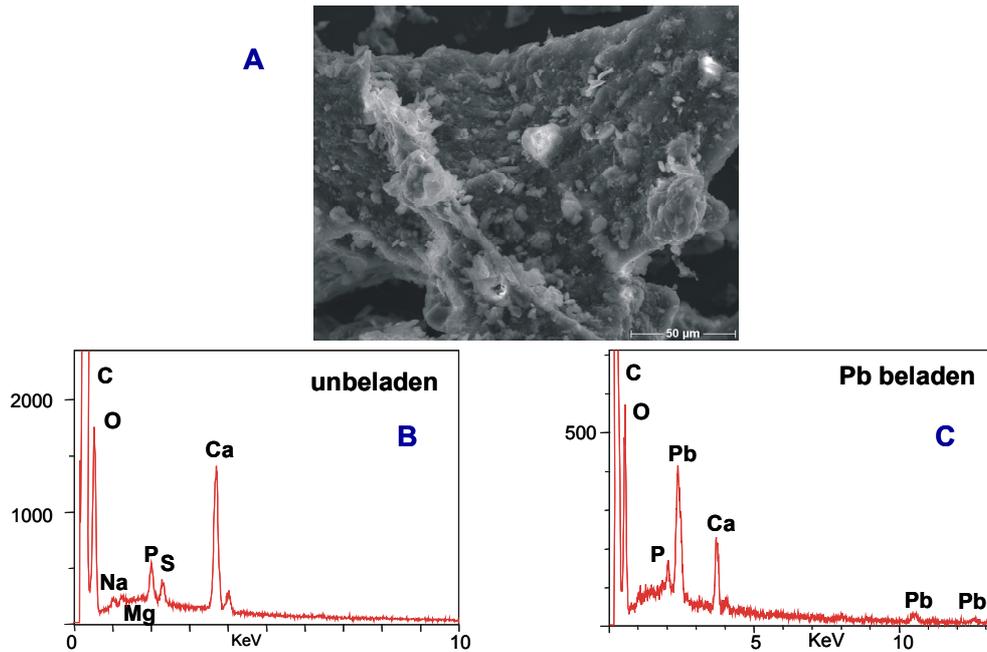


Abb. 5–24: REM - Röntgenanalyse an *L. taylorii*
(A – REM-Aufnahme, B – Röntgenspektrum der natürlichen Alge, C - Röntgenspektrum der mit Pb beladenen Alge)

Die Verteilung der einzelnen Schwermetalle auf der Oberfläche der Algen konnte durch Abbildung der entsprechenden Röntgensignale, die in Bildpunkte umgewandelt wurden, sichtbar gemacht werden. Abb. 5–25 illustriert die Verteilung von Pb, Cd, Ni und Zn am Beispiel von *L. taylorii*.

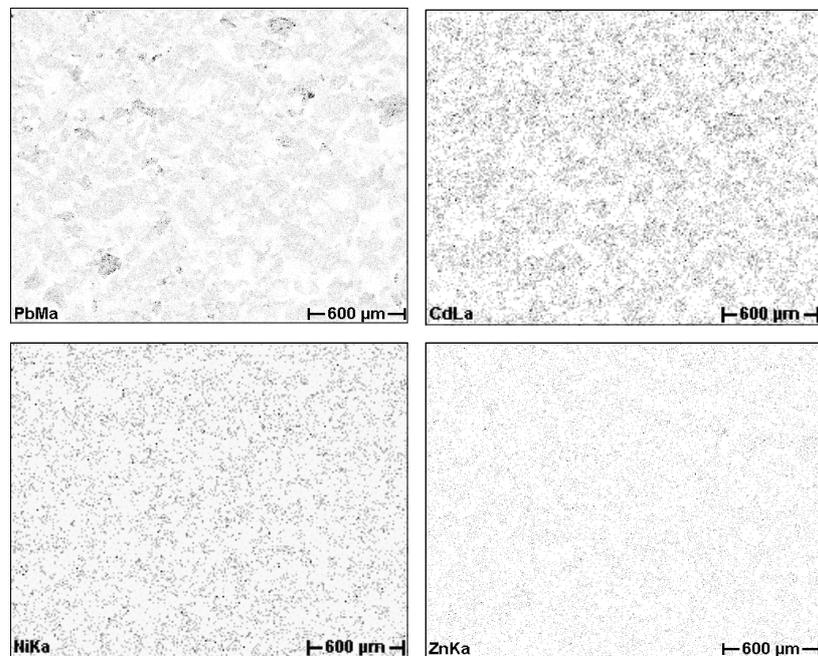


Abb. 5–25: Verteilungsbilder von Pb, Cd, Ni und Zn auf der Oberfläche von *L. taylorii*

Für die Aufnahme der Verteilungsbilder wurde der größtmögliche Ausschnitt der Gesamtprobe verwendet. Jeder einzelne Bildpunkt symbolisiert ein spezifisches Röntgensignal des entsprechenden Metalls. Für alle vier Metalle lässt sich erkennen, dass die Metalle über die Oberfläche der Alge sehr gleichmässig verteilt sind und einzelne Bereiche mit großer Intensität nicht zu beobachten sind.

5.2.5.2 Bedeutung von Calcium bei der Biosorption an *L. taylorii*

Die Röntgenanalyse von *L. taylorii* im letzten Kapitel zeigte hohe Gehalte an Calcium auf der Oberfläche. Was passiert mit dem Calcium während der Biosorption der Metalle? Zur Klärung dieser Frage wurden erneute Biosorptionsuntersuchungen (s. Kap. 4.4.2) mit den vier Metallen an *L. taylorii* durchgeführt. Im Überstand wurden dann nicht nur die Gehalte der einzelnen Metalle untersucht, sondern auch der Calciumgehalt bestimmt (s. Kap. 4.3.3). Diese Sorptionsuntersuchungen an *L. taylorii* ergaben, dass Calcium durch die Schwermetalle während der Biosorption verdrängt wurde. In Tab. 5–15 sind die Ergebnisse der Versuche dargestellt.

Tab. 5–15: Bedeutung von Calcium bei der Biosorption an *L. taylorii*

Metall ^a	q _{eq} (mmol/g Alge)	c _{Ca} -Überstand (mmol/g Alge)
Pb	1,3	1,3
Cd	0,35	0,37
Ni	0,46	0,55
Zn	0,47	0,56

^a c₀ der Lösungen für Pb 1,2 g/L und für Cd, Ni, Zn 0,2 g/L

Für alle vier Metalle ergibt sich, dass die Menge an Schwermetall, die von der Alge adsorbiert wurde, nahezu identisch ist mit der im Überstand gemessenen Ca-Konzentration. Ein Biosorptionsversuch mit Millipore-Wasser als Blindwert ergab nur eine vernachlässigbare Konzentration von Calcium, die an die Lösung abgegeben wurde. Diese Ergebnisse zeigen die Bedeutung von Ionenaustauschprozessen bei der Biosorption der vier Metalle an *L. taylorii*.

5.2.5.3 FT-IR Spektroskopie

Zur Identifizierung von charakteristischen funktionellen Gruppen der Zellwandpolymere wurde die FT-IR Spektroskopie verwendet. Für Details zur Infrarot-Spektroskopie und deren Durchführung wird auf die Kap. 4.2.4 und 4.5.5 verwiesen. In Abb. 5–26 sind die FT-IR Spektren von *C. salina* und *L. taylorii* abgebildet.

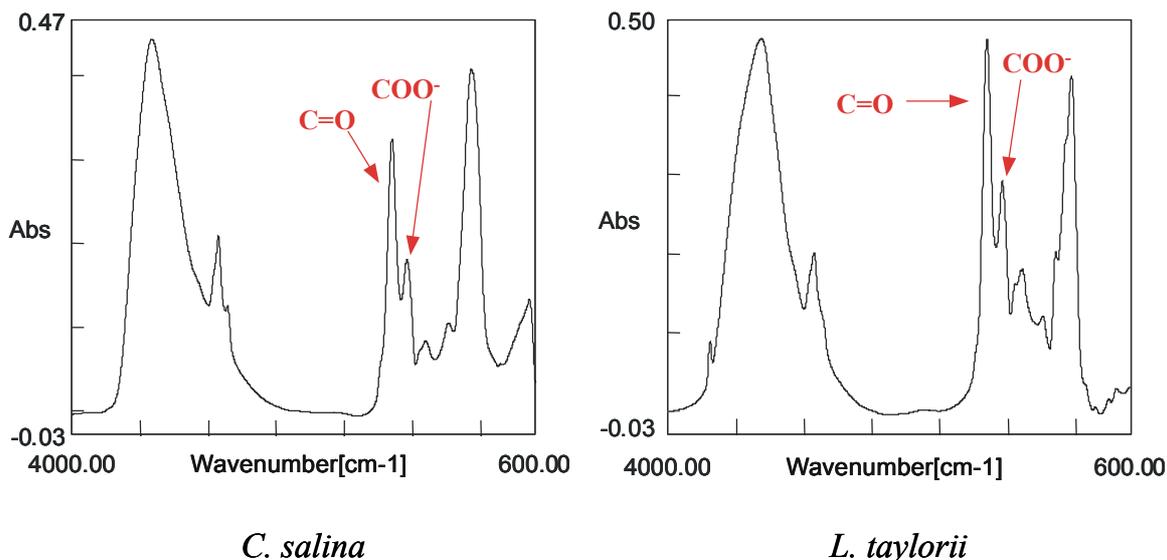


Abb. 5–26: FT-IR Spektren von *C. salina* und *L. taylorii*

Die beiden Spektren weisen eine große Ähnlichkeit auf. Da die Oberfläche der Algen ein sehr komplexes polymeres Netzwerk darstellt, ist erwartungsgemäß die Zuordnung von Absorptionsbanden zu einzelnen Molekülgruppen schwierig. Bei Wellenzahlen jenseits von 2600 cm^{-1} waren keine aufgelösten spezifischen Absorptionsbanden zu erkennen, da die große Zahl an Hydroxylgruppen in diesem Bereich zu einer Vielzahl von Kombinationsschwingungen führte, die in einer breiten Bande resultieren. Die Carbonyl-Streckschwingung (1750 cm^{-1}) und die Absorptionsbande für das Carboxylatanion (1630 cm^{-1}) sind jedoch sehr gut in beiden Spektren zu identifizieren. Diese beiden Schwingungen zeigen, dass Carboxylgruppen in beiden Algen in den Polymeren der Zellwand vorhanden sind.

Ein weiteres gutes Beispiel für den Einsatz der FT-IR Spektroskopie zur Charakterisierung von komplexen Oberflächen hinsichtlich funktioneller Gruppen ist in Kap. 5.3.3 gegeben.

5.2.5.4 Spezifische Oberfläche

Kommerzielle Adsorbentien werden durch die Angabe ihrer spezifischen Oberfläche charakterisiert. Die Bestimmung der spezifischen Oberfläche erfolgte über die Aufnahme einer Stickstoffisotherme bei der Temperatur des flüssigen Stickstoffs und deren Auswertung mit dem Adsorptionsmodell nach Brunauer, Emmett und Teller (BET) (s. Kap. 4.5.6). Da dieses Verfahren sehr aufwendig ist, wurde nur für die beiden leistungsfähigsten Algen die Bestimmung durchgeführt. Die ermittelten Oberflächen der beiden Algen unterscheiden sich erheblich voneinander. *L. taylorii* besitzt eine spezifische Oberfläche von $4\text{ m}^2/\text{g}$, wo hingegen *C. salina* eine Oberfläche von $15\text{ m}^2/\text{g}$ aufweist.

5.3 Modifizierung der Biomasse

Mit dem Ziel einer Erhöhung der Kapazitäten bzw. einer Beeinflussung der Selektivitäten wurden Experimente zum Einbau zusätzlicher funktioneller Gruppen in die Zellwandpolysaccharide durchgeführt. Ausgehend von einer Vielzahl von Reaktionen, die aus der Cellulosechemie bekannt sind, wurden die getesteten Verfahren vor allem nach ihrem Aufwand gesucht, da für eine Anwendung die Herstellung kostengünstig und effizient sein sollte. Die chemischen Modifikationen wurden an *C. salina* und *L. taylorii* ausgeführt.

5.3.1 Screening von Methoden zur Einführung von funktionellen Gruppen in die Zellwandstrukturen von Algen

Unter dem breiten Spektrum von funktionellen Gruppen mit kationischen Eigenschaften nehmen die Phosphat- und Carboxylgruppe eine besondere Stellung ein. Umfangreiche Arbeiten zur Herstellung von Biosorbentien auf Basis von Holz und Chitin zeigten, dass der Einbau von Phosphat- und Carboxylgruppen in die Biopolymere zu Produkten mit hoher Kapazität und Selektivität gegenüber einer Vielzahl von Schwermetallen führte (Meisch und Gauer, 1998). Die Polysaccharide der Zellwände der Algen bieten zahlreiche Angriffspunkte für solche Derivatisierungen. Die OH-Gruppen der Polysaccharide sind für die Einführung neuer funktioneller Gruppen in die biologische Matrix von besonderer Bedeutung.

Im folgenden wurden nun verschiedene Verfahren an den beiden Algen auf ihre Anwendbarkeit getestet. Nach der Modifizierung erfolgten Biosorptionsversuche mit der neuen Biomasse. Die Ergebnisse sind in Tab. 5–16 zusammengefasst.

Zur Einführung der Phosphatgruppen in die Algenmatrix wurden drei Methoden angewandt. Der Phosphorgehalt der modifizierten Biomassen wurde durch Elementaranalyse bestimmt (s. Kap. 4.5.1). Wie aus Tab. 5–16 sichtbar unterscheiden sich die Ergebnisse für beide Algen deutlich. Die Zellwandpolymere von *C. salina* weisen eine geringere Stabilität auf, was die niedrigen Ausbeuten zeigen. Die Veresterung der freien Hydroxylgruppen mit Phosphorsäure in einer Harnstoffschmelze führte bei *C. salina* zwar zu einer Erhöhung der P-Gehalte; jedoch war die Ausbeute mit 33 % gering. Der Phosphorgehalt konnte verfünffacht werden. Die verbleibende Biomasse besaß eine Kapazitätserhöhung gegenüber Cd und Ni von 50% und Zn von 20%. Durch die zweite Phosphorylierungsmethode, die auf eine Veresterung der Hydroxylgruppen mit Phosphorylchlorid in Pyridin und anschließender Hydrolyse des Säurechlorids zum Phosphorsäureester beruht, konnte der P-Gehalt der Biomasse kaum erhöht werden. Die Ausbeute lag um 56 % und eine Verbesserung der Kapazitäten für Pb, Cd und Zn konnte

nicht beobachtet werden. Ein Einbau von Phosphatgruppen durch eine Feststoffreaktion mit Phosphorpentasulfid gelang unter den gewählten Bedingungen an *C. salina* nicht. Die Beladungskapazitäten für die Metalle sanken sogar um etwa 50 %.

Tab. 5–16: Ergebnisse der Modifizierungen an der Algenbiomasse

Species	Methode	Ausbeute ^f %	P-Gehalt mmol/g	relative Beladung - $q_{eq, mod}/q_0$			
				Pb	Cd	Ni	Zn
<i>C. salina</i>	Phosphorsäure ^a	33	2,4	0,8	1,5	1,5	1,2
	Phosphorylchlorid ^b	56	0,6	0,7	1,0	1,7	1,0
	Phosphorpentasulfit ^c	47	0,4	0,6	0,4	0,5	0,4
<i>L. taylorii</i>	Phosphorsäure^a	89	4,4	2	6,1	4,6	5,5
	Phosphorylchlorid ^b	89	1,5	1,5	1,7	1,5	1,6
	Phosphorpentasulfit ^c	52	0,4	0,2	-	0,2	-
	Carboxymethylierung ^d	22	-	2,2	-	2,5	-
	Oxidation ^e	18	-	0,9	-	-	-

^a s. Kap. 4.6.1; ^b s. Kap. 4.6.2; ^c s. Kap. 4.6.3; ^d s. Kap. 4.6.4; ^e s. Kap. 4.6.5

^f Ausbeute bezogen auf die Menge an eingesetzter Biomasse.

Nach den ernüchternden Ergebnissen der Modifizierungen für *C. salina* waren die Resultate für *L. taylorii* um so überraschender. Die Feststoffreaktion mit Phosphorpentasulfid zeigte ebenfalls nur eine sehr schlechte Übertragbarkeit auf die Alge. Die beiden anderen Methoden konnten jedoch sehr erfolgreich an *L. taylorii* angewendet werden. Die Veresterung mit Phosphorylchlorid ergab eine Ausbeute von 89 % und eine Verdreifachung des P-Gehaltes der phosphorylierten Alge. Die Beladungen erhöhten sich zur unbehandelten Alge um 50-70 %.

Die Veresterung der freien Hydroxylgruppen mit Phosphorsäure in einer Harnstoffschmelze an *L. taylorii* stellte die guten Ergebnisse der Phosphorylchlorid-Methode in den Hintergrund. Die Ausbeute betrug ebenfalls 89 %, jedoch stieg der P-Gehalt von 0,5 mmol/g P der unbehandelten *L. taylorii* auf 4,4 mmol/g P der phosphorylierten Alge an. Der große Anstieg der P-Gehalte bewirkte einen enormen Anstieg der Kapazitäten für Cd (Faktor 6), Ni (Faktor 4,6), und Zn (Faktor 5,5). Die Kapazitäten für Pb wurde nach der Phosphorylierung verdoppelt.

Aus den Erkenntnissen an *C. salina* wurde die Einführung der Carboxylgruppe in die Biomasse nur an *L. taylorii* durchgeführt. Bei der Carboxymethylierung wurden Carboxylgruppen durch eine Veretherung der freien Hydroxylgruppen der Biomasse mit Natriummonochloracetat nach vorheriger Mercerisierung mit Natriumhydroxid eingebaut. Die Ausbeute war mit 22 % jedoch sehr gering. Die Beladungen für Pb und Ni verdoppelten sich nach der Behandlung.

Die zweite angewandte Methode hat die oxidative Spaltung der Monosaccharidringe zwischen C₂ und C₃ mit anschließender Weiteroxidation zur Dicarbonsäure zum Prinzip. Diese zweistufige Oxidation führte zu einem starken Abbau der Biomasse (Ausbeute 18 %).

Die verwendeten Verfahren zur Erhöhung der Gehalte an Carboxylgruppen sind an *L. taylorii* nicht weiter anwendbar, da die Reaktionsbedingungen zur Zerstörung der Algenmatrix führten.

5.3.2 Synthese von phosphorylierter *L. taylorii*

Ausgehend von den Bedingungen beim Screening wurde die Synthese hinsichtlich Ausbeute, Einbau von Phosphatgruppen und der Beladungskapazität für Blei optimiert. Die Konzentration der Ausgangsprodukte (Harnstoff, Phosphorsäure) bezogen auf die eingesetzte Biomasse, die Reaktionszeit und -temperatur standen im Mittelpunkt der Optimierung. Die Optimierungsversuche wurden mit jeweils 500 mg Biomasse pro Ansatz durchgeführt.

In Abb. 5–27 ist die Abhängigkeit der Beladung für Pb, der Phosphorgehalt und die Ausbeute an modifizierter Biomasse von der Reaktionszeit bei 170 °C dargestellt. Nach der Vortrocknung hat die Biomasse um über 50 % abgenommen und die Beladungskapazität für Blei ist stark abgesunken im Vergleich zur nativen Biomasse. Bereits nach einer Reaktionszeit von 60 min ist der P-Gehalt und die Beladung für Blei sprunghaft angestiegen und ändert sich im folgenden nur noch geringfügig. Dahingegen steigt die Ausbeute der Biomasse bis 3 h Reaktionszeit auf etwa 100 % und ist dann konstant. Da die P-Gehalte konstant sind, führt eine längere Reaktionszeit zu einer erneuten Bildung von Polymeren.

Im folgenden wurden die Konzentrationen der Ausgangsstoffe optimiert. Wie aus Abb. 5–28 zu erkennen ist, stellt sich die aus der Originalmethode verwendete Harnstoffkonzentration von 74 mmol pro g Alge als optimal dar. Höhere Harnstoffkonzentrationen führen zu immer geringeren Ausbeuten an Biomasse. Bei Einsatz der halben Ausgangskonzentration für Harnstoff sinkt im erhaltenen Produkt die P-Gehalte und parallel dazu die Bleibeladungen ab. Die Ausbeute ist ebenfalls niedriger.

