

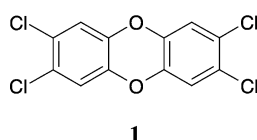
Dehalogenierung polyhalogenierter Dioxine

Karl-Heinz van Pée*

Stichwörter:

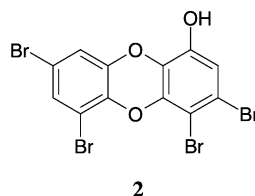
Chlor · Dechlorierung · Dehalorespiration · Dioxine · Metabolismus

In ihrem 1962 erschienenen Buch „Der stumme Frühling“ beschreibt Rachel Carson^[1] eindrucksvoll die Folgen des Einsatzes chlorierter Pflanzenschutzmittel für die Natur sowie die Gefahren, die von diesen Verbindungen für den Menschen ausgehen können. Dieses Buch veranlasste den US-amerikanischen Präsidenten Kennedy, ein Gremium zur Untersuchung des Problems einzusetzen. Dieses Gremium kam zu den gleichen Ergebnissen wie die Autorin. Es war aber auch Präsident Kennedy, der den Einsatz von „Agent Purple“ als Entlaubungsmittel im Vietnam-Krieg genehmigte. „Agent Purple“ enthielt wie auch das später eingesetzte „Agent Orange“ neben den Hauptkomponenten 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (2,4-D) und 2,4,5-Trichlorphenoxyessigsäure (2,4,5-T) auch 2,3,7,8-Tetrachlordibenzo-*p*-dioxin (Dioxin, **1**) und an-



dere polychlorierte Dibenzo-*p*-dioxine als Verunreinigungen. Nach einem Unfall bei der Produktion von Trichlorphenol in dem Ort Seveso in der Nähe von Mailand erlangte 1976 insbesondere **1** als „Seveso-Gift“ traurige Berühmtheit. Bei Untersuchungen in der Folge dieses schrecklichen Chemie-Unfalls stellte

sich heraus, dass polychlorierte Dioxine und Dibenzofurane nicht nur extrem toxisch sind, sondern auch sehr leicht bei der Verbrennung organischer Verbindungen in Anwesenheit von Chlor entstehen. Später wurde auch die Bildung von polyhalogenierten Dioxinen (z.B. Spongiadioxin A, **2**) in der Natur beobachtet.^[2]

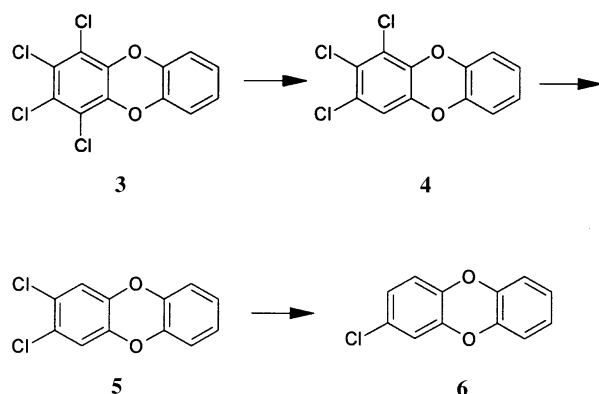


Besonders brisant wird die Dioxin-Problematik noch dadurch, dass polyhalogenierte Dioxine extrem lipophil sind und dadurch stark an hydrophobes Material wie Humus adsorbieren oder sich im Fettgewebe anreichern. In den 80er Jahren erschien der damaligen Bundesregierung das Problem sogar so dringlich, dass man bereit war, den Bau spezieller Laboratorien zu finanzieren, in denen der biologische Abbau von polychlorierten Dioxinen untersucht werden sollte. Damals lagen zwar bereits Daten über den Abbau halogener aromatischer Verbindungen durch Mikroorganismen und über die direkte Entfernung von Chloratomen aus aromatischen Verbindungen vor,^[3] aber über den Abbau dioxinähnlicher Verbindungen war nichts bekannt. Erste Versuche, Dioxine durch Mikroorganismen abzubauen, erfolgten unter aeroben Bedingungen.^[4] Veränderungen in der Zusammensetzung der Dioxinablagerungen in Sedimenten gaben erste Hinweise auf einen anaeroben Abbau von Dioxinen.^[5]

