

Forschungsbericht BWPLUS

## **Mangan-Fishing aus Maischen pflanzlicher Biomassen**

von

Peter M. Kunz

Bio-Logik-Control

Förderkennzeichen: BWBM 21103

Laufzeit: 01.07.2021 – 30.09.2021

Die Arbeiten des Baden-Württemberg-Programms Lebensgrundlage Umwelt und ihre Sicherung (BWPLUS) werden mit Mitteln des Landes Baden-Württemberg gefördert.

September 2021

## Inhaltsverzeichnis

- 0 Vorwort/ Vorbemerkungen
- 1 Mangan
  - 1.1 Vorkommen von Mangan in der Natur
  - 1.2 Schäden durch Mangan – Toxizität
  - 1.3 Mangan-Gehalte in Pflanzen, Gärresten sowie im Abwasser + Schlamm bzw. Phytoplankton
  - 1.4 Mangan-Bindungssysteme an ganzen Zellen und in Transportsystemen, speziell in Cyanobakterien und Pflanzen
  - 1.5 Potenziale der Mangan-Gewinnung aus Abwässern und Reststoffen sowie Pflanzenmaischen
  - 1.6 Verwendung von Mangan in der Technik
  - 1.7 Biologische Komplexierung von Mangan (und Eisen) und EDTA (Ethylendiamintetraessigsäure) in der Chemischen Technik
    - 1.7.1 biologische + chemische Komplexbildner
    - 1.7.2 Gründe für die Komplexierung von Mangan im ungebleichten Zellstoff
  - 1.8 Immobilisierung von Mangan-Chelatoren auf magnetischen Trägermaterialien
  - 1.9 Rückgewinnung von Mangan aus dem Mangan-MagnetTrägerChelatorKomplex (Mn-MTC)
- 2 Pflanzenmaischen
  - 2.1 Verfahrensabriss der Zellstoff-Herstellung –Mangan bei der Bleiche + in der Ablauge
    - 2.1.1 Herstellung von Zellstoff + Papier im Überblick
    - 2.1.2 Bleichen – Probleme mit Mangan
    - 2.1.3 Ablaugen bei der Zellstoff-Herstellung
    - 2.1.4 Auffinden von Ansatzpunkten für die Implementierung einer Bio-Fishing-Anlage
  - 2.2 Verfahrensabriss der Vergärung von Energiepflanzen in Biogas-Anlagen und Entstehung der Gärreste
    - 2.2.1 Gärreste-Abfall
    - 2.2.2 Grundzüge der Vergärung respektive Faulung in Biogas-Anlagen
    - 2.2.3 Spurenelemente bei der Vergärung/ Faulung
    - 2.2.4 Potenziale für die Mangan-Gewinnung bzw. den Einsatz von Mangan aus dem Bio-Fishing-Prozess
  - 2.3 Verfahrensabriss der Entstehung von Gärsäften + Silagesickersäften und deren derzeitige Verwendung
    - 2.3.1 Produktion von Gär- und Sickersäften
    - 2.3.2 Potenziale
  - 2.4 Verfahrensabriss der Gewinnung von Phytopharmaka
    - 2.4.1 Herstellung von Phytopharmaka im Allgemeinen
    - 2.4.2 Phytopharmaka-Produktionen in kleineren Chargen-Produktionen
    - 2.4.3 Nebenprodukte bei der Phytopharmaka-Produktion: Mangan-Gewinnung aus Bioabfällen

- 2.4.4 Aspekte der Nutzung von Abfall-Stoffströmen aus der Phytopharmaka-Produktion zur Mangangewinnung
- 3 Verfahrensprinzip und Anlagen-Design einer Mangan-Fishing-Anlage
  - 3.1 Verfahrensprinzip
    - 3.1.1 Magnetabscheidung
    - 3.1.2 Mischen mit dem Oloid-System
  - 3.2 Anlagendesign (Blockverfahrensfließbild)
  - 3.3 Kosten-Ermittlungen Chemie & Anlagentechnik
    - 3.3.1 Kosten für den Anlagenbau
    - 3.3.2 Betriebskosten Anlagenbetrieb
    - 3.3.3 Betriebskosten für die Separierung von Mangan von den Mn-MTC
    - 3.3.4 Herstellkosten für die MTC
  - 3.4 Ökonomische Betrachtungen
  - 3.5 Ökologische Betrachtungen (insbesondere EDTA-Substitution)
    - 3.5.1 Mangan-Gewinnung aus gereinigtem Abwasser
    - 3.5.2 Mangan-Gewinnung bei der Zellstoff-Produktion
    - 3.5.3 Mangan-Gewinnung aus Abfallströmen der Phytopharmaka-Produktion
    - 3.5.4 Mangan-Gewinnung aus Gärresten
- 4 Zusammenfassung und Ausblick
- 5 Literatur-Verzeichnis

## Vorwort/Vorbemerkungen

Das Land Baden-Württemberg hat mit der Landesstrategie Nachhaltige Bioökonomie vom 04. Juni 2019 [BW Bioökonomie, 2019] ein Zeichen gesetzt, innovative Bio-Technologien im Sinne der „Bioökonomie“ zu fördern. Unter „Bioökonomie“ wird darin „die wissenschaftliche Erzeugung und Nutzung biologischer Ressourcen, Prozesse und Prinzipien, um Produkte und Dienstleistungen in allen wirtschaftlichen Sektoren eines zukünftigen Wirtschafts- und Gesellschaftssystems bereitzustellen und zu nutzen. Koppelnutzung und Kreislaufwirtschaft, um die bestmögliche Verwertung sowie Mehrfachnutzung von Rohstoffen und Stoffströmen vorzusehen, sind zentrale Elemente einer nachhaltigen Bioökonomie“ verstanden. Die Landesregierung von Baden-Württemberg vollzieht damit einen „Systemwechsel in der Art und Weise, wie Güter nachhaltig produziert, genutzt und am Ende ihrer Lebensdauer in den Stoffkreislauf zurückgeführt“ werden können.

In der Landesstrategie [BW Bioökonomie, 2019] wird eine „Maßnahme 19“ zur Gewinnung anorganischer Stoffe skizziert, die das Ministerium für Umwelt, Klima und Energiewirtschaft Baden-Württemberg unter dem Stichwort „Biomining“ aufgegriffen hat. Unter dem Titel „Innovative Bio-Technologien zur Gewinnung anorganischer Stoffe“ (UM-BW, 2021) skizziert das Ministerium, dass die gesicherte Versorgung notwendiger Rohstoffe für die Produktion der Hightech-Produkte aus dem Land ein wichtiger Ansatz ist, zu dem die Biotechnologie in innovativen Ansätzen beitragen kann. In diesem Rahmen hat das Ministerium über den Projektträger Karlsruhe am KIT diese Projektstudie gefördert, deren Ursprung bereits vor über 10 Jahren in einer bionischen Entwicklung gelegen hat.

### Die Idee des Fischens von Metallen (Spurenstoffen) aus Pflanzen

Bionisch im Jahr 2007 entwickelte Idee war es gewesen, angestoßen von Dr. Ulrich Maurer aus dem Referat 53 des Umweltministeriums Baden-Württemberg [UM-BW, 2007], mit natürlichen Mangan-Chelatoren aus dem Zellstoff-Auflauf in der Papier-Produktion Mangan zu „fischen“, um den Einsatz von EDTA vor dem Bleichen zu substituieren bzw. zu minimieren. Im Gegensatz zu anderen aktuellen Projekten des Bio-Mining mit Mikroorganismen [u.a. Brain; 2014] bzw. schon seit mehr als 50 Jahren etablierten Verfahrens des Bio-Leachings im Kupfer- und Uranbergbau (ausführlich gewürdigt im Buch „Umwelt-Bio-Verfahrenstechnik“ [Kunz, 1992]) besteht der Charme dieses Projektes im gezielten Fischen von Spurenstoffen, da die Natur eine hohe Selektivität in der Reaktion mit einzelnen Stoffen/Elementen beim Speichern und Transportieren zu den einzelnen Zell-Kompartimenten hat. Die Natur hat im Reich der Archaeen Moleküle „generiert“, die speziell Eisen komplexieren konnten, um den von den Cyanobakterien bei der Photosynthese produzierten Sauerstoff an sich zu binden. In gleicher Weise wurde Mangan transportiert, das am Ende der Photosynthese-Kette daran beteiligt ist, an einem Molekül mit 4 Mangan-Atomen den Sauerstoff freizusetzen. Aus den Cyanobakterien sind die Algen und Pflanzen evolutiv hervorgegangen, in deren Chloroplasten, für jeden sichtbar am grünen Chlorophyll, Mangan vielfach vorhanden ist.

„Sparsam“ wie die Natur eben ist, verwenden die Pflanzen beim Transport von Mangan aus den Wurzelbereichen Mangan-Chelatoren, die auch Eisen komplexieren können (Siderophore). Besonders interessant für dieses Projekt war es, dass das für den biologischen Entroster des Antragstellers fermentierte Siderophor Desferrioxamin E (DFOE) sich als sehr geeignet für die Bindung des Mangans gezeigt hat (siehe [Kunz et al., 1997 + 2020]), so dass kein neuer Mangan-Chelator „gesucht“ und für das Bio-Fishing von Mangan molekularbiologisch und biochemisch fermentativ darstellbar entwickelt werden muss.

Aufgrund der aktuellen Ausschreibung des Bio-Mining Projektes des Umweltministeriums Baden-Württemberg [UM-BW, 2020] wurde diese „Idee“ aus dem Jahr 2007, die zwischenzeitlich Niederschlag in diversen studentischen Arbeiten und schließlich in einer peer-reviewed Publikation des Verfassers [Kunz et al.; 2020] gefunden hatte, auf Pflanzenmaischen übertragen – wie sie beispielsweise in Gärresten und den pflanzlichen Rückständen bei der Phytopharmaka-Produktion – neben den Zellstoffen vorkommen.

Bei der Bearbeitung des Projektes haben sich vorher ungeahnte Perspektiven für die Mangan-Gewinnung aus Pflanzen aufgetan: zum einen sind die Perspektiven hochspannend, aus Kochsäuren und Ablaugen der Zellstoff-Produktion der Firma ESSITY in Mannheim Mangan abzutrennen, zum anderen ergab sich bei den vielfältigen Gesprächen mit Vertretern der Phytopharmaka-Produktion insbesondere bei Extraktionen mit Wasserdampf-Destillationen (Firma VÖGELE in Lauffen am Neckar) eine Pilot- und Demonstrationsanlage sinnvoll sein könnte.

Wenn die Kosten für die Herstellung von „magnetischen molekularen Selektiv-Fischern“ erheblich gesenkt werden können, wird das Bio-Fishing von Mangan (aber nicht nur) technisch-wirtschaftlich eine Perspektive haben: das Potenzial aus Abwasser- und Abfallströmen Mangan (und andere Spurenstoffe, die in Mikroorganismen und Pflanzen vorkommen) zu gewinnen, ist quasi unerschöpflich: Die Masse an Mangan, die man auf diese Weise gewinnen kann, wird einzig und allein durch die Anzahl der magnetischen Trägermaterialien mit darauf immobilisierten Chelatoren determiniert und nicht vom Volumenstrom, in den man diese einbringt, weil über einfache Magnetabscheider die magnetischen Partikeln mit Mangan und den anderen Spurenstoffen „herausgefischt“ werden können.

### **Danksagung**

Der Verfasser dieser Machbarkeitsstudie dankt allen, die sich für das Zustandekommen engagiert haben: zum einen denjenigen, die dem Antrag zugestimmt & sich mit der Abwicklung beschäftigt haben, in jedem Fall aber dem Ministerium für Umwelt, Klima und Energiewirtschaft für die ideelle Förderung und finanzielle Unterstützung des Projektes. Zum Gelingen dieser Projektstudie haben die nachstehenden Personen wichtige Beiträge geleistet, in dem sie sie betreffende Abschnitte Korrektur gelesen und mit wichtigen Informationen beigetragen haben, die nicht recherchierbar gewesen waren. In alphabetischer Reihenfolge sollen vor allem genannt werden

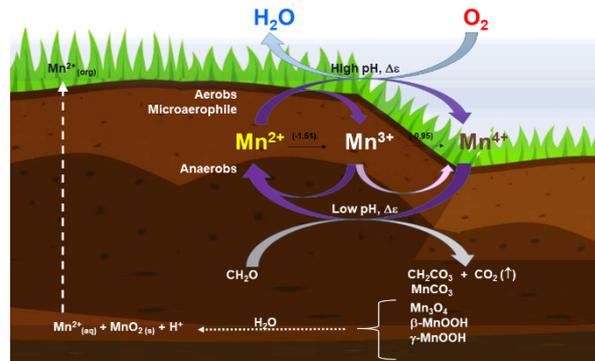
- ✧ Dr. Arno Cordes, ASA-Spezialenzyme Wolfenbüttel
- ✧ Prof. Dr. Matthias Franzreb, KIT Karlsruhe
- ✧ Dr. Thomas Helle, NOVIS Tübingen
- ✧ Armin Reinhard und Sven Jokubenko, ESSITY Mannheim
- ✧ Steffen Scharr, VÖGELE Ingredients Lauffen am Neckar
- ✧ Eric Schieblich, OLOID Leipzig
- ✧ Philipp Schlegel, SCHWABE EXTRACTA Karlsruhe
- ✧ Prof. Dr. Martin Tegtmeier, SCHAPER + BRÜMMER Salzgitter

## 1 Mangan

### 1.1 Vorkommen von Mangan in der Natur

Mangan ist ein essentielles Spurenelement für Pflanzen (und Tiere) mit einem relativ komplexen geobiochemischen Zyklus (Abb. 1-1). Es ist als Katalysator-Element der Sauerstoff-Ab-spaltung bei der Photosynthese bekannt und damit „sichtbar“ in jedem grünen Blatt.

**Abbildung 1-1:** Biogeochemischer Kreislauf des Mangans. Der Mangan-RedOx-Zyklus findet sowohl im Gewässer als auch in Böden statt. Die Werte für das RedOx-Potential ( $E_h$ ) sind für den Mangan-Oxidationsprozess in Klammern angegeben. Die Abbildung zeigt ein Modell



des Mangan-Zyklus in der Pflanzen-Boden-Struktur auf Basis umfangreicher Literatur-Recherchen (Wilkesman et al., 2019) zum Bio-Ökonomie-Projekt des Landes Baden-Württemberg.

Mangan ist nach Eisen das zweithäufigste Metall und das zwölft häufigste Element überhaupt. Es kommt in der Erdkruste weit verbreitet vor, in der Erdrinde hat es einen Anteil von etwa 0,1 Gew.%. Es tritt nicht elementar auf (ist kein Edelmetall), sondern ist in vielen verschiedenen Mineralien und Erzen vorwiegend oxidisch oder als Carbonat gebunden [Willmes, 2001].

Von etwa 200 wichtigen manganhaltigen Mineralien sind nur wenige für die wirtschaftliche Manganerzeugung interessant [Beppler et al., 1984]. Die Erze Braunstein (Braunit), Rhodochrosit, Pyrolusit und Hausmannit kommen am häufigsten vor und sind für den Mangan-Abbau am bedeutendsten (siehe Tab. 1-1). Während Braunit und Pyrolusit einen theoretischen Manganerzgehalt von bis zu 62 % aufweisen, reicht der Wert bei Hausmannit sogar bis zu 72 %. Auch die Mineralien Manganit, Kryptomelan, Polianit und Manganspat enthalten 47-62 % Mangan. Weitere wichtige Manganerze sind Tephroit ( $Mn_2SiO_4$ ), Karpholit ( $H_4MnAl_2Si_2O_{10}$ ), Spessartin ( $Mn_3Al_2Si_3O_{12}$ ), Helvin ( $Mn_7Si_3O_{12}S$ ), Alabandin ( $MnS$ ), Hauerit ( $MnS_2$ ) und Crednerit ( $Cu_3Mn_4O_9$ ) [Beppler et al., 1984].



**Abbildung 1-2:** Rhodochrosit (rot) und Manganit (schwarz) [Wikipedia, 2021]

Nur wenige manganhaltige Mineralien können als reine Manganerze bezeichnet werden. So sind zum Beispiel fast alle Eisenerze und viele Silicate manganhaltig. Üblicherweise werden die Manganerze nach ihrem Mangangehalt in drei Hauptgruppen aufgeteilt. Manganhaltige Eisenerze haben einen Mangangehalt von nur fünf bis zehn Prozent, eisenhaltige Manganerze weisen zwischen 10 und 35 % Mangan auf; die dritte Gruppe der reinen Manganerze weist mehr als 35 % Mangan auf [Beppler et al., 1984].

**Tabelle 1-1:** Für die Wirtschaft wichtige Mangan-Mineralien [Beppler et al. 1984]

Name	Formel	theor. Mn-Gehalt [%]
Jakobsit	$\text{Fe}_2\text{MnO}_4$	23,8
Hausmannit	$\text{Mn}_2\text{MnO}_4$	72
Bixbyit (Sitaporit)	$(\text{Mn}, \text{Fe})_2\text{O}_3$	30 – 40
Pyrolusit <sup>1)</sup>	$\beta\text{-MnO}_2$	bis 62
Polianit	$\text{MnO}_2$	bis 62
Psilomelan	$(\text{Ba}, \text{Mn}^{2+})_3(\text{O}, \text{OH})_6\text{Mn}_8\text{O}_{16}$	~ 50
Kryptomelan	$\text{K}_{\leq 2}\text{Mn}_8\text{O}_{16}$	bis 62
Manganit	$\gamma\text{-MnOOH}$	62
Rhodochrosit (Manganspat)	$\text{MnCO}_3$	47,6
Rhodonit	$\text{CaMn}_4[\text{Si}_5\text{O}_{15}]$	42
Braunit	$\text{Mn}^{2+}\text{Mn}_6^{4+}[\text{O}_8/\text{SiO}_4]$	52 – 63

Die wichtigsten Vorkommen von Manganerzen sind sedimentäre Lagerstätten in detritischem und carbonatischem Milieu, diese sind vor allem in Südafrika, Australien und Gabun zu finden (siehe Tab. 1-2). Weitere wichtige jaspilitische und gonditische Mangan-Lagerstätten gibt es in Brasilien, Ghana und wiederum in Südafrika [Beppler et al., 1984].

**Tabelle 1-2:** Mangan-Erzförderung (in Tausend Tonnen, Stand 2018: United States Geological Survey: World Mine Production and Reserves)

Manganerzförderung in Tausend Tonnen			
Rang	Land	Förderung	Reserven
1	<a href="#">Südafrika</a>	5500	230.000
2	<a href="#">Australien</a>	3100	99.000
3	<a href="#">Gabun</a>	2300	65.000
4	<a href="#">Volksrepublik China</a>	1800	54.000
5	<a href="#">Brasilien</a>	1200	110.000
6	<a href="#">Ghana</a>	850	13.000
7	<a href="#">Indien</a>	770	33.000
8	<a href="#">Ukraine</a>	740	140.000
9	<a href="#">Malaysia</a>	510	k. A.
10	<a href="#">Mexiko</a>	220	5000

Neben den Vorkommen in der Erde lassen sich auch auf dem Meeresboden der Tiefsee und in Küstengebieten, aber auch in manchen Süßwasserseen faustgroße, sogenannte Manganknollen finden, die zwischen 24 – 27 % aus Mangan bestehen. Sie werden allerdings bisher noch nicht systematisch gefördert und zur Mangangewinnung genutzt, und selbst wenn, wären die Knollen eher wegen ihrer bedeutenden Konzentration an Kupfer, Nickel und Cobalt interessant [Willmes, 2001; Umweltbundesamt, 1993; Heinrich et al., 2014]. Die DBU-Umwelt-Preisträgerin 2018 Antje Boetius will aus ökologischen Gründen alles daransetzen, dass die Mangan-Knollen nicht geerntet werden (SWR 2 Wissen, 2021).

Durch Elektrolyse wässriger Manganlösung kann elementares Mangan (siehe Abb. 1-3) gewonnen werden. Allerdings besitzt das metallische Mangan wegen seiner Sprödigkeit nur wenige Anwendungsmöglichkeiten in der Industrie [Rüd, 2006; Willmes, 2001].



**Abbildung 1-3:** elektrolytisch raffiniertes, reines (99,99 %) Mangan [Wikipedia, 2021]

### Physikalische und chemische Eigenschaften

Mangan ist ein silbergraues, hartes und sehr sprödes Metall (siehe Abb. 1-3), das in manchen Eigenschaften dem Eisen ähnelt. Aufgrund seiner hohen Oxidationsbereitschaft existiert es in vielen verschiedenen Anlauffarben. Es hat die Massenzahl 55 und kommt in vier Modifikationen vor ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ) (siehe Abbildung 36). Es gibt Mangan nur als stabiles Isotop 55. Andere Isotope mit den Massenzahlen 51, 52, 54, 56 und 57 zerfallen innerhalb von Halbwertszeiten zwischen 46 Minuten und 310 Tagen [Beppler et al., 1984].

Im Periodensystem hat Mangan mit der Ordnungszahl 25 seinen Platz in der vierten Periode und der siebten Nebengruppe. Es zählt zur Reihe der Übergangsmetalle und weist als solches in seinem Verhalten gewisse Ähnlichkeiten mit seinen Nachbarn Eisen und Chrom auf [Beppler et al., 1984]. In der Elektronenhülle der Übergangsmetalle der vierten Periode wird die 3d-Schale aufgefüllt. Bei Mangan allerdings ist die Auffüllung nur zur Hälfte gegeben. Dadurch lassen sich einige Anomalien des Mangans erklären. Die Elektronenkonfiguration ist  $1s^2 2s^2 2p^6 3s^2 3p^6 3d^5 4s^2$ . Aus dieser Stellung ergibt sich das valenzchemische Verhalten des Mangans [Willmes, 2001].

Mangan besitzt mehr Oxidationsstufen als jedes andere Element. Insgesamt sind es elf Oxidationsstufen von -III bis +VII. Am beständigsten und wichtigsten ist die Oxidationsstufe +II, die durch Abgabe der beiden äußeren 4s-Elektronen erreicht wird. Die darunter liegende, mit fünf Elektronen nur halbbesetzte 3d-Bahn ist energetisch besonders begünstigt. Die Mn(II)-Ionen bilden in wässriger Lösung schwach rosafarbene, oktaedrische Hexaquo Komplexe, in denen das Mn-Atom fünf ungepaarte Elektronen aufweist [Willmes, 2001].

**Tabelle 1-3:** Physikalische Eigenschaften von Mangan [Beppler et al., 1984]

Eigenschaften	$\alpha$ - Mn	$\beta$ - Mn	$\gamma$ - Mn	$\delta$ - Mn	Schmelze
Atomgewicht	54,9380				
Kristallstruktur	kub.-raumz.	kub.-primitiv	kub.-flächenz.	kub.-raumz	
Gitterkonstante a (nm)	0,8894	0,6290	0,3774	0,3080	
Umwandlungstemperatur (°C)	$\alpha \leftrightarrow \beta$ 727°C	$\beta \leftrightarrow \gamma$ 1095°C	$\gamma \leftrightarrow \delta$ 1104°C	$\delta \leftrightarrow$ Schmelze 1244°C	Schmelze $\leftrightarrow$ Dampf 2032°C
Umwandlungswärme (J/mol)	2240	2282	1800	14.655	219.901
Spez. Wärme (J/g K)	0,477	0,482	0,502		
Dichte D (g/cm <sup>3</sup> )	7,44	7,29	7,21	-	-
Brinell-Härte H <sub>n</sub> (N/mm <sup>2</sup> )	3923 - 4119				
Vol.-Zunahme bei Umwandlung (%)	$\alpha \rightarrow \beta$ : 3,4	$\beta \rightarrow \gamma$ : 0,8	$\gamma \rightarrow \delta$ : 0,8	$\delta \rightarrow$ Schmelze: 2,9	
Spez. elektr. Widerstand (Ωm)	150 – 260 · 10 <sup>-6</sup>	90 · 10 <sup>-6</sup>	40 · 10 <sup>-6</sup>		
Linearer Wärmeausdehnungskoeffizient (K <sup>-1</sup> )	22,3 · 10 <sup>-6</sup>	24,9 · 10 <sup>-6</sup>	14,8 · 10 <sup>-6</sup>	41,6 · 10 <sup>-6</sup>	

**Tabelle 1-4:** Einige Oxidationsstufen des Mangans mit typischer Färbung (der Lösung) und möglicher Verwendung [Holleman + Wilberg, 1985]

Oxidationsstufe	Stoff/Ion	Farbe	Anwendung
+ 7	KMnO <sub>4</sub>	violett	Oxidationsmittel, Wasserreinigung
+ 6	MnO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	grün	grüne Malerfarbe
+ 5	MnO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	blau	Zementfarben
+ 4	MnO <sub>2</sub>	braun	Glasmacherseife, Trockenbatterie
+ 3	Mn <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	rotbraun	Bestandteil der Malerfarbe Umbra
+ 2	[Mn(H <sub>2</sub> O) <sub>6</sub> ] <sup>2+</sup> / MnSO <sub>4</sub>	rosa	Dünger, Herstellung von Reinmangan
0	Mn	silbergrau	Legierungsbestandteil im Stahl

Die Oxidationsstufen –III bis +I sind nur in speziellen Komplexen, wie z.B. Carbonylkomplexen, erhalten. Zu diesen Verbindungen gelangt man nur durch Reduktion mit starken Reduktionsmitteln wie Alkalimetallen oder LiAlH<sub>4</sub>. Auch das Metall selbst reagiert aufgrund seiner relativ niedrigen Elektronegativität nur langsam unter Wasserstoffentwicklung mit Wasser [Rüd, 2006]. In den Oxidationsstufen +II bis +IV kommt Mangan als Oxid vor oder es tritt in Carbonat- und Silicatmineralen auf [Alloway, 1995]. Das Mangan mit Oxidationsstufe +III ist weit weniger beständig als Oxidationsstufe +II. Es disproportioniert leicht in die Oxidationsstufe +II und +IV.

In vielen Mineralien liegt Mangan nicht in einheitlicher Oxidationsstufe vor. Oft wird die Stufe +IV durch die Stufen +II und +III ersetzt. Die Mangan-Ionen in diesen Oxiden können oxidiert oder reduziert werden, ohne ihre Position im Kristall zu verändern. Erst wenn sich die

Wertigkeit einer ausreichend großen Zahl von Ionen geändert hat, wird die Struktur instabil und ordnet sich zu einer neuen Phase um [Alloway, 1995]. Für die Metallurgie sind die Oxide des zwei-, drei-, und vierwertigen Mangans von Bedeutung, wie z.B. das Mangan(IV)oxid: Braunstein genannt [Beppler et al., 1984].

Mangan-Atome in den Oxidationsstufen +V, +VI und +VII sind nur kombiniert mit vier Sauerstoffatomen existenzfähig. In diesen Stufen bildet Mangan Oxoanionen mit der allgemeinen Formel  $MnO_{4n-}$ . Die Stufen +V und +VI sind nur in stark alkalischer Lösung stabil gegen Disproportionierung. Das Manganat mit Stufe +VII, auch als Permanganat bezeichnet, verfügt dagegen über eine ausgeprägte pH-Stabilität. Deshalb haben die Stufen +V und +VI keine große technische Bedeutung, Stufe +VII hingegen schon. Mangan(VII)- und Mangan(II)-Verbindungen bilden den größten Teil der technisch genutzten Salze [Rüd, 2006].

Je höher die Oxidationsstufe, desto mehr nimmt die Basizität der Oxide ab. So ist z.B. das Mangan(II)oxid ein Basenanhydrid ( $Mn(OH)_2 \rightarrow MnO + H_2O$ ), das Mangan(VII)oxid  $Mn_2O_7$  hingegen ein Säureanhydrid ( $2 HMnO_4 \rightarrow Mn_2O_7 + H_2O$ ) [Beppler et al., 1984].

Bei niedrigen Temperaturen können Sauerstoff, Stickstoff und Wasserstoff Mangan nicht angreifen. Umso heftiger reagiert es dafür bei hohen Temperaturen mit Sauerstoff, Schwefel und Phosphor. Deshalb ist es ein gutes Mittel zur Desoxidation und Entschwefelung von Metallen, wobei es in ein zweiwertiges Oxid bzw. Sulfid übergeht. Unter Wasserstoff-Entwicklung wird Mangan von Säuren gelöst. Dabei entstehen Mangan(II)-Salze. Heiße, konzentrierte Schwefelsäure löst Mangan unter  $SO_2$ -Entwicklung, Salpetersäure hingegen löst Mangan unter Entwicklung von Wasserstoff, Stickstoff und Distickstoffoxid [Beppler et al., 1984].

In Böden tritt Mangan üblicherweise in Form der Oxide Birnessit und Vernadit auf. Es gibt allerdings noch viele weitere Oxide. Durch die Oxidation von Mangan(II), bzw. die Reduktion von Mangan(IV) ergeben sich häufig nichtstöchiometrische Oxide mit unterschiedlichen Wertigkeiten.

Die verschiedenen Manganoxide weisen eine Neigung zur Bildung von Mischkristallen mit anderen Elementen wie Cobalt auf [Alloway, 1999]. Sie weisen unterschiedliche Löslichkeiten und Reduzierbarkeiten auf. Dies dürfte sich auch auf ihre Fähigkeit auswirken, den Pflanzenwurzeln Mangan zur Verfügung zu stellen. Welches Oxid die effektivste Manganquelle für Pflanzen ist, wurde intensiv untersucht: So stellten etwa Jones und Leeper [1951] fest, dass Hafer zwar aus Pyrolusit und Manganit Mangan aufnimmt, jedoch nicht aus Hausmannit. Die Beobachtungen von Page [1962] standen dazu im Widerspruch: Er gab an, dass die Verfügbarkeit von Mangan aus diesen Mineralien von Pyrolusit über Manganit zu Hausmannit zunimmt [Alloway, 1999].

### **Mangan in Böden und im Wasser**

Abbauwürdige Manganerze lassen sich geologisch in drei Gruppen einteilen. Der erste Typ sind Rhodochrosit-Braunit-Erze, die in präkambrischen vulkanischen Gesteinen eingeschlossen sind. Diese Erze finden sich vorwiegend um den südlichen Atlantik, etwa in Brasilien, Guyana, der Elfenbeinküste, Ghana, Burkina Faso oder im Kongo. Erze des zweiten Typs finden sich in stark oxidierten, eisen- und silikatreichen Sedimentgesteinen aus dem Proterozoikum. Die Vorkommen dieses Typs bei Hotazel in Südafrika und Corumbá in Brasilien zählen zu den größten Manganvorkommen auf der Welt. Zum dritten Typ zählen Mangan-Schiefer-Erze, die durch Sedimentation in flachen Schelfmeeren entstanden sind. Zu diesem Typ zählen unter anderem Vorkommen in Gabun, der Ukraine und weiteren Ländern um das Schwarze Meer [ISE, 2019].

Etwa 75 % der bekannten Ressourcen an Mangan liegen in der Kalahari Südafrikas. Auch in der Ukraine, Brasilien, Australien, Indien, Gabun und China finden sich größere Manganvorkommen. Größte Manganförderstaaten sind Australien, China und Südafrika, wobei die Weltgesamtförderung 2009 bei 10,8 Millionen Tonnen lag [ISE, 2019].

In normalen lufttrockenen Böden sind etwa 20-3000 ppm Mangan enthalten. Am mobilsten ist Mangan in sauren Böden, da seine Löslichkeit hier am höchsten ist. Durch Düngung mit kompostierter Baumrinde erhöht sich der Mangangehalt im Boden und auch durch Dämpfen der Erde zur Schädlingsbekämpfung wird mehr Mangan im Bodenwasser gelöst.

Der Mangangehalt in Meerwasser liegt bei durchschnittlich 0,03-2 ppb, ist jedoch relativ stark variabel. Bei Flusswasser liegt dieser Wert bei etwa 5 ppb.

### **Mangan in der belebten Natur**

Wenn eine Pflanze wächst und jeweils neue grüne Blätter produziert, werden aus dem Wurzelbereich Mangan-Ionen in das Blattwerk transportiert, um im Chloroplasten bei der Photosynthese den Sauerstoff abzuspalten. Mangan wird zunächst im Samen gespeichert, bis es zum Pflanzenwachstum kommt. In der Natur gibt es – wie beim Eisen und der bionischen Entwicklung eines biologischen Entrosters gefunden [Kunz et al., 1994] auch beim Mangan (und anderen essentiellen Metallen verschiedene Speicher- und Transportmoleküle (i.e. Komplexbildner/ Chelatoren und Proteine), die Mangan enthalten, um die Photosynthese zu ermöglichen.

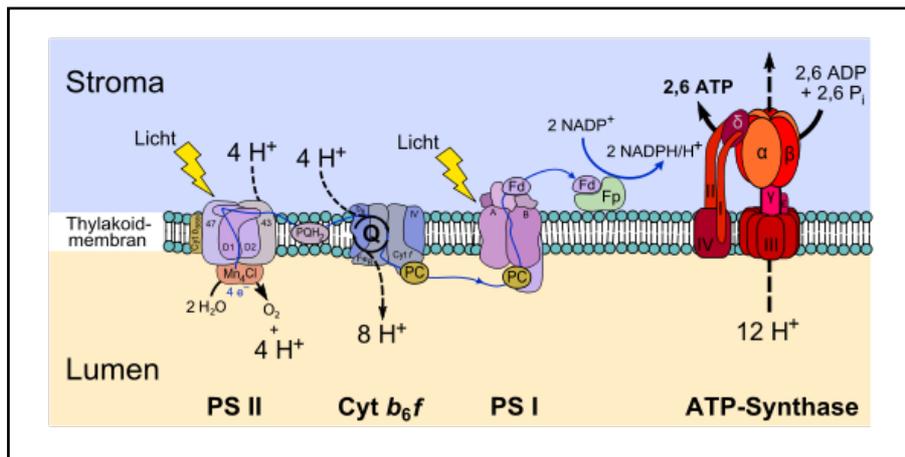
Mangan ist für das Leben auf der Erde von essentieller Bedeutung, sowohl Pflanzen als auch Tiere sind darauf angewiesen. Wenn Pflanzen Mangel an Mangan haben (Böden mit hohen pH-Werten und hohen Gehalten an organischem Material und Carbonat weisen kein Pflanzenverfügbares Mangan auf [Alloway, 1999]) ist der Ertrag gering – die unten zitierten Mangan-Gehalte basieren auf Untersuchungen zur Pflanzenverfügbarkeit von Mangan bei unterschiedlichen Böden.