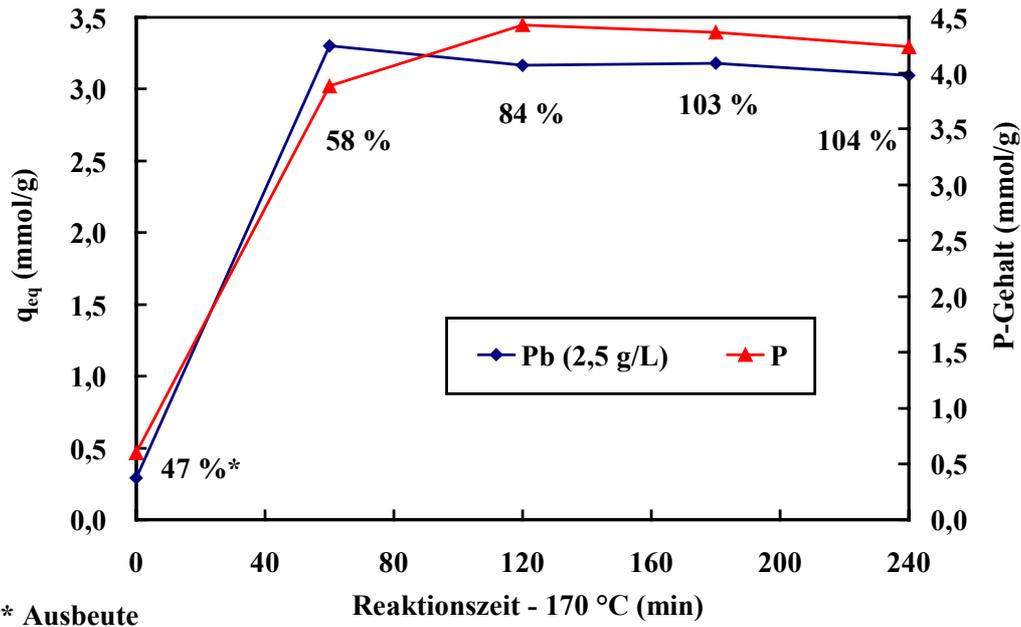


Abb. 5-27: Einfluss der Reaktionszeit bei 170 °C auf die Ausbeute, Pb-Beladung und P-Gehalt von *L. taylorii* phos.
Durchführung. s. Kap. 4.6.1, Biosorption von Pb s. Kap. 4.4.2

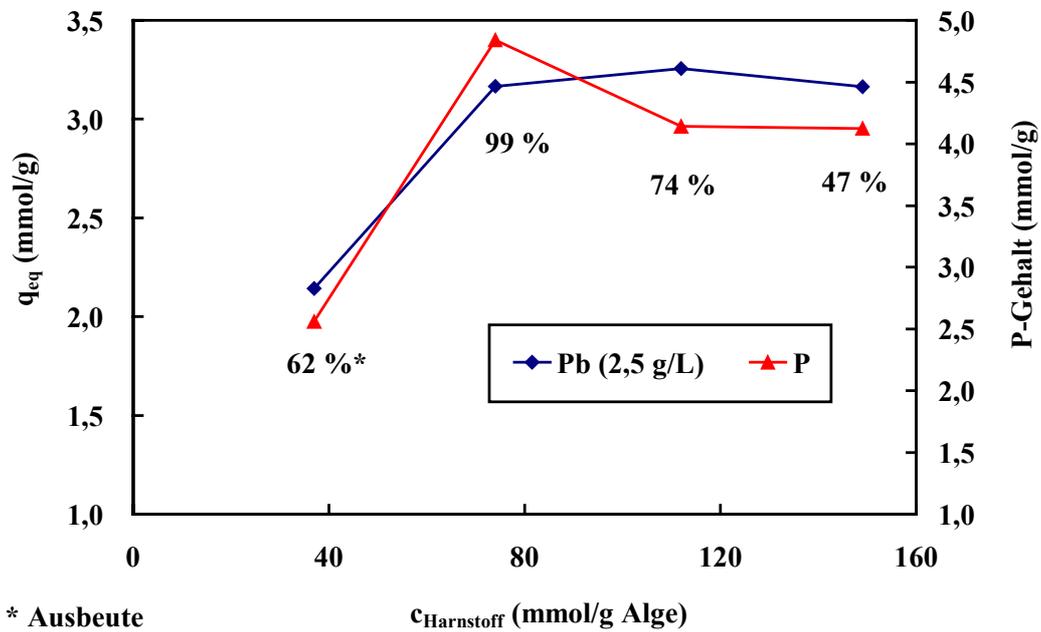


Abb. 5-28: Einfluss der Harnstoffkonzentration auf die Ausbeute, Pb-Beladung und P-Gehalt von *L. taylorii* phos. (T = 170 °C)
Durchführung. s. Kap. 4.6.1, Biosorption von Pb s. Kap. 4.4.2

Die Versuche zum Einfluss der Phosphorsäurekonzentration auf die Synthese von *L. taylorii* phos. zeigten erneut, dass die verwendete Konzentration von 18 mmol /g aus der Originalmethode optimal ist (s. Abb. 5–29). Aus dem Einsatz der halben bzw. doppelten Säuremenge resultierten Produkte mit schlechteren Eigenschaften bezüglich Pb-Beladung, P-Gehalt und Ausbeute.

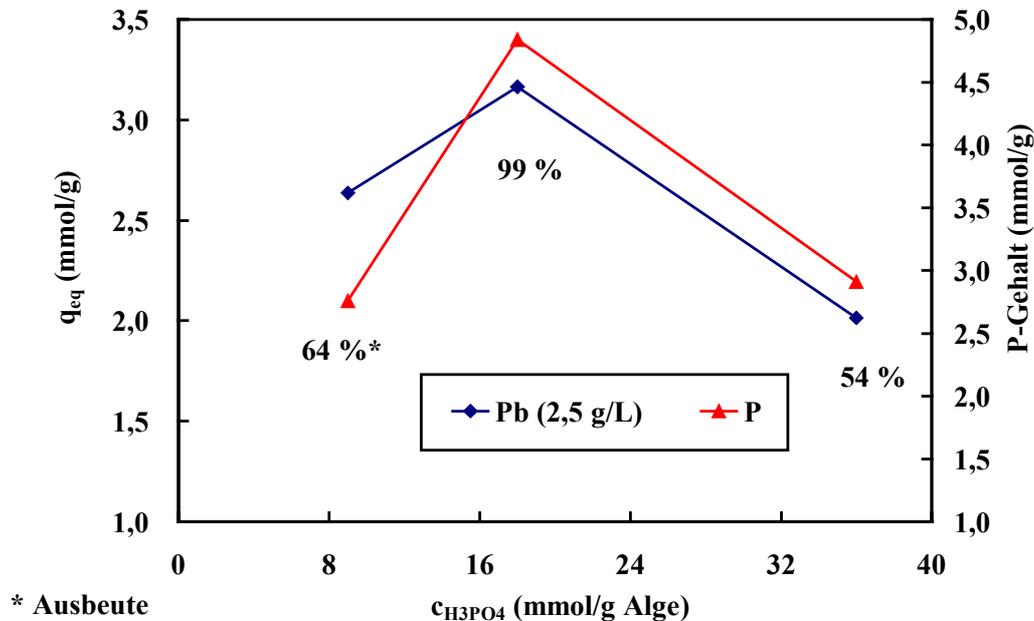


Abb. 5–29: Einfluss der Phosphorsäurekonzentration auf die Ausbeute, Pb-Beladung und P-Gehalt von *L. taylorii* phos. ($T = 170 \text{ }^\circ\text{C}$)
Durchführung: s. Kap. 4.6.1, Biosorption von Pb s. Kap. 4.4.2

Ausgehend vom optimalen Verhältnis der Ausgangsstoffe von 18 mmol/g Phosphorsäure zu 74 mmol/g Harnstoff wurde untersucht, ob eine Änderung der eingesetzten Menge an Ausgangsstoffen eine Verbesserung der modifizierten *L. taylorii* bringt. Dazu wurden Versuche mit einem Viertel, der Hälfte und dem doppelten Ansatz der beiden Edukte im optimalen Verhältnis zueinander durchgeführt. Wie Abb. 5–30 zeigt, steigt der P-Gehalt und die Beladung bis zum Ausgangsansatz deutlich an. Nach Verdoppelung des Ansatzes ändern sich die Parameter nur noch geringfügig. Der eigentliche Ansatz wird somit als optimal angesehen.

Als letzter Parameter wurde der Einfluss der Reaktionstemperatur auf die Phosphorylierung betrachtet. Aus der Abb. 5–31 lässt sich erkennen, dass im Temperaturbereich von 160 °C bis 200 °C die Bleibeladung wie auch der P-Gehalt annähernd konstant sind. Temperaturen über 210 °C führen zu einer deutlichen Abnahme der Beladung, des P-Gehaltes und der Ausbeute. Die Ausbeute an Biomasse nimmt von 170 °C bis 200 °C stetig zu. Bei 200 °C Reaktionstemperatur beträgt die Ausbeute 142 %. Für die weiteren Synthesen wird deshalb eine Reaktionstemperatur von 200 °C verwendet.

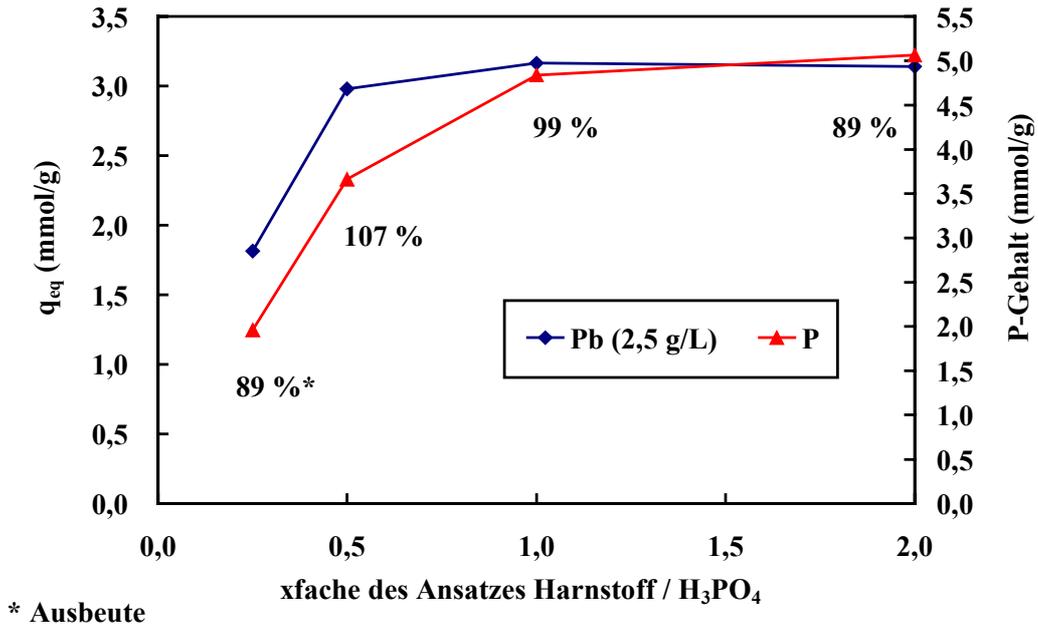


Abb. 5–30: Einfluss der eingesetzten Mengen an Harnstoff und Phosphorsäure auf die Ausbeute, Pb-Beladung und P-Gehalt von *L. taylorii* phos. (T = 170 °C)
Durchführung. s. Kap. 4.6.1, Biosorption von Pb s. Kap. 4.4.2

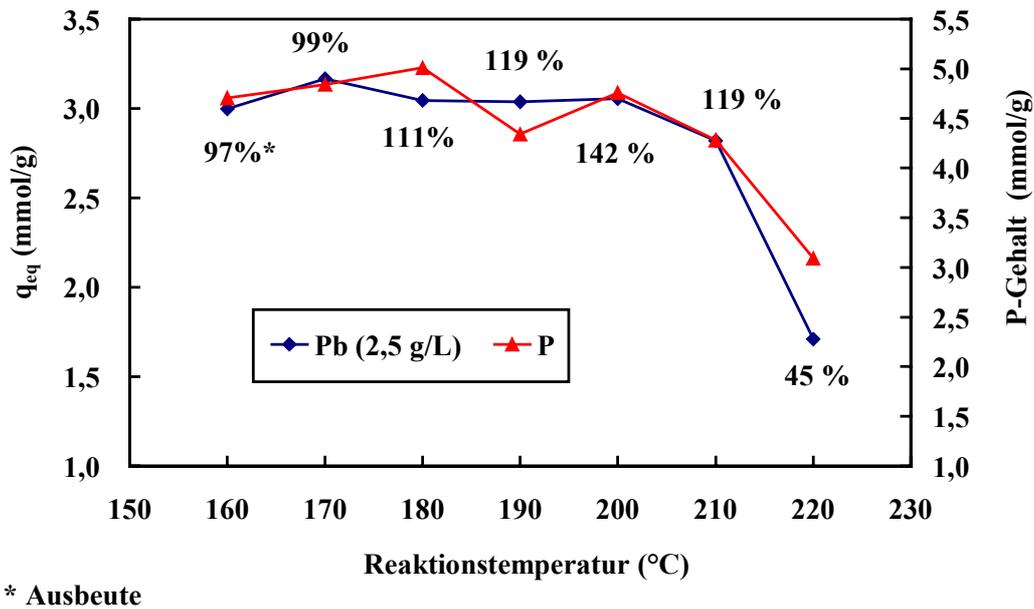


Abb. 5–31: Einfluss der Reaktionstemperatur auf die Ausbeute, Pb-Beladung und P-Gehalt von *L. taylorii* phos.
Durchführung. s. Kap. 4.6.1, Biosorption von Pb s. Kap. 4.4.2

Um die Synthese an den Bedarf an phosphorylierter *L. taylorii* für den gesamten Projektbereich anzupassen, wurden der Ansatz auf 5 g Biomasse pro Synthese unter den optimierten Bedingungen erweitert. Die Ausbeute an phosphorylierter *L. taylorii* lag über 94 % für alle bisher durchgeführten Synthesen. Der Phosphorgehalt der modifizierten Biomasse lag durch-

schnittlich bei 4,4 mmol Phosphor pro g Alge. Für den Projektbereich wurden insgesamt mehr als 50 g phosphorylierter *L. taylorii* mit reproduzierbaren Beladungskapazitäten hergestellt.

5.3.3 Charakterisierung der modifizierten *L. taylorii*

Der P-Gehalt von *L. taylorii* konnte von 0,5 mmol/g der nativen Alge auf über 4 mmol/g bei der behandelten Alge erhöht werden. Ein solcher Einbau von Phosphatgruppen in die Zellwandpolymeren von *L. taylorii* sollte im IR-Spektrum der Biomasse sichtbar werden. Abb. 5–32 stellt die Spektren der unbehandelten und behandelten Alge gegenüber.

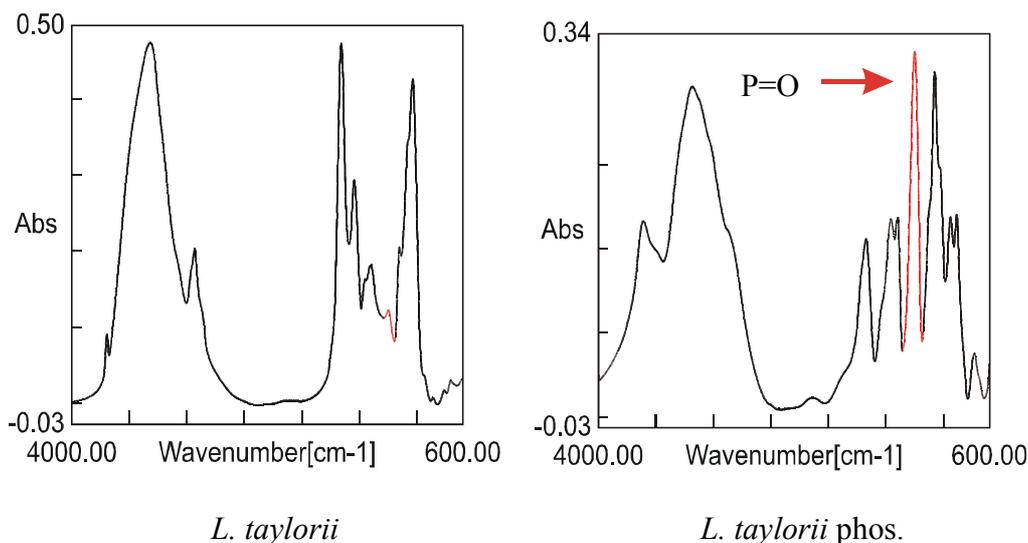


Abb. 5–32: FT-IR-Spektren von *L. taylorii* und *L. taylorii* phos.

Das linke Spektrum zeigt die native *L. taylorii*, welches in Kap. 5.2.5.3 erläutert wurde. Im rechten Spektrum (*L. taylorii* phos.) sind nun deutlich die charakteristischen Schwingungen der Phosphatgruppe zu erkennen. Die Absorptionsbanden der P-O-H (920 cm^{-1}) und vor allem der P=O Schwingungen (1270 cm^{-1}) können im Spektrum klar charakterisiert werden. Die Carbonyl-Streckschwingung (1750 cm^{-1}) ist ebenfalls gut im Spektrum zu identifizieren. Der Bereich über Wellenzahlen von 2600 cm^{-1} war wiederum durch eine breiten Bande gekennzeichnet, da es in diesem Bereich zu einer Vielzahl von Kombinationsschwingungen kommt.

Abschließend wurde die phosphorylierte *L. taylorii* mittels REM in Kombination mit einer Röntgenanalyse untersucht. Ein entsprechendes REM Bild und ein Röntgenspektrum sind in Abb. 5–33 gezeigt. Das REM Bild gibt einen Eindruck von der Oberfläche der Biomasse wieder und zeigt die ineinander verknäulten Polymerstränge deutlich. Das Röntgenspektrum bestätigt den deutlich erhöhten Gehalt an Phosphor. Geringe Mengen an Ca und Mg konnten detektiert werden.

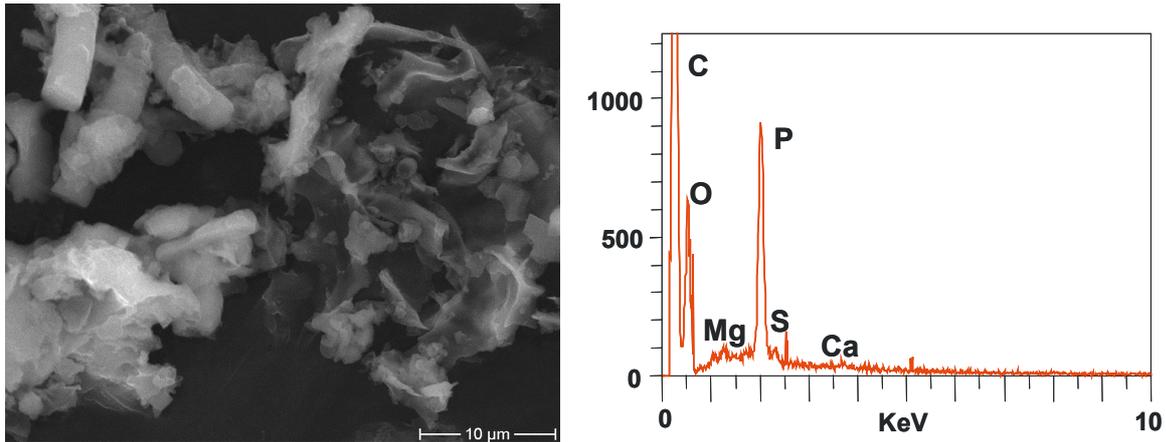


Abb. 5–33: REM - Röntgenanalyse an *L. taylorii* phos.
(links – REM-Aufnahme, rechts – Röntgenspektrum der phosphorylierten Alge)

5.3.4 Biosorptionseigenschaften von *L. taylorii* phos.

In diesem Kapitel stehen Untersuchungen zur Biosorption der Schwermetalle Cd, Cu, Ni, Pb und Zn an dem neuen Biosorbens in Hinblick auf Isothermen, Kinetik, pH-Abhängigkeit, Selektivität und Einfluss von Fremdsalzen im Mittelpunkt.

5.3.4.1 Adsorptionsisothermen – *L. taylorii* phos.

Nach der Optimierung der Synthesebedingungen für die Herstellung von *L. taylorii* phos. wurden die Adsorptionsisotherme für Cd, Cu, Ni, Pb und Zn aufgenommen (s. Abb. 5–34).

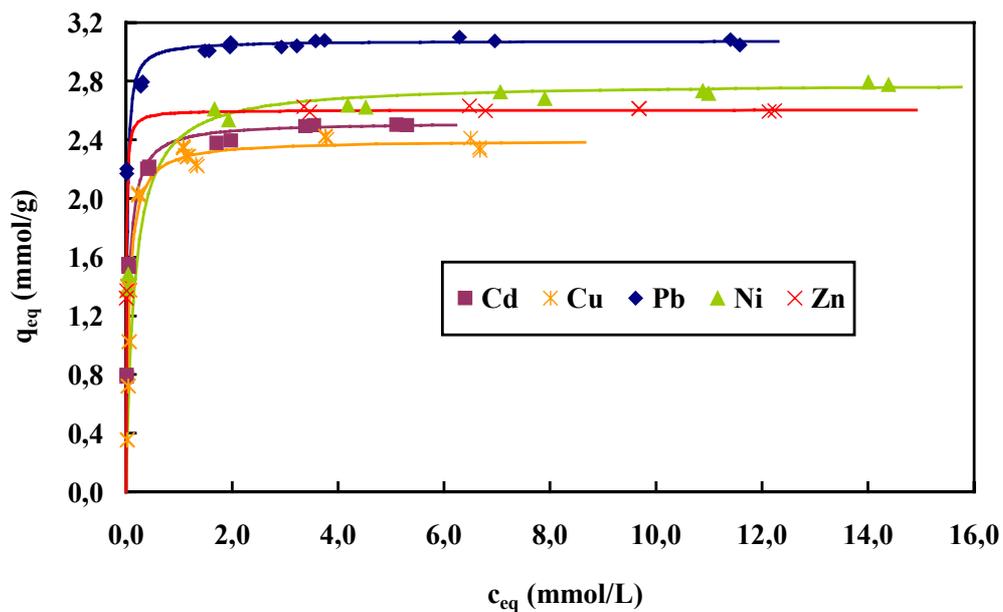


Abb. 5–34: Adsorptionsisothermen nach Langmuir von Cd, Cu, Ni, Pb und Zn an *L. taylorii* phos.
Die Versuche wurden jeweils mit nur einem Metall in Lösung durchgeführt. Parameter s. Kap. 4.4

In Abb. 5–34 sind die experimentellen Daten und die nach dem Modell von Langmuir (s. Gl. 2–1) berechneten Isothermen dargestellt. Die Adsorptionsisothermen für die Schwermetalle zeigen einen sehr ähnlichen Verlauf, wobei Pb höhere Beladungen zeigt. Die experimentellen Daten lassen sich hervorragend mit dem Modell von Langmuir beschreiben. Durch eine Linearisierung der Langmuirgleichung (Gl. 2–2) können die Langmuirparameter aus den Geradengleichungen berechnet werden.

Die linearisierten Adsorptionsisothermen sind in Abb. 5–35 dargestellt und zeigen die sehr gute Korrelationen der gemessenen Daten mit dem Modell ($r^2 > 0,999$).