Die Entfernung von Halogenatomen aus aromatischen Verbindungen unter anaeroben Bedingungen erfolgt reduktiv. Reduktive Dehalogenierungsschritte sind auch vom Abbau des Pentachlorphenols bekannt, der unter aeroben Bedingungen erfolgt. Dabei treten sowohl oxidative als auch reduktive Dehalogenierungsschritte auf.^[6] Für den Abbau halogener Verbindungen in Sedimenten, also unter Abwesenheit von Sauerstoff, spielt die so genannte „Dehalorespiration“ eine entscheidende Rolle. Bei diesem Vorgang ist die reduktive Dehalogenierung mit der Konservierung von Energie und mit dem Zellwachstum gekoppelt. Solche Reaktionen sind schon länger für die Dehalogenierung von Verbindungen wie Tetrachlorethen und Chlorphenole bekannt.^[7,8]

Bisherige Arbeiten zur reduktiven Dehalogenierung von polychlorierten Dioxinen erfolgten an anaeroben Mischkulturen. So hatten sich auch Bunge et al.^[9] mit dem Abbau von 1,2,3,4-Tetrachlordibenzo-*p*-dioxin (**3**, Schema 1) befasst. Hierzu wurden Bakterienkulturen aus Sedimenten des Spittelwasserbachs, Region Bitterfeld, Deutschland, gewonnen, da diese Sedimente hohe Konzentrationen an polyhalogenierten Dioxinen enthalten. Zugewachsen **3** wurde von diesen Mischkulturen in eine Mischung aus 1,3- und 2,3-Dichlordibenzo-*p*-dioxin (**5**) umgewandelt. In sich anschließenden Untersuchungen^[10] wurden die Mischkulturen unter Erhaltung der Dehalogenierungsaktivität sechsmal in ein Minimalmedium aus genau definierten Komponenten transferiert. Allerdings wurde von den meisten der transferierten Kulturen 1,2,4-Trichlordibenzo-*p*-dioxin überwiegend zu **5** und weniger zu 1,3-Dichlordibenzo-*p*-dioxin umgewandelt.

[*] Prof. Dr. K.-H. van Pée
Institut für Biochemie
Technische Universität Dresden
01062 Dresden (Deutschland)
Fax: (+49) 351-463-35506
E-mail:
karl-heinz.vanpee@chemie.tu-dresden.de



Schema 1. Vorgeschlagener Hauptabbauweg für 1,2,3,4-Tetrachlor-*p*-dioxin (**3**) nach Bunge et al.^[10]

Angeichts der strukturellen Ähnlichkeit von Chlorbenzolen zu chlorierten Dioxinen und der Tatsache, dass *Dehalococcoides* sp. Stamm CBDB1 das einzige bisher bekannte Bakterium ist, das Chlorbenzole dehalogenieren kann,^[11] lag es nahe, mit entsprechenden Primern für 16S-ribosomale DNA (rDNA) nach verwandten Stämmen in den Mischkulturen zu suchen. Ein weiterer *Dehalococcoides*-Stamm, *D. ethenogenes* Stamm 195, kann über Dehalorespiration Tetrachlorethen zu Ethen dechlorieren. Daher wurden auch 16S-rDNA-Primer für diesen Stamm verwendet. Mithilfe spezifischer PCR-Primer für diese *Dehalococcoides*-Stämme konnten in den Mischkulturen 16S-rDNA-Sequenzen amplifiziert werden. Diese erwiesen sich als identisch mit der entsprechenden Sequenz von *Dehalococcoides* sp. Stamm CBDB1 und zu 98,5 % identisch mit der Sequenz aus *D. ethenogenes* Stamm 195. Die Identität der aus den Mischkulturen amplifizierten 16S-rDNA-Sequenzen mit *Dehalococcoides* sp. Stamm CBDB1 implizierte, dass ein entsprechender Stamm in der Mischkultur vorhanden sein sollte. Daher wurde der von Adrian et al.^[11] isolierte *Dehalococcoides* sp. Stamm CBDB1 eingesetzt, um zu überprüfen, ob er auch Dioxine dehalogenieren kann. Es zeigte sich, dass dieser Stamm **3** zu 2-Monochlordibenzo-*p*-dioxin (**6**) dechloriert, wobei als Zwischenprodukt **5** isoliert werden konnte. Dieses Zwischenprodukt wurde auch beim Abbau von 1,2,3-Trichlordibenzo-*p*-dioxin (**4**) gefunden (Schema 1). Beim Abbau von 1,2,4-Trichlordibenzo-*p*-dioxin trat dagegen 1,3-Dichlordibenzo-*p*-dioxin in

bis zu 50 Mol-% als Zwischenprodukt auf. Im Verlauf des Transfers der Mischkultur verschob sich der bevorzugte Ort, an dem die Dechlorierung erfolgt, von der lateralen zur *peri*-Position. Dies deutet darauf hin, dass in der ursprünglichen Mischkultur noch weitere Organismen vorhanden sind, die die angebotenen Dioxine dechlorieren können,

