

## DER EINFLUß VON PHENOL UND VON PHENOLISCHEN VERBINDUNGEN AUF DEN GASWECHSEL AUTOTROPHER UND HETEROTROPHER PLANKTONTEN

S. VOGEL\*

### Abstract

The effect of phenol and phenolic compounds on the gas exchange of autotrophic and heterotrophic plankters was examined with *Chlorella pyrenoidosa* and with a mixed bacterial population of a local stream. The photosynthetic activity of the green algae is more sensitive than the respiratory activity of the bacteria to Phenol, p-Hydroxybenzaldehyd, p-Hydroxybenzoic acid, 2,4-Dichlorophenol and 2,3,4-Trichlorophenol. The depression of activity depended on the concentration of the phenolic substances and on the kind of substituents and their position on the benzene ring. Chlorophenols were more effective than hydroxyl compounds. When chlorophenols were added the electron-microscopical figure of *Chlorella* showed cytological changes which were characterized by a contraction of the chloroplasts and a disintegration of the thylacoid structure.

### Einleitung

Phenol gehört zu den Substanzen, von denen bestimmte Derivate als sekundäre Pflanzenstoffe in der Natur vorkommen. Viele Phenolderivate werden aber inzwischen synthetisch hergestellt und finden in steigendem Maße in der chemischen Industrie sowie als Pflanzenschutzmittel Verwendung. Während die einen als Zwischen- oder Abfallstoffe mit den industriellen Abwässern in aquatische Ökosysteme gelangen können, werden andere als Unkrautvertilgungsmittel auf landwirtschaftlich genutzten Böden oder in Gewässern eingesetzt und dringen auf diese Weise in Bäche, Flüsse und Seen oder gelegentlich sogar bis ins Grundwasser ein. Über die Wirkung von Phenol und dessen Derivaten liegen bereits einige Untersuchungen vor. Sie beziehen sich jedoch meist auf die Toxizität der Substanzen für Tiere, selten auf diejenigen für Pflanzen. Auswirkungen auf die Nahrungskette werden kaum in Betracht gezogen.

Es erscheint aber notwendig, nicht nur die Konsumenten, sondern vor allem auch die planktonischen Produzenten und die Reduzenten auf ihre Schadstoffsensibilität zu prüfen. Gerade die beiden letztgenannten Organismengruppen sind die unabdingbar notwendigen biotischen Komponenten in einem existenzfähigen Ökosystem. Daher war es Ziel der vorliegenden Arbeit, in Modellversuchen zu klären, in welchem Umfange durch Phenol und phenolische Verbindungen der Gaswechsel bestimmter autotropher und heterotropher Planktonten

\* Auszug aus einer der Universität Gießen vorgelegten Dissertation D 26 (Naturwissenschaften), Gießen 1976.

beeinträchtigt wird und inwieweit dadurch die Stabilität eines Gewässerökosystem gefährdet werden kann.

## Die Testsubstanzen

Zur Untersuchung gelangten folgende Testsubstanzen:

Phenol	= Carbonsäure $C_6H_5OH$
p-HBA	= para-Hydroxybenzaldehyd $C_7H_6O_2$
p-HBS	= para-Hydroxybenzoesäure $C_7H_6O_3$
2,4-DC	= 2,4-Dichlorphenol $C_6H_4Cl_2O$
2,4,5-TC	= 2,4,5-Trichlorphenol $C_6H_3Cl_3O$

Phenol war in der 2. Hälfte des 19. Jahrhunderts nahezu das einzige bekannte Antisepticum. Da es lebendes Gewebe schädigen kann, wird es heute allenfalls zur Desinfektion von Räumen und Geräten verwendet. Große Mengen werden dagegen zur Herstellung von Kunstharzen, Farbstoffen und Arzneimitteln benötigt. Wegen ihrer antimikrobiellen Wirkung waren die Hydroxyverbindungen bis 1959 als Konservierungsmittel in der BRD zugelassen. Bei längerer Lagerung kommt es jedoch zu biochemischen Umsetzungen, die den Nährwert der konservierten Stoffe verringern und beim Menschen Verdauungsenzyme blockieren. Dennoch werden nach Tjan & Konter (1972) sowie Koppe & Traud (1974) Phenole nach wie vor in großem Maßstab in der Lebensmittelindustrie verwendet.