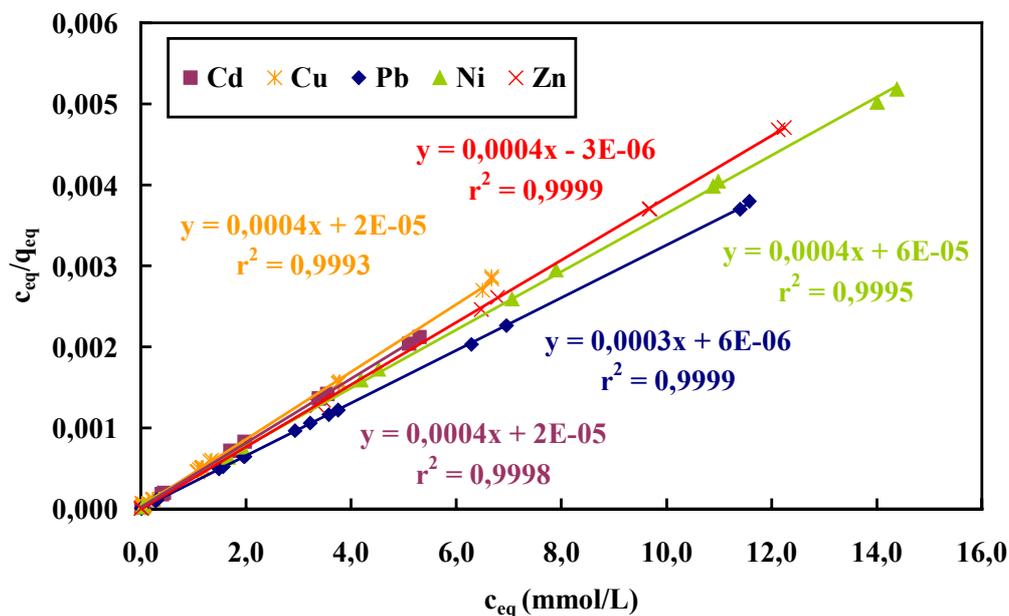


Abb. 5–35: Linearisierte Adsorptionsisothermen von Cd, Cu, Ni, Pb und Zn an *L. taylorii* phos. nach dem Adsorptionsmodell von Langmuir

Die aus den Regressionsgeraden berechneten maximalen Beladungskapazitäten und Langmuirkonstanten sind in Tab. 5–17 abgebildet. Die erhaltenen maximalen Beladungen von 3,08 mmol Blei; 2,52 mmol Cadmium; 2,40 mmol Kupfer; 2,79 mmol Nickel und 2,60 mmol Zink pro g Biotrockenmasse sind die höchsten ermittelten Beladungen aller bisher untersuchten Biosorbentien in dieser Arbeit (Pb > Ni > Zn > Cd > Cu.).

Bei Betrachtung der ermittelten Langmuirkonstanten zeigt sich eine starke Affinität von Zn zur Oberfläche der Alge. Im Unterschied dazu zeigt Ni nur ein zwanzigstel der Affinität. Aus den berechneten Langmuirkonstanten lässt sich folgende Reihenfolge der Affinitäten angeben: Zn >> Pb > Cd ≥ Cu > Ni.

Tab. 5–17: Langmuirparameter für Adsorptionsisothermen an *L. taylorii* phos.

Metall	q_{\max}^a	b^b
Cd	2,52	20
Cu	2,40	18
Ni	2,79	6,4
Pb	3,08	57
Zn	2,60	135

^a q_{\max} in mmol/g;

^b Langmuirkonstante in L/mmol

5.3.4.2 Kinetik

Die Kenntnis des zeitlichen Verlaufes der Bindung der Metalle an der Oberfläche ist bedeutend, da sie Auskunft über das Erreichen des Gleichgewichtszustandes der Biosorption gibt. Abb. 5–36 zeigt die Abhängigkeit der Beladung von der Kontaktzeit der Algen in der entsprechenden Metalllösung.

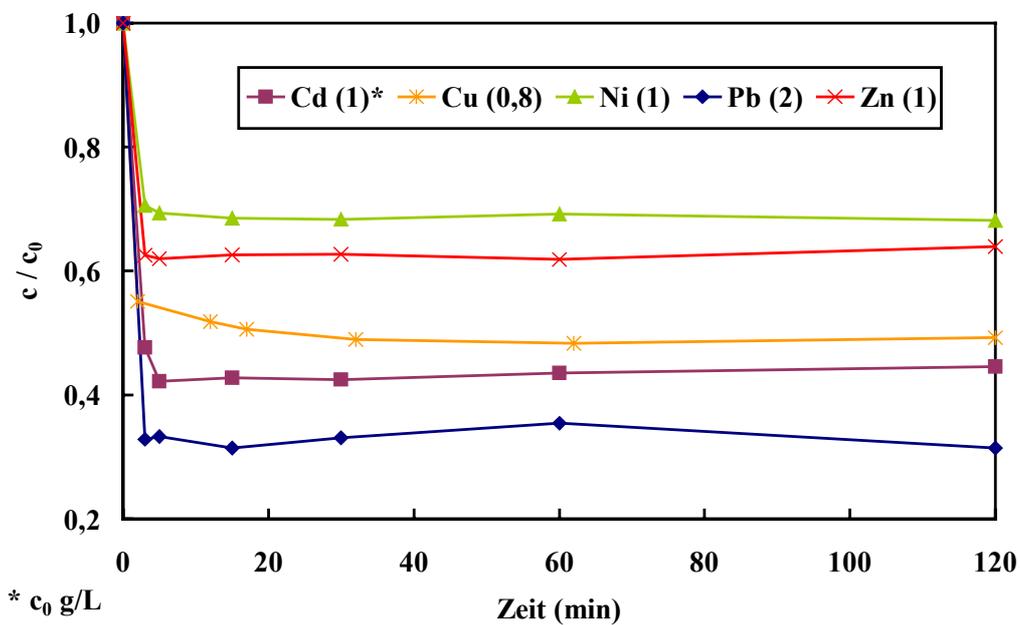


Abb. 5–36: Kinetik der Metallbindung von Cd, Cu, Ni, Pb und Zn an *L. taylorii* phos. Die Versuche wurden jeweils mit nur einem Metall in Lösung durchgeführt. Parameter s. Kap. 4.4.

Die Schwermetallaufnahme verläuft auch bei *L. taylorii* phos. sehr schnell. Bereits nach einer Kontaktzeit von 5 min in der Lösung war das Gleichgewicht für Pb, Cd, Ni und Zn vollständig eingestellt. Für Cu konnte eine vollständige Einstellung des Gleichgewichts nach 17 min

beobachtet werden. Die angewendete Reaktionszeit von 30 min ist somit ausreichend für die Gleichgewichtseinstellung.

5.3.4.3 pH-Abhängigkeit

Inwieweit die eingebauten Phosphatgruppen einen Einfluss auf die pH-Abhängigkeit der Biosorption der Metalle haben, zeigten Versuche mit der modifizierten *L. taylorii*.

Abb. 5–37 verdeutlicht, dass sich die Konkurrenz der Protonen im Vergleich zur unbehandelten Alge stark verändert hat. Die Biosorptionskapazitäten für Blei und Cadmium sind konstant über den pH-Bereich von 4 bis 6 und sinken um nur 9 % für Blei und 28 % für Cadmium bei pH 1. Die Sorption von Kupfer ist über den Bereich von pH 3 bis 5 konstant und fällt um 55 % bei pH 1. Die Beladungen für Zink sind sogar über den gesamten untersuchten pH-Bereich konstant. Wie in Abb. 5–37 gezeigt, erniedrigt sich die Beladung für Nickel mit geringerem pH-Wert der Lösung. Die Beladung sinkt von 2,7 mmol/g bei pH 6,3 auf 1,73 mmol/g bei pH 1,1. Die Kapazität für Ni bei pH 1,1 beträgt aber immer noch 64 % der bei pH 6.

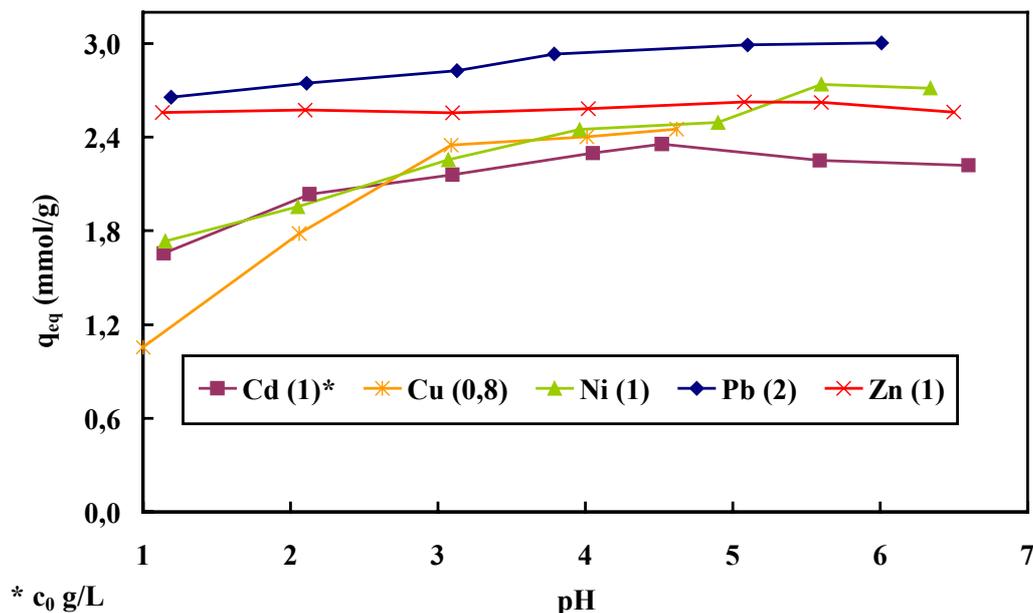


Abb. 5–37: pH-Abhängigkeit der Biosorption von Cd, Cu, Ni, Pb und Zn an *L. taylorii* phos. Die Versuche wurden jeweils mit nur einem Metall in Lösung durchgeführt. Parameter s. Kap. 4.4

Die Bindungskapazitäten für alle Metalle an der phosphorylierten Alge sind bei pH 1 deutlicher höher verglichen mit *L. taylorii*.

Die gute Biosorption der modifizierten Alge bei niedrigen pH-Werten stellt jedoch ein Problem bei der Desorption der Metalle dar. Die Desorption erweist sich als deutlich schwieriger

im Vergleich zur unbehandelten *L. taylorii*. Versuche zeigten, dass die Metalle erst mit einer 3 N Salzsäure von der modifizierten Alge desorbiert werden können (im Mittel über 90 % für Cd, Cu und Zn; 64 % für Pb und 79 % für Ni).

5.3.4.4 Selektivität der Metallbindung

Da das neue Biosorbens sehr ähnliche Bindungskapazitäten für alle Metalle zeigte, stellte sich die Frage, ob auch eine Veränderung der Selektivität bei der Metallsorption zu beobachten ist. Die Ergebnisse der Untersuchungen zur Konkurrenz der Metalle in äquimolaren Lösungen sind in Tab. 5–18 zusammengefasst. Abb. 5–38A-C verdeutlicht die Abhängigkeiten der einzelnen Metalle in den komplexeren Metallgemischen (> 4 Metalle) grafisch und dient somit einer besseren Übersichtlichkeit.

Ausgehend von einer Mischung von Cd, Ni, Pb und Zn wurde untersucht, wie sich die Beladungen für die vier Metalle bei steigenden Metallkonzentrationen (1-10 mmol/L) verhalten. Abb. 5–38A verdeutlicht, dass mit steigenden Metallkonzentrationen Pb bevorzugt gebunden wird und die anderen drei Metalle von den Bindungsstellen verdrängt werden. Ni wurde am stärksten beeinflusst und eine Beladung konnte ab einer Konzentration von 6 mmol/L nicht mehr nachgewiesen werden. Die Biosorption von Cd und Zn steigt bis zu einer Anfangskonzentration von 3 mmol/L an und sinkt danach auf niedrige, konstante Beladungen ab. Ein Anstieg der Beladungen an Cd und Zn konnte so lange beobachtet werden, wie die Beladungen für Pb nicht im Sättigungsbereich waren (s. Tab. 5–18). Die Selektivität in einer Metalllösung der vier Metalle lässt sich in folgender Reihenfolge zusammenfassen: $Pb \gg Zn \approx Cd > Ni$.

Die Betrachtung aller fünf untersuchten Metalle in einer Lösung ergab ein ähnliches Resultat (s. Abb. 5–38B). Pb verdrängt auch das Cu von den Bindungsstellen bei steigenden Metallkonzentrationen. Die Selektivitäten der anderen Metalle untereinander sind durch die Dominanz von Blei schwer einzuschätzen. Deshalb wurden weitere Untersuchungen ohne Blei durchgeführt. Die Selektivität von *L. taylorii* gegenüber den fünf Metalle ergibt sich zu $Pb \gg Zn > Cu > Cd > Ni$.

In Abb. 5–38C sind die Ergebnisse der Konkurrenz von Cd, Cu, Ni und Zn um die Bindung an *L. taylorii* phos. in äquimolaren Lösungen dargestellt. Cd und Cu verhalten sich sehr ähnlich bei ihrer Bindung an der Oberfläche. Die Beladungen von Zn steigen mit steigender Anfangskonzentration deutlich an, was eine Selektivität von Zink gegenüber den drei anderen Metallen zeigt. Die Biosorptionskapazitäten von Ni sind am niedrigsten, sie nehmen in Gegenwart höherer Konzentrationen der konkurrierenden Metalle weiter ab.

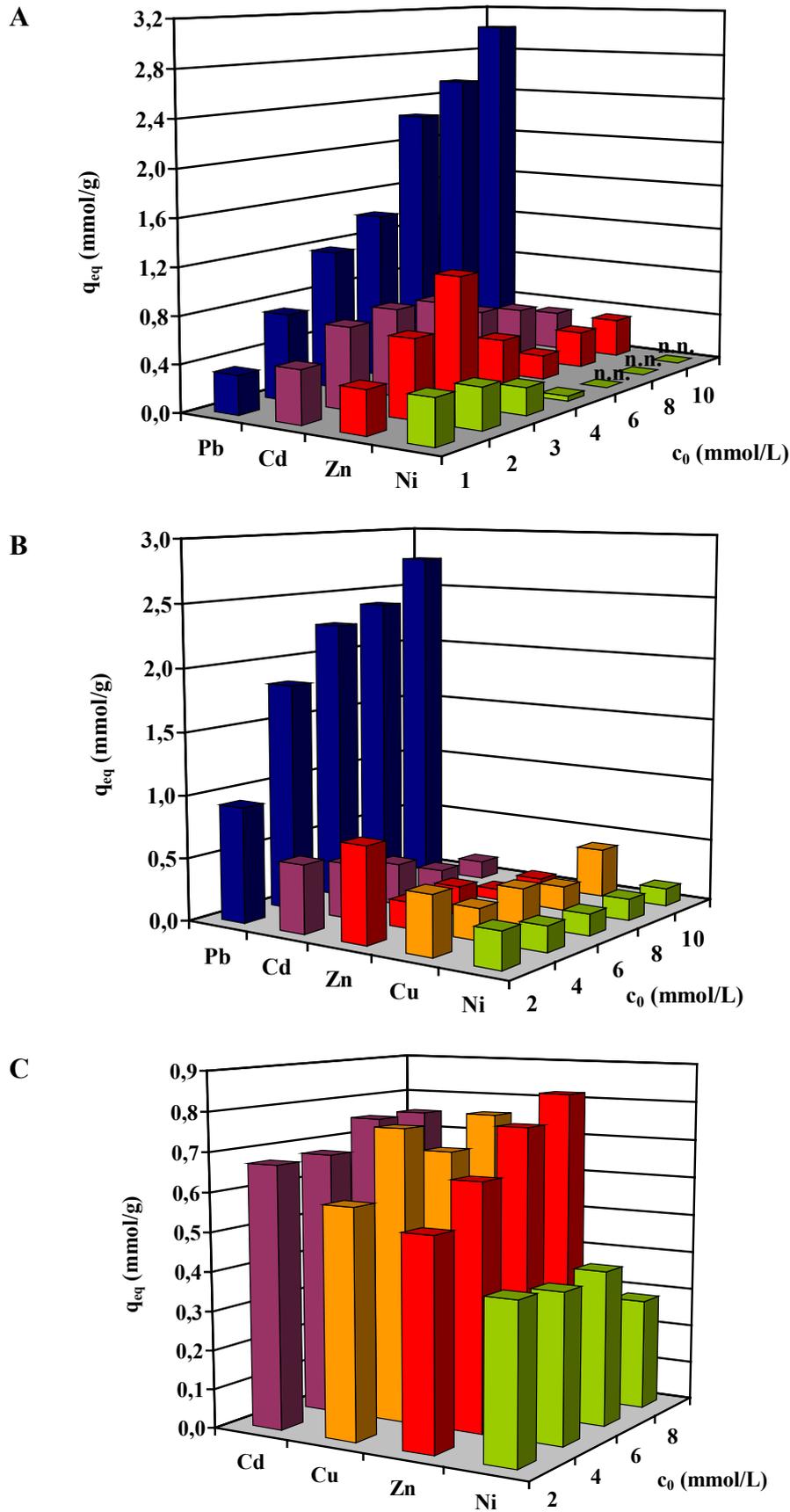


Abb. 5–38: Konkurrenz der Bindung von Cd, Cu, Ni, Pb und Zn an *L. taylorii* phos. Die Versuche wurden mit Mehrmetall-Lösungen (gleiche molare Konzentration der einzelnen Metalle) unterschiedlicher Anfangskonzentrationen (c_0) durchgeführt. n.n. – Biosorption nicht nachweisbar. Parameter s. Kap. 4.4

Tab. 5–18: Selektivität der Metallbindung an *L. taylorii* phos.

n_{Me}^b	c_0^c	Pb ^a		Cu		Cd		Ni		Zn		Σq_{eq}
		Ads. ^d	q_{eq}^e	Ads.	q_{eq}	Ads.	q_{eq}	Ads.	q_{eq}	Ads.	q_{eq}	
5	2	100	0,92	62	0,54	33	0,29	100	0,76	56	0,47	2,99
	4	91	1,82	24	0,44	11	0,20	13	0,21	16	0,25	2,92
	6	78	2,25	12	0,33	7	0,17	9	0,22	12	0,29	3,27
	8	63	2,39	5	0,17	5	0,17	3	0,09	6	0,18	3,00
	10	56	2,75	4	0,18	3	0,14	2	0,07	10	0,39	3,53
4	2			73	0,67	46	0,40	64	0,53	69	0,58	2,18
	4			39	0,67	22	0,38	38	0,63	45	0,75	2,44
	6			28	0,75	15	0,40	29	0,75	29	0,67	2,57
	8			21	0,75	8	0,28	23	0,82	23	0,75	2,61
4	1	97	0,33			98	0,45	97	0,39	99	0,37	1,54
	2	100	0,73			78	0,69	44	0,35	99	0,67	2,44
	3	100	1,17			55	0,74	18	0,23	99	1,08	3,22
	4	93	1,42			40	0,71	3	0,04	28	0,45	2,62
	6	83	2,25			19	0,53	n.n. ^f		9	0,21	2,99
	8	71	2,53			13	0,45	n.n.		10	0,31	3,29
	10	58	3,02			6	0,33	n.n.		7	0,33	3,68
	3	4					60	1,04	33	0,57	51	0,87
6						40	1,07	26	0,69	38	1,01	2,77
8						26	0,90	16	0,57	33	1,14	2,61
10						19	0,83	11	0,51	25	1,10	2,44

^a RSD (n=3) $\leq 3\%$ Pb, $\leq 8\%$ Cd; $\leq 17\%$ Ni und $\leq 10\%$ Zn

^b Anzahl der Metalle in Lösung

^c Anfangskonzentration der Mehrmetalllösungen mit gleicher molarer Konzentration der einzelnen Metalle in mmol/L

^d Adsorptionseffizienz aus der Lösung in %

^e q_{eq} in mmol/g

^f Biosorption nicht nachweisbar

Eine vollständige Verdrängung von Ni findet aber auch bei der höchsten untersuchten Konzentration aller Metalle in Abwesenheit von Pb nicht statt. Versuche mit Cd, Ni und Zn in einer Lösung bestätigten die leichte Dominanz von Zn gegenüber von Cd und Ni (s. Tab. 5–18).

Aus den vorhergehenden Experimenten kann somit folgende Selektivitätsreihe festgelegt werden: $\text{Pb} \gg \text{Zn} > \text{Cd} \approx \text{Cu} > \text{Ni}$.

5.3.4.5 Einfluss von Fremdsalzen auf die Biosorption

Zum Abschluss der Charakterisierung der Biosorptionseigenschaften an *L. taylorii* phos. wurde die Konkurrenz von ein- und zweiwertigen Fremdsalzen um die Bindungsstellen der Schwermetalle Cd, Cu, Ni, Pb und Zn untersucht. Das einwertige Natriumion (Na) (Natriumchlorid) und das zweiwertige Calciumion (Ca) (Calciumchlorid) standen im Mittelpunkt der Versuche. Die Ergebnisse sind in Abb. 5–39 und Abb. 5–40 grafisch dargestellt. Der untersuchte Konzentrationsbereich für die beiden Metallionen erstreckt sich zwischen 0,4 g/L bis 20 g/L. Die Schwermetallkonzentrationen in den Lösungen lagen im Sättigungsbereich der modifizierten Biomasse (0,8 – 2 g/L).

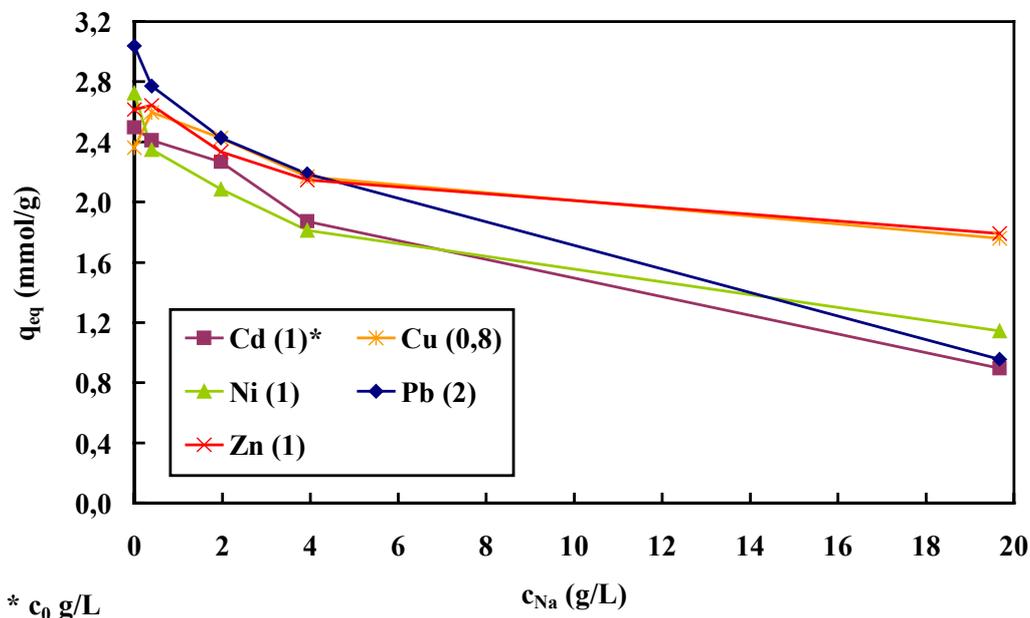


Abb. 5–39: Einfluss von Natriumionen auf die Biosorption an *L. taylorii* phos. Die Versuche wurden jeweils mit nur einem Metall in Lösung durchgeführt. Parameter s. Kap. 4.4.