Bereits 1863 erkannte J. Raulin, dass Mangan für das Wachstum des Pilzes *Rhizopus Ascophora* notwendig ist [Alloway, 1999].  $Mn^{2+}$  aktiviert Enzyme, wirkt bei der Synthese von Glycoproteinen mit und tritt in Metalloenzymen wie Arginase und Pyruvatcarboxylase auf. Mangan ist bei der NAD-Apfelsäure-Enzymsynthese von Blättern der  $C_4$ -Pflanzen beteiligt. Weiterhin ist Mangan bei der Synthese von Fettsäuren und der Knochenbildung essentiell [Alloway, 1999]. Bereits 1939 wies Lundegardh, darauf hin, dass Mangansalze bei katalytischen Vorgängen eine Rolle spielen. Bei der Decarboxylierung der Oxalessigsäure und der Oxalbernsteinsäure bzw. der Oxidation der alpha-Ketoglutar säure im Zitronensäurezyklus spielen  $Mn^{2+}$ -Enzyme eine wichtige Rolle [Kenten + Mann, (1953), Lang (1970)]. Seine Notwendigkeit bei der Nitrat-Assimilation hat Burström (1939) herausgestellt gehabt. Hewitt (1958) stellte die Aktivierung zahlreicher Enzyme im Zusammenhang mit Phosphat durch Mangan heraus, z.B. Phosphokinase, Phosphotransferase, Pyrophosphotransferase, Phosphatesterhydrogenase, Phosphatase und Pyrophosphatase.

### Photosynthese

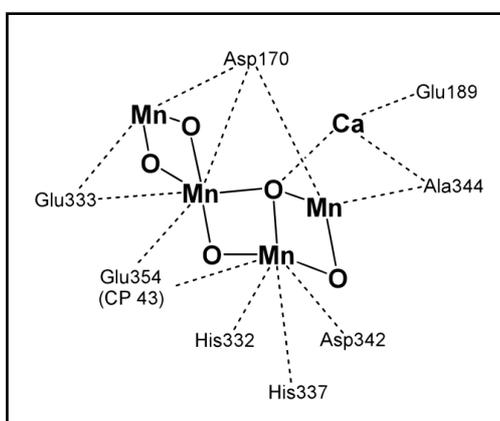
Die Photosynthese begann in Cyanobakterien vor etwa 3,5 Milliarden Jahren; aus den Cyanobakterien, die fälschlicherweise als „Blualgen“ bezeichnet wurden, haben sich die Algen + Pflanzen evolutiv entwickelt. Die „Durchseuchung“ der Ursuppe mit Cyanobakterien und deren Stoffwechselprodukt Sauerstoff gilt als die erste Umwelt-Katastrophe auf der Erde, weil er für die bis dato lebenden, obligat anaeroben Archaeen toxisch gewesen ist.

Die Photosynthese-Schritte in Pflanzen spielen sich innerhalb der Chloroplasten ab; sie lassen sich in Licht- und Dunkelreaktionen unterteilen, welche in getrennten Bereichen der Chloroplasten (siehe Abb. 1-4) in zwei Multiproteinkomplexen ablaufen: dem Photosystem I (PSI) und Photosystem II (PSII). Die Lichtenergie wird in ihnen für den Aufbau einer elektrochemischen Potentialdifferenz für Protonen über die Thylakoidmembran sowie zur Bildung von NADPH genutzt [Müller, 2005]. Zu den Lichtreaktionen gehören die Spaltung von Wasser, das als Elektronenquelle dient, außerdem die Reduktion von NADP+ zu NADPH sowie die Reaktion von ADP zu ATP. NADPH und ATP dienen bei der Dunkelreaktion dazu, CO<sub>2</sub> zu Kohlenhydraten zu reduzieren. Die Prozesse in PSI und PSII sind aneinandergeschaltet, damit der Elektronentransport vom Wasser zum NADP+ stattfinden kann [Müller, 2005].

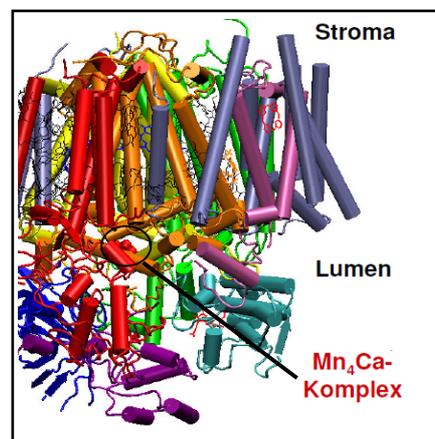


**Abbildung 1-4:** Photosysteme einer Pflanze - vereinfachte Darstellung (Abkürzungen: PS = Photosystem; PQH<sub>2</sub> = reduziertem Plastochinon; PC = Plastocyanin; Fd = Ferredoxin; Fp = Ferredoxin-NADP-Reduktase [Gwinner (2008); wikipedia (2021)])

Beim PSII wird mit Hilfe von Licht Wasser in Sauerstoff und Wasserstoff gespalten. Diese Reaktion wird durch einen Komplex aus vier Mangan-Atomen, einem Calcium-Atom an Sauerstoffbrücken katalysiert (siehe Abb. 1-5a + b [Yano et al, 2006]). Er ist an der Innenseite der Thylakoidmembran in den Chloroplasten, die das Thylakoidlumen vom Stroma trennt, angesiedelt [Müller, 2005]. Stengel et al. [2012] haben herausgefunden, dass bei dem Cyanobakterium *Synechocystis* das Transportprotein PrtaA das Mangan an seinen Einsatzort im PSII bringt (siehe Abb. 1-6 und 1-7).



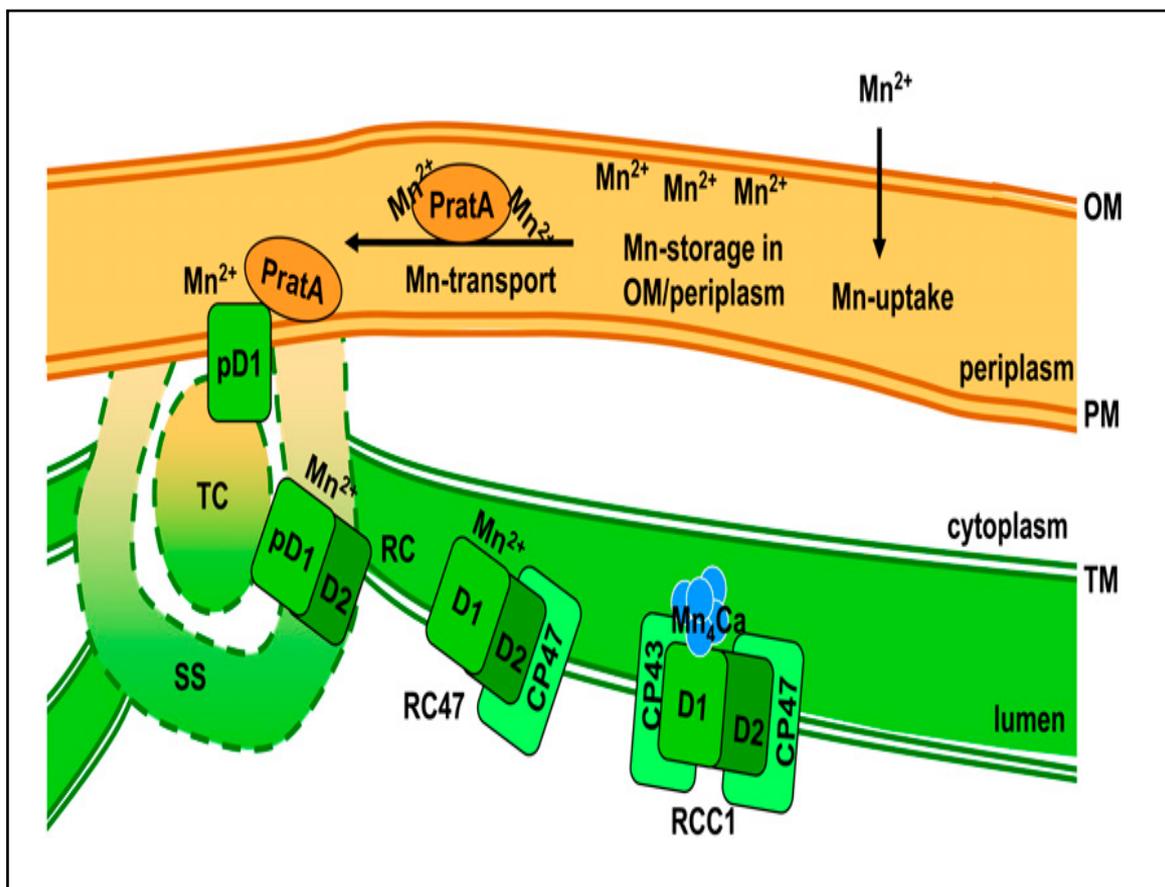
**Abbildung 1-5a** Mangan-Calcium-Cluster des sauerstoffproduzierenden Komplexes [Yano et al., 2006]



**Abbildung 1-5b:** Verortung des Mangan-Calcium-Clusters an der Thylakoid-Membran der Chloroplasten [Gwinner, 2008]

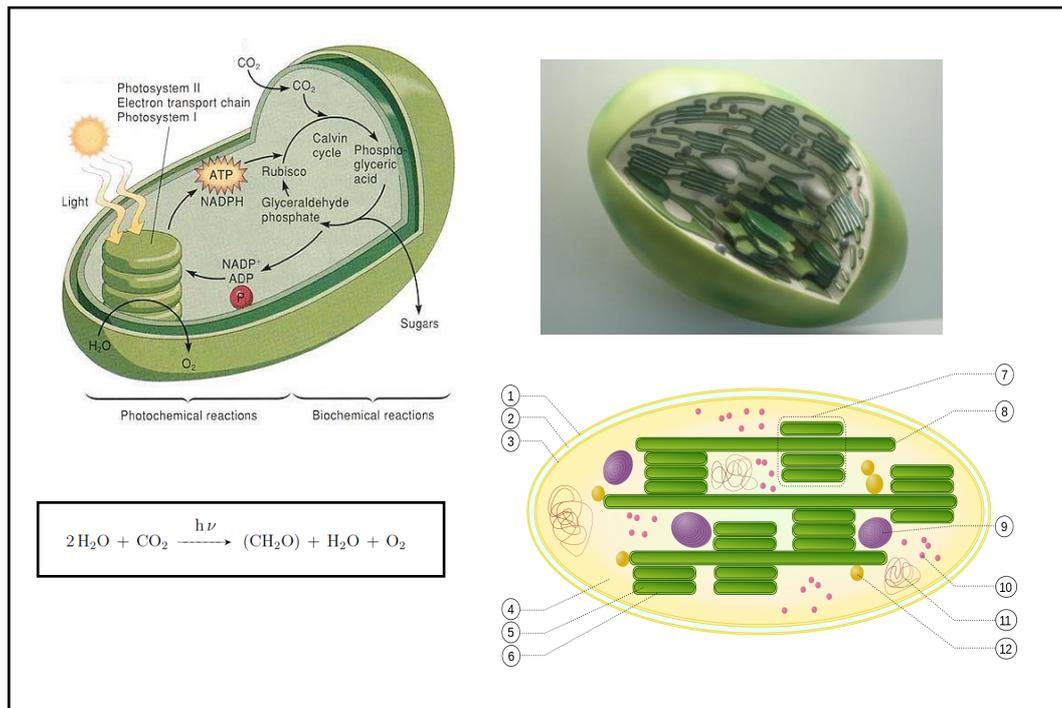


**Abbildung 1-6:** Natives PrtA bindet sich an den ausgewachsenen D1 C Terminus nahe des Mangan-Clusters [Stengel et al., 2012]



**Abbildung 1-7:** Schema des Mn-Transports zu PSII.

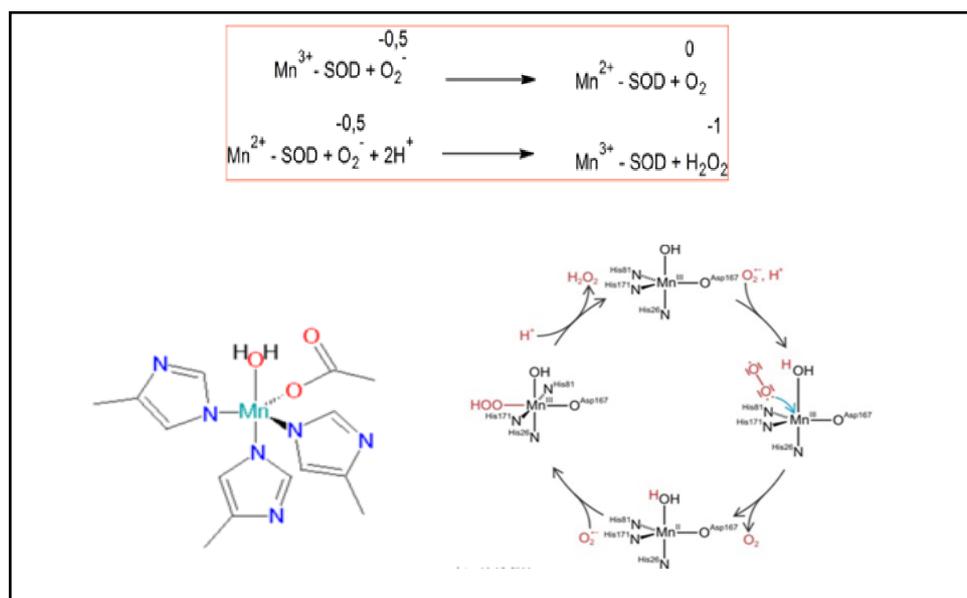
Zunächst wird Mn in das Periplasma in Form von  $Mn^{2+}$  aufgenommen. Dort wird es entweder gespeichert oder mit Hilfe von PrtA zu PSII transportiert. Nach dem Transport wird es von Protein D1 gebunden, das dadurch mit  $Mn^{2+}$  vorgeladen wird. In späteren Schritten der PSII-Biogenese wird daraus ein funktionales Mn-Cluster zusammengestellt (blau) (Legende: OM = outer membrane (Äußere Membran), RC = reaction complex, SS = semicircular structure (halbbrunde Struktur), TC = thylakoid center [Stengel et al., 2012])



**Abbildung 1-8:** Funktionsweise der Chloroplasten bei der Photosynthese (links); Aufbau der Chloroplasten (rechts): 1) äußere Membran, 2) Intermembranraum, 3) innere Membran (1+2+3= Hülle), 4) Stroma, 5) Thylakoidmembran (im Inneren des Thylakoids), 6) Thylakoidmembran, 7) Granum [Moore + Clark (1995); wikipedia (2021)]

Superoxiddismutasen (SOD)

Neben seiner Bedeutung im PSII von Chloroplasten erfüllt Mangan eine weitere wichtige Aufgabe bei der Photosynthese. Sogenannte Superoxiddismutasen (SOD) wandeln das im PSII erhaltene toxische Superoxid ( $O_2^-$ ) in  $O_2$  um. Für diese Redoxreaktionen nutzen die SODs zwei- oder dreiwertige Mangan-Ionen (s. Abb. 1-9). Solche manganhaltigen Superoxiddismutasen sind in Mitochondrien und Peroxisomen zu finden [Law et al. (1998); Stenglein (2011)]



**Abbildung 1-9:** Disproportionierung von Superoxid-Radikalen (oben); Mn-Superoxid-Dismutase (links) und Katalysezyklus (rechts) [Stenglein, 2011]

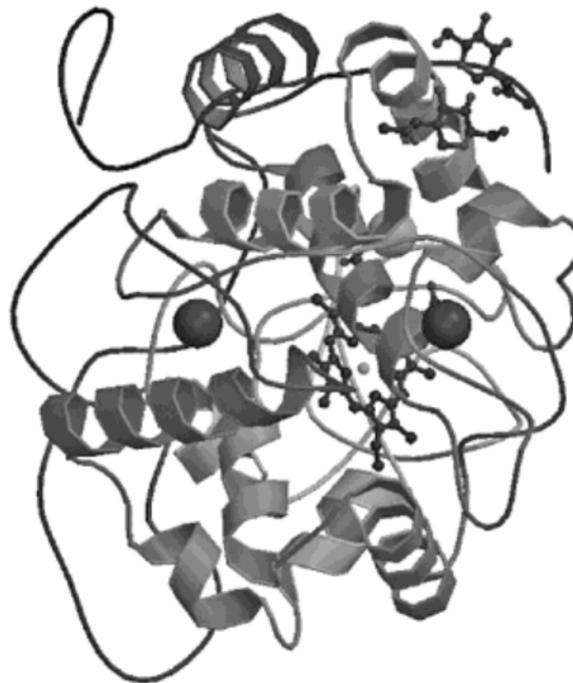
Während eisenhaltige Superoxiddismutasen vor allem in Pflanzen in den Chloroplasten lokalisiert sind, findet man manganhaltige Superoxiddismutasen in Mitochondrien und Peroxisomen (Zellorganellen in eukaryotischen Zellen). Von *Bacteroides gingivalis* und *Streptococcus mutans* sind SOD bekannt, bei denen das Metallion Fe/Mn frei austauschbar ist [Alscher, 2002].

Superoxiddismutasen katalysieren die Reaktion des beim Sauerstoffmetabolismus entstehenden toxischen Superoxids zu Sauerstoff und Wasserstoffperoxid durch Redoxreaktionen mit zwei- und dreiwertigen Manganionen ([Law et al., 1998] [Stenglein, 2011]). Das dabei entstehende (ebenfalls toxische) Produkt Wasserstoffperoxid wird durch Katalasen weiter zu Wasser und  $O_2$  abgebaut [e-learning.fu-berlin.de, 2014]. Das manganhaltige Enzym in *Escherichia coli* ist ein Tetramer, in dessen Untereinheiten jeweils ein Manganatom enthalten ist. Das Metallatom ist dabei jeweils von drei Histidin-Resten, einem Asparagin-Rest und einem Hydroxo-Liganden koordiniert [e-learning.fu-berlin.de, 2014].

### Mangan-Peroxidasen

Holzabbauende und streuzersetzende Basidiomyceten können Lignin selektiv aus pflanzlichen Materialien entfernen. Sie lassen dabei weißliche Zellulosefasern zurück, was Weißfäule genannt wird. Extrazelluläre, oxidative Biokatalysatoren greifen das Ligninpolymer über Ein-Elektron-Oxidationssystem an, was die Bildung instabiler, radikalischer Strukturen zur Folge hat. Ein zentrales Enzym des ligninolytischen Systems ist die Mangan-Peroxidase [Hofrichter, 2000]

Die native Mangan-Peroxidase (s. Abb. 1-10) reagiert mit  $H_2O_2$  zu dem Compound I, welches daraufhin unter Reaktion mit Mn (II) zu Compound II und dann weiterhin unter Reaktion mit einem weiteren Mn (II) wieder zurück zum nativen Enzym reagiert (s. Abb. 1-11 und 1-12) [Gold et al., 1989].



**Abbildung 1-10:** Struktur der Mangan-Peroxidase [Kubicek, 2013]

Das Prinzip des enzymatischen Abbaus des Lignin durch Mangan-Peroxidase ist in Abbildung 1-12 dargestellt.

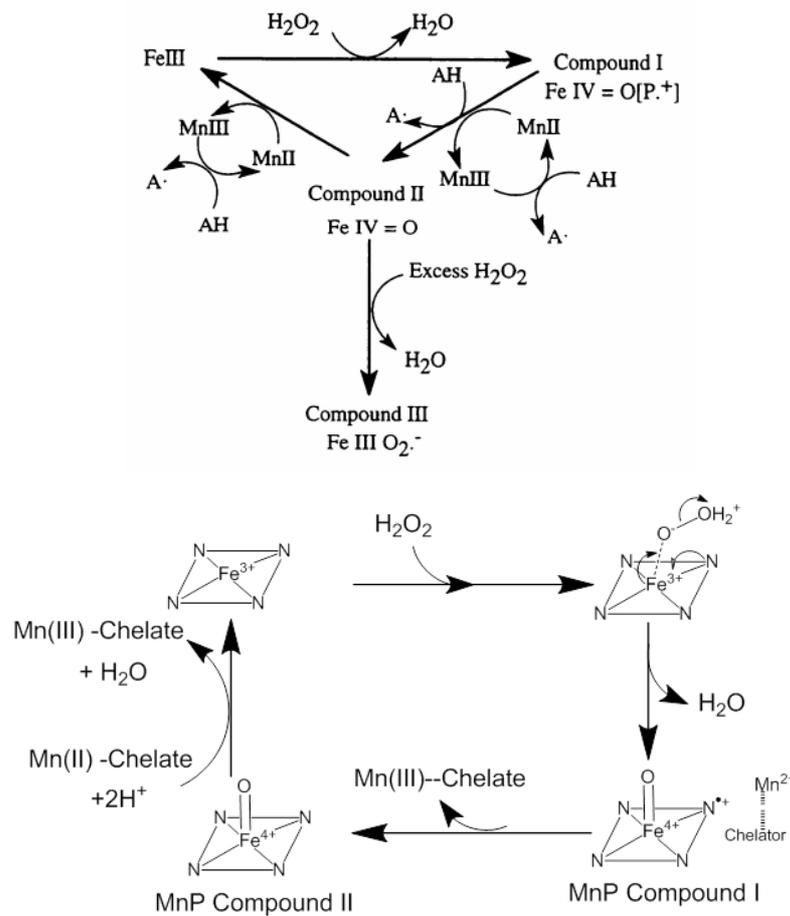


Abbildung 1-11: Zyklus der Mangan-Peroxidase beim Lignin-Abbau [Gold et al., 1989]

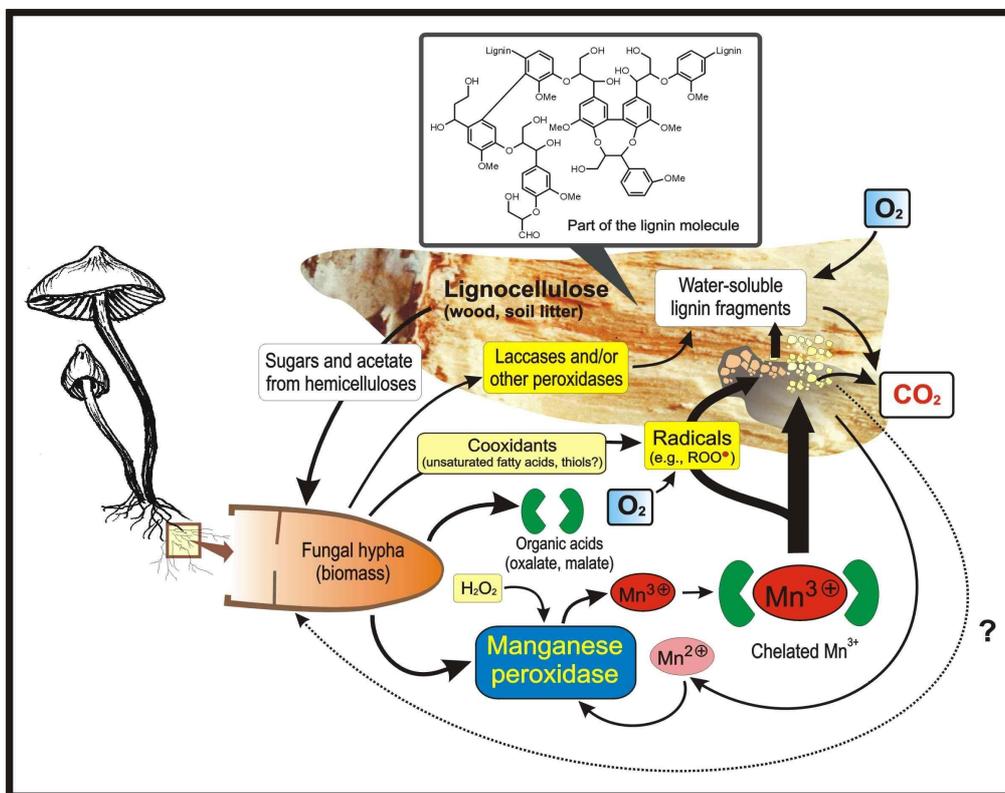
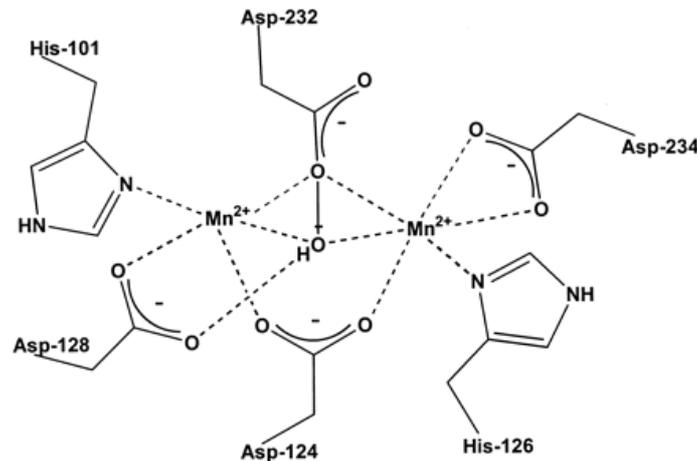


Abbildung 1-12: Prinzip des enzymatischen Abbaus von Lignin durch Mangan-Peroxidase [Hofrichter 2000]

### Arginase

Arginase (s. Abb. 1-13) gehört zur Familie der Harnstoff-Hydrolasen. Die Mangan-Ionen bewirken die Stabilisierung der Hydroxyl-Gruppen in dem vierflächigen Zwischenprodukt und erzeugen sp<sup>3</sup>-Ionen-Paare bei der NH<sub>2</sub>-Gruppe [Di Costanzo et.al., 2005]. Arginase benötigt zweiwertige Kationen, um ihre Aktivität entfalten zu können. Mn<sup>2+</sup> ist der häufigste Aktivator für Arginasen. Eine vollständig aktivierte Arginase enthält zwei Mn(II)-Ionen pro Untereinheit.



**Abbildung 1-13:** Struktur der Arginase [Kanyo et.al., 1996]

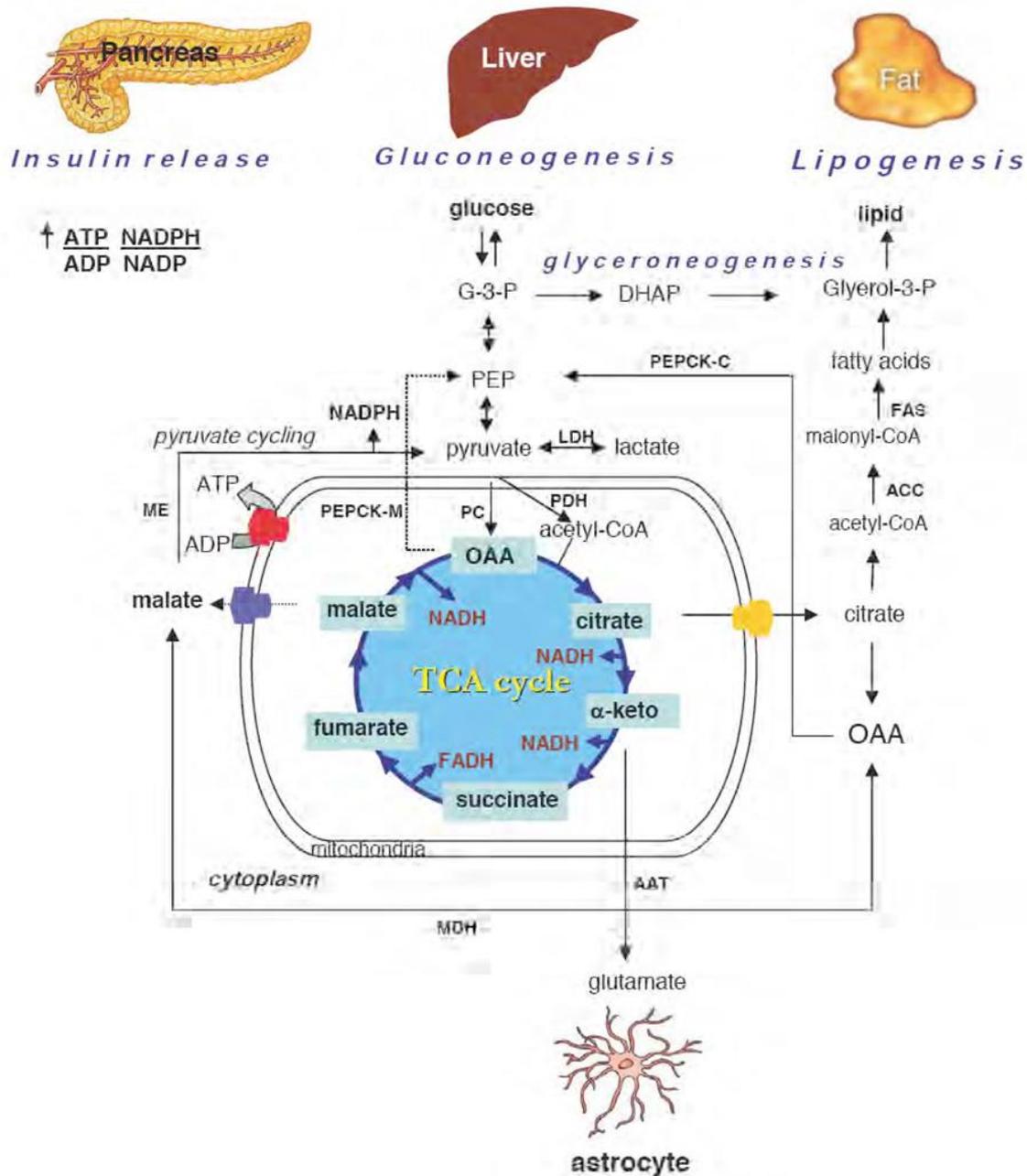
### Pyruvat-Carboxylase im Rahmen der Glukoneogenese

Die Pyruvat-Carboxylase, ein manganhaltiges Enzym, sowie die Phosphoenol-Pyruvat-Carboxykinase (PEPCK), ein Mangan-aktiviertes Enzym, spielen wichtige Rollen in der Glukoneogenese (Aufbau von Glukose-Zucker; siehe Abb. 1-14), bei der Glukose aus nicht-kohlenhydratartigen Bausteinen produziert wird. Die Pyruvat-Carboxylase katalysiert die Addition von Kohlenstoffdioxid an Pyruvat, den ersten Schritt der Glukoneogenese [ipi.regonstate.edu, 2014]. PEPCK katalysiert die Bildung von Phosphoenolpyruvat aus Oxalacetat. Hierzu sind Mn<sup>2+</sup>-Ionen notwendig, die den Phosphat-Transfer begünstigen, indem sie simultan mit dem Enolat-Sauerstoff und dem Sauerstoff-Atom des terminalen Phosphats des GTP oder ATP interagieren.

### Katalase

Katalasen sind wichtige Katalysatoren für die Disproportionierung von Wasserstoffperoxid in Wasser und O<sub>2</sub> (sie gelten auch als Antioxidantien). Die katalytischen Zentren können eisenhaltige Häm-Gruppierungen oder manganhaltige Gruppen sein. Die strukturell gut untersuchte Katalase aus *Lactobacillus Plantarum* ist ein Beispiel für eine Mn-haltige Katalase (und ein Grund, weshalb der Organismus wie die meisten anderen Lebewesen nicht auf Eisen zum Leben + Wachsen angewiesen ist).

Die hexameren Einheiten des Proteins sind unter Beteiligung von Ca<sup>2+</sup>-Ionen miteinander verbunden. In jeder der Untereinheiten ist ein dimeres Manganzentrum enthalten, das durch einen polaren Substratkanal zugänglich wird. Die Mangan-Atome sind durch einen μ-1,3-bindenden Glutamatrest und zwei Wassermoleküle miteinander verknüpft. Ihre Koordinationssphären werden durch Histidin ergänzt. Im Gegensatz zu anderen strukturell untersuchten manganhaltigen Katalasen enthält das aktive Zentrum der Katalase in *Lactobacillus plantarum* jeweils einen Arginin- und Glutaminrest, die für die Orientierung des Substrats verantwortlich sind [Chemie, 2021].



**Abbildung 1-14:** Gluconeogenese [Sitrapakdee, 2010]

### Weitere natürliche Mangan-haltige Moleküle

Mangan ist an der Reaktion von Arginasen, Hydrolasen, Kinasen, Decarboxylasen und Transferasen wie Pyruvat-Carboxylase, Mevalonatkinase und Glycosyltransferase sowie bestimmten Ribonukleotidreduktasen beteiligt [[Römpp, 2001], [Law et.al., 1998]].

### **1.2 Schäden durch Mangan – Toxizität**

Wie viele andere Metalle ist Mangan in feinverteilterm Zustand brennbar und reagiert mit Wasser. Zum Löschen können daher nur Metallbrandlöcher (Klasse D) oder Sand verwendet werden. Kompaktes Mangan ist dagegen nicht brennbar. Wird manganhaltiger Staub in hohen Dosen eingeatmet, wirkt er toxisch. Dabei kommt es zunächst zu Schäden in der Lunge mit Symptomen wie Husten, Bronchitis und Pneumonitis. Weiterhin wirkt Mangan neurotoxisch und schädigt das Zentralnervensystem. Dies äußert sich im Manganismus, einer Krankheit mit Parkinson-ähnlichen Symptomen wie motorischen Störungen. Für Manganstäube

existiert darum ein MAK-Wert von  $0,02 \text{ mg/m}^3$  für besonders feine Stäube, die in die Lungenbläschen eindringen können und  $0,2 \text{ mg/m}^3$  für einatembare Stäube.

Erkrankungen durch Mangan oder seine Verbindungen sind in Deutschland als Nr. 1105 in die Liste der Berufskrankheiten [BAUA, 2017] aufgenommen. Eine Exposition kann bei Gewinnung, Transport, Verarbeitung und Verwendung von Mangan oder seinen Verbindungen entstehen, sofern diese Stoffe als Staub oder Rauch eingeatmet werden. Dies trifft auch für das Elektroschweißen mit manganhaltigen ummantelten Elektroden zu [ISE, 2019].