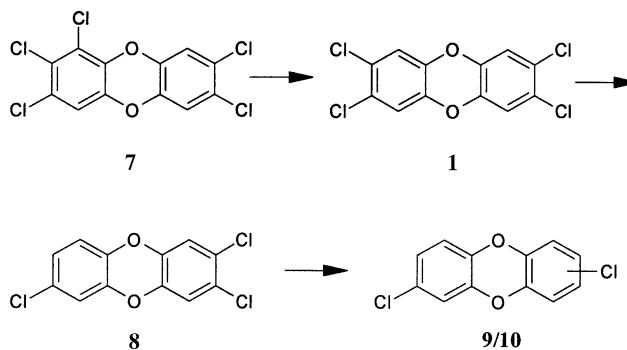
und es beim Transfer zu einer Anreicherung von *Dehalococcoides* sp. Stamm CBDB1 kam.

Als Modellsubstanz für polychlorierte Dioxine, die an beiden Benzolringen chloriert sind, wurde 1,2,3,7,8-Pentachlordibenzo-*p*-dioxin (**7**) eingesetzt. Diese Verbindung wurde sehr langsam (innerhalb von 104 Tagen) und nur zu einem Anteil von 2,8 Mol-% zu 2,3,7,8-Tetrachlordibenzo-*p*-dioxin (**1**), 2,7-Dichlordibenzo-*p*-dioxin (**9**) und 2,8-Dichlordibenzo-*p*-dioxin (**10**) sowie geringfügig zu 1,3,7,8-Tetrachlordibenzo-*p*-dioxin und 2,3,7-Trichlordibenzo-*p*-dioxin (**8**) dehalogeniert (Schema 2).

Das entscheidend Neue an den Ergebnissen von Bunge et al.^[10] ist die Identifizierung eines für die Dehalogenierung polychlorierter Dioxine verantwortlichen Bakterienstamms, der aus einer mit Dioxinen belasteten Bodenprobe stammt, und die nachgewiesene Dehalogenierung polyhalogener Dioxine durch einen *Dehalococcoides*-sp.-Stamm in Reinkultur, der Bestand-

teil der Mischkultur ist. Dass Bakterien, die polyhalogenierte Dioxine abbauen können, in mit diesen Substanzen kontaminierten Böden vorkommen, zeigt die Anpassungsfähigkeit der Natur und stärkt die Hypothese, dass Substanzen mit struktureller Ähnlichkeit zu Verbindungen, die von lebenden Organismen synthetisiert werden, z. B. das polyhalogenierte Dioxin **2**,^[2] auch durch biologische Systeme entgiftet und entsorgt werden können.

Die von Bunge et al.^[10] vorgestellten Ergebnisse nähren die Hoffnung, dass die Entgiftung polychlorierter Dioxine durch anaerobe reduktive Dehalogenierungsreaktionen und den anschließenden weiteren Abbau der Dioxine in der Natur ablaufen kann und dadurch eine Dekontamination von Dioxin-verseuchten Böden möglich ist. Diese Zuversicht wird besonders durch den Befund gestärkt, dass *Dehalococcoides* sp. Stamm CBDB1 in synthetischen Medien in Abwesenheit eines chlorierten Elektronenacceptors nicht wachsen kann. Da *Dehalococcoides* sp. Stamm CBDB1 demnach für die Energiegewinnung verstärkt auf die Dehalorespiration angewiesen zu sein scheint, könnte es möglich sein, dass dieser Stamm polychlorierte Dioxine auch dann dehalogeniert, wenn andere, unhalogenierte Nährstoffe zur Verfügung stehen. Dies könnte gegenüber der aeroben Dehalogenierung polyhalogener Dioxine^[12] ein entscheidender Vorteil sein. Allerdings ist die Abbaugeschwindigkeit mit etwa 60 Mol-% innerhalb von 56 Tagen für **4** zu **6** noch sehr weit von einer Anwendung entfernt. Um den Abbau polychlorierter Dioxine in belasteten Böden zu verbessern, könnte die Mole-



Schema 2. Vorgeschlagener Hauptabbauweg für 1,2,3,7,8-Pentachlordibenzo-*p*-dioxin (**7**) nach Bunge et al.^[10]

kulargenetik mit der Klonierung der Dehalogenasogene und deren Überexpression helfen.

