MYKOREMEDIATION II- DIE TREIBSTOFF-FRESSENDE PILZBARRIERE

Jugend Forscht, Regionalwettbewerb 2021, Nordrhein-Westphalen

St. Michael Gymnasium, 53902 Bad Münstereifel

Projektbetreuer: Dennis Nebe

Projektteilnehmer: Johanna Bungart (24.01.2002), Hannah Wagner-Gillen (21.12.2002)

Inhalt

Einleitung 2
Planung des Baus für die Barriere 2
Entwickelung der Ringe 4
Ermittlung der genauen Leistung beim Trennen mittels silikonisierter Baumwolle 5
Ergebnisdiskussion 6
Chemische Hintergründe der Zersetzung 7
Aufsaugen oder Abbau? 7
Versuchsreihe zum Abbaupotential 7
Geruchsprobe 7
Gasentwicklung 7
Kalkwasserprobe 8
Was sagt die Forschung? 9
Zusammenfassung 10
Ausblick 10
Unterstützer 11
Quellen 11
Webadressen 11
Literaturverzeichnis 11
Abbildungsverzeichnis 12
Anhang 13
Vorausgegangene Versuchsreihen und gewonnen Forschungsergebnisse 13
Klonierung des Pilzmyzels 13
Toleranztest der Schmetterlingstrammete auf Öl und Benzin 15
Entwickelung eines Ökologietests zur Bestimmung des Reinigungspotentials 16

Einleitung

Ziel unseres Projektes ist es, die Verschmutzung der Meere durch raffinierte Öle, wie Diesel oder Rohöl, zu bekämpfen, indem wir das Abbaupotential von terrestrischen Baumpilzen (Mykoremediation) nutzen um auftretende Verschmutzungen nicht nur einzudämmen, sondern möglichst komplett unschädlich zu machen und abzubauen.

Um diese Problemstellung möglichst effizient zu lösen, teilten wir unser Projekt in zwei Teile auf.

Im ersten Teil unseres Forschungsprojektes ermittelten wir sowohl die optimalen Wachstumsbedingungen der Schmetterlingstrammete (einem Baumpilz, der in der Fachliteratur[1] bereits als Destruent für chemische und biologische Schadstoffe erwähnt wurde und zudem in den deutschen Wäldern heimisch ist) als auch die Toleranz des Pilzmyzels gegenüber Kontaminationen mit verschiedensten Treibstoffarten. Darüber hinaus entwickelten wir eine Methode für ein möglichst effektives Klonieren des Pilzmyzels für weitere Versuche (siehe Anhang).

Die Herausforderung, die wir in diesem zweiten Teil der Arbeit angehen, ist nun die Konstruktion einer schwimmfähigen, modular erweiterbaren Barriere, die Öle und Kraftstoffe aktiv aufnehmen und abbauen kann, sich gleichzeitig aber nicht mit Meerwasser vollsaugt. Hierzu verfolgen wir derzeit einen Ansatz mit silikonisierter Baumwolle als Behältnis.

Planung des Baus für die Barriere

Aktuell werden als Methoden der Bekämpfung von Ölverschmutzungen oftmals Sperren genutzt, um die flächendeckende Ausbreitung des Öles zu verhindern. In den meisten Fällen werden die Sperren von Fahrzeugen geschleppt, um die Ölteppiche einzudämmen. Meist ist diese konventionelle Methode gekoppelt mit dem Nutzen von Skimmern. Dabei wird das verunreinigte Wasser aufgenommen, indem ölabsorbierende Walzen von der Ölschicht umströmt werden. Abschließend wird das wasserhaltige Öl abgepumpt und von Separatoren größtenteils getrennt.

Wir wollten uns an dem Bau für die Ölbarriere an beiden vorhandenen Modellen orientieren. Somit beschlossen wir eine Barriere zu entwickeln, die zuerst die kontaminierten Wasseroberflächen räumlich eingrenzt und in der dann die Schadstoffe direkt über das Myzel der Schmetterlingstrammete aufnehmen kann.

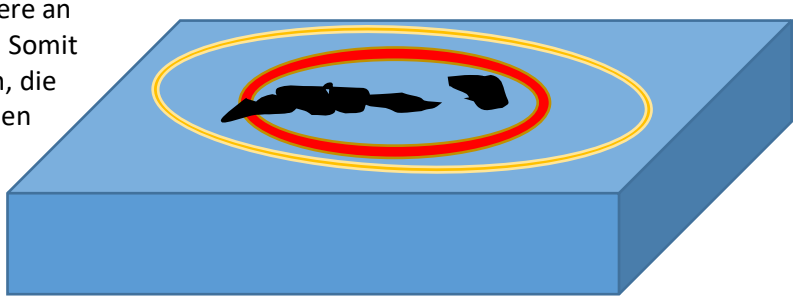
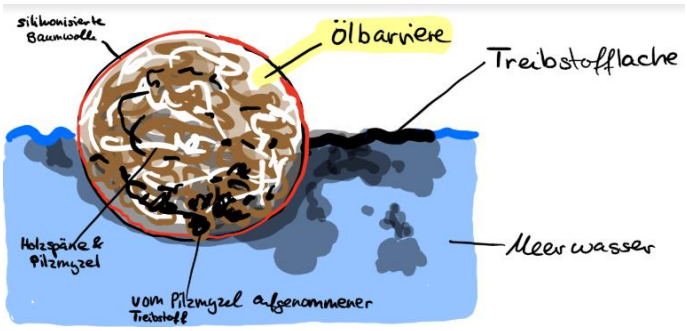


Abbildung 1: Skizze der Barriere

Der Grundaufbau besteht aus Ringen unterschiedlicher Größen, die jeweils mit dem Pilzmyzel befüllt sind. Um das verschmutzte Gebiet herum legt man nun zunächst zwei größeren Ringe als „Barriere“ (ähnlich den kommerziell genutzten Ölsperren). Die Besonderheit ist jedoch nun, dass man den inneren der beiden Ringe zusammenziehen kann, sodass die Öllache auf einen engeren Raum eingegrenzt wird. Somit kann sich



[1] Vgl. Cotter, „Organic Mushroom Farming and Mycoremediation“ (S.351)

nun der innere Ring mit dem Öl vollsaugen, während der äußere Ring die Ausbreitung der Lache verhindert. Sobald der innere Ring sich vollgesogen hat, kann ein weiterer äußerer Ring angelegt werden, der bisherige äußere Ring wird nun zum Inneren und kann nun wieder zusammengezogen werden, um die kontaminierte Fläche noch weiter einzugrenzen. Dieses Prinzip kann so lange wiederholt werden, bis das Myzel das gesamte Öl absorbiert hat. Das Myzel innerhalb der vollgesogenen Ringe kann nun (abseits vom Wasser) den Schadstoff zersetzten.

Jedoch muss die Ummantelung der Ringe in der Lage sein, die umzusetzenden Lipide vom Meerwasser zu trennen. Dazu erprobten wir die Eignung von silikonisierter Baumwolle.