Es ist bisher nicht bekannt, dass ein Kontakt mit Mangan oder sein Vorkommen Mangan in der Umwelt Schäden verursacht. Im Gegenteil war ja bereits oben von der Wichtigkeit als Pflanzennährstoff und der negativen Auswirkung eines Manganmangels bei Pflanzen die Rede. Einige Manganverbindungen, wie etwa Mangan(II)chlorid und Mangan(II)sulfat haben in hohen Konzentrationen, wie sie natürlich nicht vorkommen, bei Versuchstieren eine karzinogene Wirkung gezeigt. Insgesamt gilt Mangan aber als weitestgehend untoxisch [Umweltbundesamt, 1993]. Während das  $\text{Mn}^{2+}$ -Ion als ungiftig gilt, ist das Permanganation  $\text{MnO}_4^-$  oxidierend (wurde früher als Oxidationsmittel im CSB-Test verwendet + später durch das Kaliumdichromat als stärkeres Oxidationsmittel abgelöst).

$\text{Mn}^{3+}$  ist die biologisch aktive Form des Elements, die jedoch instabil ist. Manganazid ist eine der wenigen Manganverbindungen, die als stark wassergefährdend gilt.

In Gewässern lebende Manganbakterien sind in der Lage, Mangan(II)- und Eisen(II)salze zu Mangan(III)- und Eisen(III)salzen zu oxidieren [Umweltbundesamt, 1993].

Das Umweltbundesamt [1993] gab für Pflanzen Werte „normalerweise“ 10 bis 200 ppm Mangan (auf Trockenmasse bezogen) an, wobei die Werte zwischen 1 und 700 ppm Mangan schwankten (weiter unten werden Mangan-Gehalte für spezielle Pflanzen bzw. Pflanzenteile angegeben). Ab einem Mangangehalt von 500 ppm in der Trockenmasse von Pflanzen sind schädigende Effekte beobachtet worden. Während ein Manganmangel zu Wachstumsstörungen führt, verursacht ein Überschuss Chlorose.

Nur etwa 3% vom durch Warmblüter mit der Pflanzen-Nahrung aufgenommenen Mangan werden vom Körper absorbiert. Manganmangel kommt normalerweise höchstens bei auf manganarmen Weiden grasenden Tieren vor. Mangan-Überdosen können auch in relativ großen Mengen ohne schwerwiegendere Folgen vertragen werden. Das Element wird vor allem in Organen, Muskeln und Haarpigmenten gespeichert [Umweltbundesamt, 1993].

### **1.3 Mangan-Gehalte in Pflanzen, Gärresten sowie im Abwasser + Schlamm bzw. im Phytoplankton**

Mangan zählt, wie oben ausgeführt, zu den essentiellen Mikro-Nährstoffen in allen grünen Pflanzen: In jeder Pflanze, die Photosynthese betreibt, sind in den Blättern und im Stängel Mangan und Manganoxide enthalten. In den Wurzeln gibt es Mangan-Speicher. In den „Steigleitungen“ transportieren Mangan-Transporter Mangan hin zu den Chloroplasten, in denen am Mangan als Katalysator die  $\text{O}_2$ -Synthese abläuft.

Es ist von daher nicht verwunderlich, dass in Pflanzen, die gedüngt werden, hohe Mangan-gehalte anzutreffen sind. Abu Dahi (1973) hat hierzu umfangreiche Untersuchungen gemacht. Exemplarisch wird in Tabelle 1-3 der Mangan-Gehalt in gelbem badischem Landmais bei unterschiedlichen P-Düngergaben angegeben: Im Spross wurden zwischen 110 und 147 ppm in der Trockenmasse gefunden. Mangangehalte in Haferstroh wurden von Schönhard (1979) mit rund  $343 \mu\text{g/g TS}$ , im Weidelgras rund  $337 \mu\text{g/g TS}$  ermittelt.

**Tabelle 1-5: Mangan-Gehalte in Mais (Abu Dahi, 1973)**

**Tabelle 7:** 1. Ernte (22 Tage nach Versuchsbeginn)  
P- und Mikronährstoff-Gehalte von Maispflanzen in der Sandkultur ("Gelber badischer Landmais")(mg/g bzw.  $\gamma$ /g ATM) (Analytische Mittelwerte aus 2 biologischen Parallelen)

VR*	Gef.	Wurzel					Spross				
		P mg	Zn $\gamma$	Mn $\gamma$	Cu $\gamma$	Fe $\gamma$	P mg	Zn $\gamma$	Mn $\gamma$	Cu $\gamma$	Fe $\gamma$
I	8 Gef.	2,8	109	60	18,9	1035	3,9	70	110	12,6	159
II	8 Gef.	4,5	116	46	18,0	841	6,8	60	110	14,6	179
III	8 Gef.	4,7	86	46	25,5	1056	6,8	56	105	12,3	137
IV	8 Gef.	4,8	99	37	23,9	901	7,5	64	118	13,0	157
V	8 Gef.	5,1	104	56	26,1	1071	8,1	66	135	11,5	137
VI	8 Gef.	5,7	114	54	24,6	920	8,5	60	147	10,9	126

Bemerkenswert sind auch die Konzentrationen von Mangan in verschiedenen Grundfutter-Arten (siehe Tab. 1-6), die in Maissilage mit rund 60 ppm TM, in Grassilage mit rund 50 ppm TM und in Rübenblattsilage mit rund 143 ppm TM angegeben werden; Biertreber enthält nach Vetter (1973) immerhin rund 40 ppm TM. In dieser Quelle wird der Mangangehalt von Weizenkleie mit 139 ppm TM angegeben.

**Tabelle 1-6: Mangan-Gehalte in verschiedenem Grundfutter (Vetter, 1973)**

	Mg g	Mn mg	Cu mg
Maissilage	1,2	62	5
Massenrüben	1,7	23	7,5
Biertreber	1,8	41	10,5
Heu mit geringem Leguminosen- und Kräuteranteil (< 15%)	1,6	40	5
Heu mit mittlerem Leguminosen- und Kräuteranteil (ca. 25%)	2,1	40	6
Heu mit hohem Leguminosen- und Kräuteranteil (ca. 50%)	2,6	40	7
Grassilage mit geringem Leguminosen- und Kräuteranteil (< 15%)	1,9	50	6
Grassilage mit mittlerem Leguminosen- und Kräuteranteil (ca. 25%)	2,5	50	8
Weidefutter mit geringem Leguminosen- und Kräuteranteil (< 15%)	2,2	60	8
Weidefutter mit mittlerem Leguminosen- und Kräuteranteil (ca. 25%)	2,8	60	10
Weidefutter mit hohem Leguminosen- und Kräuteranteil (ca. 50%)	3,4	60	12
Rübenblattsilage	3,0	143	27

Im Hinblick auf eine mögliche Verwertung der zuvor extrahierten Pflanzenmaischen in der Herstellung von Phytopharmaka wurden Mangan-Gehalte im Tee und in Gewürzen recherchiert. In den Blättern des Schwarztees fanden Weiß + Engelhardt (1995) bis zu 1,5 mg Mn also 1500 ppm in der Trockenmasse (im Durchschnitt lag der Wert bei 600 ppm. Knapp 60 % des Mangans ließen sich mit heißem vollentsalztem Wasser extrahieren (Aufguss Spalte B,

Tab. 1-7). Hecht (1978) analysierte die unterschiedlichsten Gewürze; auffällig hoch ist der Wert von 75 ppm Mn bei den Nelken (Tab. 1-8).

**Tabelle 1-7:** Verteilung des Mangans im Tee und Teeaufguss (Weiß + Engelhardt, 1995)

Mn	A	B	C	D	E
N	15	15	15	8	8
max. Gehalt	1533	75	47	45	17
min. Gehalt	179	48	27	26	11
Mittelwert	588	59	35	33	14
VK (%)	2,9	6,6	6,4	8,6	8,3

A: Mn-Gesamtgehalte in µg/g Tee (i. Tr.)  
 B: Mn, Anteile [%] im Aufguß, bezogen auf A  
 C: Mn, org. gebundene Anteile [%] an RP-Material, bezogen auf A  
 D: Mn, org. gebundene Anteile [%] an RP-Material nach Zugabe von Vollmilch, bezogen auf A  
 E: Mn, org. gebundene Anteile [%] an RP-Material nach Zugabe von Zitronensaft, bezogen auf A

**Tabelle 1-8:** Mangan in verschiedenen Gewürzen (Hecht 1978)

	n	$\bar{x}$	s	Med	Streubereich
Ingwer	5	9,58	5,11	8,11	4,29 – 17,8
Knoblauch	2	1,1	–	–	1 – 1,2
Kurkuma	2	22	–	–	19 – 25
Sellerie	2	9,6	–	–	7,2 – 12
Zwiebel	4	3,68	0,171	3,65	3,5 – 3,9
Zimt	12	21,6	13,5	22	4,4 – 50
	n	$\bar{x}$	s	Med	Streubereich
Estragon	2	24	–	–	20 – 28
Lorbeerblätter	4	8,3	1,97	9	5,4 – 9,8
Majoran	8	10,1	5,06	12	1,4 – 13
Oregano	4	6,73	1,34	6,25	5,7 – 8,7
Petersilie	3	13,7	2,52	14	11 – 16
Rosmarin	3	3,5	0,529	3,7	2,9 – 3,9
Salbei	1	6,1	–	–	–
Schnittlauch	2	6,05	–	–	4,3 – 7,8
Thymian	5	15	4,42	–	–
	n	$\bar{x}$	s	Med	Streubereich
Ingwer	5	9,58	5,11	8,11	4,29 – 17,8
Knoblauch	2	1,1	–	–	1 – 1,2
Kurkuma	2	22	–	–	19 – 25
Sellerie	2	9,6	–	–	7,2 – 12
Zwiebel	4	3,68	0,171	3,65	3,5 – 3,9
Zimt	12	21,6	13,5	22	4,4 – 50
	n	$\bar{x}$	s	Med	Streubereich
Kapern	1	0,36	–	–	–
Kardamon	2	54,5	–	–	49 – 60
Macis	5	3,36	3,0	2,1	1,7 – 8,7
Muskatnuß	9	6,3	1,21	6,1	4,9 – 8,6
Nelken	9	75,2	40,0	76	10 – 119
Senf	5	4,06	0,702	3,9	3,2 – 5

Da sich verschiedene Disziplinen mit der Entgiftung von Böden im Rahmen einer Remediation beschäftigt haben, wurde auch in diesem Bereich recherchiert, welche Pflanzen Mangan aus Minenregionen aufgenommen und akkumuliert haben. Bemerkenswert ist die Publikation von Xie et al. aus dem Jahr 2015 (siehe Tab. 1-9), in ihr sind im Eucalyptus-Blatt rund 14.000 ppm Mn (auf das Trockengewicht bezogen worden) gemessen worden. Bei Knöterich-Gewächsen (*Polygonum*) immerhin 11.000 ppm Mn, Kiefern-Nadeln (*Pinum*) immerhin noch 8.300 ppm Mn, Stängeln eines Farn-Gewächses (*Dennstaedtia*) waren es sogar 15.000 ppm Mangan.

**Tabelle 1-9:** Manganese content in the soils, leaves and stems of the plant species from the Mn site at the Liangcheng mining area in southeastern China (Xie et al., 2015)

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0136606.t001>

Plant Species	Family	Soil <sup>a</sup>	Leaf <sup>b</sup>	Stem <sup>c</sup>
<i>Eucalyptus grandis</i> × <i>E. urophylla</i> <sup>CA</sup>	Myrtaceae	709 ± 136	640 ± 34	372 ± 34
<i>Eucalyptus grandis</i> × <i>E. urophylla</i>	Myrtaceae	13738 ± 2292	<b>13549 ± 1976</b>	<b>5231 ± 82</b>
<i>Neolitsea wushanica</i> (Chun) Merr	Lauraceae	12214 ± 1487	235 ± 24	127 ± 22
<i>Sapium sebiferum</i> (L.) Roxb	Euphorbiaceae	13578 ± 594	2354 ± 91	4716 ± 23
<i>Aphananthe aspera</i> (Thunb.) Planch	Ulmaceae	14532 ± 799	1424 ± 101	256 ± 61
<i>Ligustrum sinense</i> Lour.	Oleaceae	15530 ± 187	4297 ± 202	1734 ± 254
<i>Smilax china</i> L.	Liliaceae	12615 ± 487	5673 ± 594	2603 ± 63
<i>Dennstaedtia wilfordii</i> (T. Moore) Christ	Dennstaedtiaceae	16796 ± 2934	2042 ± 102	<b>14365 ± 659 (root)</b>
<i>Phytolacca acinosa</i> Roxb.	Phytolaccaceae	13782 ± 929	4142 ± 144	221 ± 21
<i>Miscanthus floridulus</i> (Labill.) Warburg ex K. Schumann	Poaceae	16896 ± 2034	1731 ± 92	3743 ± 436 (root)
<i>Pinus massoniana</i> Lamb.	Pinaceae	17789 ± 1523	<b>8305 ± 202</b>	3964 ± 86
<i>Polygonum chinense</i> L.	Polygonaceae	12415 ± 2328	<b>10849 ± 5133</b>	2244 ± 314
<i>Pteris semipinnata</i> L.	Pteridaceae	13012 ± 454	2687 ± 224	1774 ± 114
<i>Berchemia floribunda</i> (Wall.) Brongn.	Rhamnaceae	11449 ± 860	5791 ± 642	1811 ± 73
<i>Jasminum lanceolarium</i> L.	Oleaceae	11639 ± 1024	1848 ± 324	1147 ± 178
<i>Polli japonica</i> L.	Commelinaceae	9156 ± 821	360 ± 22	811 ± 13
<i>Equisetum hiemale</i> L.	Equisetaceae	12479 ± 1072	143 ± 145	2752 ± 457 (root)
<i>Commelina bengalensis</i> L.	Commelinaceae	11654 ± 2312	878 ± 242	972 ± 75 (root)
<i>Eleutherococcus trifoliatius</i> L.	Araliaceae	10455 ± 1322	964 ± 13	— <sup>d</sup>
<i>Paulownia kawakamii</i> L.	Scrophulariaceae	12533 ± 1527	1121 ± 449	676 ± 53
<i>Pteris fauriei</i> L.	Pteridaceae	12984 ± 556	864 ± 167	709 ± 103 (root)
<i>Woodwardia prolifera</i> L.	Blechnaceae	9241 ± 378	833 ± 924	816 ± 93 (root)
<i>Houttuynia cordata</i> L.	Saururaceae	8819 ± 1002	3581 ± 564	3329 ± 777 (root)
<i>Argyria seguinii</i> L.	Convolvulaceae	10998 ± 978	1721 ± 839	1295 ± 99

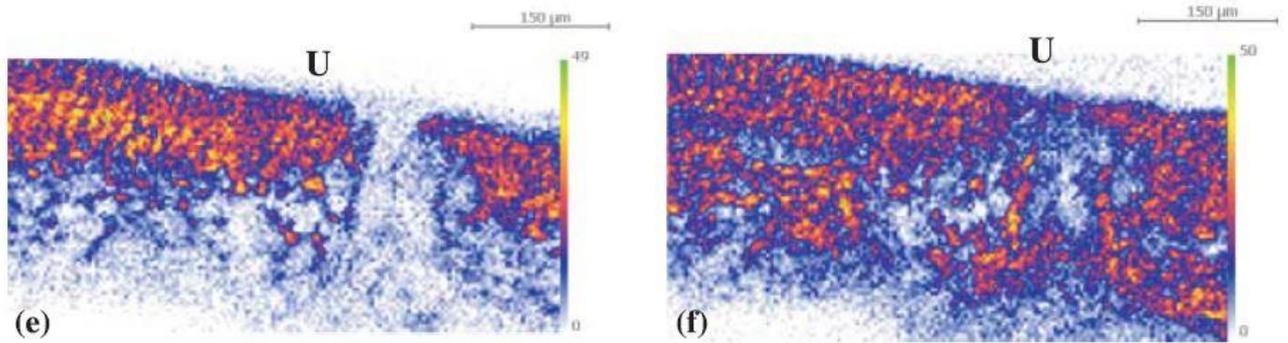
a, Mn concentration in the host soils of the dominant plant species (mg/kg DW), n = 3

b, Mn concentration in the leaves (mg/kg DW), n = 3

c, Mn concentration of the stem (mg/kg DW); d, no tissue was collected; CA: control area.

doi:10.1371/journal.pone.0136606.t001

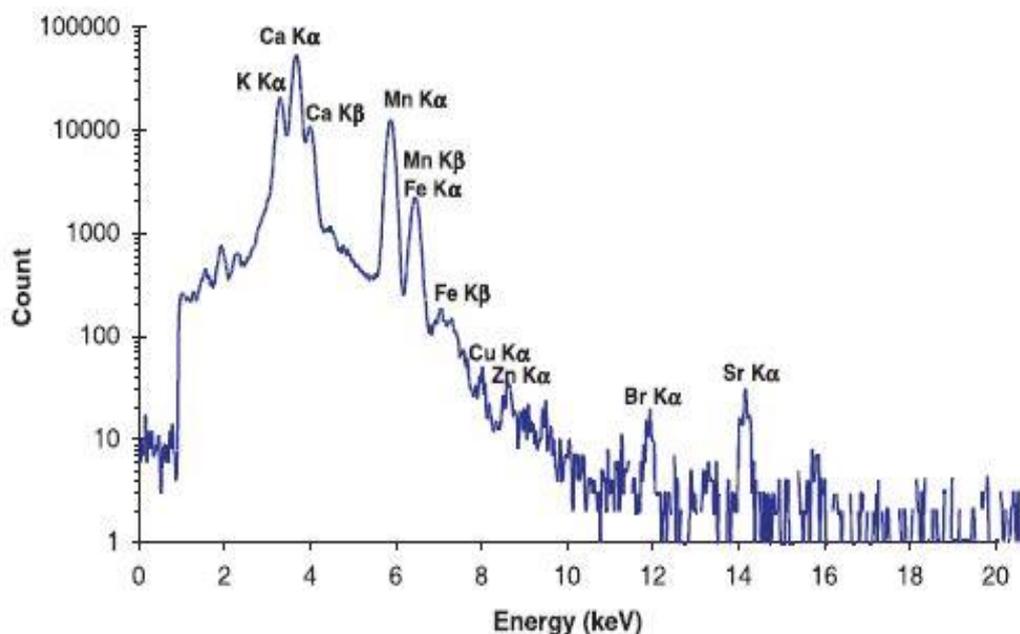
Fernando et al. (2006) publizierten Fotos (Abb. 1-15) von den Mangan-Gehalten in den Pallisaden des Mesophylls sowie das Spektrum einiger Erdalkali- + Metalle in den Blättern verschiedener Bäume (Abb. 1-16). In Myrten- und Silberbaum-Gewächsen fanden sie um 25 mg Mn/g TS; bei den Macadamia Nüssen immerhin noch um 1 mg Mn/g TS (siehe Tab. 1-10).



**Abbildung 1-15:** Proton induced X-ray emission/energy dispersive X-ray analysis (PIXE/EDAX) manganese (Mn) maps of leaf crosssections made from cryo-fixed and freeze-dried samples of *Macadamia integrifolia* (e, f). Note Mn sequestration in palisade mesophyll cell layers of all four species. The individual scales are qualitative representations of the relative intensity of the element being mapped in each case (Fernando et al.; 2006)

**Tabelle 1-10:** Dry weight foliar manganese (Mn) concentrations obtained by inductively coupled plasma (ICP) analyses (Fernando et al.; 2006)

Plant species (family)	Dry foliar Mn ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )
<i>Gossia bidwillii</i> (Myrtaceae)	26227
<i>Virotia neurophylla</i> (Proteaceae)	24350
<i>Macadamia integrifolia</i> (Proteaceae)	887
<i>Macadamia tetraphylla</i> (Proteaceae)	1275

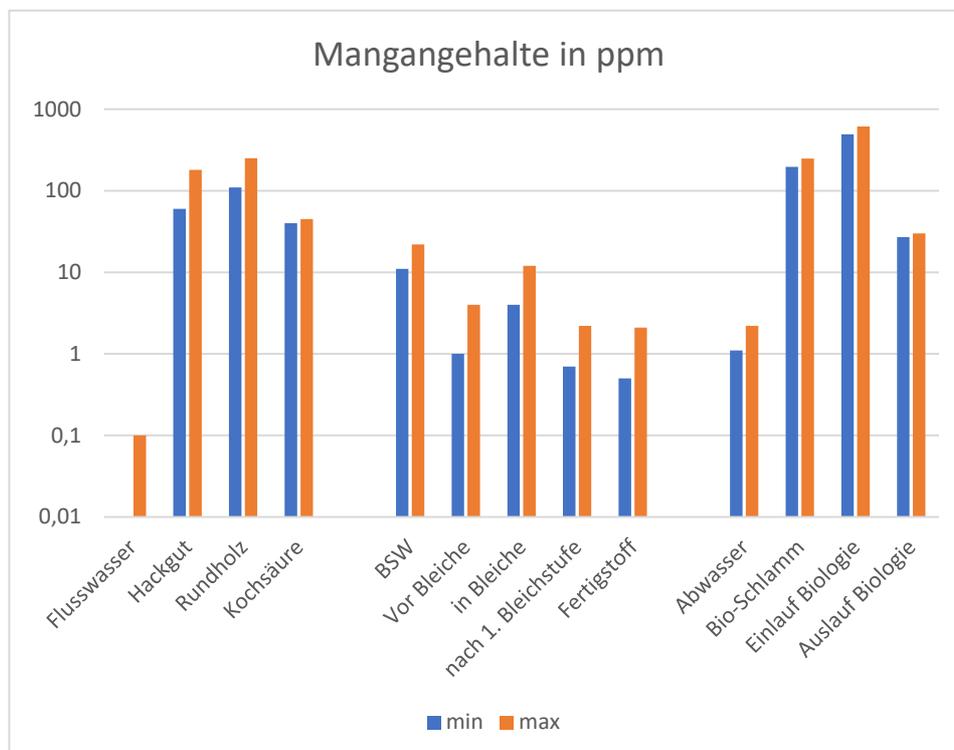


**Abbildung 1-16:** Proton induced X-ray emission/energy dispersive X-ray analysis (PIXE/EDAX) spectrum collected from a *Macadamia integrifolia* leaf cross-section. Note the main manganese (Mn) K $\alpha$  peak at 5.89 keV, and the secondary Mn K $\beta$  peak at 6.49 keV (Fernando et al.; 2006)

Aus der Zellstoff-Produktion der Firma ESSITY in Mannheim wurden exemplarisch die jüngsten Analysendaten zu Mangangehalten im Hackgut und Rundholz von Bruchholz zur Verfügung gestellt, die in Tabelle 1-11 bzw. Abbildung 1-17 wiedergegeben sind. Entlang des Herstellprozesses von Zellstoff sind die weiteren Mangan-Gehalte angegeben. Der Herstellprozess wird in Abschnitt 2.1 eingehend erläutert.

**Tabelle 1-11:** Mangan-Gehalte vom Holz über die Zellstoff-Herstellung bis zum Abwasser (BSW = Ablauge [Reinhard, 2021])

Mangangehalte		
Stichproben an 3 Tagen - alle Werte in ppm		
	min	max
Flusswasser		0,1
Hackgut	60	180
Rundholz	110	250
Kochsäure	40	45
BSW	11	22
Vor Bleiche	1	4
in Bleiche	4	12
nach 1. Bleichstufe	0,7	2,2
Fertigstoff	0,5	2,1
Abwasser	1,1	2,2
Bio-Schlamm	196	248
Einlauf Biologie	493	615
Auslauf Biologie	27	30



**Abbildung 1-17:** Mangan-Gehalte vom Holz über die Zellstoff-Herstellung bis zum Abwasser (Reinhard, 2021)

Einigen Klärschlamm-Analysenberichten aus dem Klärwerk Mannheim zufolge [Schönung, 2021], die für diese Studie ausgewertet wurden, liegen die Werte für Mangan zwischen rund 360 und 450 ppm in der organischen Trockensubstanz (rund 98 % des Mangan-Gehalts liegen in der organischen Masse bezogen auf den gesamten TS vor).

In Gärresten von Biogasanlagen zur energetischen Nutzung von Pflanzen lagen die Werte im gleichen Bereich: 360 bis 460 ppm [Cordes, 2021]. Helle [2021] berichtete von 128,6 ppm Mangan im Champost (Champignonerde) und 129,2 ppm im Gärrest.

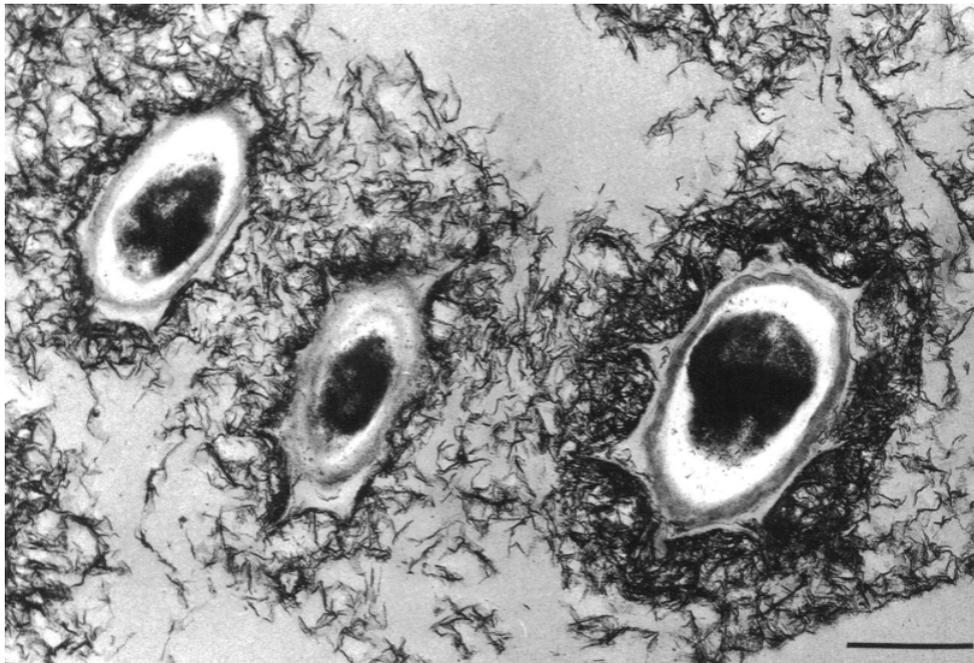
Phytoplankton enthält normalerweise Konzentrationen von 6 bis 14 ppm auf die Trockenmasse bezogen an. Meeresfische enthalten 0,3 bis 4,6 ppm Mangan und Austerngewebe etwa 17 ppm auf die Trockenmasse bezogen. Einige Weichtiere können das Element stärker anreichern [Umweltbundesamt, 1993].

#### 1.4 Mangan-Bindungssysteme an ganzen Zellen und in Transportsystemen, speziell in Cyanobakterien und Pflanzen

Im Rahmen von Bio-Mining Projekten zur Mangan-Entfernung wurden Algen und Sporen von Bakterien zur Bindung von Mangan untersucht. Diesem Aspekt der Mangan-Bindung soll hier kein breiter Raum eingeräumt werden, weil die Idee dieses Projektes war, mit natürlichen, selektiven Mangan-Molekülen angehängt an magnetische Trägermaterialien Mangan spezifisch aus diversen Maischen zu fischen.

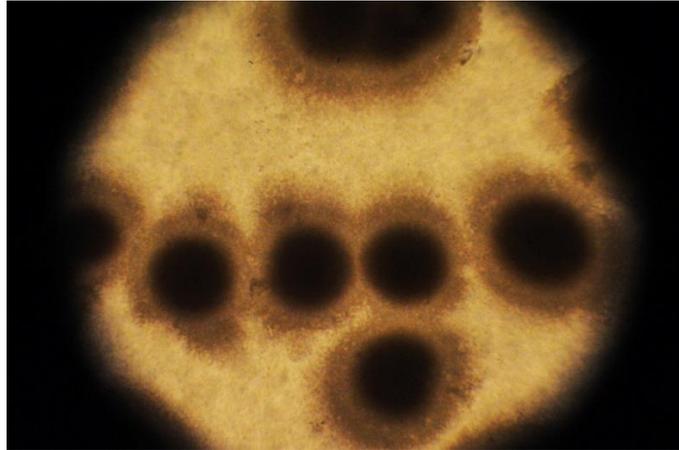
##### Mangan-Bindung an ganze Zellen

Die Bindung von Mangan an Algen wurden von Broomfield [1976], an Pilze (Chlamydosporen von *Cryptococcus albidus*) und an Sporen von Bakterien von van Ween [1973] untersucht. Bakterien wie *Bacillus fastidiosus* und *Bacillus megaterium* benötigen  $Mn^{2+}$ -Konzentrationen  $> 10^{-5}$  mol um hitzeresistente Sporen bilden zu können [Rosson + Neilson, 1982]. Abbildung 1-18 zeigt exemplarisch eine  $MnO_2$  – Beladung an Sporen eines marinen Bacillusstammes.



**Abbildung 1-18:** TEM-Aufnahme: SG-1-Sporen beladen mit  $MnO_2$  [Rosson, Neilson, 1982]

Aus einem Tiefsee-Schwamm wurden Bakterien isoliert, die die Fähigkeit haben, Mangan (II) zu Mangan (IV) zu oxidieren und so zu präzipitieren (siehe Abb. 1-19 [Wang + Müller, 2009])



**Abbildung 1-19:** Bakterien mit Mangan in einem Schwamm-ähnlichen Konglomerat 19 [Wang + Müller, 2009]

### Mangan-Bindung in molekularen Transportsystemen

Obwohl ja in nicht unerheblichen Mengen Mangan in Pflanzen aus dem Wurzelbereich über die Stängel bzw. das Holz in die Blätter bzw. Baumkronen transportiert werden, wurden in der Literatur keine Hinweise zu Forschungsarbeiten an derartigen Mangan-Transportern in Pflanzen gefunden. Die Grundidee dieses Projektes war ja „bionisch entwickelt“ gewesen, wenn Mangan in Pflanzen vom Keimling bzw. der Wurzel bis zum grünen Blatt transportiert wird, muss es ja spezifische Mangan-Transporter in der Natur geben.

Im Folgenden werden Mangan-Transporter vorgestellt, die in Cyanobakterien identifiziert wurden. Die Cyanobakterien waren vor rund 3,8 Milliarden Jahren bekanntlich die ersten Mikroorganismen, die mittels des Bacterio-Rhodopsins Lichtquanten einfangen und Photosynthese machen konnten.

Frühe Arbeiten von Stengel et al. [2012] hatten darauf hingewiesen, dass es ein bestimmtes Protein gibt, das beim Cyanobakterium *Synechocystis sp PCC6803* Mangan zum PSII bringt (siehe Abschnitt 1.1 und speziell Abb. 1-7). Dieses Protein nannten sie Prata. Prata steht für „processing-associated TPR protein“. Es ist ein Teil der tetratricopeptide repeat (TPR)-Proteinfamilie. Prata besteht aus einem hohen Anteil an den beiden Aminosäuren: Asparaginsäure und Glutaminsäure, an denen  $Mn^{2+}$  locker gebunden werden kann. Es besitzt aber eine Bindungsstelle mit sehr hoher Affinität zu  $Mn^{2+}$  (die Dissoziationskonstante wurde zu  $K_d = 73$  Mikrometer bestimmt), die nicht von  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  oder  $Fe^{3+}$  vereinnahmt werden kann. Prata wurde in zwei Formen gefunden:

- ✧ befestigt an der Membran über seine Interaktion mit D1 und
- ✧ als löslicher Komplex von ~200 kilo-Dalton (Masse/Länge) im Periplasma.

PSII ist ein Multiproteinkomplex, der essentiell für die Funktion der Photosynthese des Bakteriums ist. PSII besteht aus vielen verschiedenen Proteinen (wiederkehrende Motive von 34 Aminosäuren) und anderen Bestandteilen sowie einer katalytischen Maschinerie, die zum Auftrennen von Wasser benötigt wird. Der Wasser-oxidierende Komplex (WOC) besteht aus einem Calcium-Atom und vier Mangan-Atomen, die durch die PSII-Untereinheiten D1 und CP43 komplexiert werden, die Endoprotease CtpA ist daran beteiligt [Stengel et al., 2012].

Das in Abbildung 1-7 gezeigte Schema des Mangan-Transports beginnt damit, dass das Mangan in das Periplasma in Form von  $Mn^{2+}$  aufgenommen wird. Dort wird es zunächst gespeichert (eventuell am MncA:  $Mn^{2+}$  cupin A) und mit Hilfe von Prata zum PSII transportiert. Am

Ende des Transports wird das Mangan vom Protein D1 gebunden, das dadurch mit  $Mn^{2+}$  vorgeladen ist. In späteren Schritten der PSII-Biogenese wird daraus ein funktionales Mn-Cluster mit 4 Mangan-Atomen zusammengestellt [Stengel et al., 2012].

Weitere  $Mn^{2+}$  reversibel bindende Proteine, wie die Mn-abhängige Katalase MnCat ( $K_d=40$  Mikrometer) oder das oxidative stressschützende Protein SsDps ( $K_d= 48$  Mikrometer) sind im Kontext zu PrtA gefunden worden. Proteine mit höheren  $Mn^{2+}$  Bindungskonstanten, z.B. MnSOD oder PsbP binden Mangan dauerhaft und irreversibel ([Bartsevich + Pakrasi, 1996]; [Keren et al., 2002]).

Obwohl nicht ausgeschlossen ist, dass  $Mn^{2+}$  auch ohne jegliche Transportproteine zu D1 gelangen, dürfte der direkte  $Mn^{2+}$ -Transport über PrtA die Effizienz des Transports erheblich erhöhen [Stengel et al., 2012]. Brandenburg et al. [2017] suchten weiter und fanden ebenfalls im Cyanobakterium *Synechocystis sp.* PCC 6803 ein Protein, das Mangan exportiert und nannten es verkürzt Mnx. Da aktuell nur PrtA in ausreichenden Mengen zur Verfügung gestellt werden kann, wurden weitere Mangan-Transporter nicht mehr in die Betrachtungen dieser Studie einbezogen.