2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (2,4-D) und 2,4,5-Trichlorphenoxyessigsäure (2,4,5-T) sowie einige ihrer Abkömmlinge dienen als Unkrautbekämpfungsmittel und haben als Getreideherbizide eine weltweite Verbreitung gefunden. Die Wirkungsweise der Phenoxyessigsäuren ist vielfach untersucht worden, der Wirkungsmechanismus ist noch nicht hinreichend geklärt. Der Abbau im Substrat dauert ein bis drei Monate (Maier-Bode 1971), und dabei entsteht aus 2,4-D u.a. 2,4-Dichlorphenol, das mit Glucose konjugiert oder an Asparaginsäure gebunden werden kann (Loos 1970). Maier-Bode (1971) schreibt den Metaboliten der Chlorphenoxyessigsäuren die gleiche Verweilzeit im Substrat zu wie den Ausgangssubstanzen. Herzel (1972) mißt den Metaboliten für eine potentielle Gefährdung des Grundwassers eine größere Bedeutung zu als dem Wirkstoff selbst, da mit dessen Abbau eine Polaritätszunahme des Moleküls und eine verbesserte Wasserlöslichkeit einhergehen.

## Die Testorganismen

Als Testorganismen dienten repräsentativ:

für Produzenten: *Chlorella pyrenoidosa* Stamm 211–8b aus der Sammlung Dr. Koch, Pflanzenphysiologisches Institut Göttingen,

für Reduzenten: die Bakterienmischpopulation eines einheimischen Fließgewässers.

*Chlorella pyrenoidosa* wurde in der ZEHNDER-Nährlösung im Thermostaten bei 21°C Tagestemperatur und 17°C Nachttemperatur bei einem 12 stündigen Hell-Dunkel-Rhythmus kultiviert. Die Beleuchtungsintensität betrug 1300 LUX

bzw.  $5 \text{ J} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$  nach der Radiometermessung. Bis zu einem Alter von 20 Tagen fand ein absolut störungsfreies Wachstum der Zellen statt; die Algensuspension war in diesem Zeitraum sehr homogen und damit für die Untersuchung gut geeignet.

Für die elektronenmikroskopischen Aufnahmen wurden die Chlorellen zunächst in Glutaraldehyd + Arsenpuffer, danach in Osmiumtetroxyd fixiert. Die Einbettung erfolgte in ERL 4206, die Nachkontrastierung mit Uranylacetat und Bleicitrat.

Die in verschmutzten Fließgewässern vorhandenen Keime sind meist allochthonen Ursprungs; sie gelangen mit den Niederschlägen in die Vorfluter oder werden mit Abwässern durch Bodenauswaschung in diese eingeleitet. Je nach Art der zur Verfügung stehenden Substanzen überwiegen kohlenhydratabbauende, eiweißzersetzende oder nitrifizierende Bakterien. Das Nährstoffangebot wirkt selektierend auf die Zusammensetzung der Biocönose.

Die Befunde dieser Arbeit wurden mit Bakterienmischpopulationen aus der Wieseck gewonnen, einem Gewässer, das Gießen durchfließt und in diesem Bereich als  $\beta$ -mesosaprob anzusehen ist (Habermehl 1975).

## Methodik

Um die Wirkung von Phenol bzw. phenolischen Verbindungen auf den Gaswechsel der beiden genannten Mikroorganismengruppen zu prüfen, wurden Messungen der Photosynthese für die Autotrophen mit der WARBURG-Apparatur vorgenommen. Zur Bestimmung des Sauerstoffverbrauches der Heterotrophen wurde der Sapromat B 12 der Firma Voith in Heidenheim benutzt. Im Sapromaten vollzieht sich die Atmung der Bakterien unter ständigem Nachschub von Sauerstoff, der je nach Bedarf durch elektrolytische Spaltung aus schwefelsaurem Kupfersulfat freigesetzt wird. Die Gaswechsellmessungen erstreckten sich sowohl mit der WARBURG-Apparatur als auch mit dem Sapromaten über mindestens 48 Stunden; in bestimmten Zeitabständen wurden Sauerstoffproduktion bzw. Sauerstoffverbrauch ermittelt.