Entwickelung der Ringe

Überprüfung der lipophilen und hydrophoben Eigenschaften silikonisierter Baumwolle

Bei der Suche nach einer geeigneten Trennungsmethode der umzusetzenden Lipide von Wasser stießen wir also auf das Trennungsverfahren mittels silikonisierter Baumwolle. Zur Herstellung von silikonisierter Baumwolle kann im kleinen Maßstab (Modell) handelsübliches Silikonspray in einem ungefähren Abstand von 5 bis 10 cm auf eine unbehandelte Baumwoll-Stoffträgerschicht aufsprüht werden. Das Endprodukt besitzt laut Literatur die Eigenschaft, dass Lipide von außen in die Baumwolle eindringen können, während Wasser die Baumwolle nicht durchdringt - gute Voraussetzungen also, für das Trennen von Öl-Wassergemischen und Benzin-Wassergemischen, die beispielsweise auf dem Ozean vorkommen. Um dies zunächst zu testen haben wir beschlossen erstmal einen Vortest zu starten, der uns verraten sollte, ob unser gewähltes Trennungsverfahren geeignet ist. Der Vortest besteht aus der Baumwolle, die wir, wie oben beschrieben, silikonsiert haben, einem Wasser-Öl- und einem Wasser-Benzingemisch, in welche jeweils ein Bündel des Stoffes gelegt wird. Der Stoff, der zu einem Bündel gerollt und mit Sägespänen gefüllt ist, wird allerdings erst auf seine Wasserdichtigkeit getestet. Dazu haben wir ihn erstmal in Wasser gegeben.Ein Indikator für die Wasserdichtigkeit der Baumwolle sind die Sägespäne auf der Innenseite. Nachdem der Stoff ca. 10 Minuten im Wasser gelegen hat, so unsere Prognose, sollten die Sägespäne in dem Stoff immer noch trocken sein.

Abbildung 3: Vollgesogene Sägespäne

Wie Abbildung 3 erkennen lässt, sind die zu prüfenden Sägespäne genauso gefärbt, wie die trockenen Sägespäne, sie sind trocken geblieben. Daher kann man sagen, dass der Stoff wasserdicht ist. Jedoch haben wir auch bemerkt, dass sich auf dem Wasser ein leichter Silikonspray-Film ansammelte (siehe Abbildung 4), woraufhin wir die Menge an Silikonspray, die wir auf die Baumwolle aufgetragen hatten, verringert haben.

Abbildung 4: Silikonfilm auf dem Wasser

Daraufhin haben wir dann weitere Versuche (siehe Abbildung 5) zur groben Aufnahmefähigkeit getätigt.

Hierbei stellten wir fest, dass sich, sowohl bei dem Wasser-Öl-Gemisch, als auch beim Wasser-Benzin-Gemisch, die Sägespäne in dem Bündel mit Öl bzw. Benzin vollgesogen haben. Als weiteren Indikator konnten wir eine Verminderung der Öl- bzw. Benzinschicht auf dem Wasser feststellen. Hier soll vor allem aber die Verfärbung durch das Öl bzw. den Benzin bildlich festgehalten werden, da diese hier einen sichtbaren Indikator darstellt.

Abbildung 5

Hier sieht man die Sägespäne, die sich mit Benzin vollgesogen haben, die im Vergleich zu den trockenen Sägespänen (rechts) rötlicher wirken.

In Abbildung 6 lässt sich erkennen, dass sieht man die Sägespäne, die sich mit Öl vollgesogen und in Großaufnahme rechts, bei der man eine erhöhte Luminanz sehen kann.

Abbildung 6

Ermittlung der genauen Leistung beim Trennen mittels silikonisierter Baumwolle

Bei dem nachfolgenden Test mussten wir die Aufnahmefähigkeit testen, da mit unserem ersten Testergebnis keine Aussage darüber gemacht werden konnte, wieviel Öl bzw. Benzin tatsächlich aufgenommen wurde.

Abbildung 7: Zweit Versuchsreihe

Sägespänen konnten wir genau bestimmen, dass Benzin viskos genug ist um aufgenommen zu werden, während das Wasser nicht aufgenommen wird. Die Menge des aufgenommenen Benzins während des 10-minütigen Tests beläuft sich auf zirka 35 ml und das Benzin wurde somit fast gänzlich aufgenommen (Bild oben links).

Der Wasserstand hat sich bei zwei Versuchsdurchläufen nicht verändert, während der Benzinstand (Bild oben rechts) sich geändert hat.

Abbildung 8: Verklebte Poren

Das viskosere Öl konnte in diesem Versuch jedoch nicht bzw. nur wenig aufgenommen werden. Dies liegt vermutlich daran, dass das Öl die Poren verklebt hat (Abbildung 8), auch wenn bei dem 10-minütigen Versuch durch ein Leck im Baumwollbehälter Wasser aufgenommen wurde. Es wurde nur wenig Öl dadurch aufgenommen, aber es ist zu vermuten, dass das Öl nicht wie erhofft durch die silikonisierte Baumwolle eingedrungen ist.

Dass das Öl bei dem ersten Experiment die Baumwolle durchdringen konnte hat vermutlich mit vergleichend geringeren Viskosität des Öls zu tun, da es sich um Öl aus einer anderen Quelle handelte. Daher muss für die Trennung des viskoseren Altöls vom Wasser, sowie generell für viskosere Lipide, eine andere Trennungsmethode verwendet werden.

Abbildung 9: Vergleich von Öl und Benzin

Ergebnisdiskussion

Da das von uns verwendete Altöl viskoser ist als Benzin (Viskosität von ca. 0,53 mm²/s (20 °C)[2]) verstopft es die Poren der silikonierten Baumwolle. Somit kann nicht genug Altöl in die Baumwoll-Röhre gelangen und auch nicht von dem Pilzmyzel aufgenommen bzw. abgebaut werden.

Unserer Ölbarriere dient somit hauptsächlich der Aufnahme und dem Abbau von Treibstoffen, wie bspw. ausgelaufenem Benzin. Auch Diesel kann durch die silikonierte Baumwolle gelangen, da es eine noch niedrigere Viskosität besitzt, als Benzin (Viskosität von ca. 2,0 … 4,5 mm2/s (40 °C)[3]). Da Treibstoffe wie diese meistens in Hafenbecken auslaufen, spezifiziert sich auch das Einsatzgebiet der Pilzbarriere: Wir können sie nutzen, um Treibstofflecks in Hafennähe aufzusaugen und die Schadstoffe abzubauen.

[2] Vgl. Die Chemie-Schule, Motorbenzin, 2020
[3] Vgl. Wikipedia, Dieselkraftstoff, 29.12.2019

Chemische Hintergründe der Zersetzung

Aufsaugen oder Abbau?

Eine Frage, die wir uns natürlich stellten, ist, wie wir feststellen können, ob die Pilze das Öl auch tatsächlich vollständig abbauen und nicht nur aufsaugen. Dazu verweisen wir in erster Linie auf die Ergebnisse unserer Literaturrecherchen. Jedoch haben wir auch eine kleinere Versuchsreihe im Rahmen der uns zur Verfügung stehenden Möglichkeiten zum Abbaupotential der verschiedenen Schadstoffe entwickelt.