Das Transport-Protein PrtA könnte anstelle EDTA somit zur Maskierung von Mangan (im Zellstoff; siehe Abschnitt 1.7.2) Verwendung finden; vor allem seine spezifische Affinität zu  $Mn^{2+}$  an mindestens einer Bindungsstelle macht es sehr interessant. An dieser Bindungsstelle haben andere Metalle keine Chance sich anzugliedern. Da es außerdem das Mangan durch seine Transport-Eigenschaft nicht dauerhaft an sich bindet, könnte es im letzten Schritt des Bio-Fishings leichter sein, Mangan aus dem Mn-MTC heraus zu trennen.

### **1.5 Potenziale der Mangan-Gewinnung aus Abwässern und Reststoffen sowie Pflanzenmaischn**

Die im Abschnitt 1.1 angegebenen Werte für Mangan sind erwartungsgemäß sehr heterogen. Deshalb werden unten in der Zusammenfassung auch nur circa Angaben gemacht. Potentiell kommen folgende Pflanzenmaischn für die Mangan-Gewinnung in Betracht. Da alle Massenströme groß sind (größer  $1.000 m^3$  bzw. Kilogramm pro Tag) wurde aus der großen Liste möglicher Mangan-Quellen zunächst auf die Konzentration an Mangan geachtet und dabei insbesondere auf die Zugänglichkeit, das Mangan auch aus den Pflanzenmaischn gewinnen zu können.

Die jeweiligen Prozesse, insbesondere der Phytopharmaka und der Zellstoff-Produktion werden im Kapitel 2 ausführlich dargestellt. Mangan kann aus folgenden Abwässern respektive Schlämmen nach dem Bio-Fishing-Prinzip gewonnen werden; insbesondere in Pflanzenmaischn aus Abfällen der Phytopharmaka-Produktion nach der Extraktion der pflanzlichen Wirkstoffe sind die die Konzentrationen an Mangan extrem hoch:

aus der Zellstoff-Produktion (im Verlauf des Recycling-Prozesses bzw. bei der Abwasserreinigung)

- ✧ Kochsäure: 40 ppm Mn bezogen auf TS
- ✧ Ablauge BSW: 10 ppm Mn bezogen auf TS
- ✧ Abwasserzulauf Biologie: 500 ppm Mn bezogen auf TS
- ✧ Bio-Schlamm: 220 ppm Mn bezogen auf TS

aus Gärrückständen + kommunalem Klärschlamm

- ✧ Mais-Silage: 60 ppm Mn bezogen auf TM
- ✧ Gärreste Energieanlagen: 400 ppm Mn bezogen auf TS

- ✧ Klärschlamm (kommunal): 400 ppm Mn bezogen auf TS

#### aus der Phytopharmaka-Produktion (alphabetisch)

- ✧ Eukalyptus-Blätter: 13.000 ppm Mn bezogen auf TM
- ✧ Ginkgo-Extraktabfall: keine Konzentrationsangaben ermittelbar
- ✧ Kiefer-Nadeln: 11.000 ppm Mn bezogen auf TM
- ✧ Knöterich: 8.300 ppm Mn bezogen auf TM
- ✧ Myrte (aus *Gossia bidwillii* oder ähnlichen Myrtaceae): 26.000 ppm Mn bezogen auf TM

### **1.6 Verwendung von Mangan in der Technik**

Mangan ist ein wichtiges Metall in der Hightech-Industrie mit zunehmendem Verbrauch: vor allem wird künftig im Rahmen der Elektromobilität mit Nickel-Kobalt-Mangan-Zellen in Akkus anstelle von Lithium-Ionen-Batterien gerechnet [Meyering, 2020].

Aktuell liegt der Verbrauch bei etwa 10% der Reserven der Förderländer von rund 79 Milliarden Tonnen Mangan (Bundesanstalt für Geowissenschaften und Rohstoffe, zitiert in [Meyering 2020]). Wenn man berücksichtigt, dass die Nachfrage nach Akkus extrem zunehmen wird und nach wie vor für die Herstellung von einer Tonne Stahl 7 Tonnen Mangan benötigt werden, die bislang nicht recycelt werden, müssen nach Meyering [2020] neue Mangan-Quellen erschlossen werden. Sein Blick geht deshalb in Richtung der Förderung der kartoffelgroßen Mangan-Knollen vom Meeresgrund. Neben der aktuell fehlenden Machbarkeit sehen MeeressforscherInnen, wie Antje Boetius [2021, s.a. SWR2Wissen, 2021], große Gefahren für die ökologischen Zusammenspiele am Meeresgrund.

Von daher ist die Suche nach Alternativen zum Mangan-Erzabbau im Rahmen der Bioökonomie-Initiative ein wichtiger Baustein. Abbauwürdige Manganerz-Lagerstätten enthalten mindestens 35 % Mangan. Darunter ist der Abbau auch bei aktuellen Preisen nicht wirtschaftlich [Meyering, 2020]. Metallurgisch genutztes Manganerz enthält zwischen 38 und 55 % Mangan und wird im Tagebau oder im Kammerbau-Verfahren unter Tage abgebaut. Daneben gibt es „battery-grade-Erz“, das mindestens 44 % Mangan enthält sowie nur einen geringen Anteil an Kupfer, Nickel und Cobalt enthalten darf, damit es für die Produktion von Alkali-Mangan-Batterien geeignet ist, sowie „chemical-grade-Erz“, das für die Produktion von reinem Mangan und Manganverbindungen verwendet wird [ISE, 2019].

Reines Mangan wird in einer Größenordnung von etwa 140.000 Tonnen pro Jahr produziert. Es wird zum größten Teil für die Produktion von Spezialstählen und Aluminiumlegierungen eingesetzt. Weiterhin werden Zink-Mangan-Ferrite für elektronische Bauteile in hohem Maße gebraucht. Im Jahr 2019 kostete eine Tonne Mangansulfat mit einem Anteil von 37 % Mangan 1.000 US-\$, Manganflocken mit einer Reinheit von 99,5 waren pro Tonne 2.000 US-\$ wert [ISE, 2019].

Reines Mangan kann technisch nicht durch die Reduktion mit Kohlenstoff gewonnen werden, da sich hierbei neben Mangan auch stabile Carbide, insbesondere  $Mn_7C_3$ , bilden. Erst bei Temperaturen über 1.600 °C entsteht reines Mangan, bei dieser Temperatur verdampft jedoch schon ein Teil des Mangans, so dass dieser Weg nicht wirtschaftlich ist. Stattdessen wird Mangan durch Hydrometallurgie gewonnen. Hierbei wird Manganerz oxidiert, gelaugt und einer Elektrolyse unterzogen. Bei letzterer wird eine möglichst reine Mangansulfat-Lösung verwendet, die mit Edelstahl-Elektroden bei 5 bis 7 V elektrolysiert wird. An der Kathode entsteht dabei reines Mangan, an der Anode Sauerstoff, der mit Mangan-Ionen weiter zu Braunstein reagiert [ISE, 2019].

Für einen Großteil der bisherigen Anwendungen wird allerdings kein reines Mangan benötigt. Stattdessen wird Ferromangan, eine Eisen-Mangan-Legierung mit 78 % Mangan, gewonnen. Dieses wird durch Reduktion oxidischer Mangan- und Eisenerze mit Koks in einem elektrischen Ofen hergestellt. Eine weitere Legierung, die auf diesem Weg hergestellt wird, ist die Mangan-Eisen-Silicium-Legierung Silicomangan. Hier wird zusätzlich Quarz als Siliciumquelle in den Ofen eingebracht [ISE, 2019].

Hauptsächlich wird Mangan bei der Erzeugung von Stahl genutzt, z.B. für Eisenbahnschienen oder für Legierungen. Neben „Ferromangan“, einer Eisenlegierung mit etwa 80% Mangananteil, gibt es viele weitere manganhaltige Legierungen [Rüd, 2006]. Bei der Herstellung praktisch jeder Stahlsorte wird eine geringe Menge Mangan genutzt, um Schwefel und Sauerstoff zu verdrängen. Eine weitere wichtige Eigenschaft von Mangan in Stahl ist, dass es die Härtebarkeit des Stahls erhöht. Bereits 1839 war erkannt worden, dass Mangan die Formbarkeit von Eisen verbessert. Als 1856 Robert Forester Mushet (1811–1891) zeigte, dass durch Zusatz von Mangan eine Massenproduktion von Stahl im Bessemer-Verfahren möglich ist, wurde Mangan in kurzer Zeit in großen Mengen zur Stahlproduktion verwendet [ISE, 2019].

Da Mangan sehr stabile Mangan-Sauerstoff-Verbindungen bildet, wirkt es wie Aluminium und Silicium desoxidierend und verstärkt die Wirkung dieser Elemente. Zudem verhindert es die Bildung des leicht schmelzenden Eisensulfides und wirkt dadurch entschwefelnd. Gleichzeitig wird die Löslichkeit von Stickstoff im Stahl erhöht, was die Austenit-Bildung fördert. Dies ist für viele rostfreie Stähle wichtig [ISE, 2019].

Auch in Legierungen mit Nichteisenmetallen, insbesondere Kupferlegierungen und Aluminium-Mangan-Legierungen, wird Mangan eingesetzt. Es erhöht dabei die Festigkeit, Korrosionsbeständigkeit und Verformbarkeit des Metalls. Die Legierung Manganin (83 % Kupfer, 12 % Mangan und 5 % Nickel) besitzt, ähnlich wie Konstantan oder – noch besser – Isohm, einen niedrigen elektrischen Temperaturkoeffizienten, d. h. der elektrische Widerstand ist nur wenig von der Temperatur abhängig. Diese Materialien werden daher vielfach in elektrischen Messgeräten verwendet [ISE, 2019]. Magnetkerne für Schaltkarten in Fernsehern und Computern werden mit Hilfe von Mangan hergestellt.

Wie oben schon erwähnt, wird Mangan(IV)-oxid bei der Herstellung von Alkali-Mangan-Batterien bzw. in einer Zink-Braunstein-Zelle genutzt, bei der die Kathode aus manganhaltigem Braunstein besteht [Rüd, 2006]. Künftig wird der größte Teil des Mangans in der Verwendung von Nickel-Kobalt-Mangan-Akkumulatoren gesehen [Meyering, 2020].

In der Natur vorkommende Manganoxide wie Braunstein sind schon lange als natürliche Pigmente bekannt und in Gebrauch. So wurden schwarze Manganoxid-Pigmente unter anderem in den etwa 17.000 Jahre alten Höhlenmalereien in den Höhlen von Ekain und Lascaux nachgewiesen. In der Glasherstellung werden Manganverbindungen seit dem vierten Jahrhundert vor Christus im Römischen Reich eingesetzt. Dabei hat das Mangan zwei verschiedene Funktionen. Wird Braunstein eingesetzt, färbt dieses das Glas intensiv braun-violett. Wird dagegen dreiwertiges Manganoxid  $Mn^{3+}$  in eisenhaltige Gläser gegeben, entfärbt es diese, indem es das grünfärbende zweiwertige Eisen zum schwach gelben dreiwertigen oxidiert, was zusammen mit dem Violett des Mangans ein graues „entfärbtes“ Aussehen ergibt [ISE, 2019]. YInMn-Blau ist ein Mischoxid aus Yttrium-, Indium- und Manganoxiden, das ein sehr reines und brillantes Blau zeigt [ISE, 2019].

Mangan wird auch als Aktivator in Leuchtstoffen eingesetzt. Je nach Oxidationsstufe liegt die Wellenlänge des emittierten Lichts nach heutigem Wissensstand zwischen 450 und 750 nm ( $Mn^{2+}$ ) bzw. 620 und 730 nm ( $Mn^{4+}$ ). Praktische Bedeutung haben vor allem

BaMgAl<sub>10</sub>O<sub>17</sub>:Eu<sup>2+</sup>,Mn<sup>2+</sup> (grüner Emitter) und Mg<sub>14</sub>Ge<sub>5</sub>O<sub>24</sub>:Mn<sup>4+</sup> (roter Emitter) als Leuchtstoffe in weißen LED [ISE, 2019].

Auch Braunstein erlangte ab 1866 technische Bedeutung, als durch Walter Weldon das Weldon-Verfahren zur Chlorherstellung entwickelt wurde, bei dem Salzsäure mit Hilfe von Braunstein zu Chlor oxidiert wird [ISE, 2019].

Wie oben ausgeführt, benötigen manche Böden in der landwirtschaftlichen Produktion Mangan als Substrat für das Pflanzenwachstum. Zur Mangandüngung benutzt man häufig Mangansulfat. Mangansulfat wird auch dem Tierfutter hinzugefügt. Weitere, oft organische Manganverbindungen, werden als Fungizide eingesetzt [Umweltbundesamt 2013].

### **1.7 Biologische Komplexierung von Mangan (und Eisen) sowie Komplexierung durch EDTA (Ethyldiamintetraessigsäure) in der Chemischen Technik**

Der Mechanismus von Komplexbildnern ist vielschichtig und durch viele Bedingungen beeinflusst, so dass im Folgenden nur die wichtigsten Punkte erläutert werden sollen. Ein Komplexmolekül besteht aus einem Metallion oder -atom dem sogenannten Zentralatom (M) oder auch Zentralteilchen, welches von mehreren Molekülen oder Ionen, den Liganden (L), umgeben ist [Mortimer + Müller, 2003]. Es handelt sich um ungeladene oder geladene Verbindungen, in denen zwei, vier, fünf oder sechs, selten mehr Liganden geometrisch um das Zentralatom, dem Koordinationszentrum, angelagert sind [Pietsch 2001]. Der Metallkomplex ist eine neue Verbindung, die andere Eigenschaften als die Bindungspartner besitzt [Janiak 2012]. Die Bindung zwischen Ligand und Molekül kann von überwiegend kovalent bis überwiegend ionisch vorliegen. Die Valenzbindungstheorie – im Detail unten beschrieben – beschreibt zum Beispiel folgende Bindungsmöglichkeit: Die Liganden verfügen über mindestens ein Elektronenpaar, bei denen es sich meistens um freie Elektronenpaare handelt. Dieses freie Elektronenpaar wird durch Überlappung mit einem leeren Orbital des Zentralatoms zu einer kovalenten Metall-Ligand-Bindung [Janiak 2012].

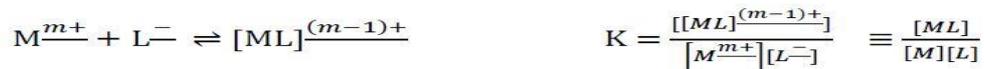
Die Koordinationszahl gibt die Anzahl der direkt an das Zentralatom koordinierten Liganden wieder. Die meisten Komplexe weisen eine Koordinationszahl von 6 auf, welche zumeist eine oktaedrische Anordnung der Liganden um das Zentralatom bewirkt. Vier Liganden bilden einen Tetraeder oder ein Quadrat, wohingegen zwei Liganden eine lineare Struktur bilden [Mortimer & Müller 2003]. Die Koordinationszahl, das heißt die Anzahl der koordinierten Liganden, gibt das Zentralatom vor. Jede Verbindung zwischen Ligand und Zentralatom wird als Koordinationsstelle bezeichnet. Jeder Ligand kann entweder eine funktionelle Gruppe aufweisen oder mehrere. Sind mehrere funktionelle Gruppen in einem Liganden verbunden, handelt es sich um einen mehrzähligen Liganden.

Sind mehrere funktionelle Gruppen eines Liganden an das gleiche Zentralatom koordiniert, nimmt ein Molekül also mehrere Koordinationsstellen ein, handelt es sich um einen Chelat-Liganden (griech. *chele* = Krepsschere), der sich ringförmig um das Zentralatom schließt [Pietsch 2001] [Mortimer & Müller 2003]. Chelat-Komplexe sind in der Regel stabiler als Komplexe mit einzähligen Liganden. Ein sechszähliger Chelat-Ligand ist bspw. Ethyldiamintetraessigsäure (siehe unten), die mit dem Zentralatom ein Oktaeder bildet

#### **Komplexbildungskonstante**

Die Komplexbildungskonstante gibt Aufschluss über die Neigung eines Komplexbildners mit Zentralatomen Verbindungen einzugehen und über deren Stabilität. Die thermodynamische Stabilität eines Komplexes wird durch die Gleichgewichtskonstanten der Bildungs- oder

Dissoziationsgleichgewichte ausgedrückt. Bei einer Gleichgewichtsreaktion kann das Massenwirkungsgesetz angewendet werden (siehe Abb. 1-20 [Gade 1998]).



**Abbildung 1-20:** Massenwirkungsgesetz [aus Gade, 1998]

In Abbildung 1- 21 ist das Gleichgewicht einer Komplexbildungsreaktion angegeben, genauso wie die sich aus dem Massenwirkungsgesetz ergebende Komplexbildungskonstante  $K$  [Demuth & Kober, 1992]. Die Komplexbildung erfolgt durch stufenweise Anlagerung der Liganden an das Zentralatom. Die Gesamtstabilitätskonstante ergibt sich daher aus den Einzelkonstanten der stufenweisen Komplexbildung. Die Gleichgewichtskonstanten  $K$  werden als individuelle Komplexbildungskonstanten oder Stabilitätskonstanten bezeichnet und oft logarithmisch als  $pK$ -Werte angegeben, welcher identisch mit dem positiven Logarithmus der Bildungskonstante ( $K_B$ ) ist, welcher wiederum identisch ist mit dem negativen Logarithmus des Dissoziationskonstanten ( $K_D$ ) ([Gade 1998], [Rauscher, 1996] [Demuth & Kober, 1992], [Kober, 1979], [Pietsch, 2001]:

$$\lg K_B = -\lg K = pK$$

**Abbildung 1-21:** Dissoziationskonstante

Hierbei gilt, je größer  $\lg K_B$ , desto beständiger und stabiler ist der Komplex [Pietsch, 2001]. Problematisch an den Komplexbildungskonstanten ist, dass sie nur unter genau denselben experimentellen Bestimmungsparametern, mit denen sie ermittelt wurden, Gültigkeit besitzen [Pietsch, 2001]. Zum Beispiel hat der pH-Wert einen starken Einfluss auf das Gleichgewicht der Reaktion und somit auf deren Konstante [Janiak, 2012]. Trotzdem ermöglichen die Komplexbildungskonstanten Aussagen über die spezifische Affinität zwischen Ligand und Metallion. Denn je größer die Konstante ist, umso stabiler und bevorzugter wird dieser Komplex hergestellt.

Tendenziell ist die Stabilität des Komplexes mit dem dreiwertigen Metallion stabiler als der mit dem zweiwertigen Ion des gleichen Metalls [Janiak, 2012]. Zentralatom und Ligand gehen aufgrund ihrer Wechselwirkungen ebenfalls eine Beziehung ein. Nach dem Prinzip der harten und weichen Säuren und Basen, wobei das Zentralatom die Säure und der Ligand die Base darstellt, ergibt sich folgende Abhängigkeit:

Dreiwertiges Eisen gehört zu den kleinen, hochgeladenen und schwer polarisierbaren Kationen und wird deshalb der Gruppe der harten Säuren zugeordnet. Passend hierzu sollte deshalb ein harter Ligand zur Komplexbildung verwendet werden. Zu den harten Liganden gehört beispielsweise die Amine, welche Bestandteile der funktionellen Gruppen der verwendeten Siderophore sind [Janiak, 2012]. Bei der Komplexbildung wird das Metallion aus seiner schwächeren Verbindung gelöst und in den Komplex überführt. Dies kann bedeuten, dass ein Metallion aus einem bereits bestehenden Komplex herausgelöst und in einen neuen Komplex integriert wird, wenn dieser eine größere Komplexbildungskonstante besitzt. Der gebildete Komplex ist stabil und zumeist wasserlöslich, so dass er leicht abtransportiert werden kann [Pietsch, 2001].

Der Bindungszustand sowie daraus folgende Eigenschaften der Komplexe können anhand der Valence-Bond- und der Ligandenfeld-Theorie beschrieben werden. In den folgenden Abschnitten werden diese Theorien kurz anhand des Eisen(III)-Ions erläutert [Holleman + Wiberg, 1985].

### Valence-Bond- Theorie

Die oktaedrischen Struktur des Eisen(III)-Komplexes kann anhand dieser Theorie folgendermaßen abgeleitet werden: Die 5d Elektronen, welche beim Eisen(III)-Ion verbleiben, werden soweit wie möglich gepaart und besetzen drei 3d Orbitale. Die übrigen zwei 3d Orbitale, das 4s und die drei 4p Orbitale hybridisieren zu sechs 3d Orbitalen, welche die Elektronen der Liganden aufnehmen können. Da physikochemisch eine maximale Symmetrie angestrebt wird, ergibt sich eine Oktaeder-Symmetrie. Aufgrund der vor der Hybridisierung erfolgten Paarung der Elektronen enthalten diese Komplexe weniger Elektronen als das zentrale Ion im Grundzustand. Diese Komplexe werden als Low-Spin-Komplexe oder Inner-Orbital-Komplexe (wegen der Benutzung der inneren d Orbitale) bezeichnet. Bei den High-Spin-Komplexen bleibt die Elektronenstruktur des unkomplexierten Zentralatoms erhalten. Diese Komplexe werden auch Outer-Orbital-Komplexe genannt, da für die Komplexbildung außer den 4s und 4p Orbitalen auch die 4d Orbitale benutzt werden. Für das Eisen(III)-Ion ergeben sich bei den High-Spin-Komplexen fünf ungepaarte Elektronen [Huheey, J. E. 1988].

### Ligandenfeld- Theorie

Die Ligandenfeld-Theorie beschreibt die Wirkung der Liganden auf den Energiezustand der d Orbitale. Diese Wirkung hängt von der Anordnung des Ligandenfelds ab (oktaedrisch, tetraedrisch oder quadratisch). Im Fall oktaedrischer Komplexe gilt folgendes: Bei der Annäherung von sechs negativ geladenen Liganden an das Zentralion mit d Orbitalen entlang der Achsen des Koordinatensystems ist die von den Liganden auf die d Elektronen ausgeübte Abstoßungskraft wegen der räumlich unterschiedlichen Anordnung verschieden. Die Orbitale  $d_{x^2-y^2}$  und  $d_{z^2}$  haben ihre größte Elektronendichte längs der x-, y- und z-Achse. Daher werden die zugehörigen Elektronen stärker abgestoßen und sind somit energiereicher als die Elektronen der Orbitale  $d_{xy}$ ,  $d_{xz}$  und  $d_{yz}$ . Die zuletzt aufgeführten Orbitale haben ihre größte Elektronendichte zwischen den Koordinatenachsen. Folglich liegen diese weiter von den Liganden entfernt und sind energieärmer [Holleman + Wiberg, 1985].

Der Energieunterschied zwischen beiden Gruppen wird durch  $\Delta_{\text{okta}}$  bezeichnet. Bei einem Energiezuwachs beträgt der energiereichere Zustand gegenüber dem Ausgangszustand  $0,6 \Delta_{\text{okta}}$ , bei Energieabfall beträgt der energieärmere Zustand  $0,4 \Delta_{\text{okta}}$ . Diese Koeffizienten resultieren daraus, dass der Energiegewinn gleich dem Energieverlust sein muss und ersterer sich auf zwei, letzterer auf drei Orbitale verteilt ( $0,6 * 2 = 0,4 * 3$ ) [Huheey, 1988]. Eisen-Siderophor-Komplexe sind High-Spin-Komplexe. Diese werden durch eine schwache energetische Aufspaltung der Orbitale erhalten (größere Zahl ungepaarter Elektronen). Die Zahl ungepaarter Elektronen beeinflusst unter anderem auch die magnetischen Eigenschaften der Komplexe, da der Paramagnetismus von Verbindungen mit der Zahl ungepaarter Elektronen wächst [Huheey, 1988].

### Chelat-Effekt

Durch Bildung von Chelatringen vergrößert sich die Stabilität von Komplexen. Dieser Chelat-effekt ist vor allem ein Entropie-Effekt; die Enthalpiebeiträge spielen nur eine sehr geringe Rolle. Dies wird deutlich bei einer Komplexbildung, bei der weniger Moleküle gebunden als freigesetzt werden; hier erhöht sich die Unordnung (Entropie). Aufgrund der sterischen Verhältnisse sind fünfgliedrige Chelatringe am stabilsten [Holleman + Wiberg, 1985].

#### **1.7.1 Biologische Komplexbildner - Siderophore**

Im folgenden werden zunächst biologische Komplexbildner (Siderophore) wie das

✧ DFOB (Desferrioxamin B mesilat)

✧ DFOE (Desferrioxamin E)

bzw. der Komplex aus Eisen mit Desferrioxamin B das

✧ Ferrioxamin B

vorgestellt. Im Abschnitt 1.7.2 werden danach synthetische Komplexbildner wie das bereits mehrfach erwähnte EDTA gewürdigt.

Siderophore sind niedermolekulare, wasserlösliche Moleküle, welche von Mikroorganismen und Pflanzen in der Natur synthetisiert werden, um Eisen-Ionen in das Zellinnere aufzunehmen. Der Begriff bildet sich aus den beiden griechischen Worten *sidiros* (Eisen) und *phoreas* (Träger) und lässt sich demnach vereinfacht als „Eisenträger“ übersetzen [Stelmaszyk, 2013].

Eisen ist für fast alle aerob lebenden Lebensformen ein unverzichtbares Spurenelement, denn es erfüllt als Metallzentrum einige physiologisch wichtige Schlüsselfunktionen bei der Zellatmung, der Photosynthese und der Stickstofffixierung. Die beiden wichtigsten Funktionen von Eisen stellen dabei Elektronentransfer (Redoxprozesse) und Sauerstofftransport dar [Stelmaszyk, 2013]. Nur sehr wenige Mikroorganismen können ohne Eisen leben oder gar nicht wachsen, Ausnahme bildet z.B. das Milchsäurebakterium *Lactobacillus Plantarum* [Archibald, 1983]. Obwohl Eisen das vierthäufigste Element der Erdkruste dargestellt, steht nur wenig davon den Organismen unmittelbar zur Aufnahme zur Verfügung. Denn unter den meist aeroben Bedingungen auf der Erde liegt Eisen in der thermodynamisch günstigsten Oxidationsstufe  $Fe^{3+}$  vor. Es ist schwer löslich und damit bei neutralen pH-Werten ohne Komplexbildner nicht verfügbar. Die Konzentration von Eisen(III)-Ionen beträgt im wässrigen Medium bei pH 7,4 ungefähr  $10^{-18}$  mol/L. Jedoch benötigen Mikroorganismen zum Wachstum eine Eisen(III)-Konzentration von ca.  $10^{-6}$  bis  $10^{-8}$  mol/L [Braun, 1991]. Viele höhere Lebewesen gleichen dieses Defizit über die Nahrungsaufnahme anderer Organismen aus. Vielen Bakterien, Pilzen und Pflanzen ist dies hingegen nicht möglich, sie müssen Eisen aus ihrer Umgebung aufnehmen [Stelmaszyk, 2013].

Dies geschieht durch die Bildung von Siderophoren. Die Synthese der Siderophore wird automatisch vom Organismus eingeleitet, wenn Eisen nicht in ausreichendem Maße zur Verfügung steht [Zähner, 1992]. Üblicherweise werden die Siderophore sekretiert, sobald die intrazelluläre Eisenkonzentration unter den Wert von ca.  $10^{-6}$  mol/L sinkt, der für das mikrobielle Wachstum kritisch würde. Sie werden in eisenfreier Form vom Organismus ausgeschieden und bringen das in der Umgebung vorkommende Eisen in eine lösliche Form, indem sie die Eisenionen komplex binden. Diese Bindung erfolgt mit hoher Spezifität und Affinität [Schlegel, 1985]. Das Elektronenpaar, welches zu Atombindung benötigt wird, stellt allein das Siderophor zur Verfügung. Nach der Bindung werden die mit Eisen beladenen Siderophorkomplexe über speziell ausgebildete aktive Rezeptor- und Transportsysteme in die Zellen des Organismus aufgenommen. [Matzanke et al., 2004; Zähner, 1992]. Je nach Struktur des Siderophors werden sie nach der Verwendung abgebaut (z.B. Enterobactin) oder wiederverwendet, wie z.B. Pyoverdine, große Siderophore aus verknüpften Aminosäuren [Wilbrand, 2012].

Nicht nur marine oder Bodenbakterien nutzen die Sekretion von Siderophoren als Strategie der Eisengewinnung für den Organismus, sondern auch viele wichtige Pathogene, d.h. potenzielle Krankheitserreger. Sogar für Säugetiere wurden Hinweise auf einige Siderophore bzw. siderophorartige Verbindungen gefunden [Peuckert, 2011].

Siderophore besitzen eine Molekülmasse von  $< 2000$  Dalton [Stelmaszyk, 2013]. Ein Dalton (Da) entspricht einem Zwölftel der Masse eines C12-Kohlenstoffatoms, was in etwa der

Masse des Wasserstoffs gleichkommt. Durch ihre geringe Molekülmasse können Siderophore die Zellwand von Mikroorganismen, Pilzen und Pflanzen passieren [Zähler, 1992].

Die Siderophor-Moleküle sind eine strukturell sehr heterogene Gruppe. Nach heutigem Kenntnisstand sind über 500 Siderophore benannt, bis 2013 war allerdings erst von 262 die chemische Struktur aufgeklärt [Stelmaszyk, 2013]. Die hohe Strukturvarietät der Siderophore ist evolutiv bedingt. Mikroorganismen waren gezwungen, möglichst nur solche Siderophore zu produzieren, die ihre konkurrierenden Mikroorganismen nicht aufnehmen können. Ihnen allen sind hohe Komplexbildungskonstanten gemein, um das Ausfällen von Eisen(III)-hydroxid zu verhindern [Stelmaszyk, 2013].

Siderophore lassen sich anhand der Art der Liganden in zwei Klassen einteilen, die Catecholate (Phenolate, wie z.B. Enterobactin und Salmochelin) und die Hydroxamate, wie z.B. Ferrichrom und Ferrioxamin [(Schlegel, 1985) + (Kaim & Schwederski, 1991)]. Hydroxamate können nochmals aufgrund ihrer antibiotischen oder wachstumsfördernden Eigenschaften in Sidermycine (antibiotisch) und Sideramine (wachstumsfördernd, z.B. Aerobactin [Neilands, 1995]) unterteilt werden [Keller & Schierlein 1964]. Hydroxamate werden vorwiegend von höheren Mikroorganismen wie Pilzen und Hefen synthetisiert, wohingegen Catecholate größtenteils in Bakterien vorkommen (siehe Abb. 1-22).

Desferrioxamin B und E gehören zu der Gruppe der Ferrioxamine, die zu den Sideraminen gehören. Bei beiden Klassen handelt es sich um Liganden, die spannungsfreie ungesättigte Fünfring-Chelatsysteme mit negativ geladenem Sauerstoff-Koordinationsatomen bilden [Kaim & Schwederski 1991].

Der Katechol-Strukturtyp wird häufig von Bakterien produziert und weist die höchste Eisenaffinität auf. Bei diesem Typ von Siderophoren passt high spin-Eisen(III) mit seinem Ionenradius optimal in das oktaedrische Feld dreier Katechol-Funktionen. Deshalb sind sie sehr stabil [Stelmaszyk, 2013]. Ein bekannter, gut untersuchter Vertreter ist das Enterobactin, ein Tricatechol. Es stellt das wichtigste Siderophor für *Escherichia coli* dar und verfügt über die höchste bisher bekannte Eisen(III)-Komplexbildungskonstante. Durch Hydrolyse des Trilacton-Rings verringert sich das Redoxpotential des Fe<sup>3+</sup>-Komplexes, was die Freisetzung des Eisens in der Zelle begünstigt [Wilbrand, 2012].

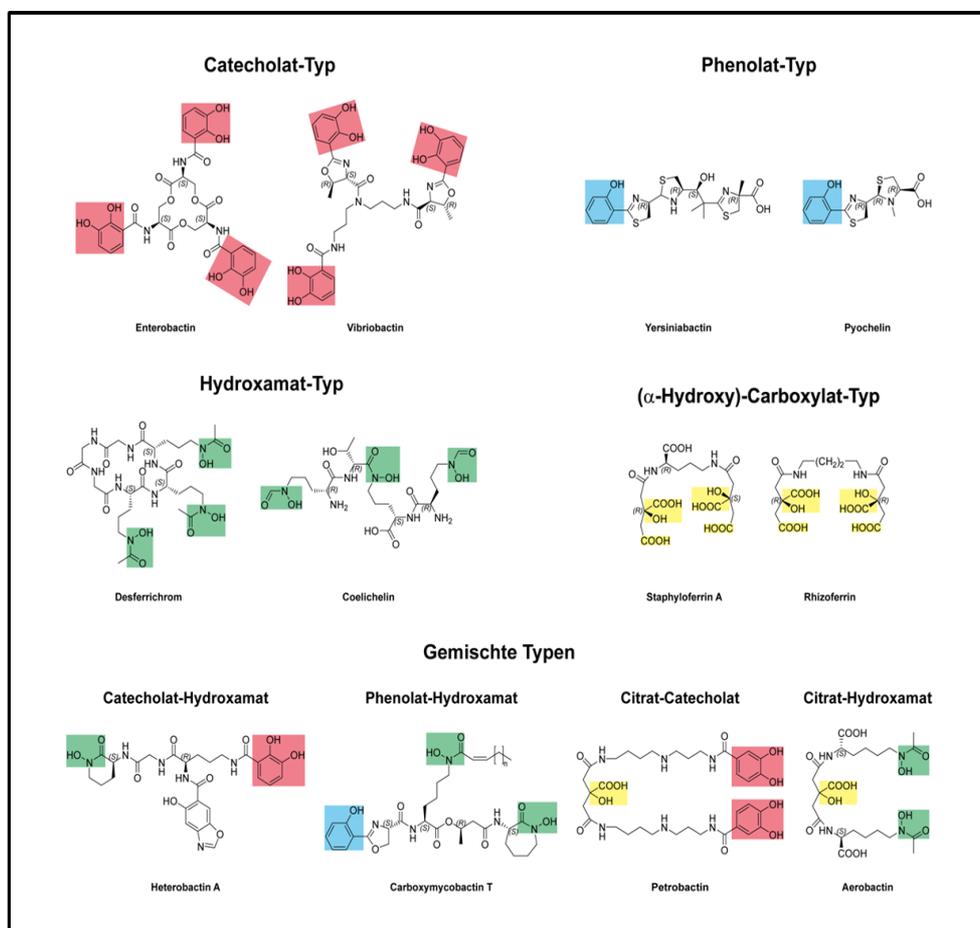
Eine noch nicht lang entdeckte und strukturell aufgeklärte Untergruppe der Katechol-Siderophore ist das Salmochelin [Hantke et al., 2003]. Diese bestehen aus 2,3-Dihydroxybenzoylserin (DHBS)-Einheiten und sind linear über Glucosemoleküle verbrückt oder ihre Catecholate sind mit den Zuckern über Etherbindungen verknüpft. Die Entstehung erfolgt in Gegenwart von iro-Genclustern in *Salmonella enterica*, die eine Glucosylierung von Enterobactin-DHBS-Einheiten fördern. Hydrophobes Enterobactin wird durch die Zuckermoleküle hydrophil und nutzt dadurch andere Struktur-Wirkungsmechanismen des Eisenaufnahmesystems [Heggemann, 2007].