Eine Konkurrenz der Na-Ionen auf die Biosorption konnte für alle Metalle beobachtet werden (Abb. 5–39). Die Abbildung zeigt deutlich, dass die Biosorption von Cu und Zn geringer beeinflusst wird als für die anderen Metalle. Eine Konzentration von 0,4 g/L Na in der Lösung

bewirkte noch keine Änderung in der Beladung von Cu und Zn. Eine weitere Erhöhung der Na-Konzentration auf 20 g/L führte zu einer Abnahme der Beladungen um bis zu 31 % bei Zn und 26 % bei Cu. Im gleichen Konzentrationsbereich für Na erniedrigten sich die Biosorptionskapazitäten für Pb um bis zu 69 % (20 g/L Na), für Cd um bis zu 64 % und für Ni um bis zu 58 % der ursprünglichen Kapazitäten. Ni zeigte einen besonders starken Abfall der Beladung von 14 % schon bei einer Na Konzentration von 0,4 g/L. Trotz der Konkurrenz von Na konnte die Biomasse bei 20 g/L Na noch 1 mmol/g Pb; 0,9 mmol/g Cd; 1,8 mmol/g Cu; 1,2 mmol/g Ni und 1,8 mmol/g Zn adsorbieren.

Die modifizierte Biomasse zeigt einen größeren Einfluss von Ca auf die Biosorption der Metalle im Vergleich zum Na (s. Abb. 5–40).

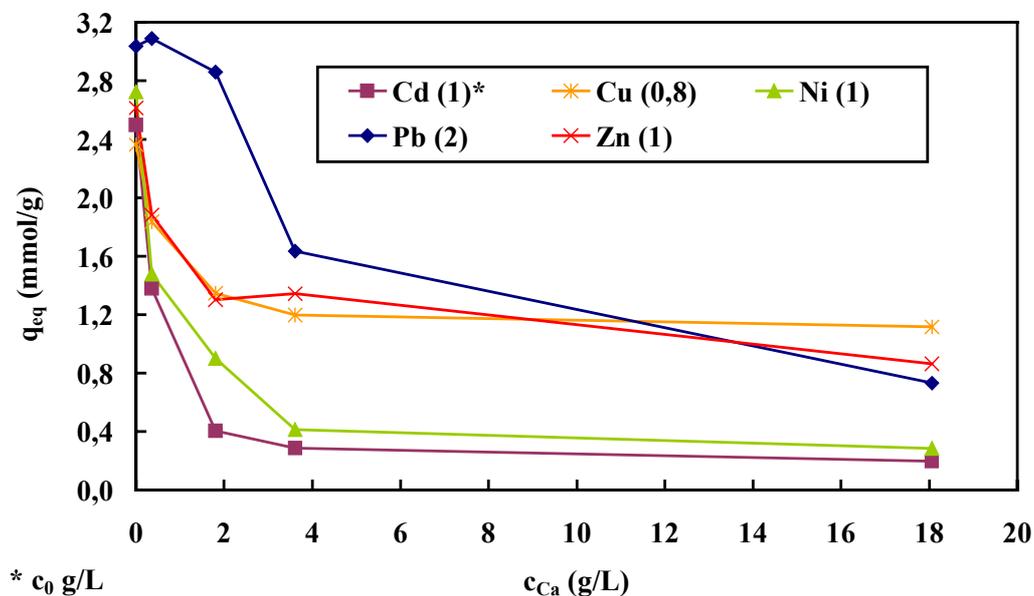


Abb. 5–40: Einfluss von Calciumionen auf die Biosorption an *L. taylorii* phos. Die Versuche wurden jeweils mit nur einem Metall in Lösung durchgeführt. Parameter s. Kap. 4.4.

Bereits ein Gehalt von 0,4 g/L Ca in den Lösungen führte zu einer Abnahme der Beladung von Cd um 45 %, Ni um 46 %, Zn um 28 % und Cu um 24 %. Pb zeigte eine klare Erniedrigung der Beladung ab einem Ca-Gehalt von 4 g/L auf 54 % der ursprünglichen Kapazität, die weiter auf eine Kapazität von 24 % bei 18 g/L Ca fielen. Am stärksten beeinflusst wurde die Biosorption von Cd und Ni durch Ca. Bei einer Ca Konzentration von 18 g/L wurde die Beladung für Cd um 92 % und für Ni um 90 % verringert. Die geringste Konkurrenz mit Ca zeigte wiederum Cu, wo bei 18 g/L Ca in der Lösung eine Abnahme der Biosorptionsleistung um 53 % beobachtet wurde. Die Beladungen für Zn sinken bei 18 g/L um 77 % auf 0,86 mmol/g Biomasse.

6 Zusammenfassung und Diskussion

Im Sonderforschungsbereich (Sfb) 193 "Biologische Behandlung industrieller und gewerblicher Abwässer" der Technischen Universität Berlin wurden seit 1997 in zwei Teilprojekten Grundlagenkenntnisse über die Ausnutzung des natürlichen Prozesses der Biosorption von Schwermetallen an Algen für die Abwasserreinigung erarbeitet. Die verwendeten Algen wurden in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. R. Buchholz am Institut für Biotechnologie der TU Berlin taxonomisch bestimmt und kultiviert.

6.1 Biosorptionsuntersuchungen

Für die Untersuchungen wurden ausschließlich tote, gefriergetrocknete Algenbiomassen hinsichtlich ihrer Biosorptionseigenschaften gegenüber den ausgewählten Schwermetallen verwendet. Der Vorteil in der Anwendung von toter Biomasse wird in der Literatur vielfältig beschrieben (s. Kap. 2.3.2), er liegt für die Reinigung von industriellen Abwässern in der besseren Handhabung eines Verfahrens begründet (Immobilisierung, Toxizität der Abwässer).

Ausgangspunkt der Arbeit stellten Untersuchungen an der Chlorophyceae *C. vulgaris* dar, die als Standard für die weiteren Arbeiten galt. Die Biosorption der Schwermetalle Pb, Cd, Ni und Zn konnte mit dem Adsorptionsmodell nach Langmuir gut beschrieben werden. Eine Linearisierung der Adsorptionsisothermen ermöglichte durch die Berechnung der maximalen Beladungskapazitäten (q_{\max}) und der Langmuirkonstanten b für die einzelnen Metalle eine quantitative Beschreibung der Sorptionsvorgänge an der Alge. In einer Zusammenfassung ihrer Arbeiten verdeutlichten Volesky und Holan (1995), dass sich das Modell nach Langmuir für die Beschreibung der Biosorption einer Vielzahl von untersuchten marinen Makroalgen eignet und die erhaltenen Parameter eine Vergleichbarkeit mit anderen Sorbenzien erlaubt. In den letzten Jahren hat sich dieser Ansatz in vielen Arbeiten verschiedener Forschungsgruppen durchgesetzt (Yu et al., 1999; Schneider und Rubio, 1999; Pagnanelli et al., 2000; Kapoor et al., 1999; Matheickal et al., 1999). An *C. vulgaris* wurden maximale Beladungen von 0,3 mmol Cd; 0,4 mmol Ni; 0,5 mmol Pb und 0,4 mmol Zn pro g Alge ermittelt. Cd zeigte die größte Affinität (Langmuirkonstante) zur Oberfläche der Alge gefolgt von Pb, Zn und Ni. In der Literatur sind nur wenige quantitative Metallbindungsstudien an *C. vulgaris* beschrieben, die aufgrund unterschiedlicher Versuchsbedingungen nur schwer zu vergleichen sind. So werden beispielsweise maximale Beladungskapazitäten für Ni an *C. vulgaris* von 0,02 mmol (Wong et al., 2000); 0,21 mmol (Lau et al., 1999) und 1 mmol (Donmez et al., 1999) pro g Biomasse angegeben. Die Gleichgewichtseinstellung der Metalle an der Alge erfolgte inner-

halb von wenigen Minuten in den Batchversuchen. Für die folgenden Screeninguntersuchungen wurde deshalb eine Reaktionszeit von 30 min für die Gleichgewichtseinstellung als ausreichend angesehen. Im schwach sauren pH-Bereich von 4-6 ist die Beladung von Cd, Pb und Zn annähernd konstant. Nur Ni zeigt eine leichte Abnahme der Beladung bei pH 4. Zum sauren pH-Bereich (pH 1) hin nimmt die Kapazität ab, dadurch wird eine Desorption der beladenen Algen mit verdünnter Säure ermöglicht. Die Kinetik und pH-Abhängigkeiten der Biosorption an *C. vulgaris* stimmt mit den Ergebnissen von Lau et al. (1999) und Aksu (2001), die Untersuchungen an *C. vulgaris* mit Cu und Ni bzw. Cd durchführten, überein.

Aus der Charakterisierung der Biosorption an *C. vulgaris* leiteten sich die Bedingungen für das folgende Screening von weiteren Algen ab. Aus dem Verlauf der Sorptionsisothermen an *C. vulgaris* wird deutlich, dass im unteren Konzentrationsbereich, wo die Bindungsstellen noch nicht gesättigt sind, eine kleine Änderung der Gleichgewichtskonzentration eine große Änderung der Beladung bedingt. Im Sättigungsarm der Isotherme sind die Änderungen deutlich geringer. Deshalb wurde für das Screening die Anfangskonzentrationen der einzelnen Metalle an dem Sättigungsbereich von *C. vulgaris* angelehnt.

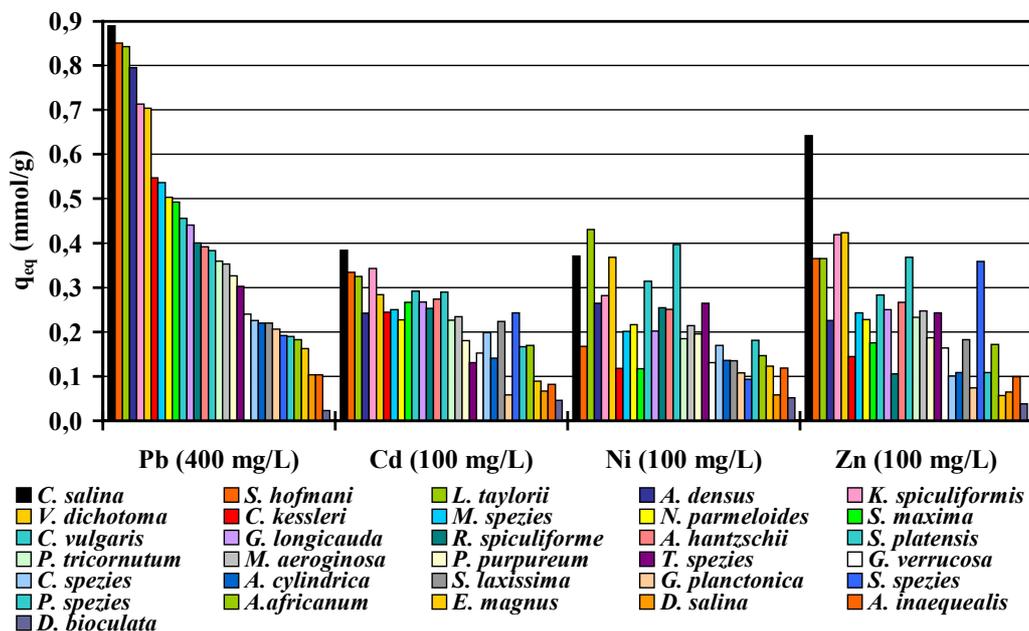


Abb. 6–1: Screening der Biosorption von Pb, Cd, Ni und Zn an 31 Algen
Details s. Kap. 5.1.2

Die Wahl der Anfangskonzentrationen im Sättigungsbereich von *C. vulgaris* für die Screeninguntersuchungen ist notwendig, da ansonsten die Beladungskapazitäten nicht vergleichbar sind (Volesky, 1994; Volesky und Holan, 1995; Matheickal und Yu, 1996). Im Screening wurden 30 weitere Algen aus unterschiedlichen taxonomischen Klassen auf ihre Sorptionsfä-

higkeiten gegenüber den vier Metallen untersucht. In Abb. 6–1 sind die Ergebnisse grafisch zusammengefasst. Die Abbildung zeigt die große Bandbreite in den Biosorptionsleistungen der einzelnen Algenarten. Ein Zusammenhang zwischen der taxonomischen Klasse einer Alge und den Biosorptionskapazitäten konnte nicht erkannt werden. Zu den leistungsfähigsten Arten zählen die Chlorophyceae *C. salina*, die Cyanophyceae *S. hofmani* und *L. taylorii*. Gleichzeitig stellen mit der Cyanophyceae *A. inaequalis* und der Chlorophyceae *D. bioculata* zwei Vertreter dieser taxonomischen Klassen auch die schwächsten Biosorbentien im gesamten Screening dar. Pb wurde von den meisten Algen am stärksten adsorbiert. Die Ergebnisse unterstreichen die Bedeutung des Screenings, da zwischen den einzelnen Algen große Unterschiede in den Bindungskapazitäten für die einzelnen Metalle bestehen. Waren die besten Algen in der Lage das vorgegebene Pb fast vollständig aus der Lösung zu binden, so konnte *D. bioculata* nur 3 % des vorhandenen Pb entfernen. *C. salina* und *L. taylorii* wurden zur weiteren Charakterisierung von den untersuchten Algen ausgewählt.

In den Übersichtsartikeln von Volesky und Holan (1995) und Veglio und Beolchini (1997) wird ebenfalls eine große Diversität der Kapazitäten für die Metalle an unterschiedlichen Biosorbentien demonstriert. Pb zeigte auch hier deutlich höhere Beladungen gegenüber den anderen Metallen. Die guten Biosorptionseigenschaften der Cyanophyceae gegenüber anderen Biosorbentien wurden von Fehrmann und Pohl (1994) und Inthorn et al. (1996), die die Biosorption von Cd an verschiedenen Cyanophyceae untersuchten, beschrieben.

Die Biosorptionseigenschaften von *C. salina* und *L. taylorii* wurden im weiteren näher untersucht, wobei *L. taylorii* im Verlauf der Untersuchungen immer stärker in den Vordergrund rückte, da die Überführung der Alge in ein technisches Verfahren (Immobilisierung) im Kooperationsprojekt besonders vielversprechend funktionierte (Wilke, 2001). Die Versuche an *L. taylorii* wurden deshalb um das Schwermetall Cu noch erweitert. Die Sorptionsisothermen der einzelnen Metalle an den beiden Algen konnten wie bei *C. vulgaris* mit Modell von Langmuir quantitativ beschrieben werden.

An *C. salina* wurden maximale Beladungen nach Langmuir von 0,9 mmol Cd; 0,6 mmol Ni; 1,9 mmol Pb und 0,9 mmol Zn pro g Biomasse erreicht (Pb > Zn > Cd > Ni). Die Affinität von Pb ist besonders hoch. Ni zeigt die geringste Affinität zur Oberfläche (Affinitätsreihenfolge: Pb >> Cd > Zn > Ni).

Die maximalen Kapazitäten an *L. taylorii* waren mit 0,4 mmol Cd; 0,7 mmol Cu; 0,7 mmol Ni; 1,47 mmol Pb und 0,5 mmol Zn pro g Alge (Pb > Cu ≥ Ni > Zn > Cd) für Pb, Cd und Zn niedriger als bei *C. salina*. Die Affinitäten der Metalle zur Oberfläche von *L. taylorii* sind für

Zn, Pb, Cd und Cu in einem Bereich. Ni zeigt wie bei den beiden anderen Algen die geringste Affinität ($Zn \geq Pb \geq Cd > Cu > Ni$). Die höchsten max. Beladungen konnten für alle drei untersuchten Algen (*C. vulgaris*, *C. salina* und *L. taylorii*) für Pb beobachtet werden. Leusch et al. (1996) berichten, dass die Beladungen an der marinen Makroalge *Saragassum fluitans* für Pb am höchsten sind gefolgt von Cu, Ni, Cd und Zn. Die Affinität von Ni an *Saragassum fluitans* erwies sich am geringsten von den fünf Metallen. Die Kapazitäten von *C. salina* und *L. taylorii* lassen sich mit den besten bisher beschriebenen Biosorbentien gut vergleichen (s. Tab. 2–5) und sind deutlich höher als für Zeolithe und Aktivkohle (Volesky, 1994; Dorfner, 1991). Die beeindruckenden Kapazitäten für Pb übertreffen selbst den in dieser Arbeit als Vergleich herangezogenen kommerziellen Ionenaustauscher DW 22, der ansonsten mit Beladungen über 1,1 mmol/g für Cd, Ni und Zn besser ist. Unter den Vergleichssorbentien sei an dieser Stelle noch das Carbion erwähnt, das mit maximalen Beladungen von 2,6 mmol/g für Pb und 1,7 – 1,9 mmol/g für Cd, Ni und Zn das beste Biosorbens bis zu diesem Punkt der Arbeit darstellte.

Das Gleichgewicht zwischen den in Lösung befindlichen Metallen und an der Alge gebundenen stellte sich bei *C. salina* und *L. taylorii* wiederum sehr schnell ein und war praktisch nach 30 min abgeschlossen. Die beiden Algen zeigten eine ähnliche pH-Abhängigkeit gegenüber den Metallen. So waren ab einem pH von 3 (pH 4 bei Ni an *L. taylorii*) bis pH 6 bzw. pH 5 bei Cu an *L. taylorii* die Beladungen für die Schwermetalle annähernd konstant. Sinkt der pH unter 3 so nimmt die Beladung für Cd, Cu, Ni, Pb und Zn deutlich ab. Die Metalle können nach einer Beladung bei saurem pH-Wert (0,1 N HCl) von den Algen desorbiert werden. Das Plateau im schwach sauren Bereich ist für beide Algen stärker ausgebildet als bei *C. vulgaris* und stellt eine wichtige Eigenschaft der untersuchten Algenbiosorbentien dar. Kleine Schwankungen im pH-Wert bedingen somit kaum Änderungen der Beladungen, dies ist für die Anwendung der Biosorption auf reale Abwässer wichtig. Die hohe Reproduzierbarkeit der Biosorptionsuntersuchungen lässt sich dadurch ebenfalls erklären. Der Einsatz von Puffern ist deshalb nicht notwendig. Ein vergleichbaren Einfluss des pH-Wertes auf die Biosorption von Kupfer und Cadmium an der marinen Alge *Durvillaea potatorum* konnten Yu und Kaewsarn (1999) beobachten.

Der Verlauf der pH-Kurven der Algen ist den Titrationskurven von schwachen Säuren sehr ähnlich. Der pKs-Wert der Carboxylgruppe liegt z.B. im Bereich von 4-5. Bei pH-Werten unter dem pKs-Wert sind die Carboxylgruppen protoniert und stehen als Bindungsstellen nicht mehr zur Verfügung (s. Kap. 6.2).

Reale Abwässer stellen ein Gemisch aus verschiedenen Metallen dar. Die Betrachtung der Sorption in Hinblick auf Selektivitäten gegenüber den Schwermetallen ist deshalb von großer Bedeutung. Dazu wurde die Biosorption an den Algen in äquimolaren Mischungen aller betrachteten Metalle mit steigender Konzentration untersucht. An *C. salina* und *L. taylorii* zeigte sich, dass Pb bevorzugt gebunden wird und die anderen Metalle von den Bindungsstellen verdrängt. Cu wird an *L. taylorii* wiederum selektiv gegenüber Cd, Ni und Zn sorbiert und vom Pb erst im Sättigungsbereich an der Biosorption gehindert. Cd, Ni und Zn zeigen untereinander ebenfalls Selektivitäten, die aber nicht so dominant ausgebildet sind. An *C. salina* wird Cd bevorzugt vor Zn und Ni gebunden. An *L. taylorii* erfolgten aufgrund der starken Sorption von Pb und Cu weitere Versuche, um die Selektivitäten von Cd, Ni und Zn besser einschätzen zu können. Zn wird bevorzugt gebunden gefolgt von Cd und Ni. Ni wird am stärksten von den Bindungsstellen an *C. salina* und *L. taylorii* verdrängt und zeigte auch die geringsten Affinitäten zur Oberfläche bei allen untersuchten Algen in den Sorptionsisothermen. Neuere Arbeiten bestätigen die bevorzugte Bindung von Pb gegenüber den anderen Schwermetallen aus Mehrmetalllösungen. So beobachteten Singh et al. (2000) dieses Phänomen an Algen von *Microcystis*, *Lemna* und *Spirogyra* (Reihenfolge: Pb > Cu > Zn > Cd). Die Selektivitätsfolge für die anderen Metalle passt sehr gut mit den Ergebnissen von *L. taylorii* zusammen. Andere Biosorbenzien auf Basis der Bakterie *Streptovercillium cinnamoneum* und dem Pilz *Penicillium chrysogenum* (Puranik und Paknikar, 1999), wie auch an dem Pilz *Rhizopus arrhizus* (Sag et al., 2000), zeigen ebenfalls eine hohe Präferenz für Pb gegenüber den anderen untersuchten Schwermetallen.

Neben der Selektivität der Bindung der einzelnen Schwermetalle ist für eine Anwendung der Einfluss von anderen Metallkationen aus in Abwässern üblichen Fremdsalzen von Bedeutung. An *L. taylorii* wurde der Einfluss von Fremdsalzen am Beispiel vom einwertigen Na und zweiwertigen Ca gezeigt. Die Gehalte von Na und Ca erstreckten sich bis zu 20 g/L. An *L. taylorii* konnte eine größere Konkurrenz von Ca um die Sorptionsstellen für Pb, Cd, Ni und Zn verglichen mit Na festgestellt werden. Ein Einfluss der beiden Kationen auf die Biosorption von Cu an der Alge wurde nicht beobachtet. Pb, Cd, Ni und Zn zeigen wieder ein individuelles Verhalten gegenüber Ca und Na. Die Konkurrenz von Ca und Na beeinflusste die Bindung von Cd am stärksten. So verminderte sich die Beladung von Cd bei Na-Gehalten von 20 g/L in der Lösung um 60 % . Die gleichen Gehalte an Ca bewirkten, dass eine Biosorption von Cd an der Alge nicht mehr nachweisbar war. Bei der Reinigung von realen Abwässern sollte der entsprechende Gehalt an Fremdsalzen vor allem von Ca berücksichtigt werden.

Wilke (2001) zeigte, dass konventionelle Ionenaustauscher noch sehr viel empfindlicher gegenüber Ca und Na Ionen sind.