Versuchsreihe zum Abbaupotential

Geruchsprobe

Im ersten Teil unserer Versuchsreihe kontaminierten wir Buchenholzsägespäne, die mit Myzel beimpft wurden, und normale Buchenholzsägespäne mit Treibstoff. Nach einer Inkubationszeit von fünf, zehn und 20 Tagen verglichen wir jeweils den Geruch der beiden Proben. Bereits nach zehn Tagen war ein deutlicher Unterschied zwischen den beimpften Spänen und den unbeimpften Spänen erkenntlich. Der Treibstoffgeruch hatte bei den Myzelsägespänen stark abgenommen. Daraus können wir schließen, dass ein Teil des Treibstoffes tatsächlich abgebaut und in Biomasse und geruchsneutrales CO_2 umgewandelt worden ist. Jedoch sind diese Tests natürlich von unserem subjektiven Geruchsempfinden abhängig; wir können sie als Indiz betrachten, doch die Daten sind wissenschaftlich weder aussagefähig noch statistisch abgesichert.

Abbildung 10:Versuchsaufbau bei Untersuchung der Gasentwicklung

Gasentwicklung

Im zweiten Teil der Versuchsreihe hofften wir darauf, dass die Pilze beim Abbau der Schadstoffe messbare Mengen an CO_2 bilden und wir so durch die Menge an entstandenem Gas einen Rückschluss auf die Abbaurate und den generellen Abbau treffen konnten. Dazu füllten wir sowohl mit Myzel beimpfte Sägespäne als auch unbeimpfte Späne in Kolben. Dann kontaminierten wir die Spritzen mit verschieden Treibstoffen: Diesel, Lampenöl, Maschienöl, Benzin und Heptan. Als Kontrollgruppen nutzen wir Luft, Süßwasser und Salzwasser. Nach einer Inkubationszeit von fünf, zehn und 20 Tagen verglichen wir den Kolbenstand der Spritzen.

Leider bewegten sich die Kolben der Messpritzen aufgrund des zu niedrigen Gasgehaltes gar nicht, aber beim Öffnen machten die Spritzen mit Myzel und Treibstoff ein hörbares „Plopp“. Dabei war bei den Ölen das „Plopp“ leiser als bei Benzin, Diesel und Heptan. Im Vergleich dazu gaben die Kontrollspritzen beim Öffnen kein „Plopp“ von sich.

Das abgegebene Geräusch lässt trotz dem unveränderten Stand der Kolben auf die Entwicklung eines Gasgehaltes und damit den Abbau der Schadstoffe schließen. Allerdings sind auch hier die Ergebnisse nicht quantifizierbar.

Kalkwasserprobe

Abbildung 11:Versuchsaufbau bei Untersuchung welches Gas sich entwickelt

In unserem zweiten Versuch zum Nachweis des Abbaupotentials führten wir eine Kalkwasserprobe durch, dazu kontaminierten wir, mit Pilzmyzel beimpften Buchenholzsägespäne mit jeweils Benzin oder Diesel. Diese Kolben, verbanden wir mit mit Paraffin gefüllten Röhrchen welche oben offen waren, so dass sich das Paraffin durch die Enstehung von Gas verschoben wird. Bei den kontaminierten Kolben verschob sich das Paraffin mehr als bei den Kolben in denen sich ausschließlich Sägespäne mit Myzel befand. Das beweist das Gas beim Abbau ensteht und das Benzin oder Diesel von dem Pilz als Nahrung bevorzugt wird, da es eine einfachere Kohlenstoff Quelle ist.

Daraufhin zogen wir das enstandene Gas mit einer Spritze auf und führten damit die Kalkwasserprobe durch. Die Kalkwasserprobe ist eine Nachweisreaktion, mit der Kohlenstoffdioxid nachgewiesen werden kann. Dazu wird Calciumdioxid in Wasser gelöst und es ensteht Kalkwasser (Ca(OH)2(aq)). Bei dem Einleiten von Kohlenstoffdioxid in Kalkwasser ensteht Calciumcarbonat, das Kalkwasser trübt sich. Als Nebenprodukt der Reaktion ensteht Wasser. Bei den Spritzen welche das Gas von den kontaminierten Kolben beinhalteten, färbte sich das Lösungsmittel trüb. Das ist der Beweis dafür dass das Gas welches bei dem Abbau enstanden ist Kohlenstoffdioxid ist.

$$\mathrm{Ca(OH)_{2(aq)} + CO_{2(g)} \rightarrow CaCO_{3(s)} + H_2O_{(l)}}$$

Abbildung 12:Kalkwasserproben Formel

Abbildung 14:Kalkwasserprobe

Abbildung 13:Myzel

Was sagt die Forschung?

Die Schmetterlingstrammete ist ein sogenannter saprophylic mushroom[4], und gehört zur Gattung der White Rot Fungi.[5] Sie lebt und ernährt hauptsächlich von toten oder beinahe toten Bäumen, und baut so in ihrem natürlichen Habitat vor allem Lignin, aber auch Cellulose und auch Hemicellulose ab. Lignin ist ein Polymer, dass in der Zellwand eingebaut, zur Verholzung dieser führt. Es besteht aus phenolischen Makromolekülen und somit unter anderem aus aromatischen Kohlenstoffverbindungen[6]. Benzin und Diesel bestehen ebenfalls aus komplexen Kohlenstoffketten, wobei Benzin meist ein Gemisch aus verschiedenen aromatischen-und nicht aromatischen Verbindungen[7] ist. Diesel dagegen ist ein Kerosingemisch[8].

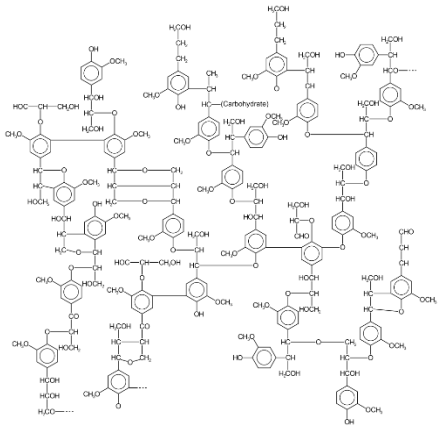


Abbildung 15: Chemische Struktur von Lignin

Laut der Fachliteratur ist die gesamte Gattung der White Rot Fungi (und damit auch die Schmetterlingstrammete) dazu in der Lage, große und unlösliche Moleküle sowie Schadstoffe durch das Ausscheiden verschiedener Säuren und Enzyme zu zersetzten und größtenteils in CO_2 und eigene Biomasse umzuwandeln. Insbesondere können diese Pilze Chemikalien mineralisieren, die selbst bereits oxidiert wurden. Dazu zählen nicht nur das Lignin der Bäume sondern auch die oben erwähnten Treibstoffe.