Die Hydroxamate bestehen häufig aus langen Ketten (> 30 Atome) oder großen Ringen (> 18 Atome). Diesen Strukturtyp nutzen vor allem Pilze, aber auch verschiedene Bakterien [Wilbrand, 2012]. Zu den typischen Vertretern zählen Ferrichrome aus Schimmelpilzen. Sie bestehen aus einem 18-gliedrigen Ring sowie drei Seitenketten. Des Weiteren zählen zu diesem Strukturtyp die Ferrioxamine aus Actinobakterien. Beide genannten Siderophore können sechszählig koordinieren. Andere Hydroxamat-Vertreter können nur vierzählig koordinieren, so z.B. das Bisucaberin des Meeresbakteriums *Alteromonas haloplanktis*, das in Algen vorkommende Alcaligin sowie das pathologische Bakterium *Bordetella pertussis* [Wilbrand, 2012]. Außerdem gibt es noch die Desferrichrome, die strukturell verwandte

Siderophore aus Pilzen sind [Winkelmann, 1991]. Sie bestehen aus einem zyklischen Hexapeptidgerüst und ihre chelatisierenden Hydroxamatgruppen befinden sich an den Enden von drei Seitenketten. Es wurde festgestellt, dass die Carbonyl-Sauerstoffatome während des Rezeptorerkennungsprozesses Wasserstoffbrückenbindungen mit dem Protein eingehen [Yun et al., 2000; Barchini und Cowart, 1996; Hider et al., 1984].

Die dritte Gruppe der Siderophore verwendet zur Chelatisierung des  $\text{Fe}^{3+}$  ausschließlich Carboxylat- und Hydroxyfunktionen. Diese Gruppe blieb lange unentdeckt, da die Eisenkomplexe dieser Verbindungen farblos sind. Zu dieser Spezies gehört auch das Staphyloferrin B des Bakteriums *Staphylococcus aureus* [Wilbrand, 2012].

Während sich die allermeisten Siderophore den drei genannten Gruppen zuordnen lassen, bestätigen Ausnahmen die Regel: das Pyochelin und das bereits genannte Yersiniabactin binden  $\text{Fe}^{3+}$  über Stickstoff- und Sauerstoffatome. Außerdem gibt es Mischungen wie die Katechol-Hydroxamat-; die Phenol-Hydroxamat-; Citrat-Katechol-; oder Citrat-Hydroxamat-Siderophore [Wilbrand, 2012].



**Abbildung 1-22:** Repräsentative Vertreter der verschiedenen Siderophor-Arten [Peuckert, 2011]

Neben der Klassifizierung der Siderophore basierend auf ihren chemischen Charakteristika, kann man sie auch anhand ihres biosynthetischen Ursprungs unterteilen. Bei der Biosynthese ist oft eine Vielzahl von Enzymen des Primär- und Sekundärmetabolismus beteiligt. Bisher wurden zwei Hauptsynthesewege der Siderophore identifiziert. Siderophore mit Polypeptidcharakter bilden sich aus Proteinen der Multienzym-Familie der nichtribosomalen Peptidsynthese (NRPS) [Crosa + Walsh, 2002; Challis + Naismith, 2004], die Synthese der Siderophore

des Hydroxamat-Typus erfolgt über einen anderen Weg, den NIS-Pathway (NRPS-independent siderophore pathway). Dabei werden als Bausteine Dicarbonsäure, Diamine und Aminoalkohole genutzt, welche über Amid und Esterverbindungen verknüpft werden [Challis, 2005]. Beide Klassen haben die Gemeinsamkeit, dass die Gene für die Biosynthesemaschinen normalerweise in einem gemeinsamen Gencluster angeordnet sind.

Effektiv besitzen Siderophore häufig Mehrfachbindungen für eine optimale Koordination des  $\text{Fe}^{3+}$ -Ions. Sechszählige Siderophore kommen am häufigsten vor. In einem 1:1-Komplex können so die Koordinationsstellen des Eisens abgesättigt werden. Auch vierzählige Siderophore werden von Mikroorganismen produziert. Sie bilden mehrkernige Assoziative, wie  $\text{Fe}_2\text{L}_3$ , um eine vollständige Koordination zu erreichen [Heggemann, 2007]. Des Weiteren gibt es zweizählige Siderophore, die im Vergleich zu den mehrzähligen Vertretern die schwächste Eisen-Affinität aufweisen. Entscheidend ist hierbei der Konzentrationseffekt bei der Bildung der Komplexe. Für die oktaedrische Koordination eines  $\text{Fe}^{3+}$ -Ions werden drei zweizählige Liganden benötigt, deshalb müssen diese in höherer Konzentration als ein sechszähliger Ligand vorliegen, der imstande ist, ein  $\text{Fe}^{3+}$ -Ion alleine zu komplexieren. Da 1:1-Komplexe den Entropieeffekt des Chelatisierungsvorgangs minimieren, sind diese bevorzugt [Heggemann, 2007].

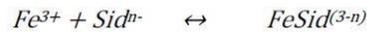
Der Grad der Eisen-Affinität hängt auch vom Grundgerüst ab. Zyklische Strukturen, wie z.B. Ferrioxamin E, sind affiner als ihre offenkettigen Analoga. Dies ist einem makrozyklischen Effekt zu verdanken, der die chelatisierenden Gruppen in eine Konformation zwingt, die für die Koordination günstiger ist [Heggemann, 2007].

Welche Art von Siderophoren von einem Organismus produziert wird, hängt davon ab in welchem Habitat sich dieser bewegt. Dies spiegelt sich in den pKa-Werten der funktionellen Gruppen wider. Zum Beispiel sind  $\alpha$ -Hydroxycarboxylatsiderophore bereits bei relativ niedrigen pH-Werten effektiv. Katechol- und Hydroxamatsiderophore liegen da noch vollständig protoniert vor. Daher wird die Gruppe der  $\alpha$ -Hydroxycarboxylatsiderophore vor allem von acidophilen Mikroorganismen synthetisiert [Peuckert, 2011].

#### Komplexbildung des Siderophors DFOB mit 3-wertigem Eisen

An dieser Stelle sollen die Vorgänge bei einer Komplexbildung am Beispiel des Eisens im Überblick erläutert werden. „Eisen ist nach Angaben der Geologen das vierthäufigste Element in der Erdkruste: trotzdem finden die aeroben (in sauerstoffhaltiger Umgebung lebenden) Mikroorganismen unter neutralen pH-Bedingungen wenig gelöstes, zweiwertiges Eisen vor, um ihren Bedarf an dem für jeden Mikroorganismus lebenswichtigen Element zu decken. Unter neutralen Bedingungen liegt Eisen als schwer lösliches, polymerisiertes  $\text{Fe}(\text{OH})_3$  vor. Mikroorganismen und auch Pflanzen lösen dieses Dilemma, indem sie gut wasserlösliche Eisenkomplexbildner, die als Siderophoren bezeichnet werden, in das Medium ausscheiden, die das Eisen in einen wasserlöslichen Komplex überführen. Der  $\text{Fe}(\text{III})$ -Komplex wird dann unter Beteiligung weiterer Proteine in die Zelle transportiert [Zähler, 1978].

Sämtliche Siderophore bilden mit  $\text{Fe}(\text{III})$  stabile und nahezu oktaedrisch konfigurierte Chelat-Komplexe. Ihre Bindungsstärke wird, wie bei allen Komplexbildnern, über die Komplexbildungskonstante  $K$  definiert (siehe oben bzw. Abb. 1-23). In Tabelle 1-12 werden Komplexbildungskonstanten und Redoxpotentiale für DFOB bzw. Ferrichrom A angegeben (Enterobactin ist das Siderophor, das in *Escherichia coli* dafür sorgt, dass aus dem  $\text{Fe}^{2+}$ -verarmten Brei aus dem Dünndarm Wachstum der Darmbakterien im Dickdarm möglich wird):



$$K = [FeSid^{(3-n)}] / [Fe^{3+}][Sid^{(3-n)}]$$

[ ] = molare Konzentration

Fe<sup>3+</sup> = hydratisiertes Eisen(III)

Sid<sup>n-</sup> = anionischer Siderophor-Ligand

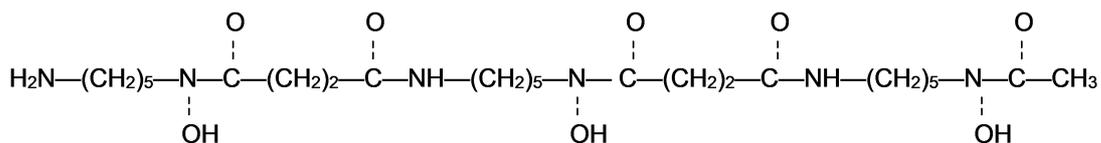
**Abbildung 1-23:** Komplexbildungskonstante Siderophore

**Tabelle 1-12:** Komplexbildungskonstanten für DFOB + Enterobactin [Kaim & Schwederski (1991)]

Siderophor-Ligand	log K (Fe <sup>III</sup> -Komplex)	E <sub>0</sub> (mV) bei pH 7	Ligandentyp
Desferrioxamin B	30,5	-468	Hydroxamat
Ferrichrom A	32,0	-448	Hydroxamat
Enterobactin	ca. 52	-790 (pH 7,4)	Catechol

### Desferrioxamin B (DFOB)

Das Siderophor Desferrioxamin B gehört zur Gruppe der Hydroxamate, genauer der Ferrioxamine, und wird u.a. vom Bakterium *Streptomyces pilosus* produziert [Harris, 2014]. Das Molekül besitzt einen fadenförmigen, eisenfreien Grundkörper (siehe Abbildung 59). Es bildet mit Eisen einen rotgefärbten oktaedrischen Fe<sup>3+</sup>-Komplex mit einer Stabilitätskonstante von 10<sup>30,6</sup> [Bickel et al., 1960]. In wässriger Lösung ist der Komplex einige Tage unverändert haltbar, bei Erhitzung folgt allerdings ein rascher Abbau [Bickel + Keberle, 1963]. „Desferrioxamin B mesilat“ ist die Wirkstoff-Komponente im Medikament, das jeder Mensch – seinerzeit intravenös, heute medikamentös – verabreicht bekam, bevor er an die Nierenspülung/ Dialyse angeschlossen wurde, um Eisenausscheidungen vor der Dialyse-Membran zu verhindern (Desferal® Ciba-Geigy, Basel; siehe Abb. 1-23):

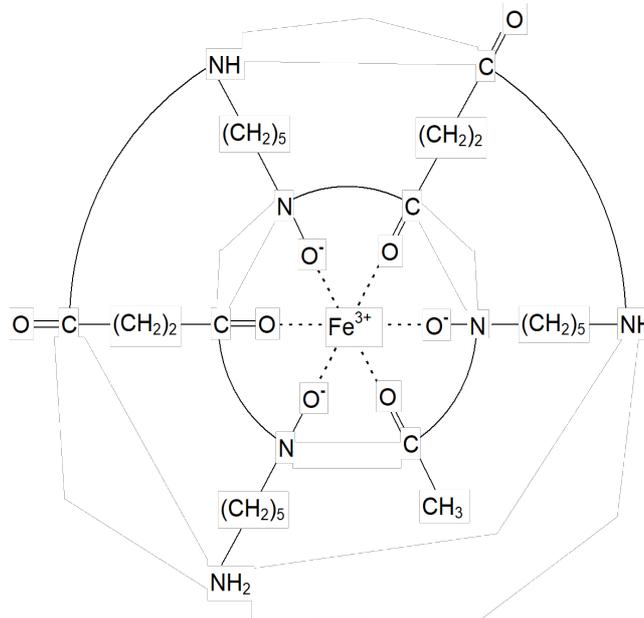


**Abbildung 1-23:** Desferrioxamin B [Zähler, 1978].

Wenn Desferrioxamin B (DFOB) mit dreiwertigen Eisenionen in Verbindung kommt, bildet sich der oktaedrische Komplex Ferrioxamin B (siehe Abb. 1-24). Ferrioxamin B besitzt eine konzentrationsabhängige Rotfärbung (Absorptionsmaximum liegt im Bereich zwischen 430 und 440 nm). Desferrioxamine sind Siderophore aus der Gruppe der Hydroxamate (Hydroxamsäure: R<sub>1</sub>-CO-NOH-R<sub>2</sub>). Pro Molekül enthalten sie 3 Hydroxamsäure-Gruppen. Da jede Hydroxamsäuregruppe 2 Stellen zur Komplexbildung besitzt, sind Desferrioxamine 6-zählige Liganden, bei denen 1 Molekül mit 1 Eisen(III) einen oktaedrischen Komplex bildet. Die Komplexbildung mit den 3 vorhandenen Hydroxamatgruppen (fett) führt zur Bildung von 3 5-Ringe, die aus sterischen Gründen besonders stabil sind [Zähler, 1978].

Die Eisen-Siderophor-Komplexe sind d5-high-Spin Komplexe. Da bei der Bildung der d5-high-Spin Komplexe keine Ligandenfeldstabilisierungsenergie frei wird, sind diese Komplexe kinetisch labil (labil und inert sind Begriffe aus der Kinetik: sie machen im Falle der Komplexe eine Aussage über die Geschwindigkeit des Ligandenaustausches). Für die Eisen-Siderophor-Komplexe gilt weiterhin, dass sie thermodynamisch stabil sind (bei stabilen Komplexen sind die

freie Reaktionsenthalpien  $\Delta G$  stark positiv) und kinetisch labil. Das hat zur Folge, dass die Bindungen zu den einzelnen Ligandengruppen rasch gespalten werden, sich aber ebenso rasch wieder bilden.

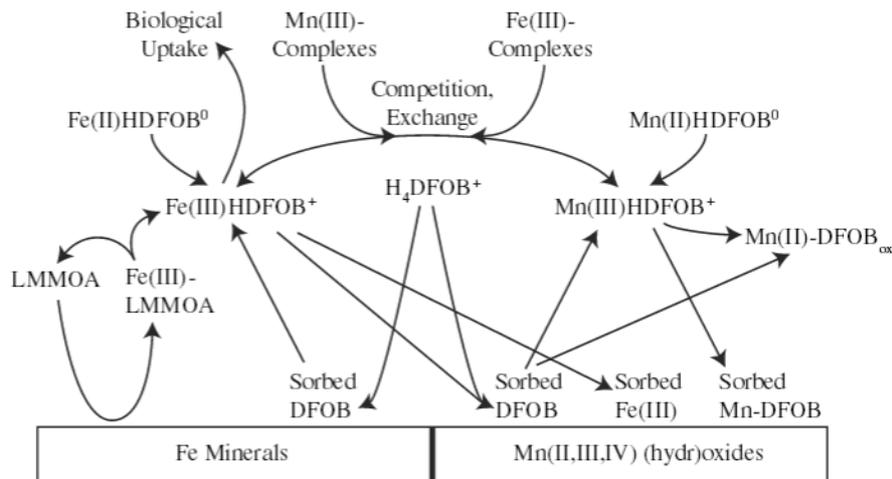


**Abbildung 1-24:** Ferrioxamin B [Zähler, 1978].

Im Abschnitt 1.2 war darauf hingewiesen worden, dass Siderophore sich auch für die Komplexierung von Mangan aus ungebleichtem Zellstoff eignen könnten [Faulkner et al., 1994]. Bei der genaueren Betrachtung der Aufnahme der Siderophor-Eisen-Komplexe in die Zelle fällt auf, dass dies mit Hilfe unterschiedlicher Eisentransportproteine geschieht. Die Transportproteine binden die Komplexe an die Zellmembran und transportieren sie wie Shuttles in das Zellinnere [Gwinner, 2008; Grass, 2006; Pramanik, 2006; Maresso + Schneewind, 2006; Klebba et al., 2006]. Dieses Prinzip kann auch industriell für die Abtrennung von Komplexen aus Feststoffsuspensionen genutzt werden, indem eine künstliche Membran die bakterielle Zellwand und deren natürliche Metallaufnahme durch Transportproteine imitiert.

Mn(III)-Siderophor-Komplexe sind für die Trihydroxamate Desferrioxamin B (DFOB) von Faulkner et al. [1994], Duckworth + Sposito, [2005a] und Desferrioxamin E (DFOE) von Faulkner et al. [1994] so-wie einige Pyoverdin (PVD) Siderophore von Parker et al. [2004] beschrieben worden.

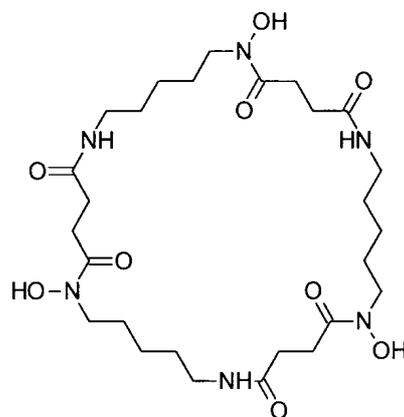
Siderophor-Komplexe mit Mn(II) haben eine deutlich geringere Stabilitäts-Konstante als mit Mn(III) und können durch Luft-Oxidation in Mn(III) Komplexe bei pH >7 oxidiert werden [Faulkner et al., 1994], [Duckworth and Sposito, 2005a], [Parker et al., 2007]. Umgekehrt werden Mn(III)-Siderophor-Komplexe zu Mn(II) durch einen internen Elektronentransfer bei pH <7 reduziert [Duckworth and Sposito, 2005a]. Wässrige Siderophor-Komplexe mit Mn(IV) sind sehr ungewöhnlich [Morgan, 2000] – es gibt keine Berichte über stabile Mn(IV)-Siderophor-Komplexe. Faulkner et.al. [2007] beschreiben noch keine Siderophor-basierten Mn-Aufnahmen durch Mikroorganismen; wobei Mn(III)-Siderophor-Komplexe Superoxidismutasen nachahmen können [Faulkner et al., 1994]: sie spielen eine Rolle bei der bakteriellen Mn(II)-Oxidation (siehe Abb. 1-25 [Parker et al., 2007]).



**Abbildung 1-25:** DFOB (Desferrioxamin B) zur Komplexbildung von Mangan [Parker et al., 2007]

### DFOE Desferrioxamin E

Ein ähnlicher Komplex kann auch mit Desferrioxamin E (Abb. 1-26) gebildet werden [Duckworth, Sposito, 2005]. Dieser Komplex ist deutlich stabiler gegenüber EDTA als der mit Desferrioxamin B [Faulkner et al., 1994]. Desferrioxamin E kann sogar Mangan aus mineralischen Bindungen auflösen [Owen et al., 2005]. Das Desferrioxamin E wird heutzutage mit *Streptomyces olivaceus* fermentiert.



**Abbildung 1-26:** Desferrioxamin E [Corbellini, 2011]

Das Siderophor Desferrioxamin E ist ebenso ein Hydroxamat wie Desferrioxamin B. Es gehört ebenfalls zur Gruppe der Ferrioxamine. Allerdings hat es im Gegensatz zu diesem einen zyklischen Aufbau (siehe Abb. 1-26). Es ist kein Träger von geladenen Gruppen, wodurch es bei Raumtemperatur schwer löslich ist. Wenn die Fermentation abgeschlossen ist, kühlt man die Fermentationsbrühe auf ca. 4 °C ab und dekantiert die überstehende Lösung vom DFOE einfach ab. In höheren Konzentrationen ist es nur mit Hilfe von Eisessig löslich [Keller-Schierlein, 1964]. Das Desferrioxamin E kristallisiert als Racemat zweier Isomere aus. Es weist eine hohe Affinität zu Eisen und Aluminium auf, weshalb es auch zur Entfernung von überschüssigem Aluminium aus Trinkwasser eingesetzt wird [Tschierske et al., 1992]. Mit Eisen(III)-Ionen bildet Desferrioxamin E einen roten Komplex [Obermeier, 1995].

### Physikalische und chemische Eigenschaften der Siderophore

Siderophore sind gegenüber Eisen(III) selektiver als gegenüber Eisen(II), das „weichere“

Lewisbasen bevorzugt und auch einen erheblich größeren Ionenradius aufweist. Es gibt zahlreiche weitere biologisch wichtige divalente Übergangsmetallionen, wie z.B. Zink(II), Mangan(II), Nickel(II) und Kupfer(II). Dagegen gibt es bei den trivalenten Kationen nur das kinetisch inerte Cobalt(III) und Aluminium(III), welches aber einen kleineren Ionenradius als Eisen(III) hat. Daraus erklärt sich die hohe Spezifität von Siderophoren für Eisen(III) [Hider + Kong, 2010]. Diese hohen Affinitätskonstanten korrelieren mit dem Redoxpotential, dessen Negativität sich mit steigender Affinität des Siderophors gegenüber Eisen(III) ebenfalls erhöht. Die hohe Affinität dient den Organismen, die die Siderophore in die Umgebung ausschleusen, als Selbstschutz. Denn so kann die Bildung von Hydroxylradikalen in einer aeroben Umgebung unterdrückt werden [Peukert, 2011].

Für die harte Lewissäure-Eisen(III)-Verbindung kommen in Siderophoren hauptsächlich negativ geladene Sauerstoffatome als Donoratome in Frage. Dennoch gibt es auch Siderophore, bei denen sich auch Stickstoff oder Schwefel als Donoratome eignen. Normalerweise wird eine oktaedrische Koordinationsgeometrie aufgebaut, bei welcher die thermodynamisch stabilere high-spin-d<sup>5</sup>-Elektronenkonfiguration begünstigt wird [Peukert, 2011]. Ein weiterer wichtiger Faktor für die thermodynamische Stabilität des Komplexes ist neben der durch Donor-Akzeptor-Wechselwirkungen gewonnenen Enthalpie auch der durch den Chelateffekt besonders starke Entropie-Term [Peukert, 2011]. Des Weiteren ist auch die kinetische Inertheit der Eisen(III)-Siderophor-Komplexe bei neutralem pH-Wert aufgrund der hohen Affinität der sechszähligen Siderophore für Eisen(III) wichtig [Boukhalifa + Crumbliss, 2002]. Drei- und zweizählige Siderophore weisen eine größere kinetische Labilität auf, da einer der Liganden recht einfach vom Komplex zu entfernen ist [Liu + Hider, 2002].

Die Bildung von 1:1-Komplexen von Siderophoren mit Eisen(III) ist die Regel. Doch es gibt auch andere Komplexe, bei denen andere Stöchiometrien vorhanden sind. Teilweise werden auch mehrkernige Komplexe gebildet, wie z.B. Capabactin (FeL<sub>3</sub>), Pyochelin (FeL<sub>2</sub> und FeL), sowie Rohdoturolsäure(Fe<sub>2</sub>L<sub>3</sub>) [Peukert, 2011]. Viele Siderophore zeichnen sich durch spezifische stereochemische Eigenschaften aus. Denn durch die symmetrische, dreizählige Umgebung zweizähliger Liganden können Enantiomerenpaare entstehen. Üblicherweise unterscheidet man einen linkshändigen und rechtshändigen „Propeller“ [Peukert, 2011].

#### Eisenaufnahmesysteme bei Mikroorganismen

Sobald ein Siderophor Eisen gebunden hat, schleusen spezifische aktive Transportsysteme den Komplex über die bakterielle Zellwand in die Bakterienzelle, wo Enzyme das Eisen reduzieren, es aus dem Komplex lösen und auf ein Protein übertragen, so dass es für den Zellstoffwechsel zur Verfügung steht [Matzanke et al., 2004].

Die bakterielle Zellwand erfüllt verschiedene wichtige Funktionen. Sie wirkt strukturerhaltend und stabilisierend, ist aber gleichzeitig auch flexibel, um Wachstum zu ermöglichen. Neben der Funktion der Abgrenzung des Organismus nach außen, regelt sie auch den Transport von Substanzen nach innen oder außen. Die bakterielle Zellwand besteht aus einer Kombination eines semi-permeablen flexiblen Lipid-Bilayers mit einer polymeren Struktur aus quervernetzten Peptidoglykan-Molekülen. Man unterscheidet je nach Struktur Gram-positive und Gram-negative Bakterien [Gwinner, 2008]. Bei dem gut untersuchten Gram-positiven Bakterien *Bacillus subtilis* [Pramanik, 2006; Maresso + Schneewind, 2006; Klebba et al., 2006; Moore + Helmann, 2005] erfolgt die Aufnahme von Siderophoren durch ABC-Transporter. Ein Lipobindeprotein, das in der Cytoplasmamembran verankert ist, wird exponiert, so dass es Eisen-Siderophor-Komplex aus der Umgebung hochspezifisch binden und so dem Transportkomplex in der Cytoplasmamembran zugeführt werden kann. Dahin gelangen die Eisen-

Siderophor-Komplexe über einen energieabhängigen Tunnel, der von mehreren Membrandurchspannenden Proteinen gebildet wird. Durch das Andocken des Eisen-Siderophor-Komplexes wird der Tunnel aktiviert [Gwinner, 2008].

Viele Bakterien können auch Siderophore von anderen, nicht-verwandten Organismen nutzen – sie müssen dafür lediglich den spezifischen Transportkomplex aufweisen. Beispielsweise kann *Klebsiella pneumoniae* das Siderophor Yersiniabactin nutzen [Gwinner, 2008]. *Pseudomonas aeruginosa* verfügt über Membranrezeptoren für acht Siderophore, synthetisiert selbst aber nur zwei [Miller, 2002]. Das Bakterium *Escherichia coli* verfügt über einen Rezeptor für das von Pilzen hergestellte Siderophor Ferrichrom. Bei *E. coli* ist an der äußeren Membran der Transporter FhuA angebracht. Dieser erkennt in der Umgebung vorhandenes Ferrichrom und schleust es in den periplasmatischen Raum, wo es von dem löslichen Bindeprotein FhuD aufgenommen wird. Wie ein Shuttle bringt FhuD das Siderophor an den Transportkomplex der Cytoplasmamembran FhuCBG. Dieser schleust es wiederum in das Cytoplasma ein [Gwinner, 2008]. *E. coli* verfügt über mehr als sieben unterschiedliche Systeme zur Eisenaufnahme, die spezifisch für einen bestimmten Siderophortyp funktionieren [Grass, 2006].

Die Synthese von eigenen Siderophoren erfolgt bei *E. coli* über das fur (ferric uptake regulation)-Protein. Es ist ein Repressorprotein, das Fe(II) als Corepressor nutzt. Die Aufnahme des Siderophors Enterobactin erfolgt über das Transportprotein FepA in das Periplasma, von wo es über ein ABC-Transportsystem ins Cytoplasma weitergeschleust wird [Miller, 2002].

Einige Bakterien verfügen neben dem Siderophor-basierten System der Eisenaufnahme auch über ein zweites: Das Permease-System. Im Gegensatz zum aktiven Siderophor-basierten System erfolgt die Eisenaufnahme bei der Permease über passive Proteine [Winterberg, 2008]. Das phytopathogene Basidiomycet *Ustilago maydis* beispielsweise kann Eisen passiv aufnehmen, indem es zunächst über die Eisenpermease Fer2 Fe(III) zu Fe(II) reduziert. Damit das Eisen in die Zelle aufgenommen werden kann, wird es vorher durch die Ferrooxidase Fer1 wieder zu Fe(III) oxidiert. Bei der Aufnahme bilden die Proteine enge Proteinkomplexe [Winterberg, 2008].

*Saccharomyces cerevisiae* besitzt keine eigenen Siderophore, verfügt deshalb über Aufnahmemechanismen für fremde Siderophore. Es hat außerdem Membran-gebundene Ferrireduktasen an der äußeren Zellmembran. Damit reduziert es Fe(III) zur Fe(II), welches es dann in löslicher Form aufnehmen kann [Miller, 2002]. Die Permease-basierte Eisenaufnahme findet durch einen heterodimeren Proteinkomplex aus der Perrioxidase Fet3p und die Eisenpermease Ftr1p statt [Kwok et al., 2006]. Die beiden Proteine agieren so eng miteinander, dass das Eisen direkt von Fet3p auf Ftr1p übertragen wird [Winterberg, 2008].

### **Bisherige Anwendungen von Siderophoren in Medizin + chemischer Technik**

Siderophore haben ihren Forschungsursprung in der Medizin gehabt, weil Prof. Hans Zähler (Universität Tübingen) nach unspezifischen Antibiotika gesucht hatte [Zähler, 1992]. Anstelle von Antibiotika entwickelte Prof. Zähler mit seiner Arbeitsgruppe ein Medikament für seinerzeit CIBA-GEIGY in Basel, das bei Hämochromatose (Eisenspeicher-Krankheit) eingesetzt wurde. Mit der Notwendigkeit der Eisenkomplexierung vor den Dialyse-Membranen bei der Nierenspülung zur Verhinderung der Membranverblockung kam für das Desferrioxamin-B-mesilat der Durchbruch (Desferal®).

Heute wird für die medizinische Diagnostik experimentiert, wie Siderophore an pathogene Keime verfüttert werden können, die dadurch schneller wachsen und sich häufiger pro

Zeiteinheit reproduzieren. Dadurch können Krankheitserreger in einer Probe schneller nachgewiesen werden [Burghardt + Trowitzsch-Kienast, 2008]. Des Weiteren lässt die aktive Aufnahme durch Mikroorganismen Siderophore auch als Wirkstofftransporteure gegen pathogene Mikroorganismen vielversprechend erscheinen. Dadurch bietet sich die Möglichkeit, Siderophore als Drug-Delivery-Systeme zu nutzen, indem Medikamente, wie z.B. Antibiotika an das Siderophor-Grundgerüst geknüpft und direkt in die Bakterien eingeschleust werden [Burghardt/ Trowitzsch-Kienast, 2008].

Ein Beispiel für ein solches System ist das Myxochelin-Monobactam-Addukt, welches gegen Krankenhauskeime, multiresistente Pseudomonaden, wirksam ist. Das Siderophor-Grundgerüst ist hier die Aminosäure Lysin, an welche das Ligandensystem angeknüpft ist. Das Monobactam ist an der Carboxylgruppe als antibiotisch wirksame Komponente befestigt. Als fluorophore Gruppe wurde die N-Methylantranilsäure und das Fluorescein eingebaut [Burghardt/ Trowitzsch-Kienast, 2008].

Siderophore werden als Eisenkonzentrationen verringernde Medikamente verwendet. Seit längerer Zeit bietet das Siderophor Desferrioxamin B im Medikament Desferal™ bei der Erbkrankheit  $\beta$ -Thalassämie, bei der es zu einer abnormal großen Anhäufung von  $\text{Fe}^{3+}$ -Ionen im Blut kommt, Abhilfe [Burghardt/ Trowitzsch-Kienast, 2008]. Auch bei der Bekämpfung von Malaria werden Siderophore eingesetzt. Die Malaria-Verursacher, die Plasmodien, benötigen  $\text{Fe}^{3+}$ -Ionen. Durch die Zugabe von Eisen-komplexierenden Verbindungen wird den Plasmodien der Zugriff auf diese Ionen erschwert [Burghardt/ Trowitzsch-Kienast, 2008].

Seit 2001 gibt es am Markt einen biologischen Entroster (bionisch entwickelt), der als Rost-Ex-Gel bei WÜRTH (Künzelsau) vertrieben wird. Siderophore bieten hier eine interessante mikrobielle Alternative, denn aufgrund ihrer hohen Spezifität zu Eisen(III) können sie dazu verwendet werden, Eisen aus den Oxiden und Hydroxiden von Rost bzw. den Oxidschichten von Anlaufarben vom Metall abzutragen [Kunz et al., 1997]. Mit Flugrost werden bakterielle Siderophore inzwischen genauso gut fertig, wie die eingesetzten Säuren [Sell + Etschmann, 1998]. Die Vorteile der Rostentfernung durch Siderophore liegen auf der Hand: Die Siderophore sind einfach zu handhaben, nicht toxisch, mikrobiell abbau- und recycelbar und die Gefahr des Grundmetallabtrags ist wesentlich geringer als bei den Beizbädern, da nur Eisen(III)-Ionen gebunden werden [Kunz et al., 1997]. Insgesamt ist das Verfahren wesentlich umweltschonender und billiger, da hohe Aufbereitungs- und Entrostungskosten gespart werden können: die Entrosterlösungen können als Substrat für Pflanzen verkauft werden, in Gegenden in denen Eisenmangel-Krankheiten bei Pflanzen auftreten. ASA-Spezialenzyme (Wolfenbüttel) produziert und vertreibt Siderophoren-Lösungen auf Basis DFOE (Desferrioxamin E).

Auch in der Textilindustrie finden Siderophore bereits Verwendung. So werden beispielsweise Komplexe acylierter Siderophore zur Verstärkung der Oxidationskraft von anorganischen Persauerstoffverbindungen, vor allem Wasserstoffperoxid, bei der Bleiche von Textilien eingesetzt. Siderophore werden hier als Bleichkatalysatoren eingesetzt [Weber et al., 2014]. Normalerweise erzielt die Bleiche mit Wasserstoffperoxid erst bei Temperaturen ab 80 °C ausreichend gute und schnelle Ergebnisse. Durch Zugabe von Bleichkatalysatoren ist auch eine beschleunigte Textilbleiche bei niedrigeren Temperaturen möglich. Die Bleichkatalysatoren können Peroxocarbonsäuren liefern und dadurch die Wirkung des wässrigen Peroxids so steigern, dass bei einer Temperatur von 60 °C die im Wesentlichen gleichen Ergebnisse wie mit 95°C erzielt werden [Weber et al., 2014]. Weiterhin wurde festgestellt, dass Komplexe mit bestimmten Siderophorderivat-Liganden über eine stärkere Bleichkatalysatorwirkung verfügen als Komplexe mit dem Siderophor-Liganden. Die Verwendung von

Metallkomplexen mit N-acylierten Siderophor-Liganden lässt die Oxidations- und Bleichwirkung von Persauerstoffverbindungen, insbesondere bei niedrigen Temperaturen im Bereich von 15 °- 45 °C verbessern [Weber et al., 2014; Weber et al., 2008].