Die vorangehend beschriebenen Ergebnisse dieser Arbeit zeigten, dass neben individuellen Unterschieden in der Bindung der Metalle zwischen allen drei näher untersuchten Algen auch viele Gemeinsamkeiten festgestellt werden konnten. Die Metalle zeigen charakteristische Unterschiede in der Biosorption, die scheinbar unabhängig von der Algenspezies sind (z.B. Pb und Ni). Wie können die unterschiedlichen Biosorptionseigenschaften der einzelnen Metalle an den Algen erklärt werden? Betrachtet man die physiko-chemischen Eigenschaften der fünf Schwermetalle (s. Tab. 2–1) so erkennt man, dass vier der Schwermetalle in den Nebengruppen und ein Schwermetall das Pb in eine Hauptgruppe des Periodensystems eingeordnet werden. Unter Betrachtung der verschiedenen Ordnungszahlen der Elemente ergeben sich deutliche Unterschiede im Aufbau ihrer Elektronenhüllen, die für die Wechselwirkung mit den Bindungsstellen an der Alge wichtig sind. Cu, Ni und Zn sind vom Aufbau der Elektronenhüllen am ähnlichsten. Die einzelnen Schwermetalle liegen in Lösung als Kationen vor und bevorzugen eine Wechselwirkung vor allem mit negativen geladenen Bindungsstellen der Algenoberfläche. Unter Hinzunahme des Modells nach Pearson (1963) können solche Reaktionen der Metalle an der Oberfläche der Alge als eine Säure-Base Reaktion verstanden werden. Die nach ihm benannte Säure-Base Theorie teilt Säuren und Basen in harte und weiche ein. Der Ausdruck hart bzw. weich beschreibt die Deformierbarkeit (Polarisierbarkeit) der Elektronenhülle der entsprechenden Atome. Danach wird Cd in die Gruppe der weichen Säuren und Pb, Ni, Cu und Zn zwischen den weichen und harten Säuren eingeteilt. Pb besitzt die „härtesten“ Eigenschaften von den vier Schwermetallen in der Mittelstellung. Harte Säuren reagieren bevorzugt mit harten Basen und analog weiche Säuren bevorzugt mit weichen Basen. Zu den harten Basen zählen z.B. das Carboxylatanion und andere sauerstoffreiche Anionen. Die weichen Basen stellen eine Vielzahl von Anionen der Halogene und des Kohlenstoffs in Kombination mit den Heteroatomen S, P oder N (CN^- , R-S^-) dar. Zu den harten Säuren zählen neben dem Proton (stärkste Säure) auch die Metallkationen mit Edelgaskonfiguration wie das Na^+ - und Ca^{2+} -Ion. Beziehen wir die Erkenntnisse von Pearson nun auf die beobachteten Biosorptionseigenschaften an den Algen, so lassen sich einige Eigenschaften besser verstehen. Vor allem das Konkurrenzverhalten von Protonen und der Fremdionen Na^+ und Ca^{2+} lassen sich gut mit Pearson erklären. Die pH-Kurven der Metalle und die Untersuchung zu den Bindungsstellen (s. Kap. 6.2) zeigen das schwach saure Gruppen, wie Carboxylgruppen, an der Biosorption entscheidend beteiligt sind. Sie stellen harte Basen dar und reagieren demnach bevorzugt mit harten Säuren. Die Desorption der Metalle mit Säuren beruht demnach auf der

größeren Affinität der Protonen zur harten Base verglichen mit den schwächeren Schwermetallen. Als weiteres Beispiel seien die Untersuchungen der Konkurrenz von Na und Ca bei der Bindung von Cd an *L. taylorii* angeführt. Cd wird von den untersuchten Metallen durch Na- und Ca-Ionen am stärksten beeinflusst, was durch seine Einordnung als weiche Säure verständlich wird. Cd zeigt auch an *C. vulgaris* und *L. taylorii* die geringsten Beladungskapazitäten unter den Metallen. Die härtesten Säureeigenschaften zeigt Pb und nimmt auch in den Biosorptionsuntersuchungen die wichtigste Rolle ein. Der vorgestellte Ansatz kann natürlich nicht alle Fragen beantworten. So lässt sich die geringe Affinität von Ni zur Oberfläche der untersuchten Algen und der geringe Einfluss von Ca und Na auf die Biosorption von Cu an *L. taylorii* mit dem Modell nicht beschreiben. Bei Betrachtung der Komplexität der Algenoberfläche verwundert das auch nicht, es zeigt vielmehr, dass noch weitere Bindungsmechanismen bei der Biosorption eine entscheidene Rolle spielen müssen.

Dem Projektbereich wurde ein reales Pb-Abwasser aus der Akkumulatorenindustrie zur Verfügung gestellt ($c_{Pb} = 3 \text{ mg/L}$). *L. taylorii* konnte im Batchversuch 90 % der Metalle in Gegenwart von 0,8 g/L Ca aus dem Abwasser entfernen. Wilke (2001) konnte mit dem entwickelten Kolonnenverfahren auf Basis von immobilisierter *L. taylorii* das Abwasser bis unter den Grenzwert für Direktleiter aufreinigen (Ablauf $< 0,4 \text{ mg/L Pb}$).

Für eine Anwendung der Algen als Schwermetallbiosorber ist es notwendig, die Biomasse günstig - z.B. als Abfall einer biotechnologischen Produktionsanlage - zu beziehen. Die in dieser Arbeit im Mittelpunkt stehende *L. taylorii* wird gerade einem intensiven Wertstoffscreening unterzogen. Es ist aus der Sicht dieser Arbeit zu hoffen, dass dieses erfolgreich ist, weil für die industrielle Nutzung der Biosorption eine industrielle Produktion der Algen zur Wertstoffgewinnung zwingend erforderlich ist (Sandau et al., 1996; Bunke et al., 1999).

6.2 Charakterisierung der Bindungsstellen

Ausgehend von Arbeiten von Crist et al. (1992, 1994, 1999), die die Bedeutung von funktionellen Gruppen für die Biosorption von Al, Cd und Pb an der marinen Makroalge *Vaucheria* zeigten, wurden die Bindungsstellen auf der Oberfläche der Algen charakterisiert. Träger der funktionellen Gruppen (z.B. Carboxyl-, Hydroxyl-, Sulfonsäure- und Aminogruppen) in der Zellwand der Algen sind vor allem Polysaccharide und in diese eingebettete Proteine (s. Kap. 2.2.3) (Kloareg und Quatrano, 1988).

Die Gehalte an funktionellen Gruppen der im Screening eingesetzten Algen, die sich aus den Heteroatomen N, S und P zusammensetzen, wurden durch eine Elementaranalyse abgeschätzt.

Ein direkter Zusammenhang zwischen den Gehalten an Heteroatomen und den Biosorptionseigenschaften konnten nicht gefunden werden. Mit Schwefelgehalten von 0,02 - 0,3 mmol/g Biomasse spielen schwefelhaltige Bindungsstellen nur eine untergeordnete Rolle. Die höchsten Schwefelgehalte wurden übrigens bei der Bangiophyceae *P. purpureum* ermittelt, deren Zellwände sich zum Teil aus Galactanen (Polysaccharide aus Galactose mit Sulfatestergruppen) zusammensetzen (Kloareg und Quatrano, 1988). *L. taylorii* besitzt von den untersuchten Algen einen der geringsten Gehalte an einzelnen Heteroatomen.

Die Bedeutung der Carboxylgruppen für die Biosorption der Schwermetalle konnte durch ihre Methylierung nach der Methode von Gardea-Torresdey et al. (1990) belegt werden. Zur Methylierung wurden Algen mit verschiedenen Biosorptionseigenschaften ausgewählt. Die modifizierten Biomassen zeigten alle eine deutlich verringerte Biosorption für Pb, Cd, Ni und Zn (bis zu 90 % der ursprünglichen Beladung). Die Bestimmung der Carboxylgruppengehalte erfolgte nach Hydrolyse der Methyl ester mit Natronlauge über die Analyse des freigesetzten Methanols. Die Gehalte an Carboxylgruppen lagen im Bereich von 0,3 mmol/g bei *C. spezieis* bis 0,9 mmol/g bei *L. taylorii*. Der Carboxylgruppengehalt von *C. salina* war mit 0,8 mmol/g ähnlich zu *L. taylorii*. Die Untersuchungen der unbehandelten Algen ergab, dass die Carboxylgruppen bei den Algen quasi frei vorliegen. Die Ergebnisse bestätigten die beobachteten pH-Abhängigkeiten der Metalle im vorigen Abschnitt (s. Kap. 6.1), die ein Vorhandensein von schwach sauren Bindungsstellen für die Algen zeigten. Umfangreiche Untersuchungen zur Entfernung von Cd und Pb aus wässrigen Lösungen mit der Alge *Saragassum fluitans* (Fourest und Volesky, 1996) und Cu, Sr, Cd und Pb mit der Pflanze *Datura innoxia* (Lin und Rayson, 1998; Drake et al., 1996) ebenfalls aus wässrigen Lösungen bestätigten die Bedeutung der Carboxylgruppen in den Zellwandpolymeren für die Biosorption. Fehrmann et al. (1993) fanden bei ihren Untersuchungen zur Biosorption von Cd an 12 Algenspezies Carboxylgruppengehalte im Bereich von 0,1 - 0,4 mmol/g Biomasse. Romero-Gonzalez et al. (2001) konnten durch Veresterungsversuche an Abfallbiomasse von marinen Makroalgen nachweisen, dass für die Bindung von Cd an der Biomasse Carboxylgruppen entscheidend beteiligt sind. In den Algen *C. vulgaris* und *S. platensis* konnten ähnlich hohe Carboxylgruppengehalte bestimmt werden wie bei den leistungsfähigsten Algen. *C. vulgaris* und *S. platensis* zeigen aber deutlich schwächere Biosorptionsleistungen, was zeigt, dass weitere Faktoren die Biosorption beeinflussen. Holan et al. (1993) wiesen darauf hin, dass für die Bindung der Metalle die sterische Anordnung der Hydroxylgruppen im Polysaccharid entscheidend sein kann. Das gilt natürlich auch für die Anordnung der funktionellen Gruppen in den Polymeren der Zellwände. So kann erst die Aufklärung der räumlichen Anordnung der funktionellen

Gruppen in der Zellwand einen Aufschluß über die tatsächliche Verfügbarkeit dieser als Bindungsstelle für die Metalle geben.

Die Carboxylgruppen sind hauptsächlich Bestandteile der sauren Polysaccharide (Polyuron-säuren, s. Abb. 2–1) der Algenzellwand, die bei einer Vielzahl von Algenarten gefunden wurden (Kloareg und Quatrano, 1988; Hoek et al., 1995). Die sauren Monomere dieser Polysaccharide stellen die sogenannten Uronsäuren dar (z.B. Galacturonsäure und Glucuronsäure). Zur Charakterisierung der Polysaccharide der Zellwände wurden an ausgewählten Algen nach saurer Hydrolyse die Monosaccharide mittels HPAEC-PAD Chromatographie analysiert. Neben den üblichen neutralen Monosacchariden wurde die Gehalte an den Uronsäuren Galacturon- und Glucuronsäure bestimmt. Churms (1991), Martens und Frankenberger (1991) und Wunschel et al. (1997) stellten in ihren Arbeiten die Vorteile der HPLC mit Anionenaustauschersäulen und PAD- oder MS-Detektion speziell für die Untersuchung von Kohlenhydraten in biologischen Proben heraus, weil die Analyse von Uronsäuren in einem Schritt mit neutralen Monosacchariden möglich ist.

Die untersuchten Algen waren wiederum nach ihren unterschiedlichen Biosorptionseigenschaften ausgewählt. An den mit der etablierten Methode untersuchten Zellwänden wurden Monosaccharidgehalte zwischen 12 % bei *C. salina* und 74 % bei *P. purpureum* ermittelt. Die Uronsäuregehalte bewegten sich in einem Bereich von 0,2 % (0,01 mmol/g) bei *G. veruscosa* bis 4,2 % (0,2 mmol/g) bei *P. purpureum*. Ein direkter Zusammenhang zwischen der Zusammensetzung der analysierten Monosacchariden und den Biosorptionseigenschaften konnte nicht festgestellt werden. Die ermittelten Uronsäuregehalte können die hohen Beladungen für die Metalle nicht erklären. Die in der Arbeit verwendeten Hydrolysebedingungen wurden von Blaschek (1991) empfohlen für die Untersuchung von sauren Polysacchariden. Stärkere Hydrolysebedingungen würden zu einer Decarboxylierung der Uronsäuren führen und somit eine Analyse verhindern. Eine Vielzahl von Untersuchungen bestätigen diesen Ansatz (Ray und Lahaye, 1995; Becker et al., 1995; Falshaw und Furneaux, 1994). Die großen Unterschiede in den Gesamtkohlenhydratgehalten lassen sich somit durch unterschiedliche Gehalte an sehr hydrolysestabilen Polysacchariden (z.B. Cellulose), die bei den angewandten Hydrolysebedingungen nicht gespalten werden, erklären. Die Analyse von *P. purpureum* bestätigt die hohen Gehalte an leicht hydrolysierbaren Schleimpolysacchariden in der Zellwand der Alge, die in der Literatur für eine Vielzahl von Arten dieser Abteilung (Rotalgen) beschrieben wurden (Geresh et al., 1992; Miller et al., 1995; Chiovitti et al., 1995). Die Alge war speziell aufgrund dieser Daten zum Screening ausgesucht worden. Die Analyse der Gesamtheit der Zellwandpolysaccharide ist ein äußerst komplizierter Vorgang, der eine Kombination von nasschemischen und vor allem auch spektroskopischen Verfahren erforderlich macht

schen und vor allem auch spektroskopischen Verfahren erforderlich macht (Falshaw und Furneaux, 1998) und den Rahmen dieser Arbeit gesprengt hätte.

Um die Bindungsstellen an den Algenzellwänden weiter eingrenzen zu können, wurden verschiedene Extraktionen an *C. salina* und *L. taylorii* durchgeführt. Es erfolgten lipophile, alkalische und hydrophile (100 °C) Extraktionen, mit denen jeweils verschiedene Zellwandbestandteile extrahiert wurden. Nach den unterschiedlichen Behandlungen zeigten die Beladungen für Pb und Zn für die beiden Algen deutliche Unterschiede. Mit der alkalischen Extraktion konnte an *C. salina* und *L. taylorii* mit bis zu 60 % der Biomasse der größte Anteil extrahiert werden. Die Beladungen für die Metalle sanken dementsprechend für *C. salina* um über 65 % für Pb und 48 % für Zn ab (Abnahme bezogen auf die ursprüngliche Biomasse). Dahingegen nahmen die Beladungen für Pb und Zn an *L. taylorii* nur um 20 % ab. Die alkalisch extrahierten Zellwandbestandteile von *L. taylorii* (Proteine, Polysaccharide und Hemicellulosen) besitzen somit nur eine geringe Anzahl an Bindungsstellen für die Metalle. An *C. salina* und *L. taylorii* zeigen die lipophilen Extraktionen die geringsten Auswirkungen auf die Biosorption. Die hydrophilen Extraktionen bei 100 °C an den beiden Algen verringern die Kapazitäten um bis zu 30 % für die Schwermetalle. Die Mehrzahl der Bindungsstellen an *L. taylorii* (70%) sind auf den nicht extrahierbaren Zellwandbestandteilen lokalisiert. Fehrmann (1993) beschreibt bei seinen Untersuchungen an der Phaeophyceae *Ectocarpus siliculosus*, dass die Bindungsstellen für Cd zum großen Teil im Zellwandgerüst der Biomasse lokalisiert sind. Untersuchungen an der Chlorophyceae *Chlorella regularis* von Nakajima et al. (1981) belegen den großen Einfluß der Zellwandbestandteile, die durch eine basische Extraktion entfernt werden konnten, auf die Biosorption. Eine alkalische Behandlung der Zellwände von *Chlorella regularis* führte zu einer Abnahme der Beladungen mit Cu von 48 % und mit Cd von 70 %. Die lipophilen Extraktionen zeigten ebenfalls den geringsten Einfluss auf die Biosorption der verbleibenden Biomasse.

Die Ergebnisse an *C. salina* und *L. taylorii* zeigen deutlich, daß die Bindungsstellen an beiden Algen an ganz verschiedenen Zellwandbestandteilen lokalisiert sind. Die Kenntnis des Einflusses der verschiedenen Extraktionsverfahren auf die Biosorptionseigenschaften der Algen ist auch aus Sicht der technischen Nutzung von Abfallbiomasse als Biosorbens von großer Wichtigkeit, weil solche Extraktionen in der Naturstoffisolierung aus Algen häufig angewendet werden. Die extrahierten Biomassen von *C. salina* zeigten nach den verschiedenen Behandlungen ähnliche Beladungen wie die ursprüngliche Alge. Die behandelte Alge *L. taylorii* hatte sogar bis um einen Faktor 2 bessere Beladungen bezogen auf die verbleibende Biomasse, da

der Einfluss der extrahierten Zellwandpolymere deutlich geringer war. Somit wären beide Algen nach einer Wertstoffisolierung noch hervorragende Biosorbentien.

Zur Charakterisierung von Polysacchariden, wie auch komplexen Zellwandoberflächen, bedient man sich einer Vielzahl von spektroskopischen Methoden, um weitere Information über die Strukturen der Oberflächen zu erhalten. Zur Untersuchung der beiden Algen wurden die Rasterelektronenmikroskopie (REM) in Kombination mit einer Röntgenmikroanalyse und die FT-IR Spektroskopie eingesetzt. Die REM mit Röntgenanalyse erlaubte die Betrachtung der Oberflächen der Biosorbentien bei gleichzeitiger Analyse der vorhandenen Elemente auf den Algen. Gerade diese Kombination macht die Methode so interessant für Biosorptionsuntersuchung, was eine Reihe von Arbeiten in der neueren Literatur belegen (Tsezos et al., 1997; Yu et al., 2000; Suh et al., 1999; Figueira et al., 1999).

Mit REM und Röntgenanalyse konnten die an *C. salina* und *L. taylorii* gebundenen Metalle Pb, Cd, Ni und Zn auf der Oberfläche nachgewiesen werden. Untersuchungen zur Verteilung der Metalle auf der Oberfläche der Alge ergaben, dass die Metalle sehr gleichmäßig über die untersuchte Oberfläche verteilt waren. Die gemessenen hohen Kapazitäten für die Metalle stehen im Einklang mit dieser Beobachtung. Aus den Röntgenspektren vor allem der unbeladenen Alge *L. taylorii* wurden überraschend hohe Gehalte an Calcium auf der Oberfläche abgeleitet. Da die Algen vor den Untersuchungen gründlich gewaschen worden waren und somit eine Kontamination ausgeschlossen werden konnte, muss das Calcium auf der Alge spezifisch gebunden vorliegen. Diese Deutung wurde durch das Röntgenspektrum der mit Pb beladenen Alge bestätigt, das deutlich geringere Ca-Gehalte aufwies.

Erneute Untersuchungen der Biosorption von Cd, Ni, Pb und Zn an *L. taylorii* in Hinblick auf Calcium in der Lösung ergaben, dass die Metalle im direkten Austausch mit Ca an die Alge gebunden werden. Die Versuche belegen die Befunde, die aus den Röntgenspektren abgeleitet wurden. Ein Vergleich zwischen den gebundenen Metallen und dem ausgetauchten Calciumionen zeigt, dass ein Ionenaustauschprozess an *L. taylorii* der Hauptmechanismus bei der Biosorption darstellt. Somit konnte hier auf direkte Weise ein Ionenaustauschvorgang nachgewiesen werden. Die von Crist et al. (1994) beschriebenen Ionenaustauschvorgänge bei der Biosorption an *Vaucheria* konnten somit auch für *L. taylorii* bestätigt werden.

Die erzielten Ergebnisse aus den vorherigen Betrachtungen zeigen die Bedeutung von schwach sauren funktionellen Gruppen, wie den Carboxylgruppen, für die Biosorption der Metalle an den beiden Algen. Zur Identifizierung von funktionellen Gruppen in komplexen Molekülen wie Polysacchariden eignet sich besonders die FT-IR Spektroskopie (Sene et al.,

1994; Kamnev et al., 1997; Coimbra et al., 1999). Die Spektren von *C. salina* und *L. taylorii* sind sehr ähnlich und aufgrund einer Vielzahl von Kombinationsschwingungen schwer zu interpretieren. Beide Spektren zeigen jedoch die charakteristischen Schwingungen der Carboxylgruppe (Schwingung der Carbonylfunktion und des Carboxylatanions) sehr deutlich. Vergleichbare FT-IR Spektren mit Adsorptionsbanden der Carboxylgruppe wurden an zwei Algenspezies der Klasse der Chlorophyceae von Kiefer et al. (1997) und an Zellwänden mariner Makroalgen (Romero-Gonzales et al., 2001) beobachtet.

Die spezifischen Oberflächen wurden für *L. taylorii* mit $4 \text{ m}^2/\text{g}$ und für *C. salina* mit $15 \text{ m}^2/\text{g}$ ermittelt. Die spezifischen Oberflächen der beiden Algen sind im Verhältnis zu anderen kommerziellen Adsorbentien viel geringer, Aktivkohle besitzt Oberflächen von 300 bis $1800 \text{ m}^2/\text{g}$ oder Adsorberpolymere von 100 bis $1500 \text{ m}^2/\text{g}$ (Dorfner, 1991). Die maximalen Beladungen für Pb, Cd, Ni und Zn bezogen auf die Oberfläche errechneten sich für *L. taylorii* von $0,09 \text{ mmol Cd} / \text{m}^2$ bis $0,37 \text{ mmol Pb} / \text{m}^2$ und für *C. salina* von $0,04 \text{ mmol Ni} / \text{m}^2$ bis $0,13 \text{ mmol Pb} / \text{m}^2$.

