

5. Zusammenfassung

1. In der vorliegenden Arbeit wurde eine THF abbauende Mischkultur mit *in situ* vorkommenden THF-Konzentrationen ≥ 50 mM kultiviert und das für den THF-Abbau verantwortliche Bakterium isoliert.

2. Die Mischkultur bestand aus vier verschiedenen bakteriellen Isolaten, von denen drei Gram-negativ und eins Gram-positiv färbten. Das Gram-positive Isolat Stamm K1 war allein für den beobachteten THF-Abbau verantwortlich. Erste taxonomische Untersuchungen dieses THF abbauenden Bakteriums erlaubten dessen Zuordnung in die Familie *Pseudonocardiaceae* (Ordnung *Actinomycetales*). Durch Sequenzierung der 16S rDNA konnte der Stamm als eine Art der Gattung *Pseudonocardia* identifiziert werden. Vergleiche mit Datenbanken ergaben eine 99 %ige Sequenzhomologie zu dem erst kürzlich beschriebenen *Pseudonocardia sulfidoxydans*.

3. Der in dieser Arbeit isolierte und taxonomisch charakterisierte *Pseudonocardia* Stamm K1 wuchs mit THF in Mineralmedium als einziger Kohlenstoff- und Energiequelle bis zu Konzentrationen von 70 mM. Dies ist eine signifikante Steigerung zu den bisher beschriebenen bakteriell verstoffwechselten THF-Konzentrationen.

Damit wurde ein Bakterium beschrieben, das das Potential besitzt, in mit THF stark verunreinigten Abwassern zur Reinigung eingesetzt zu werden und Stoßbelastungen zu tolerieren. Die Fähigkeit des THF-Abbaus wird stabil weitervererbt. Untersuchungen des Substratspektrums zeigten weiterhin, daß das isolierte Bakterium auch noch andere Ether, wie Diethylether, als einzige Kohlenstoff- und Energiequelle nutzen kann. Auch Toluol wird als einzige Kohlenstoff- und Energiequelle genutzt.

4. Im postulierten THF-Abbauweg soll eine Monooxygenase den einleitenden Schritt katalysieren (Bernhardt und Diekmann, 1991). Durch Wachstumsversuche und Aufnahme von Differenzspektren wurde ausgeschlossen, daß eine Cytochrom-P-450-Monooxygenase im THF-Abbauweg des isolierten *Pseudonocardia* Stamms involviert ist. Weitere enzymatische Untersuchungen ergaben, daß ein THF-Abbau in ruhenden und permeabilisierten Zellen, nicht aber in Rohextrakten, auch wenn sehr unterschiedliche Testbedingungen gewählt wurden, detektiert wurde. Weitere enzymatische Arbeiten gingen von der Tatsache aus, daß Oxygenasen eine Oxygenase- und eine Reduktasekomponente besitzen. Für die Messung von NADH abhängigen Reduktaseaktivitäten mit künstlichen Elektronenakzeptoren wurden Zellen des isolierten *Pseudonocardia* Stamms mit THF oder

Succinat als einziger Kohlenstoff- und Energiequelle angezogen, die Rohextrakte an einem Anionenaustauscher chromatographiert und die Fraktionen mit verschiedenen Elektronenakzeptoren überprüft. Es konnte nachgewiesen werden, daß Zellen, die mit THF angezogen worden waren, eine zusätzliche NADH abhängige Cytochrom-c-Reduktaseaktivität besaßen. Mit Succinat angezogene Zellen besaßen diese nicht.

5. In Trägeradsorptionsversuchen wurde die höchste Trägerbeladung mit Zellen des in dieser Arbeit isolierten *Pseudonocardia* Stamms mit einem ungeladenen hydrophoben Trägermaterial erreicht. Es wurde auch gezeigt, daß dieses Bakterium mittels Alginateinschlußverfahren immobilisiert werden konnte und daß es seine THF-Abbaufähigkeit durch den Einschluß nicht verlor.