## Ergebnisse

### 1. Produzenten

Zunächst sollte an *Chlorella pyrenoidosa* analysiert werden, ob und in welchem Umfang eine Beeinflussung der Photosynthese durch Phenol und dessen Derivate stattfindet und wie weit das Reizmengengesetz Gültigkeit besitzt.

Die Experimente brachten folgende Ergebnisse: Phenolgaben von 1000 ppm schädigten die Algen in ihrer Vitalität so stark, daß sie unmittelbar nach Zugabe ihre Photosynthesetätigkeit einstellten und nach 48 Stunden eine gelbbraune Verfärbung zeigten. Das mikroskopische Bild wies auf letale Schädigung hin. Bei Phenolgaben von 100 ppm fand eine signifikante Depression der Sauerstoffproduktion nach 1 und nach 24 Stunden in Relation zu derjenigen der Kontrol-

len statt. Nach 48 Stunden waren die Differenzen dagegen nicht mehr statistisch gesichert. Demnach hatten die Algen sich inzwischen erholt. Denkbar wäre auch, daß stark geschädigte Chlorellen ausgefallen waren, aber resistenter diese Phenolkonzentration so weit tolerierten, daß eine schwache Vermehrung eintrat.

Selbst bei einheitlichem Algenmaterial muß mit individuellen Resistenzstreuungen gerechnet werden, wie die mikroskopische Kontrolle der Chlorellen bestätigte. Phenolgaben von 10 ppm beeinträchtigten die Photosynthese auch bei einer maximalen Einwirkzeit von 48 Stunden nicht. Entweder wurde die Konzentration rasch im Substrat oxydiert, oder die Organismen tolerierten sie.

p-HBA-Gaben von 1000 ppm, 800 ppm und 600 ppm führten im Untersuchungszeitraum von 48 Stunden zu einer vollständigen Blockierung der Photosynthese, wohingegen 500 ppm, 400 ppm und 300 ppm zwar die assimilatorische Tätigkeit der Algen einschränkten, aber mit abnehmender Konzentration in geringerem Maße. Innerhalb der Varianten zeigte sich eine schwache, bei 300 ppm eine deutlich wahrnehmbare Adaptation an den Schadstoff, indem auf die anfängliche Depression eine langsame Erholung folgte. Diese Phase setzte bei 300 ppm früher ein als bei 500 ppm, die Kontrollwerte wurden allerdings