Diese Fähigkeit des Pilzes lässt sich durch seine Verdauung erklären. Um das Lignin (seine Nahrung) zu zersetzten schüttet der Pilz Peroxide aus (denn die Oxidation der jeweiligen Stoffe ermöglicht dem Pilz die Nahrungsaufnahme derer). Ein generell dabei ablaufender Mechanismus ist in Abbildung 12 dargestellt. Die Schmetterlingstrammete schüttet eine Perioxidase aus, ein Enzym, das die Zersetzung von Oxiden katalysiert. Diese Enzyme entstehen automatisch in dem Pilz während des Sekundärstoffwechsels. Eine hohe Konzentration der Nährstoffe, wie Kohlenstoff und Stickstoff, fördern die Synthese und Ausstoßung dieser Enzyme, sodass der Pilz die Nährstoffe besser zersetzten kann. Dabei liegt dieses Enzym in einer deaktivierten Form vor. Durch das Vorhandensein der Nahrungsquelle (sei es Lignin oder ein Schadstoff) wird dieses Enzym aktiviert. Das Enzym wird in Folge zweifach oxidiert, die Elektronen werden durch einen Hydroxyperoxid transportiert und aufgenommen. Dadurch entsteht das dagestellte „compound I". Dieses Zwischenprodukt kann nun einfach reduziert werden- von den Chemikalien, die in der Umgebung vorhanden sind. Diese Chemikalie wird somit oxidiert, und kann das entstandene „ compound II" zu der Form des ursprünglichen Enzymes zurück reduzieren. Dadurch wurde die Chemikalie (zumindest teilweise) oxidiert. Die Peroxide die bei der Zersetzung von Lignin verwendet werden sind insofern besonders, als das sie ein besonders hohes Oxidationspotential besitzen. Somit können sie eine größere Bandbreite an Chemikalien oxidieren und damit zersetzen. Weil Lignin selbst ein sehr oxidierter Stoff

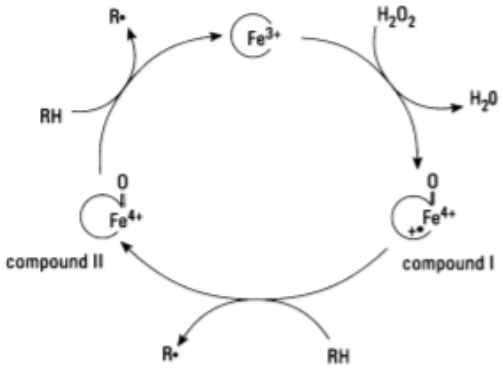


Abbildung 16: Aktivierung des Enzyms und erste Oxidation der Chemikalie

[4] Vgl. Emuh, „Mushrooms as a purifier of crude oil polluted soil" (s.127)
[5] Vgl. Wikipedia, Schmetterlingstrammete, 31.10.2020
[6] Vgl. Wikipedia, Lignin, 5.11.2019
[7] Vgl. Wikipedia, Motorbenzin, 24.12.2019
[8] Vgl. Wikipedia, Dieselkraftstoff, 22.11.2019

ist, müssen jedoch auch danach freie Radikale angewendet werden, um den Stoff zu komplett oxidieren. Dies gilt auch für viele Chemikalien.

Andere Chemikalien werden mutmaßlich in indirekte Oxidation durch ein kationisches Radikal des Veratrylalkohls zersetzt. Jedoch findet dieser Prozess meistens nur statt, wenn die oben beschriebenen Enzyme inhibiert sind. Bei TNT und DDT findet die Oxidation durch verschiede Mechanismen innerhalb der Pilzmembran statt. Somit kann der Stoff zunächst von manganbasierenden Peroxiden oxidiert und danach von den ligniden Peroxiden zersetzt.

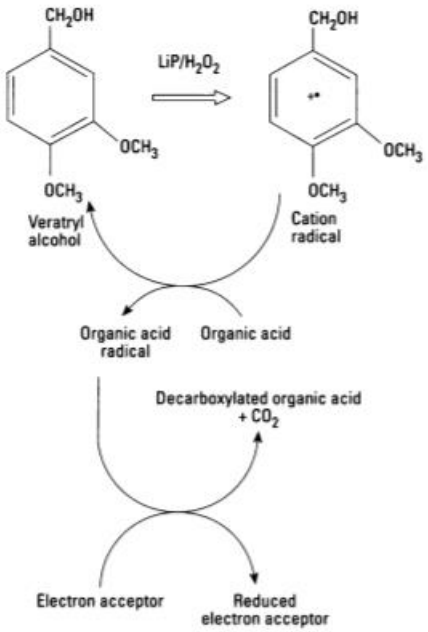


Abbildung 17: Verschiedene Mechanismen, die Oxidation zu unterstützen

Generell gibt es viele unterschiedliche Mechanismen für das katalysieren und unterstützen der Mineralisation der Schadstoffe. Welche katalytischen Funktionen genutzt werden hängt von den Eigenschaften der Chemikalien ab. [9] Jedoch kann für Benzin und Diesel davon ausgegangen werden, dass aufgrund der hohen Oxidationspotentiale (Treibstoffe sind Brandbeschleuniger) die Zersetzung relativ „einfach“ ablaufen würde.

Die Abbaurate der Schadstoffe unterscheidet sich ebenfalls je nach Chemikalientyp und Masse des Pilzes. Nach Schenker (2014) werden innerhalb von 50 Tagen Inkubationszeit polyzylklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAH) von dem Pilzmyzel der White Rot Fungi zu mehr als 97% CO_2 und andere, mindere Stoffe zersetzt.

Da jedoch Benzin und Diesel eine tendenziell weniger komplexe Struktur aufweisen als die PAH, können wir auch hier von einer höheren Abbaurate ausgehen. Die Abbaurate ließe sich in weiteren Versuchen ebenfalls noch untersuchen, da die Nährstoffe in den Hyphen der Pilze aufgenommen werden. Anhand der Größe der Hyphen könnte man so Aussagen über die Abbauzeit treffen.

Zusammenfassung

Durch unser Projekt konnten wir einen tiefgreifenden Einblick in die Vorgänge der Mykoremediation erlangen und haben erforschen können inwiefern dieser Mechanismus dazu genutzt werden kann, Rohöl und Treibstoffe (wie Benzin und Diesel) abzubauen.

Wir entwickelten ein Design für eine praktisch anwendbare Schwimmbarriere, die eine Treibstofffläche nicht nur räumlich eingrenzen, sondern den Schadstoff auch direkt aufsaugen und anschließend zersetzten kann. Ferner können wir nun anhand der Literaturrecherchen genauer verstehen, wie der Abbauprozess funktioniert.

Ausblick

Im weiteren Verlauf würden wir die Ölbarrieren gerne unter Umweltbedingungen auf ihre Stabilität testen, um die Anwendbarkeit bestmöglich zu gewährleisten.

[9] Vgl. Aust, „Mechanisms of Degradation by White Rot Fungi“

Eine weitere Fragestellung, der wir uns widmen möchten, ist die tatsächliche Abbauzeit, die das Pilzmyzel benötigt um das Benzin bzw. das Rohöl vollständig zu zersetzten. Lösungsansätze für dieses Problem bieten eine genauere Messung des bei der Zersetzung entstehenden Gases (Volumen im Vergleich zum Zeitraum der Zersetzung) oder eine Analyse des Zersetzungsprozesses indem wir den übrigen Gehalt des Öles innerhalb des Pilzmyzels untersuchen. Dazu Verfolgen wir Ansätze wie die Datenermittlung durch Massenspektroskopie bzw. Gaschromatographie im Rahmen einer Universitätskooperation.