#### Siderophore in der Umwelt: Abbaubarkeit und Recyclierbarkeit

Da sie aus nachwachsenden Rohstoffen hergestellt werden und biologisch abbaubar sind, stellen sie somit auch keine Gefahr dar, wenn sie nach Abschluss ihres Anwendungsverfahrens mit dem Abwasser in die Umwelt gelangen.

Grundsätzlich ist die Wiederverwendung des Siderophors durch das Einsetzen von Reduktionsmitteln möglich: Es gelang auf Anhieb die Rückgewinnung von 56% des eingesetzten Siderophors [Seegers, 1996].

#### **Chemisch-technische Aspekte der Verwendung von Siderophoren für die Mangan-Komplexierung**

Im Rahmen der Machbarkeitsüberlegungen für das Mangan-Fishing kommen die Siderophore Desferrioxamin B, Desferrioxamin E, das PVD-Siderophor, Desferricrocin und N',N',N'''-Triacetylfusarinin C in Frage. Bei diesen konnte eine hohe Affinität zu Mangan nachgewiesen werden [Farkas et al., 2014; Faulkner et al., 1994; Duckworth + Sposito, 2005; Parker et al., 2004]. Die beiden Siderophore Desferrioxamin B und Desferrioxamin E sind am Markt verfügbar.

In einer frühen Untersuchung konnten Faulkner et al. [1994] feststellen, dass sich das Siderophor DFOB auch zu Bindung von Mangan eignet. Sie konnten einen Komplex aus Mn(III) und Desferrioxamin B identifizieren [Faulkner et al., 1994]. Normalerweise ist Mn(III) in wässrigen Lösungen nicht stabil. Durch Oxidation an der Luft kann wässriges Mn(III) mit Desferrioxamin B einen stabilen Komplex bilden. Die Bildung des Komplexes ist auch durch das Lösen von Mn(III)-Oxiden, was durch das Desferrioxamin gefördert wird, möglich [Duckworth + Garrison, 2005].

Das Bakterium *Pseudomonas putida* MnB1 produziert das Pyoverdin-Siderophor PVD MnB1, welches eine stärkere Spezifität für Mn(III) als für Fe(III) aufweist [Parker et al., 2004; Duckworth/ Sposito, 2005]. Der *Pseudomonas putida*-Stamm MnB1 ist ein typischer Vertreter der Gattung der fluoreszierenden Pseudomonaden, deren eisenkomplexierende Substanzen Pyoverdine (PVDs) synthetisieren. Alle Pyoverdine können starke Komplexe mit Mn(III) bilden und die enzymatische Bildung von MnO<sub>2</sub> inhibieren. Sie haben ein Chromofluorophor gemeinsam, aber unterscheiden sich in den verknüpften Peptidketten [Parker et al., 2004].

Die hohe Mangan-Affinität von PVD MnB1 hat Auswirkungen auf die Oxidation von löslichem Mn(II) über die Zwischenstufen Mn(III) zu Mn(IV)-Oxiden. Das Mangan oxidiert und umhüllt die Zellen mit dunkelblau gefärbten Präzipitaten von MnO<sub>2</sub>. Dieses kann wiederum toxische Metalle und organische Substanzen adsorbieren [Parker et al., 2004]. Außerdem wirkt sich das Siderophor auf die Fe(III)-Aufnahme von Mikroorganismen aus und beeinflusst es die Lösung und Stabilisierung von Mn(III) durch Siderophore in der Umwelt [Parker et al., 2004].

Das Siderophor Desferricrocin wird in großen Mengen von dem opportunistischen Pilz *Aspergillus fumigatus* produziert, welcher für Menschen krankheitserregend ist. Es besitzt eine exozyklische Architektur und ist zyklisch analog zu dem Siderophor Desferrioxamin B. Es hat drei Arme, von denen jeder mit einer Hydroxamat-Bindungsgruppe ausgestattet ist [Farkas et al., 2014]. Die Arme sind mit einem zyklischen Hexapeptidstrang verbunden. Desferricrocin ist eines der Siderophore, welches von *Aspergillus fumigatus* bei Eisenmangel produziert wird. Es dient dazu, das aufgenommene Eisen in die Zellfäden (hyphae) und die Konidien

(conidia) zu übertragen und zu speichern [Farkas et al., 2014]. Desferricrocin kann Eisen aus menschlichen Proteinen, wie z.B. aus Transferrin, lösen. Daher trägt es wesentlich zu Pathogenität des Pilzes bei. Desferricrocin verfügt über drei dissoziierbare Protonen [Farkas et al., 2014].

Trotz ihrer besonderen Bedeutung bei der Eisenkomplexierung sind wenige Gleichgewichtsdaten von Desferricrocin bekannt. Es sind nicht einmal Daten über seine Protonierungskonstanten vorhanden. Von Desferricrocin ist bekannt, dass es über eine ähnliche Eisen(III)-Bindungsstärke wie Desferrioxamin B verfügt. Jedoch gibt es keine Gleichgewichtsstudien über die Mangankomplexe von Desferricrocin oder Desferrioxamin B [Farkas et al., 2014].

Farkas et al. [2014] haben die beiden Siderophore Desferricrocin und N',N'',N'''-triacetyl-fusarinin C hinsichtlich ihrer Fähigkeit Mn(II) und Mn(III) zu binden, untersucht. Dafür haben sie sie mit ihren offenkettigen Siderophor-Analoga Desferrioxamin B und Desferricoprogen verglichen. Die Ergebnisse waren: Die pH-metrische Titrationskurve von Desferricrocin zeigt die Dissoziation der Protonen im pH-Bereich von 7 - 10,5. Die Basizität der Hydroxamate in Desferricrocin ist denen von Desferrioxamin B oder Desferricoprogen ähnlich. Die Wechselwirkung zwischen Mn(II)-Ionen und Desferricrocin beginnt bei einem pH-Wert von 7, aber endet schon fast bei einem pH-Wert von 8, bei pH = 11 stoppt sie komplett. Dies deutet laut Farkas et al. [2014] auf eine starke Kooperativität von Mn(II) hin, sich mit einem der drei Hydroxamat-Arme zu verbinden. Ebenso weist es auf eine bevorzugte Bildung des trichelatierten Komplexes mit Desferricrocin hin. Mangan bildet mit Desferricrocin vor allem einen trichelatierten [ML]-Komplex, einen [MH<sub>2</sub>L]<sup>+</sup>-Komplex konnten Farkas et al. [2014] nicht messen. Die [MHL]-Komplexe sind zu vernachlässigen. Die individuelle Relaxivität des Komplexes [MnL]- liegt bei 4,4 mM<sup>-1</sup>s<sup>-1</sup> und damit sehr niedrig im Vergleich zu den anderen Komplexen. Dies deutet nach Farkas et al. [2014] darauf hin, dass Mn(Desferricrocin)- die kompakteste Struktur aller [ML]-Komplexe besitzt.

Das Siderophor N',N'',N'''-triacetyl-fusarinin C weist mehrere Parallelen zu oben genanntem Siderophor Desferricrocin auf. Es wird vom dem gleichen Pilz bei Eisenmangel in großen Mengen produziert, um Eisen(III) aus der Umgebung einzufangen und wirkt beim Menschen krankheitserregend, weil es z.B. Eisen aus dem Protein Transferrin lösen kann. Es besitzt ebenso drei dissoziierbare Protonen [Farkas et al., 2014].

N',N'',N'''-triacetyl-fusarinin C ist zyklisch analog zu Desferricoprogen, besitzt eine endozyklische Architektur und ist ein zyklisches Hexadentat-Trihydroxamat. Die Bindungsüberreste sind über Ester-Bindungen verbunden [Farkas et al., 2014].

Bei den Untersuchungen von Farkas et al. [2014] wird das erste Proton bei einem pH-Wert unter 5 freigesetzt, der zweite Deprotonierungsprozess beginnt bei etwas über 7 und der dritte findet erst bei einem sehr hohen pH-Wert statt. Bei N',N'',N'''-triacetyl-fusarinin C wird von einer starken Wasserstoffbindung ausgegangen, die in einer der Gruppen eine signifikante Verringerung der Basizität auslöst, während die Basizität in einer anderen Gruppe ansteigt.

Die pH-metrische Titrationskurve bei N',N'',N'''-triacetyl-fusarinin C beginnt ab einem pH-Wert von 3 erste Komplexierungserscheinungen mit Mn(II) zu zeigen, aber erst ab pH = 6 stellt sich ein nennenswerter pH-Effekt ein. Selbst bei einem sehr hohen pH-Wert lassen sich noch Komplexierungsvorgänge zwischen Mn(II) und N',N'',N'''-triacetyl-fusarinin C nachweisen [Farkas et al., 2014].

N',N'',N'''-triacetyl-fusarinin C bildet mit Mangan bei einem pH-Wert über 3 einen [MH<sub>2</sub>L]<sup>+</sup>-

Komplex, bei pH über 6 wird die Wechselbeziehung stärker und bi-chelatierte [MHL]-Komplexe entstehen. Erst bei einem pH-Wert über 8,5 wird ein trichelatierter Komplex geformt [Farkas et al., 2014].

Laut Farkas et al. [2014] ist das fehlende Überlappen der schrittweisen Prozesse bei N',N'',N'''-triacetylfusarinin C auf die sehr unterschiedlichen Basizitäten der Hydroxamatgruppen zurückzuführen, aber auch auf die nicht adäquate Größe des Loches gegenüber des koordinierenden Metallatoms.

Trotz der Unterschiede zwischen Desferricrocin und N',N'',N'''-triacetylfusarinin C in Bezug auf die Komplexierung von Mangan(II) zeigen die pH-Werte, dass die Mangan(II)-Bindungsfähigkeiten dieser beiden Siderophore einander ähnlich sind. N',N'',N'''-triacetylfusarinin C zeigt eine höhere Mangan-Bindungsfähigkeit im Vergleich zu seinem offenkettigen Gegenstück Desferricoprogen [Farkas et al., 2014].

Sowohl die Stabilitätskonstanten als auch die pM-Werte der Mn(III)-Komplexe sind sehr nah an den entsprechenden Werten der Fe(III)-Komplexe. Dies bedeutet, dass Mn(III) potenziell mit Fe(III) um diese Siderophore konkurrieren kann, wenn Mangan in vergleichbarer Konzentration vorhanden ist [Farkas et al., 2014].

*Shewanella oneidensis* MR-1 ist ein Bakterium, das die Fähigkeit hat, Manganoxid mit Hilfe von Putrebaclin (Dihydroxamat Siderophor) aufzunehmen [Kouzuma et al., 2012]. Putrebaclin ist ein cyclisches Dimer von N-hydroxy-N-succinyl-putrescin, das in dem Bakterium *Shewanella putrefaciens* 200 entdeckt wurde. Es ist ähnlich strukturiert wie die Siderophore Bisucaberin und Alcaligin [biocyc.org, 2014]

### HSAB-Konzept

Das HSAB-Konzept (englisch: hard and soft acids and bases) lässt sich zur Begründung der Verwendung dieser beiden Siderophore ebenfalls zu Rate ziehen. Das HSAB-Konzept findet vor allem im Bereich der Katalyse häufig Anwendung. Danach lassen sich je nach den Akzeptor-Eigenschaften zwei Klassen von Metallionen und Liganden unterscheiden: die weichen Lewis-als auch die harten Lewis-Säuren und -Basen. Die Säuren sind die Metallionen, die Basen die Liganden. Es ist ein qualitatives Konzept zur Erklärung der Stabilität von Übergangsmetallkomplexen und deren katalytischer Aktivität. Ob ein Metallion bzw. Ligand als hart oder weich einzustufen ist, hängt von der Polarisierbarkeit der Verbindungen ab. Harte Säuren sind meist kleine Monokationen mit hoher Ladungsdichte; sie sind nicht polarisierbar. Weiche Säuren hingegen sind meist große Monokationen mit geringer Ladungsdichte; sie sind polarisierbar. Deshalb gilt: Harte Säuren bilden bevorzugt stabile Komplexe mit harten Basen, während weiche Säuren vor allem an weiche Basen koordinieren ([Schmidt, 2012; Stelmaszyk, 2013; Martell + Calvin, 1958]).

Aus diesem Grund ist wichtig zu wissen, in welcher Oxidationsstufe das Metall bei den Versuchen vorliegen wird. Schlussfolgernd aus der Recherche zum natürlichen Vorkommen und der Materialeigenschaften von Mangan sowie der Betrachtung der Betriebsbedingungen des Papierherstellungsverfahrens bis vor die Zellstoffbleiche, handelt es sich beim Mangan-Fishing aus Pflanzenmaischnen um höchstwahrscheinlich Mn<sup>3+</sup>-Verbindungen, die es zu komplexieren gilt. Die Betrachtung aus weiteren Blickwinkeln bestätigt dies: Dabei kommt wieder der Mangan-Nachbar Eisen ins Spiel. In der Natur komplexieren Siderophore vor allem Fe<sup>3+</sup>, jedoch ist auch ihre Fähigkeit zur Komplexierung von Fe<sup>2+</sup> erwiesen [Stelmaszyk, 2013]. Fragt man sich, in welcher Oxidationsstufe Mangan bei der Bleiche mit Wasserstoffperoxid zu Problemen führt, weil es das Bleichmittel zersetzt, so ist die Antwort Mn<sup>2+</sup>. Mn<sup>2+</sup> oxidiert

leicht zu  $Mn^{3+}$  – selbst bei der unerwünschten Zersetzung von Wasserstoffperoxid [Blechschildt, 2010]. Für die Wirkung der Siderophore, welche eine höhere Affinität zu  $Mn^{3+}$  aufweisen, muss gegebenenfalls ein Oxidationsmittel zugegeben werden.

Gemäß dem HSAB-Konzept sind  $Mn^{2+/3+}$  harte Lewis-Säuren, die dementsprechend stabile Verbindungen mit harten Lewis-Basen als Liganden eingehen [Schmidt, 2012; Stelmaszyk, 2013; Martell + Calvin, 1958]. Als Donoratome kommen bei den Siderophor-Liganden aufgrund des Verwendungszwecks der Mangan-Maskierung vor allem Sauerstoffatome in Frage. Dabei ist nicht zu vergessen, dass es sich hier um eine Chelatisierung handelt, d.h. ein mehrzähniges Siderophor. In Kombination mit Sauerstoff kann daher auch Stickstoff in einem Ligand enthalten sein [Döring, 2013]. Daher bieten sich für die Mangan-Komplexierung vor allem die Siderophore der Gruppe der Hydroxamate an [Döring, 2013; Weber et al., 2008].

Die Stabilitätskonstante von Siderophor-Mangan(II)-Komplexen ist wesentlich geringer als die von Siderophor-Mangan(III)-Komplexen. Siderophor-Mangan(II)-Komplexe können durch Luft-Oxidation bei einem pH-Wert unter 7 in Mn(III) umgewandelt werden ([Faulkner et al., 1994], [Duckworth/ Sposito, 2005], [Parker et al., 2007]). Andersherum können auch Siderophor-Mn(III)-Komplexe in Siderophor-Mn(II) umgewandelt werden, indem ein interner Elektronentransfer bei einem pH-Wert unter 7 stattfindet [Duckworth/ Sposito, 2005]. Eher die Ausnahme sind Komplexe mit Mn(IV) und bisher sind keine Berichte über stabile Mn(IV)-Komplexe bekannt.

**Tabelle 1-13:** Komplexbildungskonstanten Mangan-Komplexe [Duckworth + Sposito, 2005]

Ligand-Mangan-Komplex	Komplexbildungskonstante $K_{Ligand}$
EDTA - Mangan	14,6
Desferrioxamin B - Mangan	29,0
PratA - Mangan	4,1
Oxalsäure - Mangan	3,9

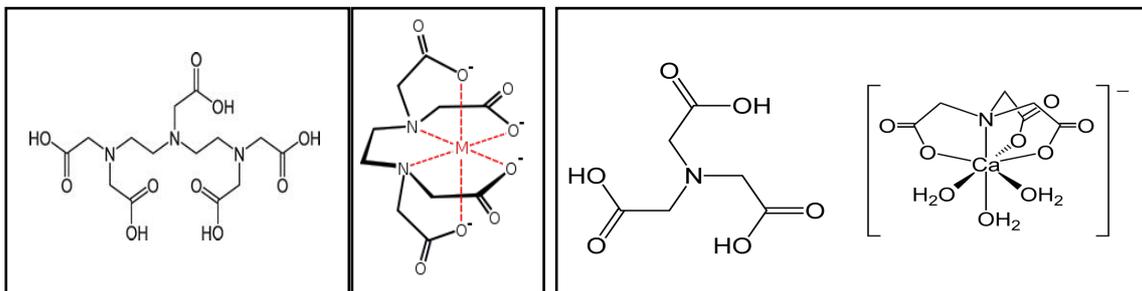
Die Funktion der Siderophore der selektiven Eisenaufnahme kann durch die Anwesenheit von Mangan gestört werden, da manche Siderophore in der Lage sind, Mangan (III) mit höherer Affinität zu binden (z. B. Desferricocin und N',N'',N'''-Triacetylfulvarin-C). Dabei wird das Mangan stabilisiert. Dieser Prozess spielt eine wichtige Rolle beim biogeochemischen Zyklus des Mangan durch Mangan(II)-oxidierende Mikroorganismen [Szabo et.al., 2014].

### 1.7.2 Chemische Komplexbildner – im Speziellen: EDTA

Bei der Zellstoffbleiche sind Komplexbildner notwendig, um das natürlicherweise im Zellstoff vorhandene Mangan zu „maskieren“, damit es nicht zu einer Braunfärbung des Zellstoffs durch das Bleichmittel bzw. zu einer Zersetzung des Bleichmittels kommt (der Prozess wird in Abschnitt 2.1 genauer beschrieben). Ohne Zusätze von Komplexbildnern werden sehr große Mengen an Bleichchemikalien benötigt, während gleichzeitig die Qualität des Zellstoffs gemindert würde (siehe Abschnitt 1.7.3 [Gruber, 2011]; [Blechschildt, 2010]; [Baumann + Herberg-Liedtke, 1994]; [Göttsching, 1990]).

Gängige Komplexbildungsmittel sind z.B. Aminopolycarbonsäure, Diethylentriaminpentaacetat (DTPA; siehe Abb. 1-27a), Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA, siehe Abb. 1-27b), N-Hydroxyethylendiamintetraessigsäure (HEDTA) und deren Salze. Weitere komplexbildende Substanzen sind Nitrilotriessigsäure (NTA, siehe Abb. 1-27c), lösliche Salze der Oxalsäure, Zitronensäure, Weinsäure, Gluconsäure, verschiedene Amine und Ammoniak.

EDTA gehört zu den stärksten Komplexbildnern überhaupt, worauf die Vielzahl von Verwendungen in der Industrie und im Haushalt begründet sind. Ethylendiamintetraessigsäure bzw. Ethylendiamintetraacetat ist ein sechszähliger Komplexbildner, der besonders stabile 1:1-Chelatkomplexe mit Kationen mit einer Ladungszahl von mindestens +2 bildet. Das Ethylendiamintetraessigsäure-Anion hat neben den beiden freien Elektronenpaaren der Stickstoffatome auch vier Carboxygruppen für eine Komplexbildung parat. So kann sie sehr stabile Komplexe auch mit solchen Kationen bilden, die eine äußerst geringe Tendenz zur Bildung von Komplexen haben, wie beispielsweise Calcium. Komplexe dieser Art bezeichnet man auch als Chelatkomplexe, von lateinisch Chela bzw. griechisch Chele: Krepsschere. EDTA bildet besonders stabile Komplexe mit  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{3+}$  und  $\text{Co}^{2+}$ . Im sauren Milieu liegt EDTA in verschiedenen Säureformen vor, die wenig dissoziiert sind. Die Säure löst sich langsam, vor allem bei niedrigem pH-Wert, die Salze sind sehr schnell in Wasser löslich [Mateo, 2017; Latscha, 2013].



**Abbildung 1-27:** Komplexbildner (a: links) DTPA – (b: Mitte) EDTA – (c: rechts) NTA Struktur (links) und als Komplex mit Calcium [alle WIKIPEDIA, 2021]

EDTA ist einer der am häufigsten verwendeten Komplexbildner. 1999 wurden in Europa rund 35.000 Tonnen, in den USA 50.000 Tonnen verbraucht. Neben der freien Säure werden vielfach auch deren Salze verwendet [WIKIPEDIA, 2021]:

- Dinatrium-ethylendiamin-tetraacetat ( $\text{Na}_2\text{H}_2\text{EDTA}$ , Natriumedetat, INS 386)
- Tetranatrium-ethylendiamin-tetraacetat ( $\text{Na}_4\text{EDTA}$ )
- Calcium-dinatrium-ethylendiamin-tetraacetat ( $\text{CaNa}_2\text{EDTA}$ )
- Tenside: EDTA ist in vielen Wasch- und Reinigungsmitteln zur Bindung von  $\text{Ca}^{2+}$ - und  $\text{Mg}^{2+}$ -Ionen (Enthärtung)
- Industrielle Reinigung: Komplexierung zweiwertiger Kationen wie  $\text{Ca}^{2+}$  und  $\text{Mg}^{2+}$  sowie einiger Schwermetallionen
- Fotoindustrie:  $\text{Fe}^{\text{III}}$ -EDTA ist ein wichtiger Bestandteil (Oxidationsmittel für das metallische Silber) in der Farbentwicklung
- Papierindustrie: Zur Komplexierung von  $\text{Fe}^{3+}$ - und  $\text{Mn}^{2+}$ -Ionen, die bei der chlorfreien Bleiche das Wasserstoffperoxid zersetzen
- Agrochemikalien:  $\text{Fe}^{\text{III}}$ -,  $\text{Cu}^{\text{II}}$ - und  $\text{Zn}^{\text{II}}$ -EDTA werden als Dünger verwendet, vor allem auf kalkhaltigen Böden
- Konservierungsmittel: EDTA komplexiert zweiwertige Metall-Kationen, die für die Funktion vieler Enzyme essenziell sind. Die Vermehrung von Bakterien wird so unter anderem in Kontaktlinsen-Pflegemitteln verhindert.

Weitere Verwendungen von EDTA sind [WIKIPEDIA, 2021]:

- Textilindustrie: Stabilisierung von Bleichbädern
- Kosmetika: als Konservierungsmittel und um Verfärbungen durch Metalle in klaren Produkten zu vermeiden.

- Medizin: Behandlung von Metallvergiftungen. In der diagnostischen Medizin wird EDTA als Calciumchelator eingesetzt und dient der Antikoagulation von Blutproben.
- Pflanzennährlösungen wird EDTA zugefügt, um eine Fällung des benötigten Eisens mit dem ebenfalls benötigten Phosphat als Eisenphosphat zu verhindern.
- Bei der Abtötung gramnegativer Bakterien mit Lysozym wird EDTA zur Permeabilisierung der Außenmembran (plastische Schichte) hinzugegeben, teilweise auch bei einem Zellaufschluss.
- Auch lassen sich Metallproteasen durch Chelatbildner wie EDTA inhibieren. Durch die Chelatisierung der Metallionen aus dem Aktivzentrum von Metalloproteasen verlieren diese ihre katalytische Aktivität.

**Tabelle 1-14:** Datenblatt zu EDTA [Wikipedia, 2021]

Allgemeines	
Name	Ethylendiamintetraessigsäure
Andere Namen	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ethylendinitrilotetraessigsäure</li> <li>• Ethylendiamintetraethansäure</li> <li>• Edetinsäure (INN)</li> <li>• Titriplex<sup>®</sup> II</li> <li>• Trilon<sup>®</sup> B</li> <li>• Idranal<sup>®</sup> II</li> <li>• Chelaplex II</li> <li>• EDTA</li> <li>• EDTA (INCI)<sup>[1]</sup></li> <li>• EDTAH<sub>4</sub></li> </ul>
Summenformel	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>8</sub>
Kurzbeschreibung	farbloser Feststoff <sup>[2]</sup>
Externe Identifikatoren/Datenbanken	
CAS-Nummer	60-00-4  <span style="float: right;">[+]</span>
Arzneistoffangaben	
ATC-Code	V03AB03 
Eigenschaften	
Molare Masse	292,24 g·mol <sup>-1</sup>
Aggregatzustand	fest
Dichte	1,46 g·cm <sup>-3</sup> (20 °C) <sup>[3]</sup>
Schmelzpunkt	245 °C (Zersetzung) <sup>[4][3]</sup>
Löslichkeit	<ul style="list-style-type: none"> <li>• praktisch unlöslich in Wasser (0,5 g·l<sup>-1</sup> bei 20 °C)<sup>[3]</sup></li> <li>• leicht in Ethanol und Diethylether<sup>[2]</sup></li> </ul>

Die wichtigsten Anwendungen von EDTA und deren Salzen sind [WIKIPEDIA, 2021; Zimpel, 1995]

Seine Calcium-Natriumsalze werden ebenfalls eingesetzt:

- Calciumdinatriumethylendiamintetraacetat wird als Antioxidationsmittel und Stabilisator eingesetzt. Durch die Bindung von Metallionen verhindert es eine Farbveränderung bei Lebensmitteln in Konservendosen. Öle werden im Ranzigwerden reduziert. Es ist in der EU als Lebensmittel -Zusatzstoff mit der Bezeichnung E 385 für emulgierte Saucen, Dosen- und Glaskonserven, Halbfettmargarine sowie Schalentiere zugelassen.

- Calciumdinatriummethylen-diamintetraacetat wird in der Medizin als blutgerinnungshemmender Zusatzstoff für Blutabnahmen verwendet. Des Weiteren wird es als Medikamentenzusatz gegen Schwermetallvergiftungen, Herz-Kreislaufbeschwerden, Rheuma Arthritis verwendet.

EDTA und seine Metallkomplexe sind in der Abwasserreinigung nicht oder nur schlecht biologisch abbaubar. Durch Erhöhen des pH-Wertes und Verlängerung des Schlammalters kann jedoch eine weitgehende biologische Eliminierung von EDTA erreicht werden. Aus Klärschlamm, Sedimenten und Böden wurde eine Vielzahl von Mikroorganismen isoliert, die mit EDTA als alleiniger C- und N-Quelle wachsen können. Die Metallkomplexe von EDTA sind nicht oder nur sehr wenig toxisch für Organismen. EDTA vermag jedoch auch schwerlösliche Schwermetallsalze aus den Sedimenten zu lösen. Wenn das EDTA dann zerfällt, werden diese an der Oberfläche wieder frei ([Umweltbundesamt, 2010], [Zimpel, 1995]).

Die Toxizität von EDTA ist für den Menschen sehr gering, so dass EDTA als Lebensmittelzusatzstoff zugelassen ist. In sehr hohen Konzentrationen kann vor allem freies EDTA durch Bindung lebenswichtiger Metalle zu Störungen führen. Die in der Umwelt gemessenen Konzentrationen von EDTA sind für den Menschen unbedenklich. Gleichwohl kann es zu Stoffwechselbeeinträchtigungen oder (haut-)allergischen Reaktionen kommen [MAK, 2009].

EDTA gelangt fast ausschließlich über das Abwasser in die Umwelt. Da EDTA unter normalen Bedingungen nur sehr langsam abgebaut wird, kann es in praktisch allen Wasserproben in niedrigen Konzentrationen nachgewiesen werden. <https://de.wikipedia.org/wiki/Ethylendiamintetraessigs%C3%A4ure> - cite note:-0-15 EDTA-Konzentrationen in Flüssen liegen zwischen 10 und 100 µg/l, in Seen zwischen 1 und 10 µg/l. Im Grundwasser und Uferfiltrat kann EDTA in Konzentrationen zwischen 1 und 100 µg/l gefunden werden [Umweltbundesamt, 2010].

Bei neutralen pH-Werten ist die Adsorption von EDTA an Mineraloberflächen gering, was zu einer hohen Mobilität im Grundwasser führt. Lediglich der Fe<sup>III</sup>-EDTA-Komplex wird sehr schnell durch Sonnenlicht abgebaut. Dies ist der wichtigste Eliminationsprozess für EDTA in der Umwelt. EDTA wird während der Ozonisierung oder Chlorung von Trinkwasser nur unvollständig entfernt. Negative Umweltauswirkungen von EDTA haben wenig mit dessen spezifischer Toxizität zu tun, sondern vielmehr mit den komplexierenden Eigenschaften, die in Wechselwirkung mit anderen Stoffen (insbesondere Schwermetalle, Härtebildner und Mikronährstoffe), auftreten, diese beispielsweise aus dem Sediment lösen und so bioverfügbar machen können [IKSR, 2012]. Das deutsche Umweltbundesamt empfiehlt: „Im Sinne einer vorsorgenden Stoffpolitik sollten EDTA und auch andere schwer abbaubare Komplexbildner wie DPTA und PDTA durch Stoffe ersetzt werden, die möglichst leicht abbaubar sind und somit in Kläranlagen entfernt werden können. In der Schweiz ist das Inverkehrbringen von Wasch- bzw. Reinigungs- und Desodorierungsmitteln mit einem Massengehalt von mehr als 0,5 % bzw. 1 % EDTA bzw. seiner Salze verboten.“

### 1.7.3 Gründe für die Komplexierung von Mangan im Zellstoff

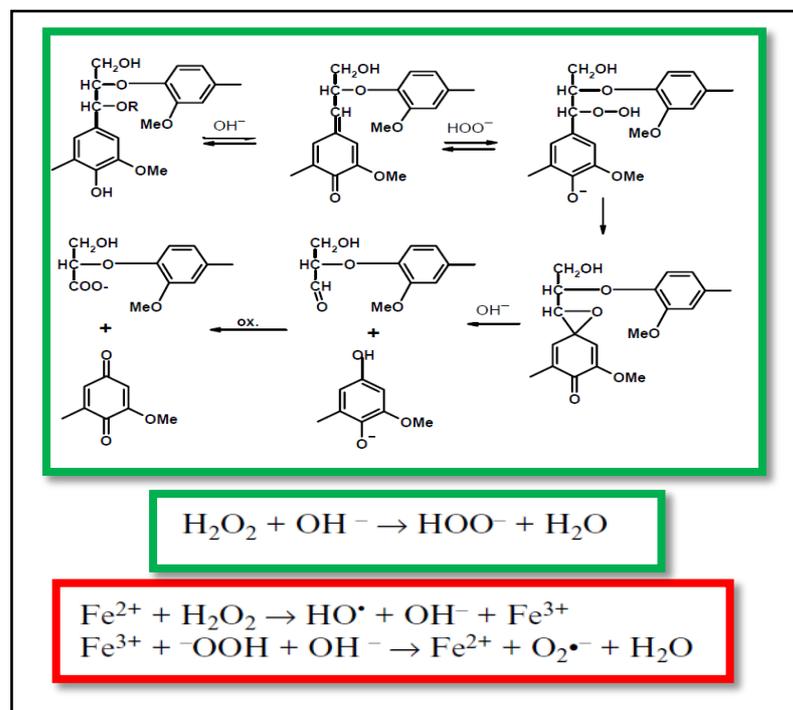
EDTA ist heute in der Zellstoffbleiche noch toleriert (die Firma ESSITY in Mannheim hat eine Tagesfrachterlaubnis von 60 kg, die übrigen Zellstoffhersteller in Deutschland emittieren jeweils in die Gewässer etwa 600 kg pro Tag, was erhebliche Konflikte mit der Fischereiwirtschaft mit sich bringt. Die Kontrollbehörden (Regierungspräsidien) sind nach Auskunft ESSITY an den größten Emittenten „dran“ – solange es aber keine wirklichen Alternativen gibt, können sie keine Begrenzungen durchsetzen [Reinhardt, 2021]. Zum Bleichen einer Tonne

Faserstoff mit Wasserperoxid werden z.B. ca. 1,5 bis 1,7 kg EDTA zugesetzt [Baumann + Herberg-Liedtke, 1994].

Gründe für die Duldung von EDTA sind:

- ✧ Mangan zersetzt das Bleichmittel bei der Zellstoffbleiche [Jäkärä et al., 2004], Langi et al., 1998].
- ✧ Die Qualität des Zellstoffs wird gemindert [Gruber, 2011; Blechschmidt, 2010; Baumann + Herberg-Liedtke, 1994; Göttsching, 1990].
- ✧ Ohne EDTA Zusatz müsste die 5fache Menge an Wasserstoff-Peroxid zugesetzt werden, um das Mangan durchzuoxidieren [Reinhardt, 2021].

Abbildung 1-28 zeigt die Oxidationsreaktionen mittels Wasserstoffperoxid an einer phenolischen Verbindung am Zellstoff. Ohne Maskierung/Chelatisierung der Metalle, hier am Beispiel Eisen, würde das Eisen katalytisch das Wasserstoffperoxid zersetzen [Blechschmidt, 2010]



**Abbildung 1-28:** Oxidation einer phenolischen betaO<sub>4</sub>-Struktur mit alkalischem Wasserstoffperoxid (oben) – erwünschte Zersetzung des Wasserstoffperoxids (Mitte) – unerwünschte Zersetzung des Wasserstoffperoxids durch Eisen als Katalysator für die Zersetzung (unten) [Blechschmidt, 2010]

#### 1.7.4 EDTA bei der Optimierung der Methanisierung in Biogasanlagen [Vintiloiu, 2014]

In Deutschland sind über 7.500 Biogasanlagen in Betrieb, die überwiegend mit nachwachsenden Rohstoffen beschickt werden. Über die Substratzufuhr gelangen unterschiedliche Mikro- und Makroelemente in die Biogas-Anlagen. Diese Elemente stellen essentielle Nährstoffe für methanbildende Mikroorganismen dar. Eine zu geringe Konzentration dieser Elemente kann die Bildung von Enzymen hemmen und dadurch den Metabolismus der methanogenen Mikroorganismen stören. Die, den Biogasprozess einleitenden, primären Gärer werden von diesem Mangel nicht inhibiert, so dass es zu einer Anreicherung der kurzkettigen organischen Säuren im Gärsubstrat kommt. Die Säureanreicherung kann bei einem Überschreiten der Pufferkapazität des Gärsubstrates zu einer Destabilisierung des Prozesses führen. Eine große Anzahl der landwirtschaftlichen Biogasanlagen verwendet daher

handelsübliche Spurenelementlösungen, um das Nährstoffdefizit zu reduzieren, den Prozess zu optimieren und höhere Methanerträge zu erzielen.