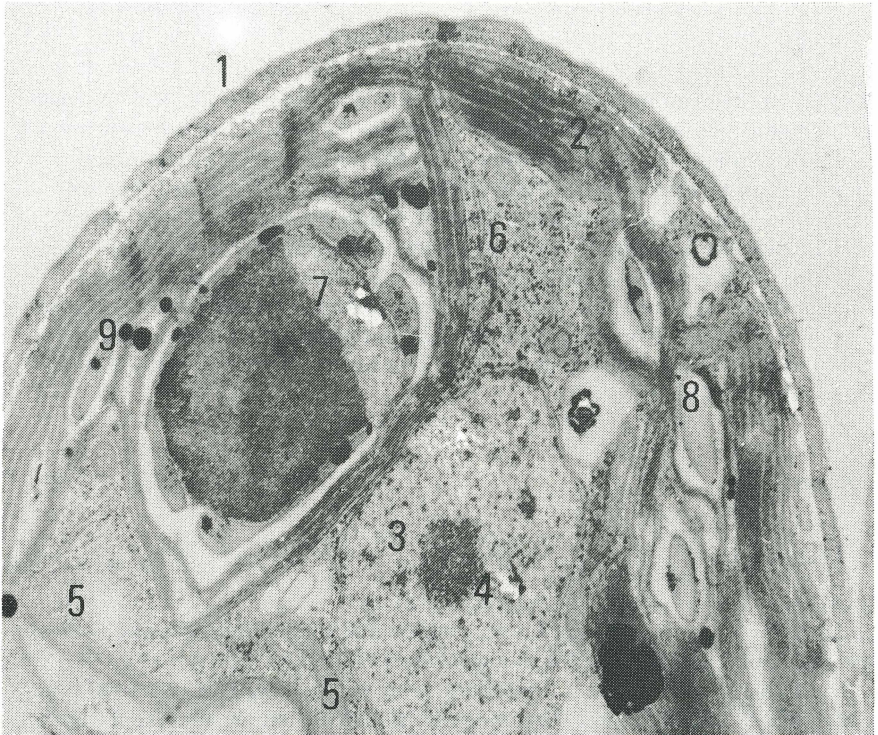


Abb. 1. *Chlorella pyrenoidosa*, Stamm 211-8b. Vergr. 26700. 1 = Zellwand. 2 = Chloroplast mit Thylakoiden. 3 = Zellkern mit umgebener Membran. 4 = Kernkörperchen. 5 = Mitochondrien. 6 = Endoplasmatisches Reticulum. 7 = Pyrenoid. 8 = Stärkegranula. 9 = osmiophile Globuli.

nicht erreicht. 100 ppm p-HBA führten zu keiner Hemmung, sondern zu einer Stimulation der Photosynthese.

p-HBS-Gaben von 1000 und 800 ppm brachten bereits nach 1 Stunde eine starke Depression im Gaswechsel der Algen, die nach 24 bzw. 48 Stunden durch eine statistisch signifikante Absicherung nachgewiesen werden konnte. 500 ppm und 300 ppm p-HBS wurden aufgrund der erhaltenen Mittelwerte von den Algen mit geringer Einschränkung, 100 ppm vollständig toleriert.

2,4-DC-Konzentrationen von 1 ppm und 5 ppm minderten die Sauerstoffproduktion der Chlorellen im Vergleich zur Kontrolle erheblich; allerdings nahm die Assimilation im gemessenen Zeitraum zu. 10 ppm und 50 ppm setzten die O<sub>2</sub>-Produktion stark herab, und 100 ppm 2,4-DC führten zur Einstellung der Photosynthese.

2,4,5-TC-Konzentrationen von 1 ppm, 2,5 ppm und 5 ppm riefen in der Algenpopulation eine nachhaltige Minderung der Sauerstoffproduktion im Vergleich zu den Kontrollen hervor. Lösungen von 10 ppm und 50 ppm 2,4,5-TC setzten die Chlorellen offenbar einer Streßsituation aus: während in den ersten 24 Stunden nach Phenolzugabe noch O<sub>2</sub> produziert wurde, erfolgte nach 48 Stunden ein Übergang in den Minusbereich, O<sub>2</sub> wurde verbraucht. 100 ppm 2,4,5-TC schädigten die Algen in ihrer Vitalität so stark, daß sie während der Versuchsdauer keinerlei Photosynthese betrieben.