Des Weiteren planen wir weitere Alternativen zu der Trennung weniger viskoser Lipide von Wasser zu testen und geeignete Materialüberzüge für das Myzel zu entwickeln. So könnten wir den Nutzen die Barriere auch auf andere Schadstoffe ausweiten.

Unterstützer

- Dennis Nebe, Biologielehrer und Projektbetreuer
- KfZ- Technik Dorweiler (stellte uns Rohöl und Benzin für unsere Versuche zur Verfügung)

Quellen

Webadressen

2. Die Chemie-Schule unter: https://www.chemie-schule.de/KnowHow/Motorenbenzin; zuletzt eingesehen am 11.01.2020

3. Wikipedia unter: https://de.wikipedia.org/wiki/Dieselkraftstoff; zuletzt eingesehen am 11.01.2020

5.Wikipedia unter: https://de.wikipedia.org/wiki/Schmetterlings-Tramete; zuletzt eingesehen am 11.01.2020

6. Wikipedia unter: https://de.wikipedia.org/wiki/Lignin; zuletzt eingesehen am 11.01.2020

7. Wikipedia unter: https://de.wikipedia.org/wiki/Motorenbenzin#Herstellung, zuletzt eingesehen am 11.01.2020

8. Wikipedia unter: https://de.wikipedia.org/wiki/Dieselkraftstoff, zuletzt eingesehen am 11.01.2020

Literaturverzeichnis

1. Fachliteratur, „Organic Mushroom Farming and Mycoremediation“, Tradd Cotter, 14.09.2014, Chelsea Green Publishing

4. Wissenschaftliche Veröffentlichung, „Mushroom as a purifier of crude oil polluted siol“,F.N.Emuh, 2010, International Journal of Science and Nature

9. Wissenschaftliche Veröffentlichung, „Mechanisms of Degradation by White Rot Fungi“, Steven D. Aust, 1995

10. Wissenschaftliche Veröffentlichung, „Egological Remediation Using Bacterial, Fungal and Plant Microcosms: An Effective Solution for Bunker C Crude Oil Contaminations in Waterways“, Jakob E. Schenker, 2014

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Skizze der Barriere....2
Abbildung 2: Querschnitt der Barriere....2
Abbildung 3: Vollgesogene Sägespäne....4
Abbildung 4: Silikonfilm auf dem Wasser....4
Abbildung 5....5
Abbildung 6....**Error! Bookmark not defined.**
Abbildung 7: Zweite Versuchsreihe....5
Abbildung 8: Verklebte Poren....6
Abbildung 9: Vergleich von Öl und Benzin....6
Abbildung 10:Versuchsaufbau bei Untersuchung der Gasentwicklung....7
Abbildung 11: Chemische Struktur von Lignin, unter https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/e/ee/Lignin_structure.svg/525px-Lignin_structure.svg.png....9
Abbildung 12: Aktivierung des Enzyms und erste Oxidation der Chemikalie, unter file:///C:/Users/hawag/Downloads/mechanisms%20of%20degradation%20by%20wr-fungi.pdf....9
Abbildung 13: Verschiedene Mechanismen, die Oxidation zu unterstützen, unter file:///C:/Users/hawag/Downloads/mechanisms%20of%20degradation%20by%20wr-fungi.pdf....10

Anhang

Vorausgegangene Versuchsreihen und gewonnen Forschungsergebnisse

Klonierung des Pilzmyzels

Um das Myzel der Schmetterlingstrammete zu klonieren mussten zunächst die Wachstumsbedingungen optimiert werden. Wir starteten einen Blindversuch, in dem wir Kartoffelagar (aufgrund Angaben in der Fachliteratur[10]) als Nährboden verwendeten. Ziel war es, nach diesem Blindversuch die dabei kultivierten Hyphen, die von dem Stammmyzel aus wuchsen, zu entnehmen um diesen „reinen“ Teil des Gewebes zur Weiterzüchtung auf sterilem Reis zu kultivieren.

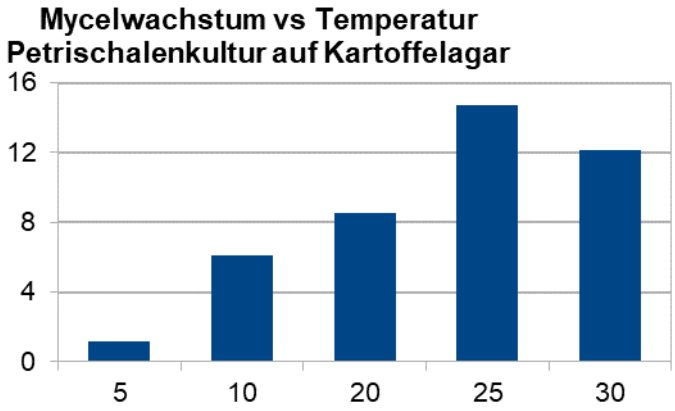
Drei von fünf isolierten Proben enthielten Hyphen, die aus dem Ausgangsgewebe gewachsen waren, jedoch wollten wir diese Statistik durch Optimierung der Wachstumsbedingungen (dem Nährboden und der Temperatur) verbessern.

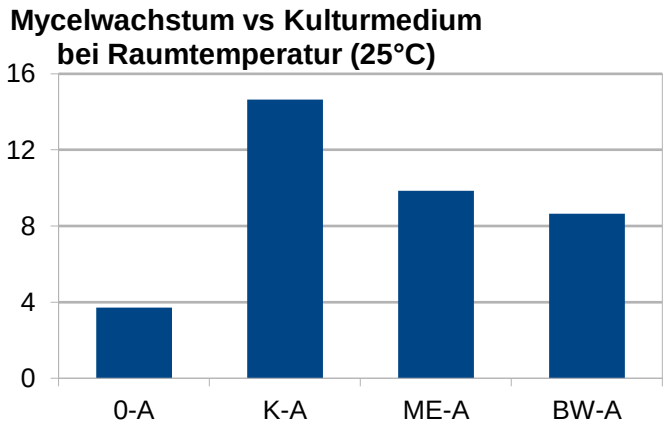
Die erste Versuchsreihe hat gezeigt, wie sich unten in der Tabelle und in dem Säulen-Diagramm ablesen lässt, dass der Pilz am besten wächst, wenn er bei 25°C gezüchtet wird.
Die 25°C Kolonie zeigt ein erstaunliches Durchschnittswachstum von fast 15 mm pro Tag auf.
Man kann schließen, dass 25°C die beste Temperatur für das Wachstum ist, da wie das Säulendiagramm und die Durchschnittswerte für das Wachstum zeigen, die Geschwindigkeit am schnellsten bei 25°C ist.
Die unterschiedlichen Wachstumsgeschwindigkeiten steigen stetig von der 5°C Kolonie bis zur 25°C Kolonie, während ab 30°C die Wachstumsdurchschnittsgeschwindigkeit kleiner ist als bei 25°C, weshalb die Geschwindigkeit bei höheren Temperaturen als 30°C vermutlich ebenfalls kleiner sein werden als bei der 25°C Kolonie.