6.3 Modifizierung der Biomasse

Das Potential der Einführung von ionenaustauschaktiven Gruppen in die Zelloberfläche der Algen soll im folgenden abschließend diskutiert werden. Ausgangspunkt der Untersuchungen war die Kenntnis aus umfangreichen Arbeiten zum Einbau von Carboxylgruppen und Phosphatgruppen in die Biopolymere von Holz und Chitin, die zu Produkten mit hohen Bindungskapazitäten für verschiedene Metalle führte (Meisch und Gauer, 1998). Die angewandten Synthesen sollten so gestaltet sein, dass sie für die Überführung in den industriellen Maßstab geeignet sind. An den beiden Algen *C. salina* und *L. taylorii* wurden verschieden Verfahren getestet. Die Versuche machten deutlich, dass es große Unterschiede unter den beiden Algen gibt. Die eingesetzten Methoden führten zum Teil zu hohen Verlusten an Biomasse, da unter den gewählten Bedingungen die Polysaccharide stark hydrolysierten. Die Einführung von Carboxylgruppen an *L. taylorii* und Phosphorylierungen an *C. salina* zeigten deshalb schlechte Ausbeuten und zum Teil kaum Effekte auf die Beladungen. Im Gegensatz dazu stehen die Phosphorylierungen an *L. taylorii* unter Verwendung von Phosphorylchlorid und vor allem von Phosphorsäure. Die Phosphorylierung nach Gauer (1996) der freien OH-Gruppen mit Phosphorsäure in einer Harnstoffschmelze führte zu einem Anstieg des P-Gehaltes von $0,5 \text{ mmol/g P}$ der unbehandelten *L. taylorii* auf $4,4 \text{ mmol/g P}$ der phosphorylierten Alge. Der Anstieg der P-Gehalte bewirkte eine enorme Erhöhung der Bindungskapazitäten für Cd (Faktor 6), Ni (Faktor 4,6), Pb (Faktor 2) und Zn (Faktor 5,5). Die Synthesebedingungen wurden für

L. taylorii hinsichtlich Ausbeute, Einbau von Phosphatgruppen und der Beladungskapazität für Pb optimiert.

Wie kommt es zur Phosphorylierung der OH-Gruppen? In Abb. 6–2 ist der von Dau et al. (1954) für die Phosphorylierung mit Phosphorsäure in einer Harnstoffschmelze vorgeschlagene Reaktionsverlauf dargestellt. Die Reaktion beruht im Prinzip auf eine Veresterung der primären Hydroxylgruppen der Zellwandpolymere mit Phosphorsäure. Der zugesetzte Harnstoff im Überschuss diente dabei sowohl als Protonenakzeptor sowie auch als wasserfreies Medium während der Reaktion. Der Harnstoff pufferte die hydrolytische Wirkung der Säurekomponente ab und verschob andererseits das Reaktionsgleichgewicht durch Verbrauch des bei der Veresterung entstehenden Wassers zur Seite der Produkte. Die Entstehung der gasförmigen Reaktionsprodukte Ammoniak und Kohlendioxid begünstigte diese Verschiebung des Gleichgewichtes zusätzlich.

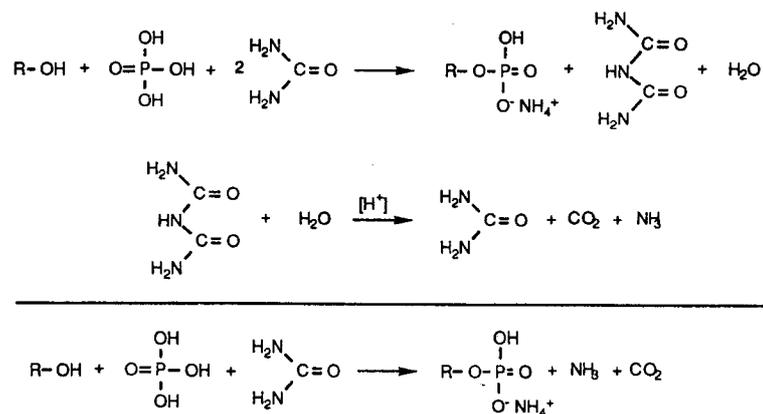


Abb. 6–2: Reaktionsgleichung nach Daul et al. (1954) für die Phosphorylierung der OH-Gruppen

Die Entstehung der Gase bewirkte zudem ein starkes Aufschäumen des Reaktionsgemisches, was eine gute Homogenisierung bedingte und somit zu einer gleichmäßigen Phosphorylierung von *L. taylorii* führte. Die hohe Reproduzierbarkeit der Biosorptionsuntersuchungen bestätigt diese Vermutung.

Die Optimierung der Reaktionsbedingungen erlaubte einen tieferen Einblick in die Reaktionsmechanismen. Bemerkenswert waren die guten Korrelationen zwischen den Gehalten an Phosphor und den erzielten Bleibeladungen. Die Versuche zum Einfluß der Reaktionszeit bei 170 °C zeigten, dass zu Beginn der Reaktion (nach der Vorbehandlung) etwa die Hälfte der Biomasse durch die Phosphorsäure hydrolysiert wurde. Im Verlauf der Reaktion nahmen die Ausbeuten aufgrund des Einbaus der Phosphatgruppen und erneuter Polymerbildung wieder

zu. Die Zunahme der Ausbeuten, obwohl die Phosphorgehalte und die Bleibeladung konstant bleiben, konnte auch bei steigenden Reaktionstemperaturen beobachtet werden. Ein Anstieg der Temperaturen von 170 °C auf 200 °C ließ die Ausbeuten von 99 % auf 140 % ansteigen. Die Erhöhungen der Ausbeuten lassen sich z.B. damit erklären, dass unter diesen Bedingungen vermehrt Polyphosphate gebildet werden, die entweder untereinander oder mit benachbarten Polysaccharidketten Verzweigungen bilden. Die Reaktionsoptimierung der Ausgangsstoffe ergab eine Harnstoffkonzentration von 74 mmol/g Alge und eine Phosphorsäurekonzentration von 18 mmol/g Alge als optimal. Um für den Projektbereich in kurzer Zeit ausreichend modifizierte Biomasse produzieren zu können, wurde der Ansatz auf 5 g Biomasse unter den optimierten Bedingungen erhöht. In dieser Arbeit wurden insgesamt über 50 g der modifizierten *L. taylorii* mit reproduzierbaren Beladungen für den Projektbereich hergestellt.

Die eingebauten Bindungsstellen wurden durch FT-IR Spektroskopie und REM – Röntgenmikroanalyse charakterisiert. Es zeigte sich, daß die FT-IR Spektroskopie zur Charakterisierung von komplexen Oberflächen hinsichtlich funktioneller Gruppen wieder sehr gut eingesetzt werden konnte. Im IR-Spektrum der phosphorylierten *L. taylorii* waren die typischen Schwingungen (P=O und P-O-H) klar zu identifizieren.

Wie sehen nun die Biosorptionseigenschaften der neuen phosphorylierten *L. taylorii* im Vergleich zu der natürlichen Alge aus? Die in Kap. 6.1 untersuchten Eigenschaften an *L. taylorii* waren auch für *L. taylorii* phos. Gegenstand der Versuche. Die Adsorptionsisothermen von Cd, Cu, Ni, Pb und Zn an der Biomasse zeigen hervorragende Beladungen. Die quantitative Beschreibung der Isothermen erfolgte erneut nach dem Modell von Langmuir und ergab eine sehr gute Anpassung ($r^2 > 0,999$) der experimentellen Daten mit dem Verlauf der Adsorptionskurven. Die Berechnung der maximalen Beladungen ergab Werte von 2,5 mmol Cd; 2,4 mmol Cu; 2,8 mmol Ni; 3,1 mmol Pb und 2,6 mmol Zn pro g Biotrockenmasse (Pb > Ni > Zn > Cd > Cu). Die erreichten Beladungen stellen die höchsten in dieser Arbeit beobachteten Beladungen dar. Pb zeigt wie auch für *L. taylorii* eine höhere Beladung, jedoch sind die Abstände der Isothermen zueinander deutlich verringert. Die Bindungskapazitäten der fünf Metalle an der modifizierten *L. taylorii* sind mit den besten kommerziell erhältlichen Ionenaustauschern vergleichbar (Dorfner, 1991). Insgesamt ist die Affinität (Langmuirkonstante) aller Metalle zur Oberfläche der Alge im Vergleich mit der unbehandelten *L. taylorii* wesentlich erhöht. Die Affinitätsreihenfolge ergab Zn > Pb > Cd ≥ Cu > Ni, sie ist identisch mit der der unbehandelten Alge. Wie auch bei anderen Algenbiosorbentzien zeigt Ni die geringste Affinität unter den betrachteten Metallen. Die gegebene Interpretation in Kap. 6.1 ist auch auf die

modifizierte Biomasse anwendbar. Die Phosphatgruppe wird ebenfalls zu den „harten Basen“ nach Pearson gezählt und reagiert bevorzugt mit „harten Säure“.

Die Gleichgewichtseinstellung zwischen den Metallen in Lösung und den Metallen an der neuen Biomasse gebundenen ist bereits nach wenigen Minuten im Batchversuch abgeschlossen.

Die bedeutenste Änderung zur unbehandelten Alge konnte bei der pH-Abhängigkeit der Biosorption der Metalle an *L. taylorii* phos. beobachtet werden. Über den gesamten pH-Bereich (pH 1 bis 6) waren hohe Beladungen bestimmt worden. Eine Erniedrigung der Beladungen ab pH 3 war für Cd, Ni und Cu zwar zu beobachten, jedoch war die Abnahme nicht mit der von *L. taylorii* zu vergleichen. Die größte Abnahme der Beladung zeigte Cu um 55 % bei pH 1. Die Biosorption für Zn war praktisch konstant über den gewählten pH-Bereich. Der Einbau der Phosphatgruppe erklärt die Beobachtungen, da sich der erste pKs-Wert der Phosphorsäure bei pH 2 befindet und somit eine Protonierung der ionenaustauschenden Gruppe erst bei niedrigen pH-Werten einsetzt, in Gegensatz zu den schwach sauren Carboxylgruppen an *L. taylorii*. Die pH-Eigenschaften von *L. taylorii* phos. ließen Probleme bei der Desorption unter den üblichen Bedingungen von pH 1 erwarten. So war eine Desorption der Metalle mit einer 0,1 N HCl nicht möglich. Erst mit Verwendung einer 3 N HCl konnten die Metalle von der Biomasse entfernt werden. Wegen der harten Reaktionsbedingungen bei der Synthese stellen die härteren Desorptionsbedingungen für das Biosorbens keine Gefahr einer Zerstörung dar. Diese Ergebnisse sind für eine praktische Anwendung sehr günstig, weil dieses neue Biosorbens auch für die Reinigung von Abwässern mit niedrigen pH-Werten einsetzbar ist, ohne dass ein vorhergehender Neutralisationsschritt durchgeführt werden müsste. Der Anwendungsbereich des Biosorbens hat sich somit deutlich erweitert.

Die Frage nach den Selektivitäten der neuen Bindungsstellen für die einzelnen Metalle steht im Mittelpunkt der folgenden Ausführungen. Wie im vorigen Abschnitt gezeigt, führten die Phosphorylierung der Biomasse zu veränderten Eigenschaften in Bezug auf den pH-Wert. Die Selektivitätsuntersuchungen mit den fünf Metallen ergaben keine wesentlichen Änderungen zu der natürlichen Alge. Untersuchungen mit äquimolaren Lösungen aller fünf Metalle zeigten deutlich, dass Pb selektiv gebunden wird und alle anderen Metalle von den Bindungsstellen verdrängt. Es konnte ebenfalls beobachtet werden, dass die Beladungen von Pb, Cd und Zn bis zu einer Konzentration von 3 mmol/L gemeinsam ansteigen und mit der beginnenden Sättigung der Bindungsstellen von Pb verdrängt werden. Eine ausgeprägte Konkurrenz von

Cd, Cu und Zn untereinander konnten nicht beobachtet werden. Wie auch bei *C. salina* und *L. taylorii* bestimmt, ist die Affinität für Ni am geringsten.

Abschließend wurde an dem Biosorbens *L. taylorii* phos. der für eine Anwendung wichtige Einfluss von Fremdsalzen auf die Biosorption der Metalle betrachtet. Es stellten sich wiederum viele Gemeinsamkeiten mit der unbehandelten Alge heraus. So hatte Ca einen größeren Einfluss auf die Beladungen mit den Metallen als das einwertige Na-Ion. Die Bindungen von Cu und Zn wurden am geringsten von beiden Fremdionen beeinflusst. Mit einer Abnahme der Kapazität für Pb von fast 70 % bei Anwesenheit von 20 g/L Na erwies sich dieses Schwermetall als besonders empfindlich gegenüber steigenden Na-Konzentrationen. Mit Beladungen von über 1 mmol/g für Cd, Ni und Pb bzw. von 2 mmol/g für Cu und Zn bei 20 g/L Na in der Lösung besaß das Biosorbens immer noch beachtliche Bindungskapazitäten. Erhöhte Konzentrationen von Ca führten dagegen bei den Metallen mit Ausnahme von Pb zu einer stärkeren Beeinflussung der Beladungen verglichen mit Na. Die Bindung von Ni und Zn wurde bei höheren Ca-Konzentrationen (4 - 18 g/L) auf über 90 % der ursprünglichen Beladung erniedrigt. Die Beladung von Cu wurde bis auf 53 % durch die Anwesenheit von Ca abgesenkt und damit am wenigsten von Ca beeinflusst.

In der Literatur finden sich bisher nur wenige Studien über die Beeinflussung der Biosorption von Metallen an Mikroorganismen durch einen gezielten Einbau von zusätzlichen funktionellen Gruppen in die Zellwandpolymere. An dieser Stelle sei auf die Arbeit von Kraemer und Meisch (1999) verwiesen, die zeigten, dass durch die Einführung von zusätzlichen Carboxyl- und Ethyldiamingruppen in die Zellwandstrukturen des Pilzes *Aspergillus niger* eine Erhöhung der Bindungskapazitäten für Cd, Co, Ni und Zn erzielt werden konnte.

Die vielen gemeinsamen Eigenschaften unter den untersuchten Algen, wie auch mit der modifizierten Biomasse, zeigen, dass es universelle Eigenschaften (Bindungskapazitätsreihenfolge, Affinitäten, Selektivitäten) gibt, die von den Bindungsstellen größtenteils unabhängig sind und hauptsächlich von den Eigenschaften der Metalle geprägt werden. Dadurch wird auch verständlich, dass eine Vielzahl von Biosorptionsstudien in der Literatur, die an den unterschiedlichsten Biosorbentien durchgeführt wurden, zu so ähnlichen Ergebnissen kommen.

7 **Ausblick**

Die Screeninguntersuchungen demonstrierten eine große Bandbreite in den Biosorptionsleistungen der einzelnen Algenarten. Es ist daher zu erwarten, das es noch eine Vielzahl unbekannter Arten gibt, die sehr interessante Eigenschaften hinsichtlich ihrer Metallbindungsfähigkeiten aufweisen. Deshalb sollten zukünftigen Biosorptionsuntersuchungen immer ein Screening vorausgehen bzw. die Arbeiten begleiten.

Für eine Anwendung der Algen als Schwermetallbiosorber ist es notwendig die Biomasse günstig z.B. als Abfall einer biotechnologischen Produktionsanlage zu beziehen. Die Suche nach neuen Wirkstoffen für die pharmazeutische und kosmetische Industrie aus Algen wird heute in der Forschung immer bedeutender. Eine Vielzahl der hier untersuchten Algenspezies wird zur Zeit einem solchem Wirkstoffscreening unterzogen, deshalb sind die Aussichten für eine praktische Verwertbarkeit der hier vorgelegten Ergebnisse günstig.

Die Bindung der Metalle an der Oberfläche der Algen stellt sich als ein sehr komplexer Vorgang dar. Die Erfahrungen zeigen, daß zur exakten Lokalisierung der Bindungsstellen und der Art der Bindung der Metalle eine Vielzahl verschiedener Methoden eingesetzt werden sollten. Zerstörungsfreie Untersuchungsmethoden, wie spektroskopische Methoden, die die Bindungszustände der Metalle auf der Oberfläche direkt beobachten können, spielen in diesem Zusammenhang eine sehr wichtige Rolle. In aktuellen Arbeiten erwies sich die Röntgenabsorptionsspektroskopie als eine besonders geeignete Methode, um die Art der Bindung und der beteiligten funktionellen Gruppen besser abschätzen zu können. In Deutschland wird mit der Inbetriebnahme von Bessy II in Berlin diese leistungsfähige Methode der Forschung zur Verfügung stehen.

Das Potential der Einführung von ionenaustauschaktiven Gruppen in die Zelloberfläche der Algen konnte in der Arbeit gezeigt werden. Die Untersuchungen an den zwei ausgewählten Algen machten deutlich, dass es für alle Spezies keine generell anwendbare Modifizierungsmethode geben wird. Die Unterschiede der Zellwände macht eine Optimierung für jeden Organismus nötig. Die Suche nach weiteren Möglichkeiten für den Einbau von funktionellen Gruppen ist erforderlich, um die Effizienz der Modifizierung und die Ausbeute weiter zu erhöhen. Die angewandten Synthesen sollten immer so gestaltet sein, dass sie für die Überführung in den industriellen Maßstab geeignet sind.

8 Literatur

- Aksu, Z. (2001):** Equilibrium and kinetic modelling of cadmium(II) biosorption by *C. vulgaris* in a batch system: effect of temperature. *Sep. Pur. Technol.* 21:285-294
- Aksu, Z.; Sag, Y.; Kutsal, T. (1992):** The biosorption of copper (II) by *C. vulgaris* and *Z. ramigera*. *Environ. Technol.* 13: 579-586
- Aksu, Z.; Kutsal, T. (1991):** A Bioseparation Process for Removing Lead(II) Ions from Waste Water by Using *C. vulgaris*. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 52: 109-118
- Anusuya, D.M.; Venkataraman, L.V. (1984):** Functional properties of protein products of mass-cultivated blue-green alga *Spirulina platensis*. *J. Food Sci.* 49: 24-29
- Atkins, P.W. (1998):** Physical Chemistry. Oxford University Press: Oxford
- Atkinson, B.W.; Bux, F.; Kasan, H.C. (1998):** Considerations for application of biosorption technology to remediate metal-contaminated industrial effluents. *Water SA* 24 (2): 129-135
- Bailey, S.E.; Olin, T.J.; Bricka, R.M.; Adrian, D.D. (1999):** A review of potentially low-cost sorbents for heavy metals. *Water Res.* 33 (11): 2469-2479
- Bakkaloglu, I.; Butter, T.J.; Evison, L.M.; Holland, F.S.; Hancock, I.C. (1998):** Screening of various types biomass for removal and recovery of heavy metals (Zn, Cu, Ni) by biosorption, sedimentation and desorption. *Wat. Sci. Technol.* 38: 269-277
- Becker, B.; Melkonian, M.; Kamerling, J.P. (1998):** The cell wall (theca) of *Tetraselmis striata* (Chlorophyta): Macromolecular composition and structural elements of the complex Polysaccharides. *J. Phycol.* 34 (5): 779-787
- Berends, A ; Hartmeier, W. (1992):** Biosorption von Schwermetallen im Trinkwasserbereich. *Wasser & Boden* 44: 508-510
- Blaschek, W. (1991):** Isolierung und Analytik von Polysacchariden. In *Polysaccharide*; Franz, G. Hrsg.; Springer: Berlin, 17-48
- Borowitzka, M.A. (1986):** Microalgae as source of fine chemicals. *Microbiol. Sci.* 3: 372-375
- Brauckmann, B. (1997):** Mikrobielle Extraktion von Schwermetallen aus Industrieabwässern. *Wasser & Boden* 49: 55-58
- Brierley, J.L. (1990):** Production and application of a Bacillus-based product for use in metals-biosorption. In *Biosorption of Heavy Metals*. Volesky, B. Ed.; CRC Press: Boca Raton, Fl., 173-198
- Brierley, J.L.; Brierley, C.L. (1993):** Immobilisation of biomass for industrial application of biosorption. In *Biohydrometallurgical Technologies*. Torma, A.E.; Apel, M.L.; Brierley, C.L. Eds.; Vol. 2, The Minerals, Metals & Materials Society, Warrendale, PA, 35-44
- Brierley, J.L.; Brierley, C.L.; Goyak, G.M. (1986):** AMT-BIOCLAIM: A new wastewater treatment and metal recovery technology. In *Fundamental and Applied Biohydrometallurgy*. Lawrence, R.W.; Branion, R.M.R.; Ebner, H.G. Eds.; Elsevier: Amsterdam, 291-304
- Brooks, C.S. (1991):** *Metal recovery from industrial waste*. Lewis: Chelsea
- Bunke, G.; Götz, P.; Buchholz, R. (1999):** Metal Removal by Biomass: Physico-Chemical Elimination Methods. In *Biotechnology*: Rehm, H.-J.; Reed, G.; in coop. with Pühler, A.;

- Stadler, P. Eds.; *Volume 11a, Environmental (1) Processes I*; Winter, J., Ed.; Wiley-VCH: Weinheim, 431-452
- Burdin, K.S.; Bird K.T. (1994):** Heavy metal accumulation by carrageenan and agar producing algae. *Bot. Mar.* 37: 467-470
- Cabral, J.P.S. (1992):** Selective binding of metal ions to *Pseudomonas syringae* cells. *Microbios* 71: 47-53
- Cataldi, T.R.I.; Campa, C.; de Benedetto, G.E. (2000):** Carbohydrate analysis by high-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection: The potential is still growing. *Fresenius J. Anal. Chem.* 368: 739-758
- Chiovitti, A.; Bacic, A.; Craik, D.J.; Munro, S.L.A.; Kraft, G.T.; Liao M.L. (1997):** Cell-wall polysaccharides from Australian red algae of the family Solieriaceae (Gigartinales, Rhodophyta): Novel, highly pyruvated carrageenans from the genus *Callophycus*. *Carbohydr. Res.* 299: 229-243
- Churms, S.C. (1991):** Handbook of Chromatographie. Vol. 2. CRC Press, Boca Raton, FL
- Coimbra, M.A.; Barros, A.; Rutledge, D.N.; Delgadillo, I. (1999):** FTIR spectroscopy as a tool for the analysis of olive pulp cell-wall polysaccharide extracts. *Carbohydr. Res.* 317: 145-154
- Cotoras, D.; Viedma, P.; Pimentel, J. (1993):** Biosorption of metal ions by attached bacterial cells in a packed-bed bioreactor. In *Biohydrometallurgical Technologies*. Torma, A.E.; Apel, M.L.; Brierley, C.L. Eds.; Vol. 2, The Minerals, Metals & Materials Society, Warrendale, PA, 103-110
- Crist, R.H.; Martin, J.R.; Crist, D.R. (1999):** Interaction of metal ions with acid sites of biosorbents peat moss and *Vaucheria* and model substances alginic and humic acids. *Environ. Sci. Technol.* 33: 2252-2256
- Crist, R.H.; Martin, J.R.; Guptill, P.W.; Eslinger, J.M.; Crist, D.R. (1990):** Interactions of metals and protons with algae. 2. Ion exchange in adsorption and metal displacement by protons. *Environ. Sci. Technol.* 24: 337-342
- Crist, R.H.; Oberholser, K.; McGarrity, J.; Crist, D.R.; Johnson, J.K.; Brittsan, J.M. (1994):** Interactions of metals and protons with algae. 4. Ion exchange vs. adsorption models and a reassessment of scatchard plots; Ion-exchange rates and equilibria compared with calcium alginate. *Environ. Sci. Technol.* 28: 496-502
- Crist, R.H.; Oberholser, K.; McGarrity, J.; Crist, D.R.; Johnson, J.K.; Brittsan, J.M. (1992):** Interactions of metals and protons with algae. 3. Marine algae, with emphasis on lead and aluminium. *Environ. Sci. Technol.* 26: 496-502
- Crist, R.H.; Oberholser, K.; Schwartz, D.; Marzoff, J.; Ryder, D.; Crist, D.R. (1988):** Interactions of metals and protons with algae. *Environ. Sci. Technol.* 22: 755-760
- Daul, G.C.; Reid, J.D.; Reinhardt, R.M. (1954):** Cation exchange materials from cotton and polyvinyl phosphate. *Ind. Eng. Chem.* 46: 1042-1045
- Dekant, W.; Vamvakas, S. (1994):** *Toxikologie für Chemiker und Biologen*. Spektrum, Akad. Verl.: Berlin
- Dembitzky, V.M.; Rozentsvet, O.A.; Pechenkina, E.E. (1990):** Glycolipids, Phospholipids and fatty acids of brown algae species. *Phytochemistry* 29 (11): 3417-3421
- Dietrich, C.P.; Farias, G.G.M.; Deabreu, L.R.D.; Leite, E.L.; Dasilva, L.F.; Nader, H.B. (1995):** A new approach for the characterization of polysaccharides from algae: Presence