Elektronenmikroskopische Untersuchungen an *Chlorella* dienten zur Beant-

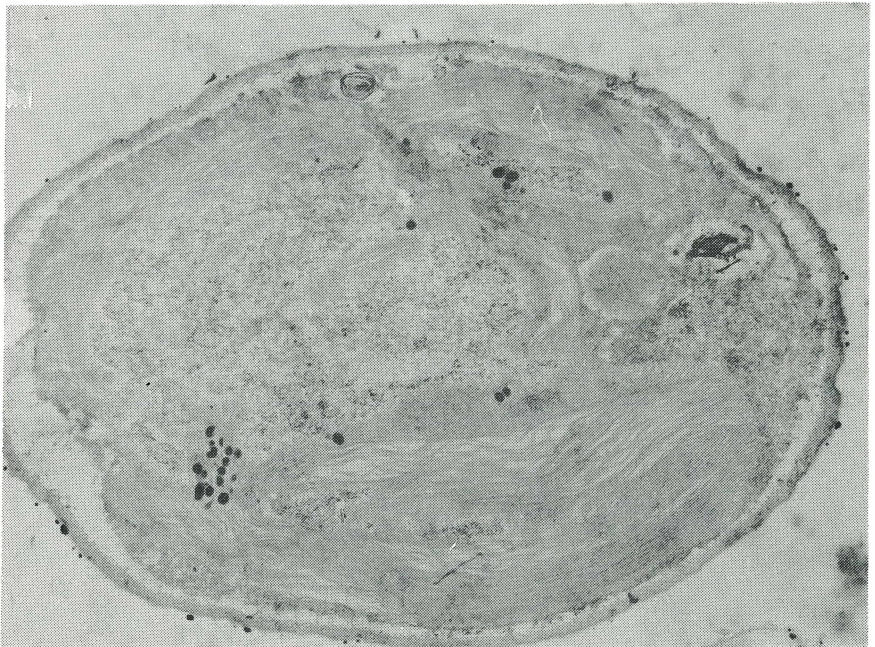


Abb. 2. *Chlorella pyrenoidosa* 211-8b nach 24 std. Einwirkung von 10 ppm 2,4,5-TC. Vergr. 16500

wortung der Frage, ob die Verminderung der Photosyntheseleistung unter Einwirkung der Chlorphenole durch zytologische Änderungen bedingt ist. Als Belege werden die elektronenmikroskopischen Aufnahmen von Chlorella nach 2,4,5-TC-Einfluß wiedergegeben (Abb. 1–4). Aus den Abbildungen ist ersichtlich, daß sich bei erhöhter Phenolzufuhr die glatte und intakte Zellwand von Chlorella mehr und mehr wellte und damit eine Kontraktion des Chloroplasten und eine Auflösung der Thylakoidstruktur einherging, d.h. der Schädigungsgrad war erwartungsgemäß um so stärker, je höher die einwirkende Phenolkonzentration.

## 2. Reduzenten

Zur Bewertung der Vitalität der Bakterien sollte gemessen werden, inwieweit durch Phenolzusatz die mit dem Abbau organischen Materials korrelierte Atmung beeinflußt wird. Dazu wurden die der Wieseck entnommenen Wasserproben mit 0,1% Pepton versetzt, um organische Substanz anzureichern und damit leichter quantitative Aussagen über Veränderungen mikrobieller Abbauprozesse durch Giftwirkung zu ermöglichen. Nach den Erfahrungen von Liebmann (1965) und Offhaus (1965) ist Pepton als organisches Additiv besonders geeignet, weil seine Abbaufolge gut bekannt ist.