Ziel der Arbeit von Ventiloiu [2014] war es gewesen, die Ursachen für einen Spurenelementmangel in Biogasanlagen zu untersuchen und zu prüfen, ob durch eine Komplexierung der Mikronährstoffe deren Verfügbarkeit für die Mikroorganismen gesteigert und dadurch die zur Stabilisierung des Gärprozesses notwendigen Zugabemengen an Spurenstoffen reduziert werden können.

### **Effekte von EDTA auf die Bioverfügbarkeit der Spurenelemente**

Die landwirtschaftlichen Biogasanlagen werden derzeit vorwiegend mit Mais beschickt (Weiland, 2007). Silomais weist im Vergleich zu Grassilage, Getreide-Ganzpflanzensilage oder Rübensilage i.d.R. nur sehr geringe Mineralstoffgehalte auf. Dadurch kommt es bei vielen Biogasanlagen oft zu Prozessstörungen und zu Methanertragseinbußen (Demirel und Scherer, 2011).

Handelsübliche Spurenelementlösungen können dazu verwendet werden, das Nährstoffdefizit im Gärsubstrat auszugleichen, was zu einer schnelleren Umsetzung der organischen Säuren führt. Die meisten Spurenelemente sind Schwermetalle, so dass die dem Biogasprozess zugefügten Mengen so gering wie möglich gehalten werden sollten.

Es galt eine Methode zu finden, mit der die Bioverfügbarkeit der Metallionen im Fermenter erhöht werden kann, um somit die benötigte Menge an Spurenelementen zu reduzieren. Dazu wurde der Komplexbildner Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) zugegeben und auf seine Wirkung hin getestet. EDTA wird in vielen Bereichen verwendet, um die Ausfällung von Metallionen zu verhindern. Es ist aber nur schwer biologisch, insbesondere nicht anaerob abbaubar (Callander, 1983).

In verschiedenen Untersuchungen im Batch-Ansatz wurden die Effekte der Zugabe von EDTA in Salzform und als Nickelkomplex zu einem suboptimal versorgten Gärsubstrat getestet. Auch Spurenelementlösungen wurden in optimaler und reduzierter Konzentration zugegeben. Es konnte gezeigt werden, dass in Gegenwart von Nickel(II)EDTA die Konzentration des Nickels um bis zu 50 % reduziert werden kann, ohne dass dies einen negativen Einfluss auf den Methanertrag hatte. Die Zugabe als Komplex hat den Vorteil, dass geringere Mengen an Nickel mit dem Gärrest in die Umwelt freigesetzt werden.

Weitere Untersuchungen dieser Testreihe belegten, dass durch die ergänzende Zugabe von EDTA in Salzform die notwendigen Mengen sämtlicher essentieller Mikronährstoffe um bis zu 75 % reduziert werden konnten. Damit gehen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit konform mit den Untersuchungen von Callander (1983) und Hu et al. (2008), die belegen, dass der Komplexbildner EDTA die Bioverfügbarkeit der Metallionen stark verbessern kann.

Eine Reduzierung der erforderlichen Spurenelementmengen kann durch die gleichzeitige Zugabe von EDTA kompensiert werden. Dadurch werden eine hohe Prozessstabilität und hohe Methanerträge gewährleistet.

Bei einer großen Anzahl der Biogasanlagen in Deutschland werden Spurenelementlösungen eingesetzt, um den Prozess zu optimieren und höhere Methanerträge zu erzielen (Jacobi, 2013).

Im Rahmen der Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass vom Gärsubstrat selbst ein sehr großer Einfluss auf die Effekte der EDTA-Zugabe ausgeht. Die Effekte des EDTA auf die Erhöhung der Prozessstabilität konnten insbesondere bei stark mit Nährstoffen

unterversorgten Gärsubstraten nachgewiesen werden, die zudem bereits sehr hohe Fettsäurekonzentrationen aufwiesen. In diesen Fällen konnte die alleinige Zugabe von EDTA den Methanertrag des Gärsubstrates um bis zu 32 % erhöhen.

Zusammenfassend wurde festgehalten, dass durch den Einsatz von Nickel(II)EDTA die Nickel-Zugabemenge im Vergleich zur Zugabe in Salzform um bis zu 50 % reduziert werden konnte, ohne den Methanertrag negativ zu beeinflussen. Durch die alleinige Zugabe von EDTA zu einem suboptimal versorgten Gärsubstrat konnte der Methanertrag um bis zu 32 % erhöht werden. Beim Einsatz von Spurenelementen konnte durch die Zugabe von EDTA deren Zugabemengen um bis zu 75 % ohne negative Folgen für den Gärprozess verringert werden.

Da EDTA ein biologisch schwer abbaubarer Komplexbildner ist, wurde weiterhin untersucht, ob biologisch leicht abbaubare Komplexbildner (Ethylendiamindibernsteinsäure (EDDS) und Iminodibernsteinsäure (IDS)) den gleichen Effekt haben können. IDS hatte im Rahmen dieser Untersuchungen einen statistisch hoch signifikanten positiven Einfluss auf die Bioverfügbarkeit der Metallionen, der den von EDTA übertraf. IDS stellt somit eine umweltfreundliche Alternative zu EDTA dar.

### **1.8 Immobilisierung von Mangan-Chelatoren auf Trägermaterialien**

Zur Immobilisierung der Chelatoren (speziell der Desferrioxamine) wurden magnetische respektive Magnet-Partikel gesucht, auf denen der Komplexbildner immobilisiert werden kann, um diese mit Hilfe eines Magneten aus der Suspension zu entfernen. Magnetische Partikel bestehen meist aus den nachfolgenden Metallen und Metalloxiden, Ferriten bzw. Legierungen:

- Metalle: Fe, Co, Ni,
- Metalloxide: FeO, Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Maghemit), Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (Magnetit),
- Legierungen: FePt, FePt<sub>3</sub>
- Ferrite: CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, MnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>

Die Vorteile gegenüber nicht magnetischen Partikeln bestehen in der hohen Abtrenneffizienz von bis zu 99 % aus der Suspension und der damit verbundenen Wiederverwendbarkeit der Partikel sowie der einfacheren Prozesskontrolle durch angelegte Magnetfelder. Magnetische Partikel können porös oder unporös synthetisiert werden ([Wollny, 2015] [Opwis, et al. 2018]).

### **Funktionalisierung /Aktivierung der Trägermaterialien**

In der Literatur werden zahlreiche Möglichkeiten zur Generierung terminaler, funktioneller Gruppen auf den Oberflächen der Trägermaterialien beschrieben. Die erzeugten funktionellen Gruppen dienen als Ankergruppen für „Crosslinker“ zur Ankopplung der Biomoleküle [Teske, 2013]. Geeignete funktionelle Gruppen sind [Internetquelle 1, 2019]:

- Amino-Gruppen
- Imino-Gruppen
- Hydroxyl-Gruppen
- Carboxyl-Gruppen
- Thiol-Gruppen
- Methylthiol-Gruppen
- Guanidyl-Gruppen,
- Imidazol-Gruppen
- Phenol-Ringe

### Synthese von Aminogruppen

Zur Erzeugung terminaler NH<sub>2</sub>-Gruppen auf den Polymeroberflächen können folgende Methoden genutzt werden [Teske, 2013]:

- NH<sub>3</sub>-Niederdruckplasma
- Silanisierung mit 3-Aminopropyltriethoxysilan (APTES) nach vorheriger Aktivierung der Oberflächen mit O<sub>2</sub>-Niederdruckplasma
- Reaktion mit MDI, welches mit den vorhandenen OH-Gruppen der Polymeroberflächen reagiert und dessen endständige Isocyanatgruppe (-NCO) im Anschluss in eine NH<sub>2</sub>-Gruppe überführt

### Synthese von Hydroxylgruppen

Zur Generierung funktioneller OH-Gruppen auf Polymeroberflächen kann eine Niederdruckplasmaaktivierung mit Sauerstoff durchgeführt werden. Bei der Behandlung von Polymeren mit Sauerstoff-Plasma wird neben der Generierung von OH-Gruppen auch die Bildung von Ether-, Peroxid-, Epoxid-, Carbonyl- und COOH-Gruppen beschrieben [Teske, 2013].

### Synthese von Carboxylgruppen

Bei der Behandlung von Polymeroberflächen mit Kohlenstoffdioxid (CO<sub>2</sub>)-Plasma werden vor allem Carbonyl-, COOH- und andere sauerstoffhaltige funktionelle Gruppen gebildet [Teske, 2013].

### Silanisierung von Oberflächen

Anorganische, oxidische Oberflächen, die freie Hydroxylgruppen auf der Oberfläche tragen, können mit Organosilanen beladen werden. Diese dienen als Ankergruppen, an welche direkt oder über einen Spacer Biomoleküle kovalent gebunden werden können.

Organosilane haben die allgemeine Formel Y-Si-R-X, wobei X eine funktionelle Gruppe, R ein organisches Zwischenstück und Y eine durch Wasser abspaltbare Gruppe bedeuten. Diese reagieren mit Hydroxylgruppen auf einer anorganischen Oberfläche unter Ausbildung einer stabilen M-O-Si-Bindung (= = Si, Ti, Al,...) [Koch, 1997].

Bei den Organoalkoxysilanen unterscheidet man mono-, di und trifunktionale Silane. Beispiele sind (Abb. 1-29):

<p><b>3-Aminopropyl-triethoxysilan (AES)</b></p> <p>Summenformel: C<sub>9</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>3</sub>Si</p> <p>Strukturformel:</p> $\begin{array}{c} \text{OC}_2\text{H}_5 \\   \\ \text{C}_2\text{H}_5\text{O}-\text{Si}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2 \\   \\ \text{OC}_2\text{H}_5 \end{array}$	<p><b>3-(2-Aminoethylamino)-propyl-trimethoxysilan (AAMS)</b></p> <p>Summenformel: C<sub>8</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>3</sub>Si</p> <p>Strukturformel:</p> $\begin{array}{c} \text{OCH}_3 \\   \\ \text{CH}_3\text{O}-\text{Si}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2 \\   \\ \text{OCH}_3 \end{array}$	<p><b>Methyl-trimethoxysilan</b></p> <p>Summenformel: C<sub>4</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub>Si</p> <p>Strukturformel:</p> $\begin{array}{c} \text{OCH}_3 \\   \\ \text{CH}_3\text{O}-\text{Si}-\text{CH}_3 \\   \\ \text{OCH}_3 \end{array}$
--	--	--

**Abbildung 1-29:** Beispiele für Organoalkoxysilane [Koch, 1997]

### Beispiel: Silanisierung von Stahloberflächen

Zur Silanisierung von Edelstahl-Oberflächen haben Kang und Lee [2007] zunächst die Oberfläche mit einer Lösung aus Phosphorsäure, Glycerin und Wasser (34:47:19 Gew.-%) 3 min bei 1 A/cm<sup>2</sup> elektropliert. Anschließend wurde die aufgeraute Oberfläche mit einer Piranha-

Lösung aus  $\text{H}_2\text{SO}_4$  und  $\text{H}_2\text{O}_2$  (4:1) für 1 h säurebehandelt, um Verunreinigungen zu entfernen und die reaktiven Hydroxylgruppen an der Oberfläche freizulegen. Der säurebehandelte Oberfläche wurde dann 10 Minuten lang nacheinander mit Ultraschall in deionisiertem Wasser, Ethanol und Aceton gereinigt, gefolgt von einer Stickstoff-Behandlung und sofortigen Silanisierung. Die Silanisierung erfolgte mit Epoxy-funktionalisiertem Silan (GPTS) in einer 10%igen (v/v) GPTS/Toluol-Lösung bei  $55^\circ\text{C}$  für 48 h. Es folgte zweimal eine Ultraschall-Behandlung in Toluol und Methylenchlorid für je 5 min, um überschüssige Silanverbindungen zu eliminieren. Die Oberfläche wurde dann schonend unter Stickstoffdampf getrocknet und 3 h lang in einem Ofen bei  $70^\circ\text{C}$  thermisch gehärtet [Kang + Lee, 2007].

#### Zur Immobilisierung von Biomolekülen geeignete funktionelle Gruppen

Biomoleküle verfügen meist über eine Vielzahl von funktionellen Gruppen, die mit einem zuvor funktionalisierten Träger reagieren und dabei kovalente Bindungen ausbilden können [Opwis, 2018]. Die wichtigsten funktionellen Gruppen sind:

- Carboxyl-
- Amino-
- Phenol-
- Thiol-
- Hydroxyl-
- Imidazol-
- Indol-Ringe

#### **Immobilisierungstechniken**

Methoden zur Enzymimmobilisierung an unterschiedlichste Trägermaterialien beinhalten Einschlußverfahren wie den Matrix- (sphärische Partikel, Fasern Folien) oder den Membranein-schluss (Mikrokapseln, Membranreaktor), bei denen das zu immobilisierende Biomolekül in gelöster Form in einer Substanz eingeschlossen wird sowie Verfahren, bei denen das Biomolekül in unlöslicher Form an einen Träger gebunden wird. In letzterem Fall kann die Bindung adsorptiv, ionisch oder kovalent erfolgen. Ein Spezialfall ist die Quervernetzung von Biomolekülen zu gelartigen, hochmolekularen Aggregaten mit bifunktionellen Molekülen wie z.B. Glutardialdehyd [Opwis et al., 2018].

Die am häufigsten angewendete Methode zur Immobilisierung von Biomolekülen ist die kovalente Anbindung an ein geeignetes Trägermaterial. Die kovalente Bindung von Atomen zu Molekülen kommt durch das räumliche Überlappen von jeweils zwei Elektronenorbitalen zustande. Folgende Methoden wurden recherchiert (siehe Abb. 1-30 a bis Carbodiimidg [Sommer, 2014])

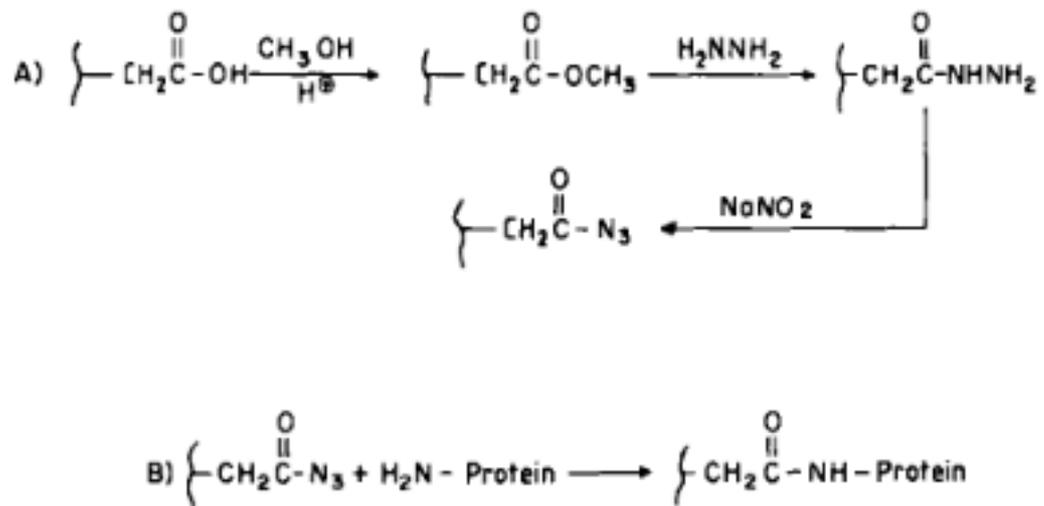


Abbildung 1-30a: Azid-Methode [Sharma et al, 1982]

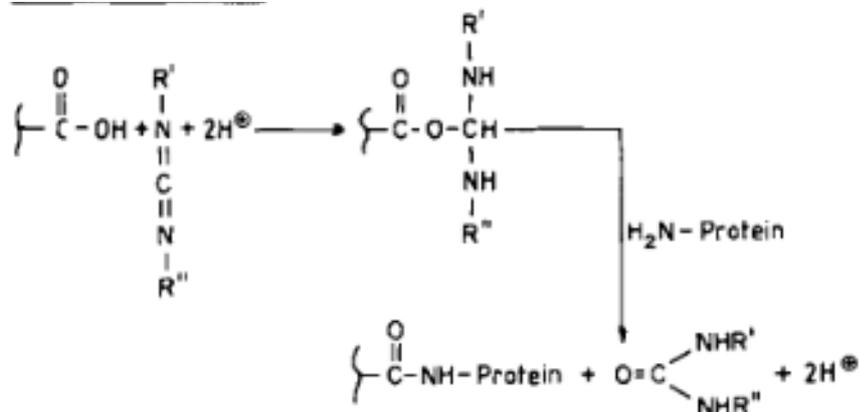


Abbildung 1-30b: Carbodiimid-Methode [Sharma et al, 1982]

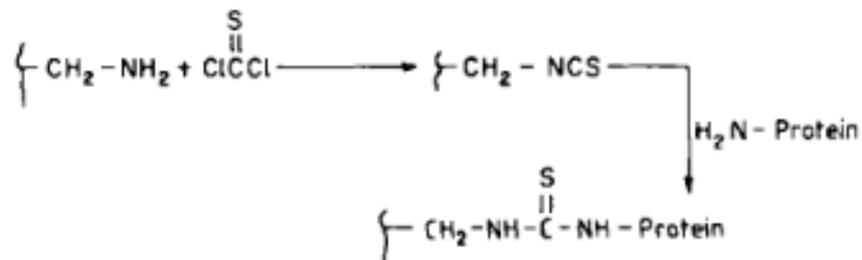


Abbildung 1-30c: Isothiocyanat-Methode [Sharma et al, 1982]

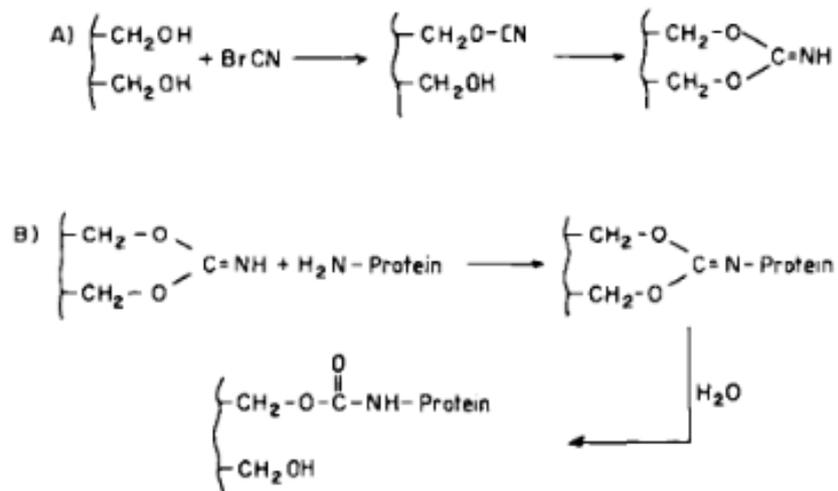


Abbildung 1-30d: Bromcyan-Methode [Sharma et al, 1982]

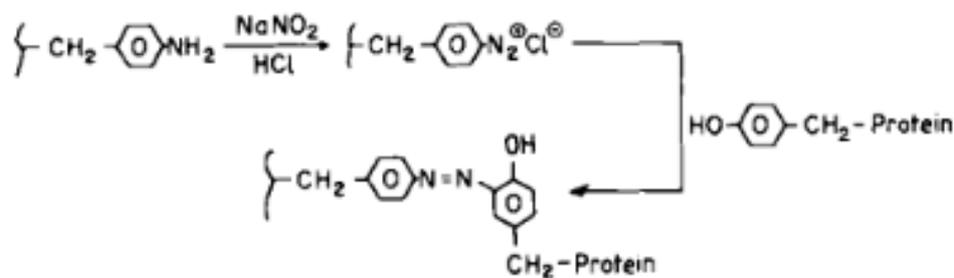


Abbildung 1-30e: Azo-Methode [Sharma et al, 1982]

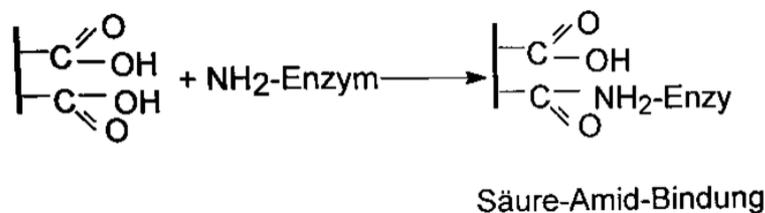


Abbildung 1-30f: Säure-Anhydrid-Methode [Sharma et al, 1982]

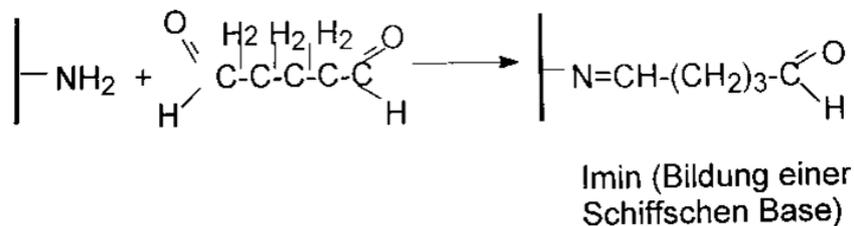


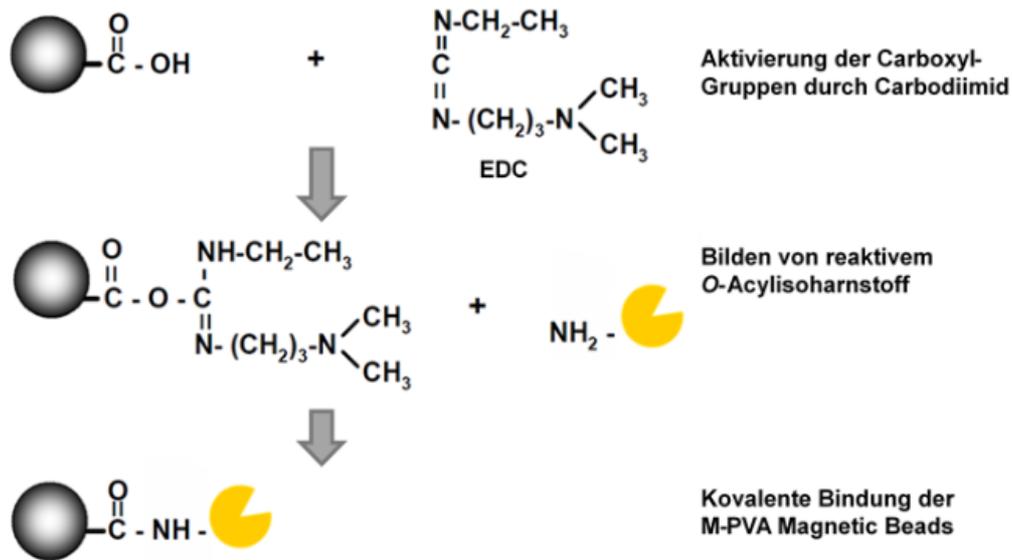
Abbildung 1-30g: Glutardialdehyd-Methode [Sharma et al, 1982]

**Immobilisierung von Glycosidasen an superparamagnetische Magnetit-Partikel mit Carbodiimid**

Es wurden Amino-Gruppen enthaltende Liganden mit Carboxyl-Gruppen von Magnetit-Partikeln (M-PVA C22 Magnetit-Partikel, Fa. chemagen PerkinElmer) mittels Carbodiimid gekoppelt. Als Carbodiimid wurde EDC (1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid) verwendet.

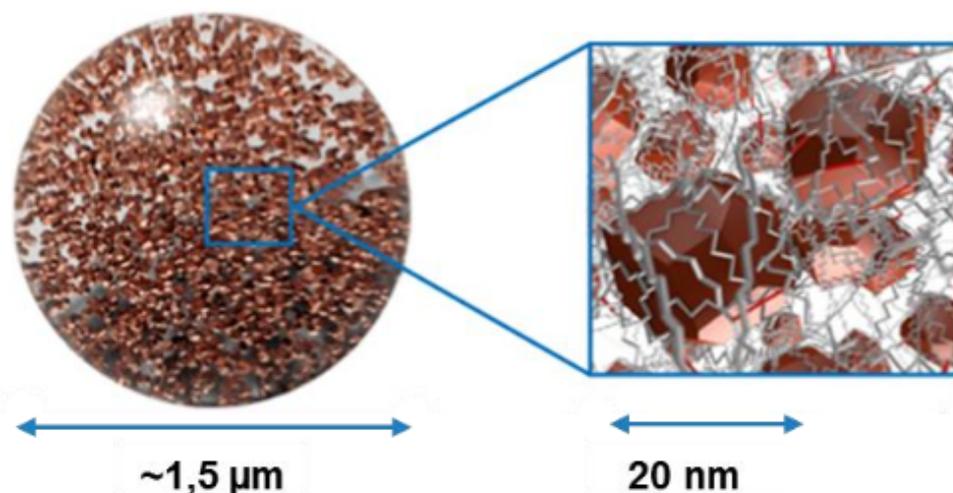
Zunächst wurden die magnetischen Partikel mit 1 ml 0,1 M MES-Puffer (pH 5,0) gewaschen und anschließend durch 1 ml EDC-Lösung (0,6 mg EDC zu 1 ml MES) aktiviert (15 min bei RT).

Die Bildung der Amid-Bindung geschieht in zwei Schritten: erstens der Aktivierung der Carboxyl-Gruppe, die zur Bildung des aktivierten Derivats O-Acylisoharnstoff führt (Addition der Carboxyl-Gruppe der Carbonsäure an eine C=N-Doppelbindung des Carbodiimids) und zweitens die Bildung der Amid-Bindung durch die Reaktion des O-Acylisoharnstoff mit der Amino-Gruppe unter Abspaltung von Harnstoff [Ferner, 2016].



**Abbildung 1-31:** Mechanismus der Enzym-Kopplung mit Carbodiimid [Ferner, 2016]

Für die Immobilisierung wurden superparamagnetische Magnetit-Partikel (M-PVA C22 Magnetit-Partikel) verwendet, die aus einer Matrix aus Polyvinylalkohol bestehen und für eine Bindung mit Biomolekülen entsprechend an der Oberfläche carboxyliert sind. Die funktionellen Gruppen saßen auf einem C22-Spacerarm. Der hohe Magnetit-Gehalt der magnetischen Partikel erlaubt schnelle Trennverfahren. Die Partikel haben eine polydisperse Größenverteilung (1-3  $\mu\text{m}$ ) [Ferner, 2016].



**Abbildung 1-32:** schematische Darstellung der Magnetit-Partikel [Ferner, 2016]

### Immobilisierung von Desferrioxamin B an Goldoberflächen mit Carbodiimid

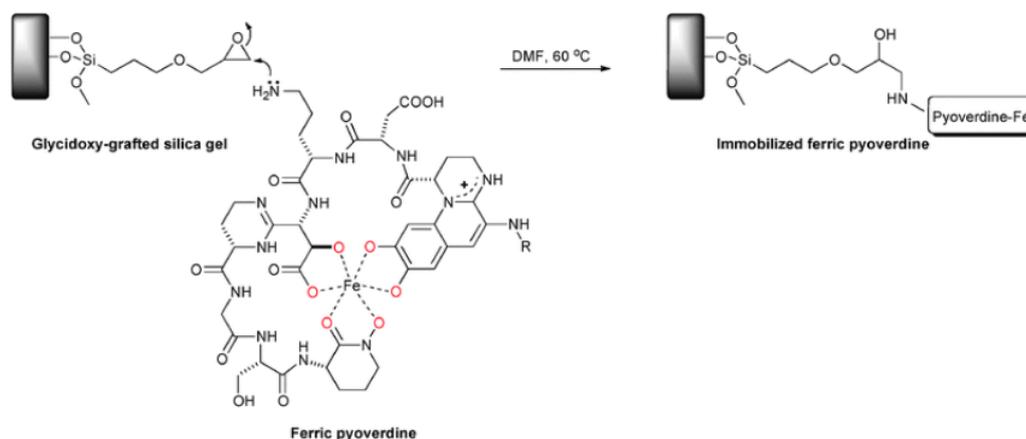
Es wurde ein Biosensor zur Lebend-Tot-Differenzierung von Bakterienzellen auf Basis von Desferrioxamin B Mesylatsalz entwickelt. Hierzu wurden zunächst 5 nm Chrom und 20 nm Gold auf einen Wafer mit einem Elektronenstrahl-Verdampfungssystem abgeschieden. Anschließend wurden die Proben 12 h in Ethanolösungen mit 1 mM 11-Mercaptoundecansäure zur Ausbildung eines „self-assembled monolayers“ (SAM) getaucht. Nach einem Waschschrift wurde die SAM-Oberfläche mit einer 1:1 Mischung aus 0,1 M N-Hydroxysuccinimid (NHS) und HCl-stabilisiertem 0,4 M 1-Ethyl-3-(3-Dimethylaminopropyl) carbodiimid (EDC) für 1 Stunde bei Raumtemperatur aktiviert und erneut gewaschen. Zur kovalenten Immobilisierung des DesfB an der aktivierten Goldoberfläche wurde die Probe für 2 Stunden bei Raumtemperatur in eine Lösung mit DesfB, Natriumcarbonat und FeCl<sub>3</sub> (je 1 mM) getaucht und anschließend mit VE-Wasser gespült. Diese Immobilisierungsstrategie nutzt das terminale Amin der Siderophore, das für die Eisenbindung unkritisch ist [Bhadra et.al., 2018].

### Immobilisierung von Pyoverdin auf CPG mit Glutaraldehyd

Zur Immobilisierung des Siderophors Pyoverdin wurden 0,2 g controlled pore glass (CPG) mit freien SiO<sub>2</sub>-Gruppen 30 min lang in 15 mL 10 %-iger Salpetersäure gekocht und 10 Mal mit deionisiertem Wasser gewaschen und anschließend getrocknet. Separat dazu wurde CPG mit 10 %-igem, wässrigen 3-Aminopropyltriethoxysilan (pH 3,5) im Schüttelwasserbad bei 80°C für 150 min aminoalkyliert und mit deionisiertem Wasser gewaschen. Der Prozess wurde fünfmal wiederholt. Nach der Alkylierung wurde das CPG in Abwesenheit von Sauerstoff (mit Stickstoffspülung im geschlossenen Gefäß) mit 2,5%iger Glutaraldehydlösung in Tris-HCl-Puffer (0,1 M, pH 7,0) bei 28°C für 30 min aktiviert. Den aktivierten CPG-Perlen (0,2 g) wurden anschließend verschiedene Mengen (2500-10000 µg) Pyoverdin-Biphthalatpuffer (0,01 M, pH 6) zugegeben und bei 4°C für 3 h in Abwesenheit von Sauerstoff inkubiert (mit Stickstoffspülung in einem geschlossenen Gefäß) [Kadam et al., 2012].

### Immobilisierung von Pyoverdin an MTS

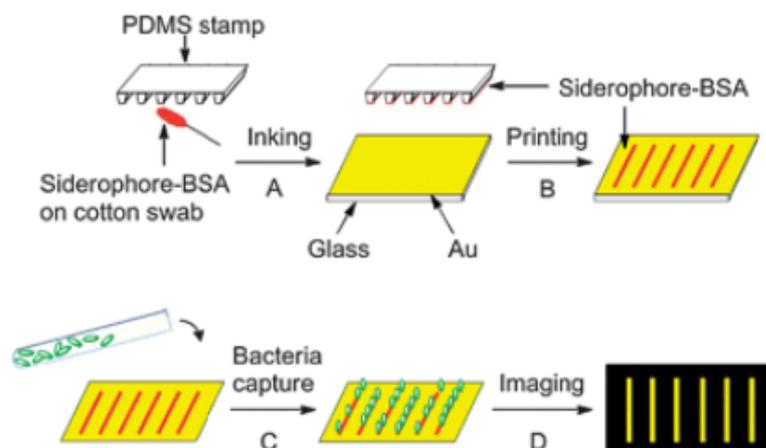
Zu Herstellung von sogenannten „Metallionenschwämmen“ zum Sequestrieren von Eisen aus Lösungen wurde Pyoverdin kovalent an MTS (MTS = n((3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium))) gebunden (s. Abb. 1-33) [Zheng + Nolan, 2012].



**Abbildung 1-33:** Immobilisierung von Pyoverdin an Glycidoxy-Silica-Gel [Zheng + Nolan, 2012]

### Immobilisierung von Pyoverdin auf vergoldeten Glaschips mit Carbodiimid

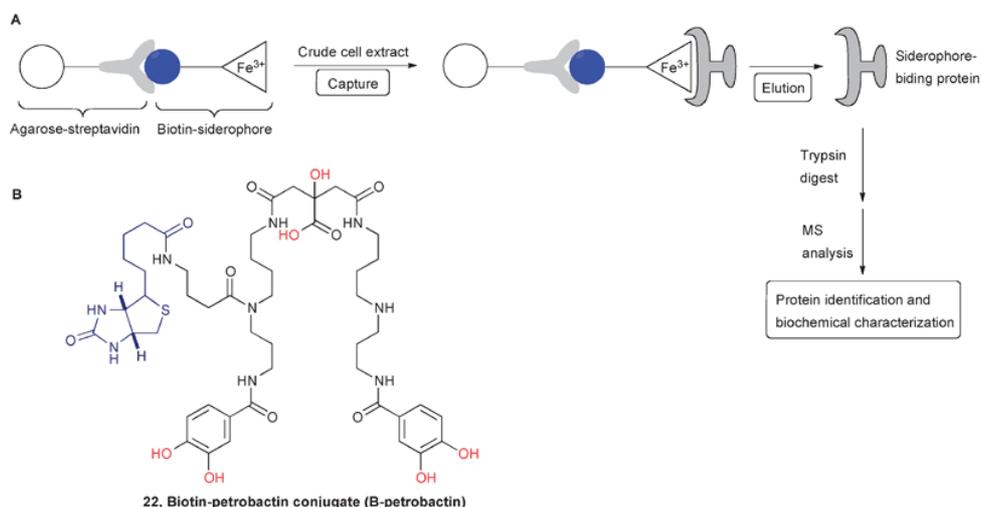
Es gibt Methoden zur Detektion von pathogenen Organismen, die auf der Immobilisierung von Siderophoren basieren. Diese Methoden basieren auf der hochaffinen Assoziation von Siderophoren mit bakteriellen Zelloberflächenrezeptoren (z.B. FepA121 (Enterobactinrezeptor) und FhuA122 (Ferrichromrezeptor) von *E. coli*, und FpvA123 (Pyoverdinrezeptor) von *Pseudomonas aeruginosa*). Diese Rezeptoren weisen eine Spezifität für ein oder mehrere Siderophore auf und binden diese kleinen Moleküle mit Dissoziationskonstanten im nanomolaren Bereich. Ein Beispiel hierfür ist die Immobilisierung von Pyoverdin auf vergoldeten Glaschips für den Nachweis von Krankheitserregern. Hierzu wurde Pyoverdin mit Gallium komplexiert und mit Rinderserumalbumin (BSA) unter Verwendung der Carbodiimidchemie gekoppelt [Zheng + Nolan, 2012].