- of four main acidic polysaccharides in three species of the class Phaeophyceae. *Plant Science* 108 (2): 143-153
- Dilly, P. (Bearb.) (1992):** *Trinkwasserverordnung. Leitfaden zur Verordnung über Trinkwasser und über Wasser für Lebensmittelbetriebe vom 5. Dezember 1990* (BGBL. I S. 2612). Wiss. Verl. Ges.: Stuttgart
- DIN 38406-11 (1991):** Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung. Kationen (Gruppe E). Bestimmung von Nickel mittels Atomabsorptionsspektrometrie (AAS) (E11).
- DIN 38406-6 (1998):** Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung. Kationen (Gruppe E). Bestimmung von Blei mittels Atomabsorptionsspektrometrie (AAS) (E6).
- DIN 38406-7 (1991):** Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung. Kationen (Gruppe E). Bestimmung von Kupfer mittels Atomabsorptionsspektrometrie (AAS) (E7).
- DIN 38406-8 (1980):** Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung. Kationen (Gruppe E). Bestimmung von Zink (E8).
- DIN 66131 (1993):** Bestimmung der spezifischen Oberfläche von Feststoffen durch Gasadsorption nach Brunauer, Emmett und Teller (BET)
- DIN EN ISO 5961 (1995):** Wasserbeschaffenheit. Bestimmung von Cadmium durch Atomabsorptionsspektrometrie.
- Donmez, G.C.; Aksu, Z.; Ozturk, A.; Kutsal, T. (1999):** A comparative study on heavy metal biosorption characteristics of some algae. *Proc. Biochem.* 34: 885-892
- Dorfner, K. (Ed.) (1991):** *Ion Exchangers*. de Gruyter: Berlin, New York
- Drake, L.R.; Lin, S.; Rayson, G.D. (1996):** Chemical Modification and Metal Binding Studies of *Datura innoxia*. *Environ. Sci. Technol.* 30: 110-114
- Ewers, U.; Schlipköter, H.W. (1991):** Lead. In *Metals and Their Compounds in the Environment*; Merian, E. Ed.; VCH: Weinheim, 970-1014
- Falshaw, R.; Furneaux, R.H. (1994):** Carrageenan from the Tetrasporic Stage of *Gigartina Decipiens* (Gigartinaceae, Rhodophyta). *Carbohydr. Res.* 252: 171-182
- Falshaw, R.; Furneaux, R.H. (1998):** Structural analysis of carrageenans from the tetrasporic stages of red algae, *Gigartina lanceata* and *Gigartina chapmanii*. *Carbohydr. Res.* 307: 325-331
- Fehrmann, C. (1993):** Cadmium – Adsorption an Mikroalgen. Dissertation, Universität Kiel
- Fehrmann, C.; Blaschek, W.; Pohl, P. (1993):** Algen gegen Schwermetalle: ein Beitrag zum Umweltschutz. *Pharmazeutische Zeitung* 138: 2073-2079
- Fehrmann, C.; Pohl, P. (1993):** Cadmium adsorption by the non-living biomass of microalgae grown in axenic mass culture. *J. Appl. Phycol.* 5: 555-562
- Figueira, M.M.; Volesky, B.; Mathieu, H.J. (1999):** Instrumental Analysis Study of Iron Species Biosorption by Sargassum Biomass. *Environ. Sci. Technol.* 33: 1840-1846
- Förstner, U.; Salomons, W. (1991):** Mobilization of metals from sediments. In *Metals and Their Compounds in the Environment*; Merian, E. Ed.; VCH: Weinheim, 379-398
- Fourest, E.; Roux, J.C. (1992):** Heavy metal biosorption by fungal mycelial by-products: mechanism and influence of pH. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 37: 399-403

- Fourest, E.; Volesky, B. (1996):** Contribution of sulfonate groups and alginate to heavy metal biosorption by the dry biomass of *Sargassum fluitans*. *Environ. Sci. Technol.* 30: 277-282
- Gardea-Torresday, J.L.; Becker-Hapak, M.K.; Hosea, J.M.; Darnall, D.W. (1990):** Effect of chemical modification of algal group on metal ion binding. *Environ. Sci. Technol.* 24: 1372-1378
- Garnham, G.W. (1997):** The use of algae as metal biosorbents. In *Biosorbents for metal ions*. Wase, J.; Forster, C. Eds.; Taylor & Francis: London, 11-39
- Gauer, J. (1996):** Synthese kationenaktiver Derivate auf Holzbasis und Untersuchungen über ihren Einsatz zur Entfernung von Schwermetallen aus wässrigen Lösungen. Dissertation, Universität Saarbrücken
- Geisweid, H.J.; Urbach, W. (1982):** Sorption of Cadmium by the Green Microalgae *Chlorella vulgaris*, *Ankistrodesmus braunii* and *Eremosphaera viridis*. *Z. Pflanzenphysiol.* 109: 127-141
- Geresh, S.; Lupescu, N.; Arad, S.M. (1992):** Fractionation and Partial Characterization of the Sulphated Polysaccharide of Porphyridium. *Phytochem.* 31: 4181-4186
- Graham, L.E.; Wilcox, L.W. (2000):** *Algae*. Prentice-Hall: Upper Saddle River, New Jersey
- Greene, B.; Darnall, D.W. (1990):** Microbial oxygenic photoautotrophs (cyanobacteria and algae) for metal-ion binding. In *Microbial Mineral Recovery*. Ehrlich, H.L.; Brierley, C.L. Eds.; McGraw-Hill Publishing: New York, 277-302
- Greene, B.; McPherson, R.; Darnall, D. (1987):** Algal sorbents for selective metal ion recovery. In *Metals Speciation, Separation and Recovery*. Patterson, J.W.; Passino, R. Eds.; Lewis Publisher: Chelsea, 315-338
- Günzler, H.; Heise, H.M. (1996):** IR-Spektroskopie: eine Einführung. VCH: Weinheim
- Hartmeier, W. (1986):** Immobilisierte Biokatalysatoren. Springer: Berlin, Heidelberg, New York
- Henschler, D. (Hrsg.) (2000):** *Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe. Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten*. 31. Lieferung. VCH: Weinheim
- Hoek, C. van den; Jahns, H.M.; Mann, D.G. (1995):** *Algae*. University Press: Cambridge
- Holan, Z.R.; Volesky, B. (1994):** Biosorption of lead and nickel by biomass of marine algae. *Biotechnol. Bioeng.* 43: 1001-1009
- Holan, Z.R.; Volesky, B. (1995):** Accumulation of cadmium, lead, and nickel by fungal and wood biosorbents. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 53 (2): 133-146
- Holan, Z.R.; Volesky, B.; Prasetyo, I. (1993):** Biosorption of cadmium by biomass of marine algae. *Biotechnol. Bioeng.* 41: 819-825
- Holleman, A.F.; Wiberg, N. (1995):** *Lehrbuch der anorganischen Chemie*. de Gruyter: Berlin, New York
- Honya, M.; Mori, H.; Anzai, M.; Araki, Y.; Nisizawa, K. (1999):** Monthly changes in the content of fucans, their constituent sugars and sulphate in cultured *Laminaria japonica*. *Hydrobiologia* 399: 411-416
- Inthorn, D.; Nagase, H.; Isaji, Y.; Hirata, K.; Miyamoto, K. (1996):** Removal of cadmium from aqueous solution by the filamentous cyanobacterium *Tolypothrix tenuis*. *J. Ferment. Bioeng.* 82: 580-584

- ISO 5667-3 (1994):** Water quality. Sampling: Part 3. Guidance the preservation and handling of samples.
- Itoh, H.; Noda, H.; Amano, H.; Zhuaug, C.; Mizuno, T. (1993):** Antitumor Activity and Immunological Properties of Marine Algal Polysaccharides, especially Fucoidan, prepared from *Sargassum thunbergii* of Phaeophyceae. *Anticancer Research* 13 (6): 2045-2052
- Jennings, W. (1987):** Analytical gas chromatography. Academic Press: Orlando, FL
- Kamnev, A.A.; Ristic, M.; Antonyuk, L.P.; Chernyshev, A.V.; Ignatov, V.V. (1997):** Fourier transform infrared spectroscopic study of intact cells of the nitrogen-fixing bacterium *Azospirillum brasilense*. *J. Mol. Struct.* 408: 201-205
- Kapoor, A.; Viraraghavan, T.; Cullimore, D.R. (1999):** Removal of heavy metals using the fungus *Aspergillus niger*. *Bioresour. Technol.* 70: 95-104
- Kapraun, D.F. (1999):** Red algal polysaccharide industry: economics and research status at the turn of the century. *Hydrobiologia* 399: 7-14
- Kiefer, E.; Sigg, L.; Schosseler, P. (1997):** Chemical and spectroscopic characterization of algae surfaces. *Environ. Sci. Technol.* 31: 759-764
- Kloreg, B.; Quatrano, R.S. (1988):** Structure of the cell walls of marine algae and eco-physiological functions of the matrix polysaccharides. *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev.* 26: 259-315
- Kohl, J.-G.; Nicklisch, A. (1988):** *Ökophysiologie der Algen*. Akademie: Berlin
- Kolb, B. (1995):** Quantitative Trace Analysis of Volatile Organic Compounds in Air, Water, and Soil Using Equilibrium Headspace Gas Chromatography. *LC-GC Int.* 8: 512-524
- Kraemer, M.; Meisch, H.U. (1999):** New metal-binding ethyldiamino- and dicarboxy-products from *Aspergillus niger* industrial wastes. *Biometals* 12: 241-246
- Krämer, M. (1998):** Synthese kationenaktiver Derivate auf der Basis von Abfallmycel des Schimmelpilzes *Aspergillus niger* und Untersuchungen über ihre Fähigkeit zur Entfernung von Schwermetallen aus wäßrigen Lösungen. Dissertation, Universität Saarbrücken
- Krämer, M.; Pieschel, F.; Unger, E. (2000):** Carbion® - ein neuer hochleistungsfähiger Ionenaustauscher zur wirtschaftlichen Schwermetallentfernung aus Abwasser - auch für geringe Restkonzentrationen und komplizierte Inhaltsstoffe. In Schriftenreihe Biologische Abwasserreinigung, Band 14: Behandlung von Abwässern mit schwermetallhaltigen Verbindungen, TU-Berlin, 99-105
- Kümmel, R.; Worch, E. (1990):** Adsorption aus wässrigen Lösungen. Dt. Verl. für Grundstoffindustrie: Leipzig
- Lahmann, E.; Jander, K. (Hrsg.) (1987):** *Schwermetalle in der Umwelt*. Fischer: Stuttgart
- Larew, L.A.; Johnson, D.C. (1989):** Concentration dependence of the mechanism of glucose oxidation at gold electrodes in alkaline media. *J. Electroanal. Chem.* 262: 167-182
- Lau, P.S.; Lee, H.Y.; Tsang, C.C.K.; Tam, N.F.Y., Wong, Y.S. (1999):** Effect of metal interference, pH and temperature on Cu and Ni biosorption by *Chlorella vulgaris* and *Chlorella miniata*. *Environ. Technol.* 20: 953-961
- Lee, Y.C. (1990):** High performance anion-exchange chromatography for carbohydrate analysis. *Anal. Biochem.* 189: 151-162

- Leusch, A.; Holan, Z.R.; Volesky, B. (1995):** Biosorption of heavy metals (Cd, Cu, Ni, Pb, Zn) by chemically reinforced biomass of marine algae. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 62: 2279-2288
- Leusch, A.; Holan, Z.R.; Volesky, B. (1996):** Solution and particle effects on the biosorption of heavy metals by seaweed biomass. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 61: 231-249
- Liao, M.L.; Chiovitti, A.; Munro, S.L.A.; Craik, D.J.; Kraft, G.T.; Bacic, A. (1996):** Sulfated galactans from Australian specimens of the red alga *Phacelocarpus peperocarpus* (Gigartinales, Rhodophyta). *Carbohydr. Res.* 296: 237-247
- Lin, S.; Rayson, G.D. (1998):** Impact of surface modification on binding affinity distributions of *Datura innoxia* biomass to metal ions. *Environ. Sci. Technol.* 32: 1488-1493
- Lühr, H. P. (1994):** *Einleitewerte für kontaminierte Wässer.* IWS-Schriftenreihe Bd. 14. Schmidt: Berlin
- Macholz, R.; Lewerenz, H.-J. (Hrsg.) (1989):** *Lebensmitteltoxikologie.* Springer: Berlin
- Manning, D.C.; Slavin, W. (1978):** Determination of lead in a chloride matrix with the graphite furnace. *Anal. Chem.* 50: 1234-1238
- Marshall, W.E.; Wartelle, L.H.; Boler, D.E.; Johns, M.M.; Toles, C.A. (1999):** Enhanced metal adsorption by soybean hulls modified with citric acid. *Bioresour. Technol.* 69: 263-268
- Martens, D.A.; Frankenberger, T. (1991):** Determination of saccharides in biological materials by high-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection. *J. Chromatogr.* 546: 297-309
- Matheickal, J.T.; Yu, Q.M. (1996):** Biosorption of lead from aqueous solutions by marine algae *Ecklonia radiata*. *Wat. Sci. Tech.* 34: 1-7
- Matheickal, J.T.; Yu, Q.M. (1999):** Biosorption of lead(II) and copper(II) from aqueous solutions by pre-treated biomass of Australian marine algae. *Bioresour. Technol.* 69 (3): 223-229
- Matheickal, J.T.; Yu, Q.; Woodburn, G.M. (1999):** Biosorption of cadmium(II) from aqueous solutions by pre-treated biomass of marine alga *Durvillaea potatorum*. *Wat. Res.* 33: 335-342
- Matsunaga, T.; Takeyama, H.; Nakao, T.; Yamazawa, A. (1999):** Screening of marine microalgae for bioremediation of cadmium-polluted seawater. *J. Biotechnol.* 70: 33-38
- Mattuschka, B.; Junghans, K.; Straube, G. (1993):** Biosorption of metals by waste biomass. In *Biohydrometallurgical Technologies.* Torma, A.E.; Apel, M.L.; Brierley, C.L. Eds.; Vol. 2, The Minerals, Metals & Materials Society: Warrendale, PA, 125-132
- Meisch, H.-U.; Gauer, J. (1998):** Schwermetalle binden mit Holz und Chitin. *Nachr. Chem. Tech. Lab.* 46: 948-951
- Meyer, V.R. (1992):** Praxis der Hochleistungs-Flüssigchromatographie. Salle: Frankfurt a.M.
- Miller, I.J.; Falshaw, R.; Furneaux, R.H. (1995):** Structural analysis of the polysaccharide from *Pachymenia lusoria* (Cryptonemiaceae, Rhodophyta). *Carbohydr. Res.* 268: 219-232
- Mol, H. G. J.; Janssen, H.-G.; Cramers, C. A.; Vreuls, J. J.; Brinkman, U. A. Th. (1995):** Trace level analysis of micropollutants in aqueous samples using gas chromatography with on-line sample enrichment and large volume injection. *J. Chromatogr. A* 703: 277-307.

- Nakajima, A.; Horikoshi, T.; Sakaguchi, T. (1981):** Studies on the accumulation of heavy metal elements in biological systems. XVII. Selective accumulation of heavy metal ions by *Chlorella regularis*. *European J. Appl. Microbiol. Biotechnol.* 12: 76-83
- Naumer, H.; Heller, W. Hrsg. (1997):** Untersuchungsmethoden in der Chemie. Thieme: Stuttgart
- Nicolaus, B.; Panico, A.; Lama, L.; Romano, I.; Manca, M.C.; DeGiulio, A.; Gambacorta, A. (1999):** Chemical composition and production of exopolysaccharides from representative members of heterocystous and non-heterocystous cyanobacteria. *Phytochemistry* 52 (4): 639-647
- Nishida, E.; Anzai, H.; Uchida, N.; Nisizawa, K. (1990):** Sugar constituents of fucose-containing polysaccharides from various Japanese brown algae. *Hydrobiologia* 204/205: 573-576
- Ohnesorge, F.K.; Wilhelm, M. (1991):** Zinc. In *Metals and Their Compounds in the Environment*; Merian, E. Ed.; VCH: Weinheim, 1309-1342
- Pagnanelli, F.; Petrangeli Papini, M.; Toro, L.; Trifoni, M.; Veglio, F. (2000):** Biosorption of Metal Ions on *Arthrobacter sp.*: Biomass Characterization and Biosorption Modeling. *Environ. Sci. Technol.* 34: 2773-2778
- Patterson, G.M.L.; Larsen, L.K.; Moore, R.E. (1994):** Bioactive natural products from blue-green algae. *J. Appl. Phycol.* 6: 151-157
- Paulsen, B.S.; Aslaksen, T.; FreireNordi, C.S.; Vieira, A.A.H. (1998):** Extracellular polysaccharides from *Ankistrodesmus densus* (Chlorophyceae). *J. Phycol.* 34 (4): 638-641
- Pearson, R.G. (1963):** Hard and Soft Acids and Bases. *J. Am. Chem. Soc.* 85: 3533-3539
- Puranik, P.R.; Paknikar, K.M. (1999):** Influence of co-cations on biosorption of lead and zinc - a comparative evaluation in binary and multimetal systems. *Bioresour. Technol.* 70: 269-276
- Püschel, R.; Wittmann, H. (1960):** Maßanalytische Schnellmikromethode zur Bestimmung von Phosphor in organischen Substanzen. *Mikrochim. Acta* 352: 670-674
- Ray, B.; Lahaye, M. (1995a):** Cell-wall polysaccharides from the marine green alga *Ulva "rigida"* (Ulvales, Chlorophyta). Extraction and chemical composition. *Carbohydr. Res.* 274: 251-261
- Ray, B.; Lahaye, M. (1995b):** Cell-wall polysaccharides from the marine green alga *Ulva "rigida"* (Ulvales, Chlorophyta). Chemical structure of ulvan. *Carbohydr. Res.* 274: 313-318
- Ray, B.; Lahaye, M. (1996):** Cell-wall polysaccharides from the marine green alga *Ulva "rigida"* (Ulvales, Chlorophyta) - NMR analysis of ulvan oligosaccharides. *Carbohydr. Res.* 283: 161-173
- Reimer, L. (1998):** Scanning electron microscopy: physics of image formation and microanalysis. Springer: Berlin
- Röhricht, M. (1993):** Mikrobielle Verfahren zur Entfernung von Schwermetallen aus wässrigen Lösungen im Vergleich zu Ionenaustauschern. Fortschritt-Berichte / VDI: Reihe 15, Umwelttechnik, 101; VDI: Düsseldorf
- Romero-Gonzalez, M.E.; Williams, C.J.; Gardiner P.H.E. (2001):** Study of the mechanisms of cadmium biosorption by dealginated seaweed waste. *Environ. Sci. Technol.* 35: 3025-3030

- Romero-Gonzalez, M.E.; Williams, C.J.; Gardiner, P.H.E. (2001):** Study of the mechanisms of cadmium biosorption by dealginated seaweed waste. *Environ. Sci. Technol* 35: 3025-3030
- Römpp, H. (1992):** *Römpp-Chemie-Lexikon*. Falbe, J.; Regitz, M. (Hrsg.); Thieme: Stuttgart, New York
- Sag, Y.; Kaya, A.; Kutsal, T. (2000):** Biosorption of lead(II), nickel(II), and copper(II) on *Rhizopus arrhizus* from binary and ternary metal mixtures. *Sep. Sci. Technol.* 35: 2601-2617
- Sandau, E.; Sandau, P.; Pulz, O.; Zimmermann, M. (1996):** Heavy metal sorption by microalgae. *Acta Biotechnol.* 16: 227-235
- Santos, G.M.; Lagrota, M.H.C.; Miranda, M.M.F.S.; Valentin, Y.; Wigg, M.D. (1999):** A screening for the antiviral effect of extracts from Brazilian marine algae against acyclovir resistant herpes simplex virus type 1. *Bot. Mar.* 42 (3): 227-230
- Scheinberg, H. (1991):** Copper. In *Metals and Their Compounds in the Environment*; Merian, E. Ed.; VCH: Weinheim, 893-906
- Schlemmer, G.; Radziuk, B. (1999):** Analytical graphite furnace atomic absorption spectrometry: a laboratory guide. Birkhäuser: Berlin, Boston, Basel
- Schlösser, U.G. (1994):** SAG – Catalogue of Strains at the University of Göttingen. *Bot. Acta* 107: 113-186
- Schneider, I.A.H.; Rubio, J. (1999):** Sorption of Heavy Metal Ions by the Nonliving Biomass of Freshwater Macrophytes. *Environ. Sci. Technol.* 33: 2213-22217
- Schomburg, G. (1987):** Gaschromatographie. Grundlagen, Praxis, Kapillartechnik. VCH: Weinheim
- Schwarzenbach, R. P.; Gschwend, P. M.; Imboden, D. M. (1993):** Environmental Organic Chemistry. Wiley: New York.
- Seferlis, M.; Haritonidis, S. (1995):** Accumulation of Zn, Pb, Cd, Cu, Fe under different salinities and heavy metal burden in the green alga *Ulva rigida*. *Fresenius Environ. Bull.* 4: 309-314
- Sene, C.F.B.; McCann, M.C.; Wilson, R.H.; Grinter R. (1994):** Fourier-transform Raman and Fourier-transform infrared spectroscopy - An investigation of five higher plant cell walls and their components. *Plant Physiol.* 106: 1623-1631
- Shekuro, J.M.; Skogerboe, R.K. (1988):** Mechanistic characterization of chloride interferences in electrothermal atomization systems. *Anal. Chem.* 60: 2578-2582
- Singh, S.; Pradhan, S.; Rai, L. C. (2000):** Metal removal from single and multimetallic systems by different biosorbent materials as evaluated by differential pulse anodic stripping voltammetry. *Proc. Biochem.* 36: 175-182
- Slavin, W.; Manning, D.C.; Carnick, G.R. (1981):** Effect of graphite furnace substrate materials on analyses by furnace atomic absorption spectrometry. *Anal. Chem.* 53: 1504-1509
- Stevenson, T.T.; Furneaux, R.H. (1991):** Chemical methods for the analysis of sulphated galactans from red algae. *Carbohydr. Res.* 210: 277-298
- Stoeppler, M. (1991):** Cadmium. In *Metals and Their Compounds in the Environment*. Merian, E. Ed.; VCH: Weinheim, 803-851