Nach den durchgeführten Versuchen reagierten die Bakterienmischpopula-

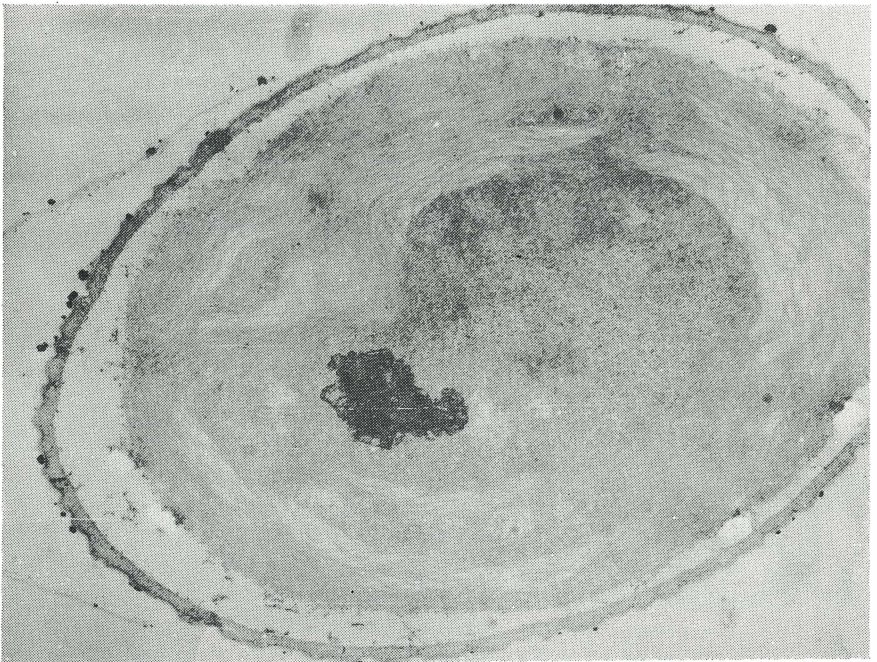


Abb 3. Chlorella pyrenoidosa 211-8b nach 24 std. Einwirkung von 50 ppm 2,4,5-TC. Vergr. 24000

tionen unterschiedlich auf die verschiedenen phenolischen Verbindungen. Die Befunde gehen aus den Abbildungen 5–8 hervor. Gleiche Schadstoffkonzentrationen verschiedener Phenole bewirkten teils eine Stimulation, teils eine Hemmung der Mikroorganismen, gemessen am Sauerstoffverbrauch. Unter Zusatz der Hydroxyverbindungen steigerten die Bakterien ihre Atmungsintensität im Vergleich zur Kontrolle, sie blieben jedoch darunter bei Zusatz der Chlorphenole.

Die Differenzen lassen sich zurückführen auf die Art und Anzahl der Substituenten und deren Stellung am Benzolring. Möglicherweise fällt bei der Zufuhr von p-HBA und p-HBS bestimmter Konzentration eine Hemmung durch Substratüberschuß weg, oder die Bakterien greifen diese Verbindungen als Kohlenstoffquellen an und erhöhen dadurch den Sauerstoffverbrauch. Ein Vergleich der Abbaukurven von 2,4-DC und 2,4,5-TC (Abb. 6, 7) zeigt zwar die gleiche Anlaufzeit, die als Adaptation der Mikroorganismen an die eingesetzte Substanz interpretiert werden kann, aber der Verlauf der Atmungskurven ist trotz gleicher Phenolkonzentration verschieden. 2,4,5-TC hemmte den  $O_2$ -Bedarf der Bakterien in stärkerem Maße als 2,4-DC. Vermutlich wird bereits durch ein Chlor-Atom der Abbau solcher Verbindungen erschwert, und der

