

Diss. ETH Nr. 7681

Über den mikrobiellen Abbau von Stilbenen und deren Photolyseprodukten

ABHANDLUNG

zur Erlangung des Titels eines

DOKTORS DER NATURWISSENSCHAFTEN

der

EIDGENOESSISCHEN TECHNISCHEN HOCHSCHULE ZUERICH

vorgelegt von

HANSJUERG WIDMER

dipl. Chem. ETH

geboren am 17. Juli 1956

von Horgen/ZH und Emmen/LU

Angenommen auf Antrag von:

Prof. Dr. H. Zollinger, Referent

Prof. Dr. T. Leisinger, Korreferent

1984

6. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde der biologische Abbau verschiedener Stilbene, eines Bibenzylderivates und möglicher Photolyseprodukte von optischen Aufhellern des Stilbentyps untersucht.

Eine Mischkultur, welche mit 4,4'-Dicarboxystilben (1) als einziger Kohlenstoff- und Energiequelle wachsen konnte, war in der Lage, weitere Verbindungen mit ähnlicher Struktur umzusetzen: 4,4'-Dicarboxybibenzyl (28) und 4-Carboxy-4'-sulfostilben (23). Während beim 4,4'-Dicarboxybibenzyl eine vollständige Verwertung des Aromaten erfolgte, wurde das sulfonierte Stilben nur bis zu 4-Sulfozimtsäure abgebaut. Ein vollständiger Abbau des 4-Carboxy-4'-sulfostilbens konnte mit einer aus Abwasser isolierten Mischkultur erreicht werden. Zwar wurde vorerst wieder 4-Sulfozimtsäure ausgeschieden. Diese konnte aber von den Abwassermikroorganismen weiter umgesetzt werden. Nach einer Adaptationsphase war diese Mischkultur auch in der Lage, das 4-Carboxy-2'-sulfostilben (27) abzubauen. In der Folge konnte dieses Substrat in kontinuierlichem Betrieb über einen Zeitraum von 247 Tagen umgesetzt werden. Auch in diesem Falle wurde ein Abbauprodukt, die 2-Sulfozimtsäure (42), ausgeschieden. Diese konnte aber weiter zu CO₂, Wasser und Sulfat mineralisiert werden.

Eine Reinkultur (Bezeichnung: D 214) baute verschiedene 4,4'-disubstituierte Verbindungen zu Metaboliten ab, welche von der Kultur nicht als Kohlenstoffquellen genutzt werden konnten: 4-Carboxy-4'-sulfostilben zu 4-Sulfozimtsäure, 4-Carboxystilben zu Zimtsäure, 4,4'-Dicarboxybibenzyl zu 4-Carboxyhydrozimtsäure und 4,4'-Dicarboxybiphenyl zu Terephthalsäure.

Durch den photolytischen Zerfall von Stilbenen entstehen neue Produkte, deren biologische Abbaubarkeit in Die-Away-Tests und Schüttelversuchen untersucht wurde. Bei folgenden Verbindungen konnte ein biologischer Abbau festgestellt werden: 4-Sulfobenzoesäure (32), 2-Sulfobenzoesäure (18), Terephthalsäure (31) und 4,4'-Dicarboxybiphenyl (17). 2-Sulfobenzaldehyd (19) wurde chemisch zur Säure oxidiert, welche dann auf mikrobiellem Weg abgebaut werden konnte. Biologisch nicht abgebaut wurden: 4-Chlor-3-sulfobenzoesäure (33) und das Triazinderivat 34.

Mit zwei isolierten Reinkulturen konnten die 4-Sulfobenzoesäure (Kultur Z 483) und das 4,4'-Dicarboxybiphenyl (Kultur Z 484) umgesetzt werden, wobei in beiden Fällen ein vollständiger Ringabbau erfolgte. Der Schwefel der Sulfogruppe bei 4-Sulfobenzoesäure wurde praktisch quantitativ als Sulfat ausgeschieden.

Aufgrund der langen Adaptationszeiten und der Schwierigkeit, in Screeningversuchen stilbenabbauende Mikroorganismen zu finden, dürfte ein mikrobieller Abbau von Stilbenen in den Abwasserreinigungsanlagen oder in der Umwelt kaum auftreten. Durch den photolytischen Abbau entstehen hingegen Produkte, die in vielen Fällen biologisch bedeutend leichter abbaubar sind als die Stilbene. Die Tatsache, dass sich aus der Umwelt Mikroorganismen isolieren lassen, welche Photolyseprodukte von Stilbenen abbauen können, deutet darauf hin, dass Prozesse wie Photolyse mit anschließendem biologischem Abbau in der Umwelt stattfinden.

ABSTRACT

Investigations on the biological degradation of several stilbenes; a bibenzyl derivative and possible products of photodegradation of stilbene whiteners are presented.

A mixed culture which utilized stilbene-4,4'-dicarboxylic acid (1) as sole source of carbon and energy for growth, was also able to convert other compounds with similar structures: bibenzyl-4,4'-dicarboxylic acid (28) and 4-carboxy-4'-sulfostilbene (23). The aromatic rings of bibenzyl-4,4'-dicarboxylic acid were completely biodegraded, but the sulfonated stilbene derivative was only converted to 4-sulfocinnamic acid (43). Complete biodegradation of 4-carboxy-4'-sulfostilbene could be achieved by a mixed culture isolated from waste water. As above, 4-sulfocinnamic acid was formed first, but this product could be further degraded by the waste water microorganisms. After some time of adaptation, this mixed culture was also able to utilize 4-carboxy-2'-sulfostilbene (27) as carbon source. In a continuous culture, this substrate could be converted over a time period of 247 days. Also in this case, a degradation product identified as 2-sulfocinnamic acid (42) was excreted. But this derivative could be mineralized to carbon dioxide, water and sulfate by this mixed culture.

A pure culture (strain D 214) converted several 4,4'-disubstituted compounds to metabolites which could not be utilized as carbon sources: 4-carboxy-4'-sulfostilbene to 4-sulfocinnamic acid, 4-carboxystilbene to cinnamic acid, bibenzyl-4,4'-dicarboxylic acid to 4-carboxyhydrocinnamic acid and biphenyl-4,4'-dicarboxylic acid to terephthalic acid.

During photolytic degradation of stilbenes, new products are formed of which the biodegradability was investigated with die-away-tests and shake flask experiments. The following compounds were found to be biodegradable: 4-sulfobenzoic acid (32), 2-sulfobenzoic acid (18), p-aminoterephthalic acid (31) and biphenyl-4,4'-dicarboxylic acid (17). 2-Sulfobenzaldehyde (19) was chemically oxidized to the corresponding acid which could be biodegraded. No biodegradation occurred with 4-chloro-3-sulfobenzoic acid (33) and with the triazine derivative 34.

By two isolated pure cultures, 4-sulfobenzoic acid (strain Z 483) and biphenyl-4,4'-dicarboxylic acid (strain Z 484) were biodegraded with complete degradation of the aromatic rings. The sulfur of the sulfonic acid substituent was quantitatively excreted as sulfate.

In consequence of the long time of adaptation and the difficulty to find microorganisms which are able to degrade stilbenes, the biodegradation of such compounds hardly occurs in sewage treatment plants or in the environment. On the other hand, in many cases biodegradable products are formed by the photodegradation of the stilbenes. The fact that microorganisms which are able to degrade such products can be isolated from the environment gives us an indication that photodegradation followed by microbial attack of the compounds also occurs in the environment.