Mycelwachstum in mm / Tag vs Kulturmedium							
K-A		ME-A		BW-A		0-A	
Tag	mm	Tag	mm	Tag	mm	Tag	mm
1	12	1	10	1	8	1	6
2	14	2	8	2	7	2	3
3	16	3	11	3	10	3	4
4	13	4	9	4	9	4	4
5	17	5	9	5	10	5	2
6	15	6	12	6	8	6	3
7	16	7	10	7	9	7	4
Durchschnitt	15		10		9		4

10 "Organic Mushroom Farming and Mycoremediation“, Tradd Cotter

Mycelwachstum in mm / Tag vs Temperatur									
5°C		10°C		20°C		25°C		30°C	
Tag	mm	Tag	mm	Tag	mm	Tag	mm	Tag	mm
1	0	1	4	1	6	1	12	1	10
2	1	2	7	2	7	2	16	2	14
3	1	3	5	3	8	3	18	3	12
4	2	4	7	4	9	4	11	4	12
5	2	5	8	5	10	5	14	5	14
6	1	6	6	6	11	6	17	6	13
7	2	7	7	7	10	7	15	7	11
Durchschn.	1		6		9		15		12





Innerhalb der zweiten Versuchsreihe untersuchten wir, welcher Agar am besten als Nährboden für die Klonierung geeignet sei, damit der Pilz die optimalen Nährstoffe in der optimalsten Menge enthielt. Die von uns verwendeten, unterschiedlichen Agararten waren zum einen eine gewöhnliche Agar-Wasser-Mischung, der bereits erwähnte Kartoffelagar, ein Brühwürfelagar und ein Malzextraktagar. Aus unserem Experiment zeigte sich, dass, wie schon oben erwähnt, der Kartoffelagar bei 25°C, da wir bei der ersten Versuchsreihe 25°C als Idealtemperatur herausgefunden haben, mit 14,64 mm pro Tag als Durchschnittsgeschwindigkeit den besten Nährboden darstellte.Der zweitbeste Nährboden war Malzextraktagar mit einer Durchschnittsgeschwindigkeit 9,86 mm pro Tag während der drittbeste Nährboden Brühwürfelagar mit einer Durchschnittsgeschwindigkeit von 8,64 mm pro Tag nicht viel weniger effizient war als Malzextraktagar.Die reine Agar-Wasser-Mischung ist der an Nährstoffen ärmste Agar und deswegen besitzt die Probe die geringste Wachstumsgeschwindigkeit von 3,71 mm pro Tag.

Nun, da wir die optimalen Kultivierungsbedingungen gefunden hatten, züchteten wir das Myzel auf einem Kartoffelagar- Nährboden bei 25°C heran, und kultivierten die Hyphen dann auf sterilisiertem Reis (auch bei 25°C) weiter, um das Myzelium weiter zu vermehren. Da die Zuchtgeschwindigkeit bei der Kultivierung auf Reis jedoch sehr hoch ist, und die Verdauung durch die Exo-Enzyme des Pilzes den Reis zersetzt, wurde der Pilz zur weiteren Züchtung auf sein natürliches Substrat (wir haben Buchensägemehl verwendet) gesetzt.

Somit wurde die geeignetste Art der Züchtung einer Pilzkolonie ermittelt.

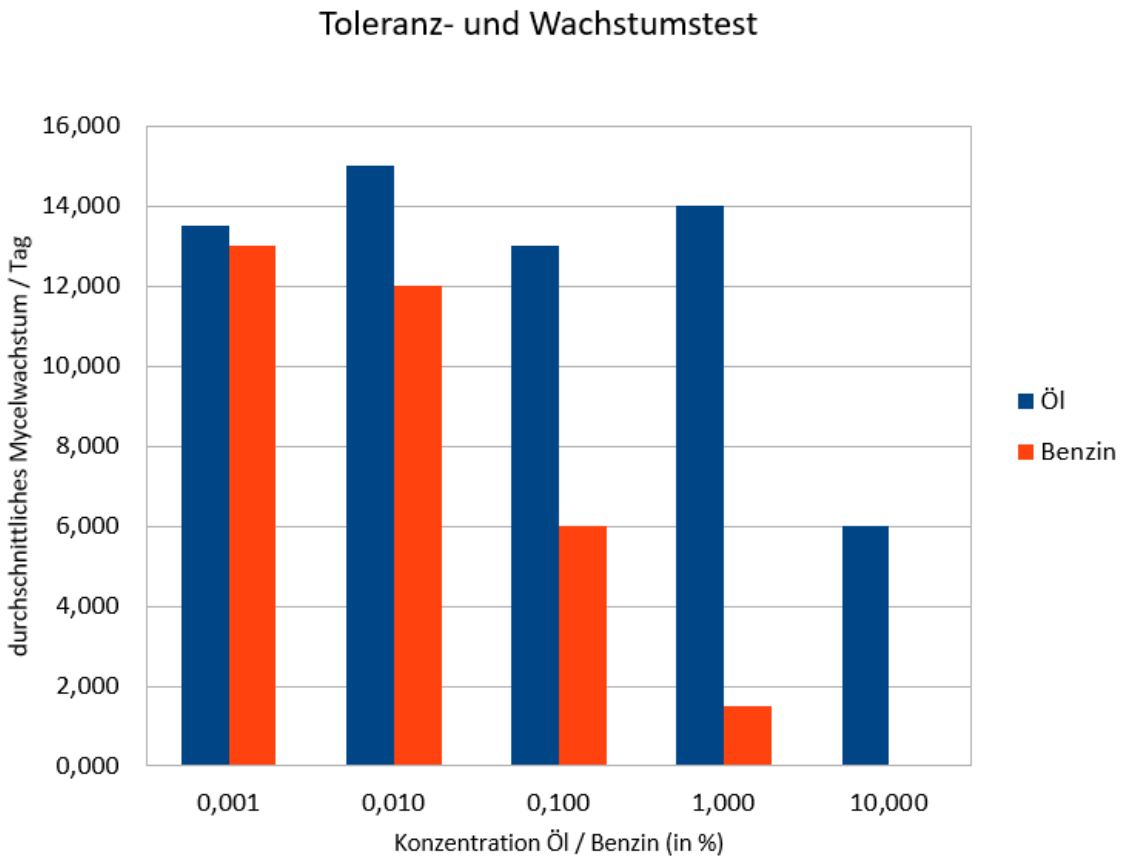
Toleranztest der Schmetterlingstrammete auf Öl und Benzin

Um die Toleranz des Pilzmyzels auf Öl und Benzin zu testen, wurde das Myzel einer Mutterkolonie auf Kartoffelagarplatten ausgebracht, die jeweils mit Öl- oder Benzin kontaminiert waren. Unser Ziel war es, heraus zu finden, ob der Pilz die gestaffelten Öl/Benzin Kontaminationen von 10%, 1%, 0,1%, 0,01% und 0,001% abbauen und als Nahrungsquelle verwenden konnte.