Die immer wieder auftretende Kontamination von Futtermitteln durch polyhalogenierte Dioxine ist nur ein Beispiel für die Notwendigkeit von Möglichkeiten zum Abbau und der Entgiftung polyhalogener Dioxine. Dabei muss angemerkt werden, dass in diesem Zusammenhang eigentlich die Vermeidung der Bildung polyhalogener Dioxine im Vordergrund stehen sollte. Auch für die grundlagenorientierte Forschung ist die Dehalogenierung von Dioxinen eine große Herausforderung. Interessante Forschungsobjekte sind z.B. die Isolierung der Enzyme und deren Charakterisierung oder die Klärung der Frage, weshalb die *Dehalococcoides*-Stämme anscheinend unbedingt halogenierte Elektronenaccepto-

ren benötigen. Die geringen Abbaugeschwindigkeiten und die benötigte lange Kultivierungsdauer deuten allerdings darauf hin, dass in diesen Punkten nicht mit schnellen Fortschritten zu rechnen ist.

- [1] R. Carson, *Der stumme Frühling*, Deutscher Taschenbuch Verlag, München, 1962.
- [2] N. K. Utkina, V. A. Denisenko, O. V. Scholokova, M. V. Virovaya, A. V. Gerasimenko, D. Y. Popov, V. B. Krasokhin, A. M. Popov, *J. Nat. Prod.* **2001**, 64, 151–153.
- [3] S. Fetzner, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **1998**, 50, 633–657.
- [4] J. A. Bumpus, G. Milewski, B. Brock, W. Ashbaugh, S. D. Aust in *Innovative Hazardous Waste Treatment Technology Series, Vol. 3* (Hrsg.: H. M. Freeman, P. R. Sferri), Technomic Publ. Co., Lancaster, PA, **1991**, S. 47–54.
- [5] J. E. M. Beurskens, G. A. J. Mol, H. L. Barreveld, B. van Munster, H. J. Winkels, *Environ. Toxicol. Chem.* **1993**, 12, 1549–1566.
- [6] M. Cai, L. Xun, *J. Bacteriol.* **2002**, 184, 4672–4680.
- [7] A. Neumann, G. Wohlfarth, G. Diekert, *Arch. Microbiol.* **1995**, 163, 276–281.
- [8] B. A. van de Pas, H. Smidt, W. R. Hagen, J. van der Oost, G. Schraa, A. J. M. Stams, W. M. de Vos, *J. Biol. Chem.* **1999**, 274, 20287–20292.
- [9] M. Bunge, H. Ballersted, U. Lechner, *Chemosphere* **2001**, 43, 675–681.
- [10] M. Bunge, L. Adrian, A. Kraus, M. Opel, W. G. Lorenz, J. R. Andreesen, H. Görisch, U. Lechner, *Nature* **2003**, 421, 357–360.
- [11] L. Adrian, U. Szewzyk, J. Wecke, H. Görisch, *Nature* **2000**, 408, 580–583.
- [12] H.-B. Hong, Y.-S. Chang, I.-H. Nam, P. Fortnagel, S. Schmidt, *Appl. Environ. Microbiol.* **2002**, 68, 2584–2588.



Erlebnis Wissenschaft

- spannend wie Krimis
- bildend wie Lehrbücher
- faszinierend wie Romane

Jahr der Chemie 2003



Hubertus P. Bell (Hrsg.)
What's Cooking in Chemistry?
How Leading Chemists Succeed in the Kitchen
Mai 2003. 243 S. mit 149 Abb. Geb.
 € 29,90/SFr 45,-. ISBN 3-527-30723-0

Sie suchen den geeigneten Arbeitskreis für Ihren Postdoc-Aufenthalt? Oder suchen das optimale Geschenk für Ihre Freunde, die Chemiker sind? Vielleicht kochen Sie einfach gerne und suchen neue Rezepte? Ja? Dann ist dieses Buch für Sie gemacht! Dieses erste „Who is Who“ der Organischen Chemie zeigt eindeutig, dass berühmte Wissenschaftler nicht nur im Labor, sondern auch am Herd in der Küche gerne und exzellent kochen.

Heinrich Zankl
Fälscher, Schwindler, Scharlatane
Betrug in Forschung und Wissenschaft
Mai 2003. 302 S. mit 43 Abb. Geb.
 € 24,90/SFr 38,-. ISBN 3-527-30710-9

Kennen Sie den Mogelfaktor? Gibt es diesen etwa auch in der hohen Forschung? Aber sicher! Heinrich Zankl hat alte und neue Skandale in den Geistes- und Naturwissenschaften überzeugend recherchiert und zu einem Geflecht aus wertvoller Information und guter Unterhaltung verwoben. Ein Lesevergnügen, nicht nur für Wissenschaftler.

Der Euro-Preis gilt nur in Deutschland

www.wiley-vch.de

WILEY-VCH Postfach 101161 D-69451 Weinheim
 Fax: +49 (0) 6201-60 6184; service@wiley-vch.de

WILEY-VCH