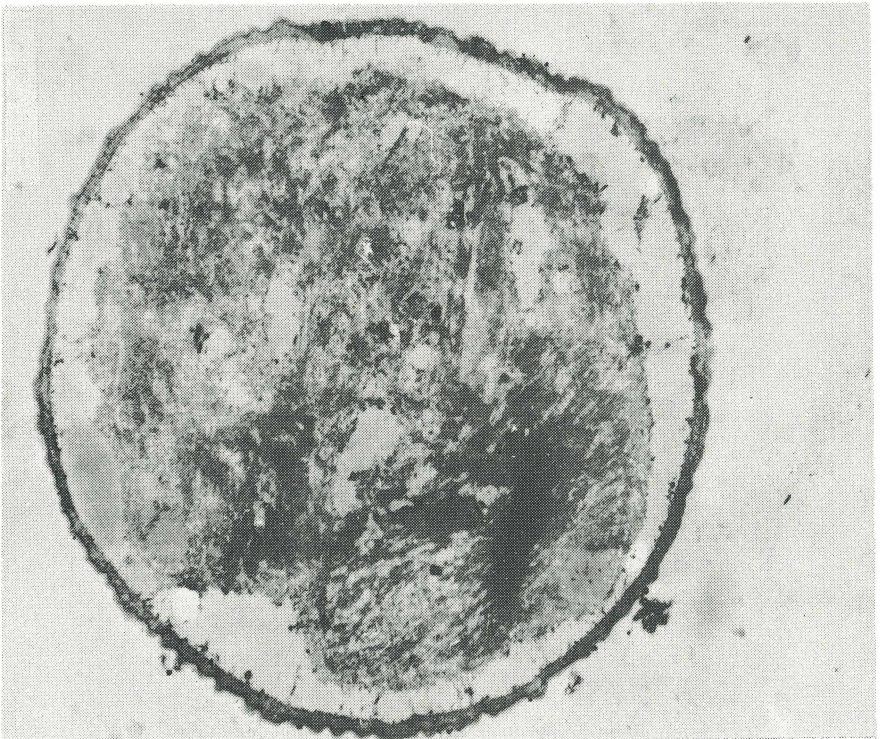


Abb. 4. *Chlorella pyrenoidosa* 211-8b nach 24 std. Einwirkung von 100 ppm 2,4,5-TC. Vergr. 20300

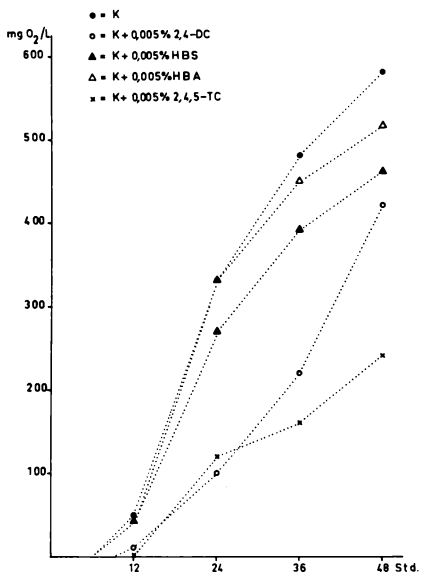


Abb. 5.

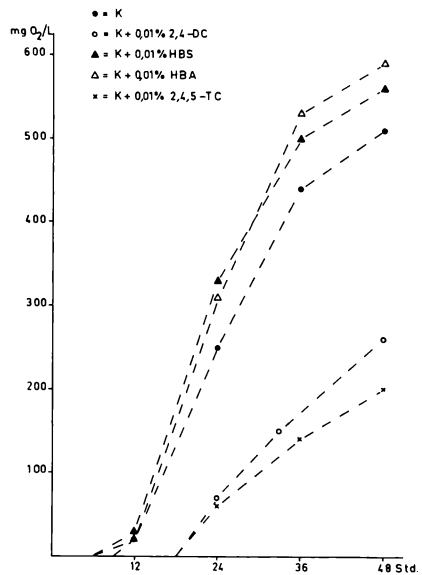


Abb. 6.

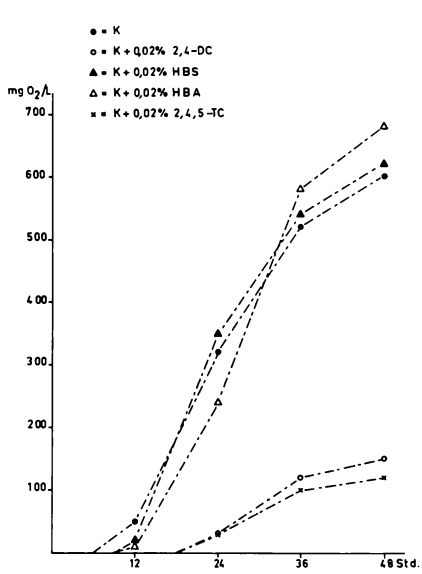


Abb. 7.

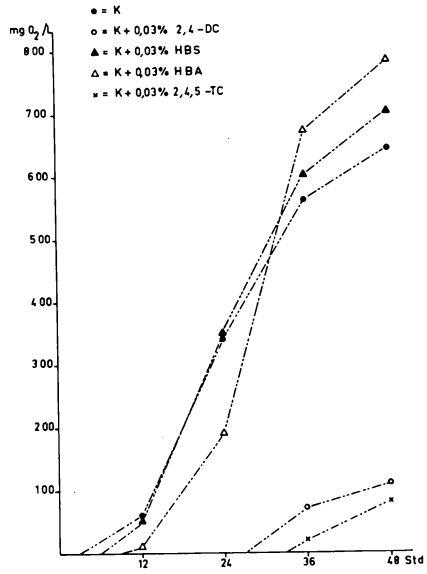


Abb. 8.