Toleranz + Wachstumstest

Ölkonentration (in %)	**0,001**	**0,010**	**0,100**	**1,000**	**10,000**
Durchschnittliches Mycelwachstum / Tag (in mm)	13,500	15,000	13,000	14,000	6,000

Benzinkonentration (in %)	**0,001**	**0,010**	**0,100**	**1,000**	**10,000**
Durchschnittliches Mycelwachstum / Tag (in mm)	13,000	12,000	6,000	1,500	0,000



In der obigen Grafik wird das durchschnittliche Mycelwachstum pro Tag hinsichtlich der Konzentration von Öl/Benzin in Prozent veranschaulicht. Wobei der Pilz auf Öl (mit blau gekennzeichnet) erste Wachstumseinbußungen erst bei 10% zeigt, da sinkt das durchschnittliche Mycelwachstum pro Tag von ca. 14.000 auf 6.000. Der Pilz auf Benzin zeigt jedoch schon deutlich frühere Wachstumseinbußungen. Hier sinkt das durschnittliche Mycelwachstum schon bei einer Benzinkonzentration von 0,1% von 12.000 auf 6.000. Während der Pilz sogar auf einer Ölkonzentration von 10% wächst findet bei einer Benzinkonzentration von 10% keinerlei Mycelwachstum mehr statt. Dies zeigt eine deutlich höhere Toleranz des Pilzes Öl gegenüber.

Entwickelung eines Ökologietests zur Bestimmung des Reinigungspotentials

Nachdem wir die Pilze auf ihre Toleranz gegenüber Öl und Benzin getestet hatten, war unser nächstes Ziel, ihr Reinigungspotential für verunreinigtes Wasser zu testen.

Damit eine präzisere Beurteilung des Reinigungspotentials stattfinden konnte, entwickelten wir einen Ökologischen Test basierend auf den Literaturvorgaben des Buches „Organic Mushroom Farming and Mycoremediation“ von Tradd Cotter entwickelt. Dieser Ökotest erlaubt eine effektive Einschätzung der Auswirkungen von chemischen Kontamination auf Pflanzen. Die Grundidee bestand darin, Pflanzensamen mit verschiedenen Verdünnungsstufen von Benzin und Rohöl (mit Wasser) zu wässern, und ihr Wachstum tabellarisch festzuhalten. Dabei stellte sich heraus, das Pflanzen, die mit hohen Konzentrationen von Benzin und Rohöl gewässert wurden, Mangelerscheinungen hatten, und trotz gleicher Umweltbedingungen schlechter wuchsen, als die niedrigen Konzentrationen oder die Kontrollgruppe.

Im weiteren Verlauf des Versuches wird nun ein Pilzfilter gebaut, durch den das verunreinigte Wasser geleitet werden kann. Eine zweite Versuchsgruppe würde angepflanzt und mit dem gefilterten Wasser gewässert werden. Ein Vergleich zwischen dem Wachstum der beiden Versuchsgruppen würde nun Auskunft über das Reinigungspotential des Pilzfilters geben, und es ließen sich Rückschlüsse auf die Anwendung als Reinigungsmittel für Öllachen auf dem Meer treffen.

Wir kontaminierten somit Radieschen und Kresse gestaffelt mit 100%- 0,001% Verunreinigung von jeweils Benzin und Rohöl in Wasser. Nachdem wir das Wachstum der Pflanzen über mehrere Wochen verfolgt hatten (siehe Anhang), stellten wir fest, dass Kresse aufgrund ihrer Resistenz gegen die Kontamination keine gute Vergleichspflanze für den Ökologietest wäre.

1) Versuchsgruppe_1 mit Kresse

Kresse Benzin	Wachstum					
	Kresse 100%	Kresse 10%	Kresse 1%	Kresse 0,1%	Kresse 0,01%	Kresse 0,001%
30.12.2018						
31.12.2018						
01.01.2019	kein Wachstum	Keimbeginn	Keimbeginn	Keimbeginn	Keimbeginn	Keimbeginn
02.01.2019						
03.01.2019						
04.01.2019						
05.01.2019						
06.01.2019	kein Wachstum	kein wirkliches Wachstum, schwache Keimung	gutes Wachstum, 4-6 cm	starke Keimung, 2-7 cm	gutes Wachstum, aber sehr schwache Stängel	Sehr starkes Wachstum, 3-6 cm
07.01.2019						
08.01.2019						
09.01.2019						
10.01.2019						
11.01.2019		schwache Keimung, ca.0,1 cm groß	starke Keimung, schwache Stängel 7-9 cm groß	starke Keimung, schwache Stängel, 5-8 cm	starke Keimung, schwache Stängel, sehr groß	sehr starke Keimung, ca. 5-9 cm groß
12.01.2019						
13.01.2019	Fazit: Kein Wachstum, alle sind abgestorben					

Kresse Control	Wachstum
30.12.2018	
31.12.2018	
01.01.2019	Keimbeginn
02.01.2019	
03.01.2019	
04.01.2019	
05.01.2019	
06.01.2019	gute Keimung,ca. 4 cm
07.01.2019	
08.01.2019	
09.01.2019	
10.01.2019	
11.01.2019	sehr gesund, starke Stängel, 8 cm
12.01.2019	
13.01.2019	

Kresse Rohöl	Wachstum					
	Kresse 100%	Kresse 10%	Kresse 1%	Kresse 0,1%	Kresse 0,01%	Kresse 0,001%
30.12.2018						
31.12.2018						
01.01.2019	kein Wachstum	Keimbeginn	Keimbeginn	Keimbeginn	Keimbeginn	Keimbeginn
02.01.2019						
03.01.2019						
04.01.2019						
05.01.2019						
06.01.2019		1 cm, kaum gekeimt	2 cm mittlere Keimung	2 cm, gute Keimung	3 cm, wenig ist gekeimt	gutes Wachstum, 3 cm
07.01.2019						
08.01.2019						
09.01.2019						
10.01.2019						
11.01.2019		3 cm, geht immer mehr ein	5 cm, gutes Wachstum	5 cm, sehr starke und gesunde Stängel	4 cm, schwache Keimung, starke Stängel	6 cm, starkes Wachstum
12.01.2019						
13.01.2019	Fazit: Kein Wachstum, alle sind abgestorben					

2) Versuchsgruppe_1 mit Radieschen

Wachstum der Radieschen						
Verseuchung mit Rohöl	Radieschen 1- 100%			Radieschen 2- 10%		
Datum	Bemerkungen	Wachstum	Wasseraufnahme	Bemerkungen	Wachstum	Wasseraufnahme
24.12.2018			3 ml			3 ml
25.12.2018			3 ml			3 ml
26.12.2018			3 ml			3 ml
27.12.2018						
28.12.2018			3 ml			3 ml
29.12.2018			3 ml			3 ml
30.12.2018						
31.12.2018			3 ml	Keimbeginn	1 cm	3 ml
01.01.2019			3 ml	3 Behälter sind gesprießt	2 cm	3 ml
02.01.2019						
03.01.2019						
04.01.2019						
05.01.2019			15ml		3 cm	15ml
06.01.2019						
07.01.2019			3 ml		4cm	3 ml
08.01.2019						
09.01.2019			15 ml	4 Behälter sind gesprießt, sehr schwach, gehen ein	5 cm	15 ml
10.01.2019						
11.01.2019			15 ml		5,5 cm	15 ml
12.01.2019						
13.01.2019	kein Wachstum, alle sind tot					