- Stumm, I. (1994):** Polydextrose - Untersuchungen und Bestimmung in Lebensmitteln und zur Zusammensetzung. Dissertation, Technische Universität Berlin
- Suh, J.H.; Yun, J.W.; Kim, D.S.; Song, S.K. (1999):** A comparative study on Pb²⁺ accumulation between *Saccharomyces cerevisiae* and *Aureobasidium pullulans* by SEM (Scanning electron microscopy) and EDX (Energy dispersive X-ray) analyses. *J. Biosci. Bioeng.* 87: 112-115
- Sunderman, F.W.; Oskarsson, A. (1991):** Nickel. In *Metals and Their Compounds in the Environment*. Merian, E. Ed.; VCH: Weinheim, 1101-1126
- Tobin, J.M.; Cooper, D.G.; Neufeld, R.J. (1984):** Uptake of metal ions by *Rhizopus arrhizus* biomass. *Appl. Environ. Microbiol.* 47: 821-824
- Tsezos, M.; Remoudaki, E.; Angelatou, V. (1997):** Biosorption sites of selected metals using electron microscopy. *Comp. Biochem. Physiol. A* 118: 481-487
- Usov, A.I.; Klochkova, N.G. (1994):** Brown Algae from Kamchatka as a Source of Mannitol. *Bioorganicheskaya Khimiya* 20 (11): 1234-1241
- Veglio, F.; Beolchini, F. (1997):** Removal of metals by biosorption: a review. *Hydrometallurgy* 44: 301-316
- Veglio, F.; Beolchini, F.; Gasbarre, A. (1997):** Biosorption of toxic metals: an equilibrium study using free cells of *Arthrobacter sp.* *Process Biochem.* 32 (2): 99-105
- Volesky, B. (1992):** Removal of heavy metals by biosorption. In *Biotechnology for the 21st Century*. Ladisch, M.R.; Hamessing, A.B. Eds.; American Chemical Society, Washington, D.C.
- Volesky, B. (1994):** Advances in biosorption of metals: Selection of biomass types. *FEMS Microbiol. Rev.*, 14: 291-302
- Volesky, B. Ed. (1990):** Biosorption of Heavy Metals. CRC Press, Boca Raton, FL
- Volesky, B.; Holan, Z.R. (1995):** Biosorption of heavy metals. *Biotechnol. Prog.* 11: 235-250
- Wase, J., Forster, C. Eds. (1997):** Biosorbents for metal ions. Taylor & Francis: London
- Weitzhandler, M.; Slingsby, R.W.; Jagodzinski, J.; Pohl, C.A.; Narayanan, L.; Avdalovic, N. (1996):** Eliminating monosaccharide peak tailing in high pH anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection. *Anal. Biochem.* 241: 135-136
- Welz, B.; Sperling, M. (1997):** Atomabsorptionsspektrometrie. Wiley-VCH: Weinheim
- White, W.L.Z.; Bremner, G.; Hurd, C.L. (1999):** The status of commercial algal utilization in New Zealand. *Hydrobiologia* 399: 487-494
- Wilde, E.W.; Beneman, J.R. (1993):** Bioremoval of heavy metals by the use of microalgae. *Biotechnol. Adv.* 11: 781-812
- Wilke, A. (2001):** Entwicklung und Optimierung eines Immobilisierungssystems zur biosorptiven Schwermetallentfernung unter Verwendung von Algenbiomasse. Dissertation, Fakultät III - Prozesswissenschaften, TU Berlin, D 83.
- Wilmoth, R.C.; Hubbard, S.J.; Burckle J.O.; Martin, J.F. (1991):** Production and processing of metals: Their disposal and future risks. In *Metals and Their Compounds in the Environment*. Merian, E. Ed.; VCH: Weinheim, 19-65

- Winter, C.; Winter, M.; Pohl, P. (1994):** Cadmium adsorption by non-living biomass of the semi-macroscopic brown alga, *Ectocarpus siliculosus*, grown in axenic mass culture and localisation of the adsorbed Cd by transmission electron microscopy. *J. Appl. Phycol.* 6: 479-487
- Winter, C.; Winter, M.; Pohl, P. (1994):** Cadmium adsorption by non-living biomass of the semi-macroscopic brown alga, *Ectocarpus siliculosus*, grown in axenic mass culture and localisation of the adsorbed Cd by transmission electron microscopy. *J. Appl. Phycol.* 6: 479-487
- Wong, J.P.K.; Wong, Y.S.; Tam, N.F.Y. (2000):** Nickel biosorption by two chlorella species, *C-Vulgaris* (a commercial species) and *C-Miniata* (a local isolate). *Bioresour. Technol.* 73: 133-137
- Wong, Y.S.; Tam, N.F.Y. Eds. (1998):** Wastewater Treatment with Algae. Springer: Berlin
- Wunschel, D.S.; Fox, K.F.; Fox, A.; Nagpal, M.L.; Kim, K.; Stewart, G.C.; Shahgholi, M. (1997):** Quantitative analysis of neutral and acidic sugars in whole bacterial cell hydrolysates using high-performance anion-exchange liquid chromatography - electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* 776: 205-219
- Xie, J.Z.; Chang, H.-L.; Kilbane II, J.J. (1996):** Removal and recovery of metal ions from wastewater using biosorbents and chemically modified biosorbents. *Bioresour. Technol.* 57: 127-136
- Yalpani, M. (1992):** Syntheses of some sulfur- and phosphorus containing carbohydrate polymer derivatives. *Carbohydr. Polym.* 19: 35-39
- Yu, Q.; Kaewsarn P.; Van Duong, L. (2000):** Electron microscopy study of biosorbents from marine macro alga *Durvillaea potatorum*. *CHEMOSPHERE* 41: 589-594
- Yu, Q.M.; Kaewsarn, P (1999):** Binary adsorption of copper(II) and cadmium(II) from aqueous solutions by biomass of marine alga *Durvillaea potatorum*. *Sep. Sci. Technol.* 34: 1595-1605
- Yu, Q.M.; Matheickal, J.T.; Yin, P.H.; Kaewsarn, P. (1999):** Heavy metal uptake capacities of common marine macro algal biomass. *Wat. Res.* 33 (6): 1534-1537

Anhang**A Metallanalytik**

Tab. A-1: Geräteparameter der GF-AAS

	Spezifikation
GF-AAS	AAS4 mit Graphitrohrofen EA4 und Mikropipettiereinheit (MPE) - Analytik Jena, Jena
Strahlungsquellen	Hohlkathodenlampen (HKL) für Cd, Cu, Ni, Pb und Zn - Analytik Jena, Jena
Untergrundkorrektur	Deuteriumlampe (D ₂ -Lampe)
Strahlungsmodus	Einstrahlbetrieb (abwechselnd HKL und D ₂ -Lampe) Messung der spezifischen Absorption
Graphitrohre	pyrolytisch beschichtet - Analytik Jena, Jena
Schutzgas	Argon
Datenaufnahme	PC – AAS 4, Ver. 1.11
Peakauswertung	Flächenintegration
V - Probe bzw. Standard im Graphitrohr	25 µl
Probengefäße	PP, Analytik Jena, Jena

Tab. A-2: Parameter des optischen Systems des GF-AAS

Element	Arbeitsbereich	Wellenlänge (nm)	Spaltbreite (mm)	Lampenstrom (mA)
Cd	ppb	228,8	0,2	5,5
	ppm	326,1	0,2	3,5
Cu	ppb	324,8	0,4	4,5
	ppm	222,6	0,4	6,5
Ni	ppb	232,0	0,15	5
	ppm	303,8	0,15	8
Pb	ppb	283,3	0,2	5
	ppm	261,4	0,2	5
Zn	ppb	213,9	0,35	5,5
Zn	ppm	307,6	0,35	6

Tab. A-3: Temperaturprogramme für die Metalle

	Schritt ^a	T _{End} ^b (°C)	v _T ^c (°C / s)	t ^d (s)	v _{Gas} ^e (L / min)
Cd	Trocknung	120	6	35	2,2
	Vorbehandlung	250	50	10	2,2
	Atomisierung	1200	1500	3	0
	Reinigung	200	1500	4	2,2
Cu	Trocknung	120	6	35	2,2
	Vorbehandlung	1030	250	7	2,2
	Atomisierung	2200	1500	4	0
	Reinigung	2700	1500	5	2,2
Ni	Trocknung	120	6	35	2,2
	Vorbehandlung	1000	220	6	2,2
	Atomisierung	2500	1500	4	0
	Reinigung	2900	1500	4	2,2
Pb	Trocknung	120	6	35	2,2
	Vorbehandlung	500	100	6	2,2
	Atomisierung	1500	1500	3	0
	Reinigung	2000	1500	3	2,2
Zn	Trocknung	120	6	35	2,2
	Vorbehandlung	500	73	6	2,2
	Atomisierung	2000	1500	2	0
	Reinigung	2500	1500	4	2,2

^a Nullabgleich: 3 s vor Beginn der Messung; Messbeginn (s): Cd - 0,3; Cu - 0,6; Ni - 0,1; Pb - 0,5; Zn - 0,8 vor Beginn der Atomisierung

^b Endtemperatur ; ^c Erhitzungsgeschwindigkeit; ^d Haltezeit; ^e Gasfluss

Tab. A-4: Parameter des Mikrowellenaufschlusssystem

	Spezifikation
Mikrowellenofen	MLS 1200 Mega – MLS GmbH, Leutkirch Drucksensor APC-35/80
Rotor	Segmentrotor HPR-1000/10
Probengefäße	HPS 100/110 Behältern (max. 100 bar) mit 35 ml PFA-C Einsätze

Tab. A-5: Aufschlussprogramm der Algenbiomasse

Schritt	t (min)	P ^a (W)	p _{max} ^b (bar)
1	2	250	20
2	1	0	20
3	5	400	20
4	10	600	20
5 ^c	4	500	20

^a Mikrowellenleistung; ^b maximal erlaubter Druck im Aufschlussbehälter (Kontrolle durch Drucksensor)

^c nach Schritt 5 folgt eine 15 min Abkühlungsphase

Tab. A-6: Geräteparameter des Flammenphotometers

	Spezifikation
Flammenphotometer	M6D; Dr. Lange GmbH, Düsseldorf
Interferenzfilter	Calzium

Tab. A-7: Chemikalien und Materialien – Anhang A

Produkt	Spezifikation, Hersteller
Standardlösungen:	
Blei	1 g/l, in 0,5 M HNO ₃ ;
Cadmium	Merck Eurolab, Darmstadt
Calcium	
Kupfer	
Natrium	
Nickel	
Zink	
Salpetersäure	65%, suprapur; Merck Eurolab, Darmstadt
Argon 5.0	99,999 %; Messer, Berlin
Maßkolben	PP; Roth, Karlsruhe
Wasserstoffperoxid	30%, zur Analyse; Merck Eurolab, Darmstadt
Wasser	millipore; TU Berlin

B Biosorptionsuntersuchungen

Tab. B-1: Chemikalien, Materialien und Geräte – Anhang B

Produkt	Spezifikation, Hersteller
<u>Chemikalien</u>	
<u>Metalle:</u>	
Cadmiumchlorid	zur Analyse; Sigma-Aldrich, Deisendorf
Bleinitrat	zur Analyse; Merck Eurolab, Darmstadt
Kupfer(II)chlorid-2-hydrat	
Nickelchlorid-6-hydrat	
Zinkchlorid	
<u>sonstige:</u>	
Calciumchlorid	zur Analyse; Merck Eurolab, Darmstadt
Kaliumchlorid	
Natriumchlorid	
Salzsäure	30 %, suprapur; Merck Eurolab, Darmstadt
Natriumhydroxid	zur Analyse; Merck Eurolab, Darmstadt
Wasser	millipore; TU Berlin
<u>Materialien</u>	
Maßkolben	Polypropylen; Roth, Karlsruhe
pH-Indikatorstäbchen	Acilit (pH 0-6), Neutralit (pH 5-10); Merck Eurolab, Darmstadt
Siebe und Siebvorrichtung	Mikrosiebsatz; neolab, Heidelberg
Zentrifugenröhrchen	Polycarbonat, 10, 30, 80 mL, Nalge; Merck Eurolab, Darmstadt
<u>Geräte</u>	
Gefriertrocknung	Beta I; Crist, Osterode
Labormühle	A 10, Janke & Kunke, Staufen
Leitfähigkeitsmessgerät	Dist WP 3 (Hama Instruments), 1-2000 $\mu\text{s}/\text{cm}$; Roth, Karlsruhe
Mörser	Achat; Merck Eurolab, Darmstadt
pH Elektrode	Inlab 423 (Mettler); Merck Eurolab, Darmstadt
pH Meter	pH 91; WTW, Weilheim
Überkopfschüttler	Turbula; Bachofen, Basel
Laborzentrifuge	3K-1 (max. 6000 U/min); Sigma, Osterode
Ultrazentrifuge	CG-L5-50 (max. 50000 U/min), Festwinkelrotoren 30 u. 50Ti; Beckman-Coulter, Krefeld

Tab. B-2: Parameter der Küvettentests von der Dr. Lange GmbH

Parameter	Testkit	Arbeitsbereich (ppm)
TIC	LCK 380	15 - 150
TOC	LCK 380	60 - 735
Ammonium	LCK 304	0,02 – 2,5
Nitrat	LCK 339	1 – 60
Nitrit	LCK 341 342	0,05 – 2 2 – 20
Sulfat	LCK 353	150-1000

C Charakterisierung der Bindungsstellen

Tab. C-1: Chemikalien, Materialien und sonstige Geräte – Anhang C

Produkt	Spezifikation, Hersteller
Chemikalien	
<u>Alkohole:</u>	
Ethanol	zur Analyse; Merck Eurolab, Darmstadt
Methanol	
2-Propanol	
<u>Zuckerstandards:</u>	
Adonitol	min. 99 %; Sigma-Aldrich, Deisendorf
D(-)-Arabinose	min. 99 %;
L(-)-Fucose	min. 99 %
D(-)-Fructose	min. 99,95 %
D(+)-Galactose	min. 99 %
D-Galacturonsäure-1-hydrat	min. 98 %
D(+)-Glucose	min. 99,5 %
D-Glucuronsäure	100 %
α -Lactose-1-hydrat	100 %
Maltose-1-hydrat	min. 98 %
D(+)-Mannose	100 %
myo-Inositol	min. 99 %
L-Rhamnose-1-hydrat	min. 99 %
D(-)-Ribose	100 %
Saccharose	100 %
D(+)-Xylose	min. 99 %

Produkt	Spezifikation, Hersteller
<u>sonstige Chemikalien:</u>	zur Analyse; Merck Eurolab, Darmstadt
Aceton	zur Analyse
Dichlormethan	Uvasol (FT-IR Spektroskopie)
Kaliumbromid	zur Analyse
Kaliumdihydrogenphosphat	zur Analyse
Natriumchlorid	reinst
Natriumcitrat-2-hydrat	zur Analyse
di-Natriumhydrogenphosphat	suprapur
Natriumhydroxid	zur Synthese, min. 98 %
Salzsäure	zur Analyse; Mallinckrodt Baker, Griesheim
Trifluoressigsäure	5 M, CO ₃ ²⁻ frei
Natriumacetat	millipore; TU Berlin
Natriumhydroxidlösung	Messer, Berlin
Wasser	
Gase	
Materialien	
HS-Gefäße	5, 10 ml; CS-Chromatographie, Langerwehe
HS-Bördelkappe	R 20-L mit PTFE-beschichtetem Butylseptum
Gewindeflasche	G4 (4mL) mit Schraubkappe G13 und PTFE beschichteter Dichtscheibe
Einmalfilter	Polyamidmembran, Porenweite 0,2 µm; M&W Chromatographietechnik, Berlin
Glasperlen	Merck Eurolab, Darmstadt
Geräte	
Laborzentrifuge	3K-1 (max. 6000 U/min); Sigma, Osterode
Reagenzglasschüttler	VF-2; Janke & Kunke, Staufen

Tab. C-2: Geräteparameter der HS-GC-FID

	Spezifikation
GC	Carlo Erba 4130
Autosampler	Carlo Erba HS 250
Badtemperatur	80°C
Spritztemperatur	90°C
Trägergas	Helium 4.5, 4 ml/min
Säule	RTX-35 ; 30 m; ID. 0,25 mm; FD 3 µm
Injektion	2 ml Splitinjektion (Split 10:1), 180°C
Detektor	FID, 260°C
Brenngase	Wasserstoff, 18 ml/min; Luft, 300 ml/min
Make up-Gas	Stickstoff 4.6, 27 ml/min
Temperaturprogramm	50°C - 2 min; 10°C/min - 200°C - 5 min
Datenaufnahme	PC - Nelson Interface 2600
Datenauswertung	Nelson Chromatography Software 5.1

Tab. C-3: Geräteparameter der HPAEC-PAD

	Spezifikation
HPLC System	HP Serie 1050 Steuerung: ChemStation - LC Rev. A 05.01
Detektor	Gepulster amperimetrischer Detektor PAD II mit Goldelektrode (Dionex, Idstein)
Detektoreinstellung	E1 = 0,05 V, T1 = 420 ms; E2 = 0,75 V, T2 = 180 ms; E3 = -0,02 V, T3 = 360 ms; Range = 3 kA; Response time = 3s
Datenaufnahme	PC - Nelson Interface 2600
Datenauswertung	Nelson Chromatography Software 5.1
Säule	Carbopak PA1 (Dionex), 10 µm, 250 * 4 mm ID; Vorsäule Carbopak PA Guard 25 * 3 mm ID
Säulenofen	Jetstream 2; VDS Optilab, Montabaur
Säulentemperatur	30 °C

Spezifikation	
Injektionsvolumen	5 - 20 μ L
Flussrate	1 ml/min
Nachsäulen pH Einstellung	0,3 N NaOH
Mobile Phase	A: 0,1 N NaOH B: H ₂ O C: 0,1 N NaOH + 0,5 N CH ₃ COONa
Gradient	t (min)
	0 - 7 10 90 0
	7,01 - 20 5 95 0
	30 100 0 0
	45 - 50 0 0 100
	50,01 - 70 100 0 0
	70,01 - 90 10 90 0

Tab. C-4: Geräteparameter der FT-IR-Spektroskopie

Spezifikation	
Spektrometer	300E FT-IR; Jasco, Tokio
Aufnahmeparameter	Messbereich: 4000-600 cm^{-1} ; Akkumulation: 100; Auflösung: 4 cm^{-1} ; Gain: 2; Scangeschwindigkeit: 2 mm/s
Datenaufnahme	PC – Jasco FT for Windows 1.00.15
Präparationstechnik	KBr Pressling
Präparationsgeräte	Schwingmühle; Perkin-Elmer, Überlingen Hydraulikpresse P/N 15.001 (Graseby Specac); LOT-Oriel, Darmstadt

Tab. C-5: Geräteparameter der REM-Röntgenmikroanalyse

	Spezifikation
REM	Hitachi S-2700
Röntgenmikroanalyse	KeveX EDS Detektor; Software IDFix 2.4
Präparationstechnik	Bedampfung mit Kohlenstoff

D Modifizierung der Biomasse

Tab. D-1: Chemikalien, Materialien und Geräte– Anhang D

Produkt	Spezifikation, Hersteller
<u>Chemikalien</u>	
Chloressigsäure	zur Synthese ; Merck Eurolab, Darmstadt
Essigsäure	zur Analyse
Ethanol	
Harnstoff	
Natriumcarbonat	
Natriumhydroxid	
Natriumperjodat	
Phosphorsäure	zur Analyse, 85 %
Phosphorylchlorid	zur Synthese
2-Propanol	zur Analyse
Pyridin	
Titriplex III	
Wasserstoffperoxid	
Natriumchlorit	zur Analyse, ~80 %; Fluka, Neu-Ulm
Phosphorpentasulfid	min. 98 %; Acros, Schwerte
Wasser	millipore; TU Berlin
<u>Materialien</u>	
Bleiacetatpapier	Merck Eurolab, Darmstadt
Phosphat-Test	10 – 500 mg / L PO ₄ ³⁻ ; Merck Eurolab, Darmstadt
<u>Geräte</u>	
Laborzentrifuge	3K-1 (max. 6000 U/min); Sigma, Osterode

Lebenslauf

Name: Sven Klimmek

Anschrift: Luxemburgplatz 2, 65185 Wiesbaden

Geburtsdatum: 23.10.1971

Geburtsort: Eberswalde-Finow

Familienstand: verheiratet

Kinder: eine Tochter (6 Monate)

1978-1988 Polytechnische Oberschule, Eberswalde-Finow

1988-1990 Erweiterte Oberschule Eberswalde-Finow, Abschluss Abitur

1990-1991 Zivildienst Kreiskrankenhaus Eberswalde

1991-1996 Studium der Lebensmittelchemie, Technische Universität Berlin

22.12.1995 Staatsprüfung für Lebensmittelchemiker, Teil A

01-09/1996 Diplomarbeit im Institut für Lebensmittelchemie der TU Berlin

30.09.1996 Diplom-Hauptprüfung

01/1997-06/2001 Wissenschaftlicher Mitarbeiter im Sonderforschungsbereich 193
Teilprojekt F2 am Institut für Lebensmittelchemie der Technischen
Universität Berlin

seit 08/2001 Prüfleiter bei der Institut Fresenius Chemische und Biologische
Laboratorien AG