Abb. 5-8. Respirationsintensität der Bakterien in der Kontrolle und in 0,005%igen (Abb. 5), 0,01%igen (Abb. 6), 0,02%igen (Abb. 7), 0,03%igen (Abb. 8) Testlösungen von p-HBA, p-HBS, 2,4-DC und 2,4,5-TC.



Widerstand gegen die Destruktion steigt mit Chlorierungsgrad und Stellung der Chlor-Atome an. Die Toxizität bewirkt eine verringerte Respiration, die auf Schädigung der Membranstrukturen, Blockierung wichtiger Enzyme, Koagulation der Proteine und Inaktivierung von Vitaminen zurückgeführt werden kann.

## Zusammenfassung

Die Wirkung von Phenol und von phenolischen Verbindungen auf den Gasaustausch autotropher und heterotropher Planktonten wurde an *Chlorella pyrenoidosa* und an der Bakterienmischpopulation eines einheimischen Fließgewässers untersucht. Die Grünalgen reagierten auf die Testsubstanzen Phenol, p-Hydroxybenzaldehyd, p-Hydroxybenzoesäure, 2-4-Dichlorphenol und 2,4,5-Trichlorphenol empfindlicher als die Bakterien, sofern als Schädigungskriterium bei den einen die Photosynthese- bei den anderen die Respirationsaktivität gemessen wurde. Der Grad der Schädigung war nicht nur abhängig von der gewählten Phenolkonzentration, sondern bei den Derivaten außerdem von der Art der Substituenten und deren Stellung am Benzolring. Die Chlorphenole waren wesentlich aggressiver als die Hydroxyverbindungen. Im elektronenmikroskopischen Bild ergaben sich bei den Chlorellen durch Zusatz der Chlorphenole zytologische Veränderungen, die durch eine Kontraktion des Chloroplasten und eine Auflösung der Thylakoidstruktur gekennzeichnet waren.

## Literatur

- Habermehl, G. (1975): Hydrobiologische Untersuchung der Wieseck im Stadtbereich Gießen. Ingenieurabschlußarbeit der FHS Gießen.
- Herzel, F. (1972): Beurteilung der Wassergefährdung bei Pflanzenschutzmitteln. *Schr. Reihe Ver. Wass.-Boden-Lufthyg.* 37: 17–20.
- Koppe, P. & J. Traud, (1974): Untersuchungen über phenolartige Stoffe in Wässern. *Gewässerschutz-Wasser-Abwasser* 10: 345–365.
- Liebmann, H. (1965): Über die Grundlage der Abwasserphysiologie. *Die Wasserwirtschaft* 55: 1965.
- Loos, M.A. (1970): In: Handbuch der Lebensmittelchemie, S. 866, Berlin.
- Maier-Bode, H. (1971): Herbizide und ihre Rückstände, Stuttgart.
- Offhaus, K. (1965): Die Bewertung von Abwasser unter Besonderer Berücksichtigung des biologisch abbaubaren Anteils und der Toxizität. *Die Wasserwirtschaft* 55.
- Tjan, H.G. u. Th. Konter, (1972): Thin layer chromatographic identification of preservatives in food. *J. Assoc. Offic. Anal. Chemists* 55: 1223–1225.

Anschrift des Verfassers:

Dr. Susanne Vogel, Seminar für Didaktik der Biologie der Justus Liebig-Universität, Karl-Glöckner-Strasse 21C, 6300 Gießen

# ZOBODAT - [www.zobodat.at](http://www.zobodat.at)

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Verhandlungen der Gesellschaft für Ökologie](#)

Jahr/Year: 1977

Band/Volume: [6\\_1977](#)

Autor(en)/Author(s): Vogel Susanne

Artikel/Article: [Der Einfluß von Phenol und von phenolischen Verbindungen auf den Gaswechsel autotropher und heterotropher Planktonten 361-369](#)