Wachstum der Radieschen						
Verseuchung mit Rohöl	Radieschen 3- 1%			Radieschen 4- 0,1%		
Datum	Bemerkungen	Wachstum	Wasseraufnahme	Bemerkungen	Wachstum	Wasseraufnahme
24.12.2018			3 ml			3 ml
25.12.2018			3 ml			3 ml
26.12.2018			3 ml			3 ml
27.12.2018						
28.12.2018			3 ml			3 ml
29.12.2018			3 ml			3 ml
30.12.2018				Keimbeginn, 1 Behälter	0,5 cm	
31.12.2018	Keimbeginn, 2 Behälter	1 cm	3 ml			3 ml
01.01.2019	3 Behälter sind gesprießt, schwach	2 cm	3 ml	2 Behälter sind gesprießt	1cm	3 ml
02.01.2019						
03.01.2019						
04.01.2019						
05.01.2019		2,5 cm	15ml		4cm	15ml
06.01.2019						
07.01.2019		4cm	3 ml		7cm	3 ml
08.01.2019						
09.01.2019	3 Behälter sind gesprießt	6 cm	15 ml	4 Behälter sind gesprießt	8 cm	15 ml
10.01.2019						
11.01.2019		7 cm	15 ml		9 cm	15 ml
12.01.2019						
13.01.2019						

Wachstum der Radieschen						
	Radieschen 5- 0,01%			Radieschen 6- 0,001%		
Verseuchung mit Rohöl	Bemerkungen	Wachstum	Wasseraufnahme	Bemerkungen	Wachstum	Wasseraufnahme
Datum			3 ml			3 ml
24.12.2018			3 ml			3 ml
25.12.2018			3 ml			3 ml
26.12.2018						
27.12.2018			3 ml			3 ml
28.12.2018			3 ml			3 ml
29.12.2018						
30.12.2018	Keimbeginn	1 cm	3 ml	Keimbeginn	1 cm	3 ml
31.12.2018			3 ml			3 ml
01.01.2019	5 Behälter sind gesprießt, sehr gesung	3 cm		5 Behälter sind gesprießt, sehr gesund, stark	3 cm	
02.01.2019						
03.01.2019						
04.01.2019		5 cm	15ml		5cm	15ml
05.01.2019						
06.01.2019		6 cm	3 ml		7cm	3 ml
07.01.2019						
08.01.2019		8,5 cm	15 ml		9 cm	15 ml
09.01.2019						
10.01.2019		9cm	15 ml		10 cm	15 ml
11.01.2019						
12.01.2019						
13.01.2019						

Wachstum der Radieschen			
	Kontrollgruppe		
Datum	Bemerkungen	Wachstum	Wasseraufnahme
24.12.2018			3 ml
25.12.2018			3 ml
26.12.2018			3 ml
27.12.2018			
28.12.2018			3 ml
29.12.2018	Keimbeginn, 3 Behälter	1 cm	3 ml
30.12.2018			
31.12.2018		2cm	3 ml
01.01.2019			3 ml
02.01.2019			
03.01.2019		5cm	
04.01.2019			
05.01.2019		7 cm	15ml
06.01.2019			
07.01.2019		9,5 cm	3 ml
08.01.2019			
09.01.2019	5 Behälter sind gekeimt	11 cm	15 ml
10.01.2019			
11.01.2019		12 cm	15 ml
12.01.2019			
13.01.2019			

Wachstum der Radieschen						
Verseuchung mit Benizin	Radieschen 3- 1%			Radieschen 4- 0,1%		
Datum	Bemerkungen	Wachstum	Wasseraufnahme	Bemerkungen	Wachstum	Wasseraufnahme
24.12.2018	Samen keimen bereits vor dem Bepflanzen		3 ml	Samen keimen bereits vor dem Bepflanzen		3 ml
25.12.2018			3 ml			3 ml
26.12.2018			3 ml			3 ml
27.12.2018						
28.12.2018			3 ml			3 ml
29.12.2018			3 ml			3 ml
30.12.2018						
31.12.2018	Keimbeginn, 2 Behälter sind gekeimt	1 cm	3 ml	Keimbeginn, 3 Behälter sind gekeimt	1 cm	3 ml
01.01.2019			3 ml			3 ml
02.01.2019		2 cm				
03.01.2019						
04.01.2019						
05.01.2019		3cm	15ml		3cm	15ml
06.01.2019						
07.01.2019		5cm	3 ml		5cm	3 ml
08.01.2019						
09.01.2019	4 Behälter sind gekeimt, schwache Stängel	6 cm	15 ml	5 Behälter sind gekeimt, schwache Stängel	7 cm	15 ml
10.01.2019						
11.01.2019		6,5 cm	15 ml		7-8 cm	15 ml
12.01.2019						
13.01.2019						

Wachstum der Radieschen						
	Radieschen 5- 0,01%			Radieschen 6- 0,001%		
Verseuchung mit Benzin	Bemerkungen	Wachstum	Wasseraufnahme	Bemerkungen	Wachstum	Wasseraufnahme
Datum	Samen keimen bereits vor dem Bepflanzen			Samen keimen bereits vor dem Bepflanzen		
24.12.2018			3 ml			3 ml
25.12.2018			3 ml			3 ml
26.12.2018			3 ml			3 ml
27.12.2018						
28.12.2018			3 ml			3 ml
29.12.2018			3 ml	Keimbeginn, 2 Behälter sind gekeimt	1 cm	3 ml
30.12.2018	Keimbeginn, 3 Behälter sind gekeimt	1 cm				
31.12.2018			3 ml			3 ml
01.01.2019			3 ml		4cm	3 ml
02.01.2019						
03.01.2019						
04.01.2019						
05.01.2019		6cm	15ml		6cm	15ml
06.01.2019						
07.01.2019		8 cm	3 ml		8cm	3 ml
08.01.2019						
09.01.2019	5 Behälter sind gekeimt, schwache Stängel	8,5 cm	15 ml	5 Behälter sind gekeimt, schwache Stängel, brechen leicht	9cm	15 ml
10.01.2019						
11.01.2019			15 ml			15 ml
12.01.2019						
13.01.2019						

Wachstum der Radieschen						
Verseuchung mit Benzin	Radieschen 1- 100%			Radieschen 2- 10%		
Datum	Bemerkungen	Wachstum	Wasseraufnahme	Bemerkungen	Wachstum	Wasseraufnahme
24.12.2018			3 ml			3 ml
25.12.2018			3 ml			3 ml
26.12.2018			3 ml			3 ml
27.12.2018						
28.12.2018			3 ml			3 ml
29.12.2018			3 ml			3 ml
30.12.2018				Keimbeginn	0,5 cm	
31.12.2018		1 cm	3 ml	2 Keimlinge wachsen	1 cm	3 ml
01.01.2019			3 ml			3 ml
02.01.2019						
03.01.2019						
04.01.2019				3 Keimlinge wachsen		
05.01.2019		1-3cm	15ml		1-3cm	15ml
06.01.2019						
07.01.2019			3 ml			3 ml
08.01.2019						
09.01.2019		2-4 cm	15 ml	3 Keimlinge wachsen, sehr schwach	2-4 cm	15 ml
10.01.2019						
11.01.2019	Fazit: Kein Wachstum bemerkbar		15 ml		3-4,5 cm	15 ml
12.01.2019						
13.01.2019						