**Abbildung 1-34:** Detektion von Pathogenen mit auf Glas-Chips immobilisierten Siderophoren [Zheng + Nolan, 2012]

### Immobilisierung eines Biotin-gekoppelten Siderophors an mit Streptavidin beladenen Agarose-Perlen

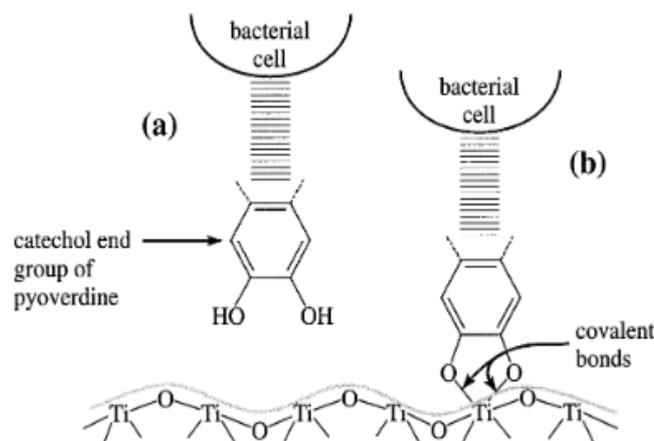
Zur Abtrennung von Siderophor-bindenden Proteinen in Zellextrakten wurde der Eisenkomplex des biotinylierten Derivats von B-Petrobactin mit Streptavidin-Agaroseperlen inkubiert, die zur Herstellung einer Petrobactin-Affinitätsäule verwendet wurden [Zheng + Nolan, 2012].



**Abbildung 1-35:** Isolation von Siderophor-bindenden Proteinen durch Biotin-Siderophor-Konjugate, B) Struktur des biotinylierten Petrobactins, die Eisen-bindenden Atome sind rot und die Biotin-Bindungsstellen blau dargestellt [Zheng + Nolan, 2012]

### Natürlicher Weise vorkommende kovalente Bindungen von Siderophoren an Metalloberflächen bei der Biofilmbildung

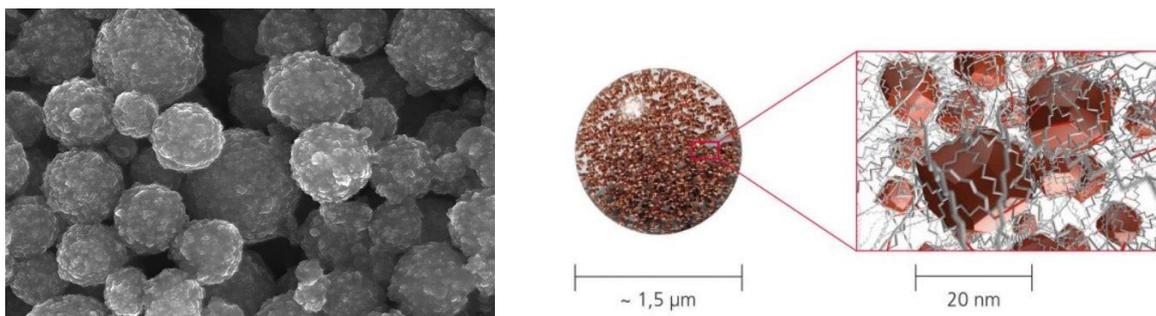
Fast alle Metalloberflächen, die mit der Atmosphäre und einer wässrigen Umgebung in Berührung kommen, sind mit dünnen Metalloxidschichten bedeckt. Der Kontakt von Bakterien in wässrigen Lösungen mit diesen Metallen führt zu einer Wechselwirkung mit diesen Metalloxidoberflächen. Pyoverdine, ein von *Pseudomonas aeruginosa* produziertes Siderophor, bindet fest zwischen der Oberfläche der Bakterie und gleichzeitig kovalent an  $\text{TiO}_2$  und an Eisen(III)oxid. Siderophore spielen nachweislich eine Rolle bei der Bindung von Bakterien an Metalle und Mineraloberflächen (s. Abb. 1-36) [McWhirter et al., 2003].



**Abbildung 1-36:** Schema der kovalenten Bindung, die sich ausbildet, wenn suspendierte *Pseudomonas aeruginosa*-Zellen an  $\text{TiO}_2$ -Oberflächen binden. Hierbei spielt die Catechol-Endgruppe des Pyoverdins eine entscheidende Rolle [McWhirter et al., 2003].

### Vorarbeiten zur Umsetzung der Immobilisierung von Siderophoren auf die magnetischen Trägermaterialien Magnetic-Beads

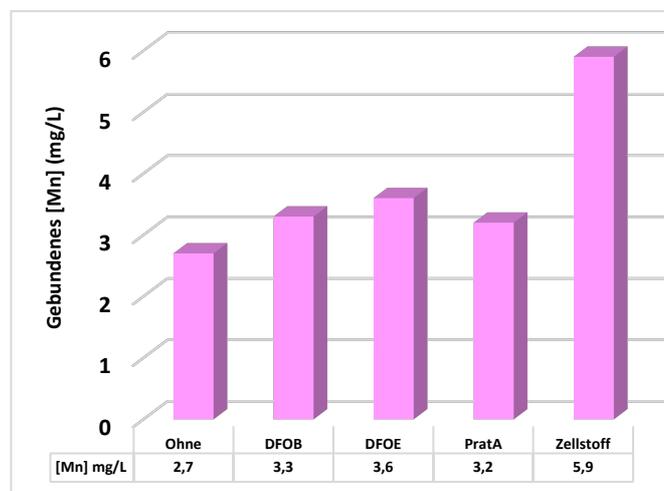
Für die Umsetzung dieses Verfahrens des Mangan-Fishings wurden etliche Voruntersuchungen gemacht: insbesondere zur Immobilisierung von Mangan-Chelatoren wie Prata und Desferrioxamin B (siehe [Kunz et al., 2020] + [Wilkesman, 2019] + [Wilkesman et al., 2019]) können superparamagnetische Magnetit-Partikel (M-PVA C22 Magnetit-Partikel) verwendet werden, die aus einer Matrix aus Polyvinylalkohol bestehen und für eine Bindung mit Proteinen oder Siderophoren entsprechend an der Oberfläche carboxyliert werden (s. Abb. 1-37). Die Partikel haben eine polydisperse Größenverteilung ( $1 - 3 \mu\text{m} \varnothing$ ).



**Abbildung 1-37:** Magnetic Beads stark vergrößert [PerkinElmer]

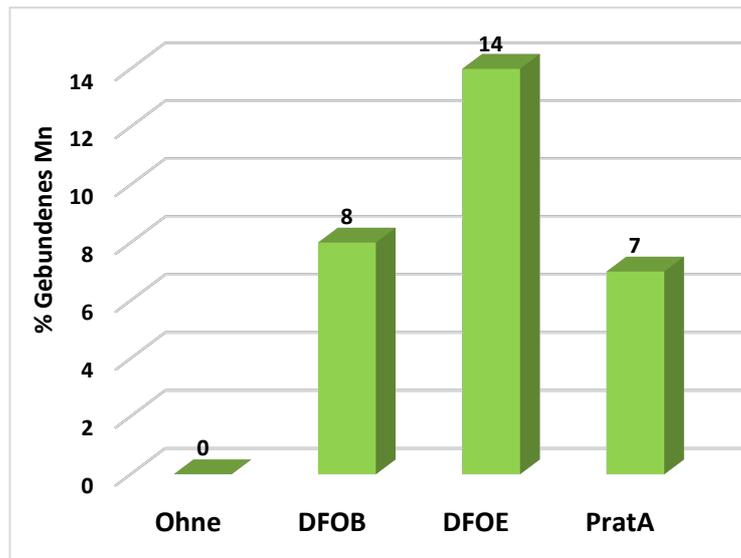
Die funktionellen Gruppen saßen auf einem C22-Spacerarm. Im Allgemeinen wurde die Immobilisierung in Eppendorf-Röhrchen durchgeführt und die Magnetit-Partikel mittels eines Magnets abgeschieden. Zuerst wurden die magnetischen Partikel aktiviert, dazu wurden ~7 mg Partikel (150  $\mu$ L der 50  $\mu$ g/ $\mu$ L Partikel-Lösung) zweimal mit 1 mL 0,1 M MES-Puffer pH 5,3 gewaschen. Danach wurden die Partikel mit 1 mL EDC-Lösung (50 mg EDC in 1 mL MES) aktiviert und 2 h in einem Schüttler bei 25 °C inkubiert. Anschließend wurden die Partikel erneut mit 1 mL MES-Puffer dreifach gewaschen, um die EDC-Reste vollständig zu entfernen.

Die Immobilisierung der Liganden (DFOB, DFOE oder Prata) erfolgte durch Inkubation von 100  $\mu$ L Proteinlösung bzw. 1 mL gesättigter Siderophor Lösung (Konzentration: 50 mg/mL) im entsprechenden Puffer mit 7 mg (150  $\mu$ L) der abgetrennten und aktivierten Partikel unter Schütteln für 18 h bei 4 °C im Schüttler bei 300 rpm. Anschließend wurden die Partikel zweimal mit jeweils 1 mL MES-Puffer gewaschen. Die immobilisierten Siderophoren bzw. das Protein wurden bei 4 °C gelagert.



**Abbildung 1-38:** Gebundenes Mangan an die magnetischen Mikrobeads [Wilkesman et al., 2019)

Abbildung 1-38 zeigt die daraus berechnete gebundene Mn-Konzentration bei der Immobilisierung an M-PVA C22 mit verschiedenen Chelatoren. Die prozentuale Manganentfernung ist in Abbildung 1-39 dargestellt. Aus den Ergebnissen lässt sich folgern, dass DFOE am stärksten Mangan entfernen konnte (14%), während DFOB und Prata ähnliche Ergebnisse zeigten (8 bzw. 3 %). Die Bestimmung der Eisen-Konzentration konnte bei dieser Untersuchung aufgrund des Fe-Gehalts der Magnetit-Partikeln nicht bestimmt werden.



**Abbildung 1-39:** Prozentuale Mangan-Entfernung bei den Immobilisierungsuntersuchungen [Wilkesman et al., 2019]

Da das Desferrioxamin E von ASA-Spezialenzyme in Wolfenbüttel fermentiert wird, um den biologischen Entroster [Kunz et al., 1994] zu produzieren, liegt ein wichtiger chemischer Baustein für die Realisierung der Bio-Fishing-Anlage vor.

### 1.9 Rückgewinnung von Mangan aus dem Mangan-MagnetträgerChelatorKomplex (Mn-MTC)

Ein wesentlicher Bestandteil des gesamten Prozesses beim Bio-Fishing ist es, das Mangan aus dem Komplex mit dem Chelator zu lösen, ohne dass der Chelator sich seinerseits vom magnetischen Träger mobilisiert.

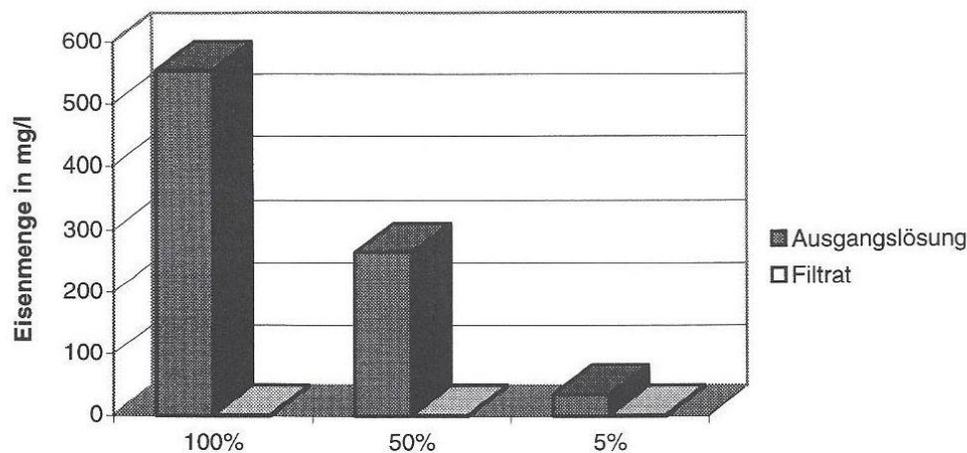
In einer Voruntersuchung hatte Seegers [1996] gezeigt, dass die Komplex-Aufspaltung sowohl mittels Laugen als auch Mineralsäuren möglich ist. Da insbesondere die Versuche zur Aufspaltung des Siderophor-Eisen-Komplexes bei einem pH > 10 sehr gute und auch reproduzierbare Ergebnisse erbrachten, ist dieses Verfahren für die industrielle Anwendung auch in diesem Fall interessant. Da die Ergebnisse mit Laugen (pH > 10) bei der Rückgewinnung des Desferrioxamins durch die Abspaltung von Eisen aus dem Ferrioxamin-Komplex vielversprechender waren, sollen nur diese hier gewürdigt werden.

Die Komplex-Spaltung basiert auf dem Prinzip, dass Eisen im Alkalischen aus dem Siderophor-Eisen-Komplex ausfällt; um die komplexierende Wirkung des Siderophors herbeizuführen, muss allerdings anschließend die Lösung wieder angesäuert werden (beispielsweise mit Kohlensäure (CO<sub>2</sub>)).

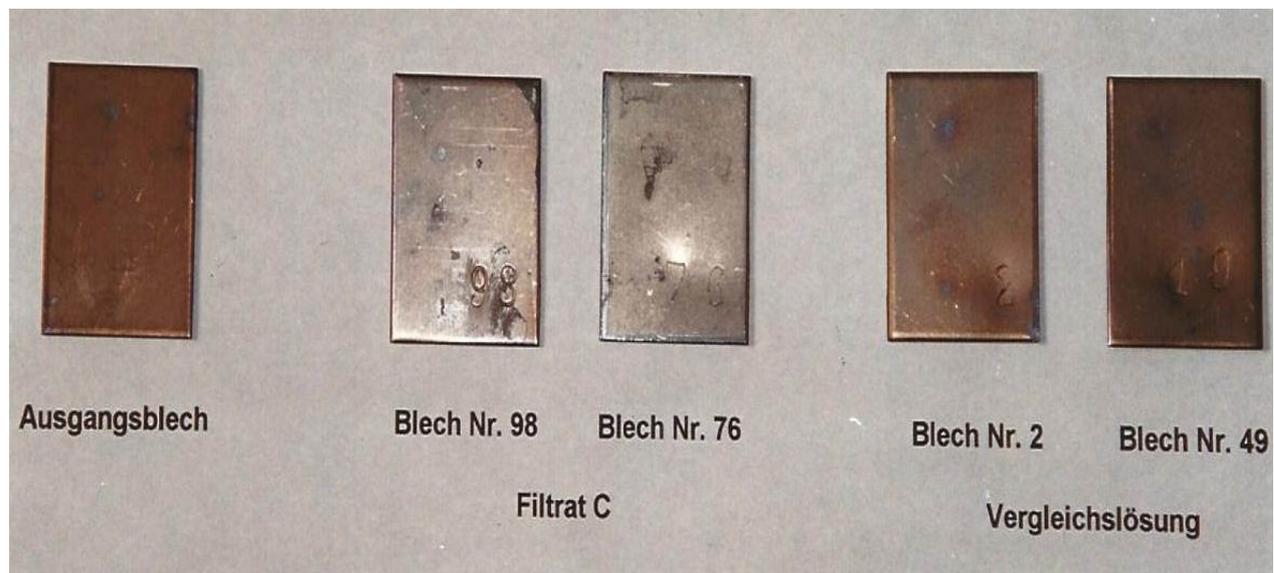
Die Versuche mittels Natronlauge und Kalkmilch waren erfolgreich: Das Eisen wurde aus dem Komplex gelöst, es fiel als Niederschlag aus. Mittels HPLC-Sequenzierung und UV/VIS-Analyse konnte das optische Ergebnis quantitativ bestätigt werden. Abbildung 1-40 verdeutlicht die guten Abtrennerfolge des Eisens aus dem Komplex und aus der Lösung.

Besonders gut ließen sich die komplexbildende Fähigkeit der in den Filtraten zurückgewonnenen Desferrioxamin B-Moleküle daran zeigen, dass das Desferrioxamin B durch die vorausgegangenen Behandlungsschritte nicht zerstört wurde und seine Fähigkeit zur Komplexbildung erhalten geblieben war. Zuerst wurde mit Fe(Cl)<sub>3</sub>, dann mit Magnetitpulver und schließlich an verrosteten Prüfblechen getestet: wie Abbildung 1-41 zeigt, konnte mit dem zurückgewonnenen Siderophor weitere Bleche entrostet werden. Die Filtratlösung schien

sogar bessere Bedingungen zur Eisen-Komplexierung zu bieten als die Vergleichslösung, da trotz gleichen pH-Werts im Filtrat eine höhere Desferrioxamin B-Konzentration gemessen werden konnte [Seegers, 1996].



**Abbildung 1-40:** Eisen-Rückgewinnung aus dem Eisen-Siderophor-Komplex [Seegers, 1996]



**Abbildung 1-41:** Entrostungswirkung (optisch) des zurückgewonnenen Desferrioxamin (DFOB [Seegers, 1996])

Die Komplexaufspaltung mit Calciumhydroxid erbrachte die gleichen Ergebnisse: auch hier konnten nach der Behandlung nur noch sehr geringe Mengen an Eisen(III) in den Filtraten festgestellt werden. Eine Konduktivitätsmessung ergab, dass bei den Filtraten aus den Versuchen mit Natronlauge eine 10fach höhere Konduktivität vorlag als bei den Filtraten aus den Versuchen mit Calciumhydroxid. Die Konduktivität dieser lag jedoch immer noch um das 6,7fache höher als die der reinen 8 g/l Desferrioxamin B-Lösung. Daraus wurde gefolgert, dass nicht alle  $\text{Ca}^{2+}$ -Ionen in Form von Kalk aus der Lösung entfernt wurden [Seegers, 1996].

## 2 Pflanzenmaischen

In den folgenden Abschnitten werden die Verfahren dargestellt, bei denen potenziell Pflanzenmaischen anfallen, die für die Mangan-Gewinnung interessant sein können. In der Regel kommen nur Abfälle für eine Mangan-Gewinnung in Betracht, wie sie beispielsweise nach einer Extraktion von Pflanzen-Wirkstoffen wie bei den Phytopharmaka (siehe Abschnitt 2.4)

anfallen. Bei der Zellstoff-Produktion (siehe Abschnitt 2.1) kommen jedoch interne Stoffströme, die Mangan enthalten, und Kreisläufe in Betracht, bei denen die Mangan-Entfernung für die Zellstoff-Aufbereitung von Vorteil ist. Bio-Schlämme aus der Zellstoff-Aufbereitung (und das Abwasser) fallen auch unter den Begriff der „Pflanzenmaischen“. Bei den Gär- und Silage-Sickersäften (siehe Abschnitt 2.3) handelt es sich um Reststoffe, die einer Biogas-Produktion unterworfen werden könnten, kapazitätsmäßig aber nicht verwertet werden können. Bei den Gärresten werden hier die Biogas-Produktionen aus Energiepflanzen (siehe Abschnitt 2.2) betrachtet. Generell sind Abfälle aus allen Biogas-Anlagen in die Überlegungen eingeschlossen, weil in der Regel pflanzliche Substrate eingesetzt werden (dies gilt insbesondere dort, wo Essensreste mit verwertet werden. Auch kommunale Klärschlämme können im weiteren Sinne zu den „Pflanzenmaischen“ gezählt werden, da die bei der biologischen Abwasserreinigung aktiven Mikroorganismen Pflanzenfasern, die dem menschlichen Körper in gleicher sinniger Weise mit der Nahrung als „Ballaststoffe“ zugeführt werden, nicht bzw. nur in geringen Anteilen verstoffwechseln können (Zellulose und Hemizellulose gilt in den konventionellen Abwasserreinigungsanlagen als biologisch nicht bzw. schwer abbaubar).

## 2.1 Verfahrensabriss der Zellstoff-Herstellung

Die Zellstoffherstellung ist im Grunde recht einfach – sie wird hier zunächst in einer kurzen Darstellung erläutert: Das in Form von beispielsweise Hackschnitzeln vorliegende Holz wird mit einer Aufschlussflüssigkeit imprägniert und anschließend erhitzt (Kocher). Dabei reagiert das Lignin teilweise mit den Chemikalien der Kochflüssigkeit und geht in Lösung. Die behandelten Hackschnitzel werden gewaschen, aus dem Reaktor ausgebracht und durch Druckentspannung oder mechanisch zerfasert. Je nach Aufschlussgrad kommen dazu verschiedene Aggregate zum Einsatz. Die „Reaktionsflüssigkeit“ (Schwarzlauge/Rotlauge genannt), die das gelöste Lignin und andere Holzbestandteile enthält, wird von den Zellstofffasern abgetrennt. Bei den mechanischen Aufschlussverfahren erfolgt eine Nachbehandlung der Zellstofffasern durch einen Refiner (Zerfaserer). Die nicht aufgeschlossenen Anteile des Rohstoffes werden in einem separaten Schritt in mechanischen Siebmaschinen (Sichtern) abgetrennt und in den meisten Fällen zur Energiegewinnung verbrannt.

Der Zellstoff wird anschließend in wässrigem Medium über mehrere Stufen gebleicht und von den Bleichlösungen befreit. Die Feststoffe der Bleichflüssigkeiten werden durch Filtrieren, Abpressen und Trocknen aufkonzentriert. Danach wird der Zellstoff für die verschiedenen Nutzanwendungen konfektioniert.

Verfahrensschritte der Zellstoffherstellung im Einzelnen:

- Hackschnitzelherstellung und Lagerung [engl.: chipping]
- Dämpfen und Imprägnieren der Hackschnitzel [engl.:impregnation; soaking]
- Kochen [engl.:cooking]
- Entstippen [engl.:deknotting]
- Sortieren [engl.:screening]
- Waschen [engl.:washing]
- Mehrstufen-Bleiche [engl.:multistage bleaching]
- Eindicken [engl.:dewatering]
- Trocknen [engl.: drying]
- Ausrüsten [engl.: confectioning]

Um Papier herzustellen, werden Holz & Stroh, aber auch Pflanzenfasern verwendet (der US-Dollar wird übrigens aus Denim-Baumwolle alter Jeans hergestellt). Die Zellstoff-Produktion

lag im Jahr 2019 in Deutschland bei 2,3 Mio. Tonnen (STATISTA, 06.08.2021), vorwiegend war Holz das Ausgangsmaterial.

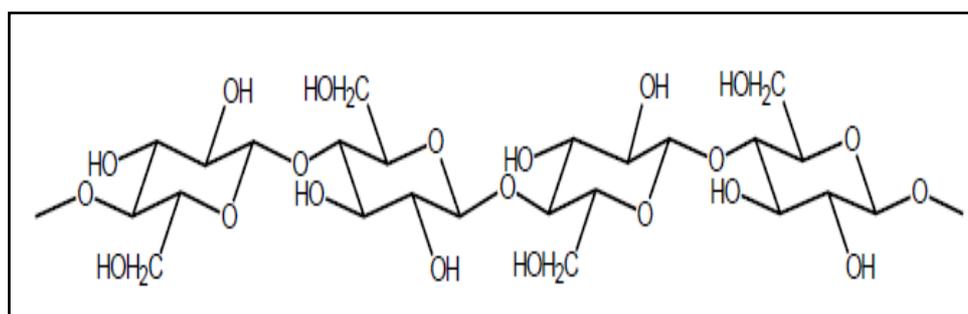
Ein Blatt Papier besteht aus zwischen 60 % (Schreibpapier) und 95 % (Tissue) aus Faserstoffen. Unterschieden wird zwischen aus Holz gewonnenen Primärfaserstoffen, wie bei Stroh- und Holzfasern, sowie Sekundärfaserstoffen aus Altpapier oder anderen Pflanzenfasern (Kleidung) [Göttsching, 1990].

Holz besteht aus vielen verschiedenen Bestandteilen, deren Zusammensetzung je nach Holzart variiert (siehe Tab. 2-1). Im Durchschnitt liegt der Anteil der eigentlichen Zellulose bei fast der Hälfte, außerdem ist zu einem Drittel Hemizellulose und zu einem Viertel Lignin enthalten. Weitere Begleitstoffe machen nur einen geringen Anteil von ca. fünf bis sechs Prozent aus [Trobias, 1982; Bayerl + Pichol, 1986].

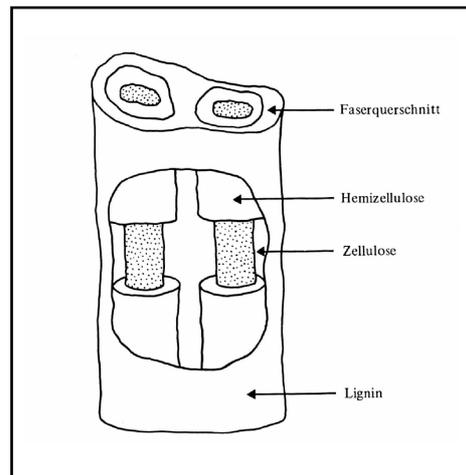
**Tabelle 2-1:** Chemische Zusammensetzung von verschiedenen Hölzern (Durchschnittswerte aus [Pastusiak, 2003])

Name	Botanischer Name	Anteil in (%)				
		Zellulose	Hemicellulose	Pentosan	Lignin	Extraktstoffe
<b>Kiefer</b>	<b>Pinus sylvestris</b>	<b>44</b>	<b>26</b>	<b>9</b>	<b>28</b>	<b>4</b>
Fichte	Picea abies	43	27	9	29	2
Douglasie	Pseudotsuga menziesii	47	22	7	30	5
Birke	Betula verrucosa	46	36	25	19	2
Buche	Fagus sylvatica	45	35	17	18	4
Pappel	Populus tremuloides	50	31	17	18	4
<b>Eucalyptus</b>	<b>Eucalyptus globulus</b>	<b>47</b>	<b>27</b>	<b>17</b>	<b>26</b>	<b>1,5</b>

Zellulose ist, vereinfacht betrachtet ein kettenartiges Riesenmolekül, das gerüsthilflich die Zellwand der Pflanzen bildet (siehe Abb. 2-1). Dieses Gerüst wird durch Kittsubstanzen gefüllt und verbunden. Der Zelluloseanteil ist in der Innenseite der Faserzellwände besonders hoch (siehe Abb. 2-1 [Trobias, 1982; Bayerl + Pichol, 1986])

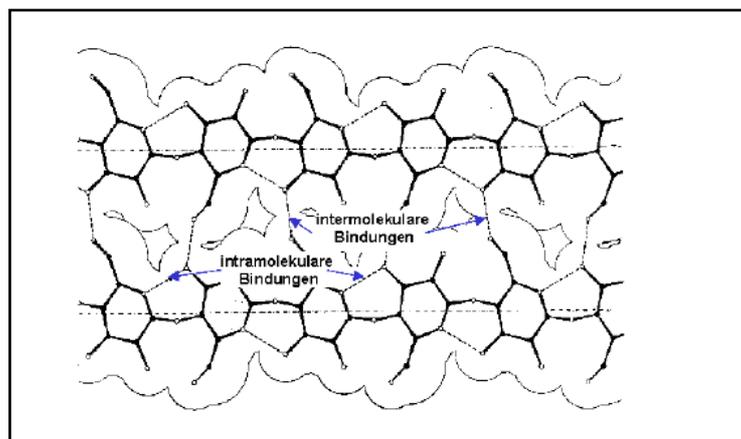


**Abbildung 2-1:** Zellulose (Segel-Darstellung [Pastusiak, 2003])



**Abbildung 2-2:** Aufbau einer Holzfaser [Trobas, 1982]

Hemizellulosen sind unterschiedliche Gruppen von komplexen Polysacchariden, die sich von den Zellulosen unterscheiden. Sie beeinflussen die Faser-zu-Faser-Verbindung maßgeblich, da durch ihre Hydroxylgruppen die für die chemische Bindung notwendigen Wasserstoffbrücken ausgebildet werden (siehe Abb. 2-3). Aufgrund ihres hohen Anteils an ungebundenen Hydroxyl- und Carbonylgruppen wirken sie außerdem als natürliche Weichmacher. Sie sind in schwachen Alkalien löslich und nehmen Wasser leicht auf, weshalb sie als Quellschubmittel bei der Papierherstellung wichtig sind. Der Anteil von Hemizellulose ist vor allem in der Außenschicht der Fasern hoch [Trobas, 1982; Bayerl + Pichol, 1986].



**Abbildung 2-3:** Wasserstoffbrückenbindungen zwischen zwei Zellulose-Einheiten [Pastusiak, 2003]

Lignin ist ein schwer abbaubarer, komplexer, hochpolymerer Naturstoff, der das Verholzen der Zellen bewirkt. Sein Anteil ist besonders hoch in der Kittsubstanz zwischen den einzelnen Holzfasern und wirkt daher faserverbindend. Das cremefarbene Lignin färbt sich durch Oxidation schnell braun. Es lässt sich ohne chemische Veränderung aus dem Holz herauslösen und stößt Wasser ab. Im Papier ist Lignin im Allgemeinen unerwünscht, da es zum Vergilben beiträgt. verantwortlich ist [Trobas, 1982; Bayerl + Pichol, 1986].

In den Zellwänden finden sich Extraktstoffe, wie Öle, Fette, Harze, Wachse, Farbstoffe, Gerbstoffe und Mineralstoffe (siehe Tab. 2-2). Zu den wichtigsten Mineralstoffen gehören verschiedener Erdalkalimetalle und Metalle wie Eisen und Mangan. Obwohl ihr Anteil im Holz sehr gering ist, beeinflussen sie maßgeblich Farbe, Geruch, Verarbeitbarkeit und Dauerfestigkeit der Faserstoffe [Trobas, 1982; Bayerl + Pichol, 1986].

**Tabelle 2-2:** Zusammensetzung von Holz [Pastusiak, 2003]

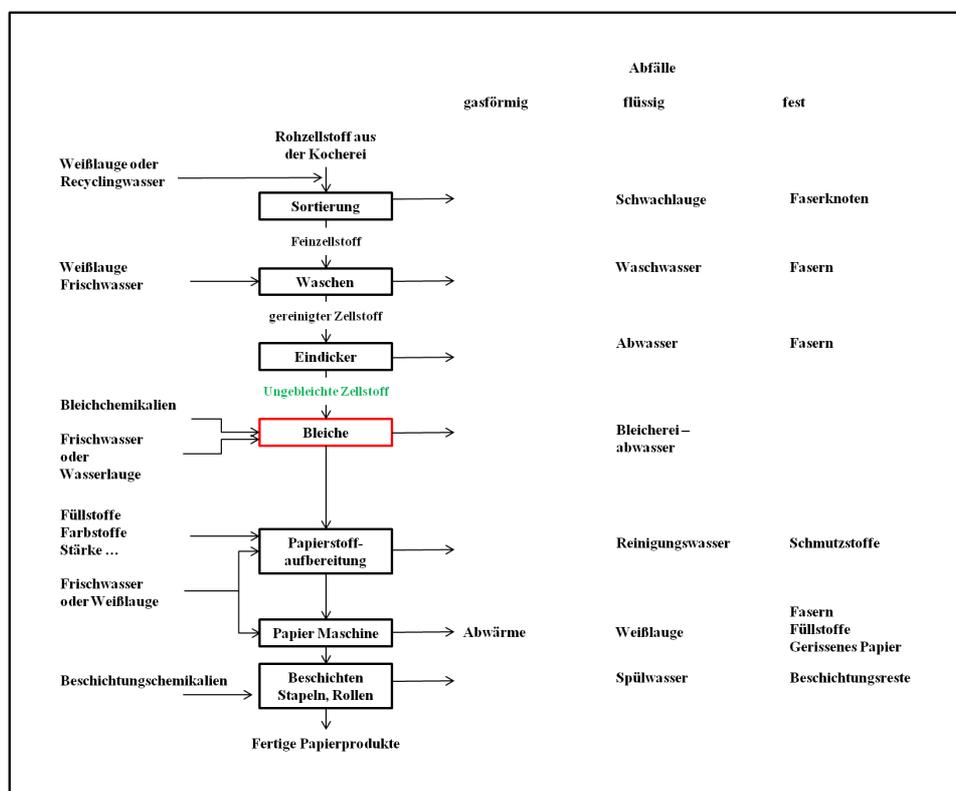
Hauptbestandteile des Holzes	Holzellulose 46 – 87 %  = Gerüstsubstanz der Zellwand	Cellulosen 40 – 60 %  Holzpolylosen = Hemicellulose 15 – 35 % Hexosane, Pektin, Pentosane (festigen gemeinsam mit Lignin das Cellulosegerüst der Zellwände)
	Lignin 28 – 41 % (bei Nadelholz) 18 – 25 % (bei Laubholz)  = Kittsubstanz verursacht die Verholzung der Zellwände	
Begleitbestandteile des Holzes	Extraktstoffe (anorganische und organische Inhaltsstoffe in geringen Prozentanteilen) Beeinflussen und bedingen häufig die chemischen, biologischen und physikalischen Eigenschaften wie Lichtbeständigkeit, Brennbarkeit, Schädlingsresistenz etc.	Fette, Öle, Harze, Wachse
		Eiweiße, Stärke, Zucker, Holzgummi
		Alkaloide, Gerbstoffe, Farbstoffe, Bitterstoffe, Riechstoffe, Kampfer
		Anorganische und organische Säuren, Salze
		Mineralstoffe

**2.1.1 Herstellung von Zellstoff + Papier im Überblick**

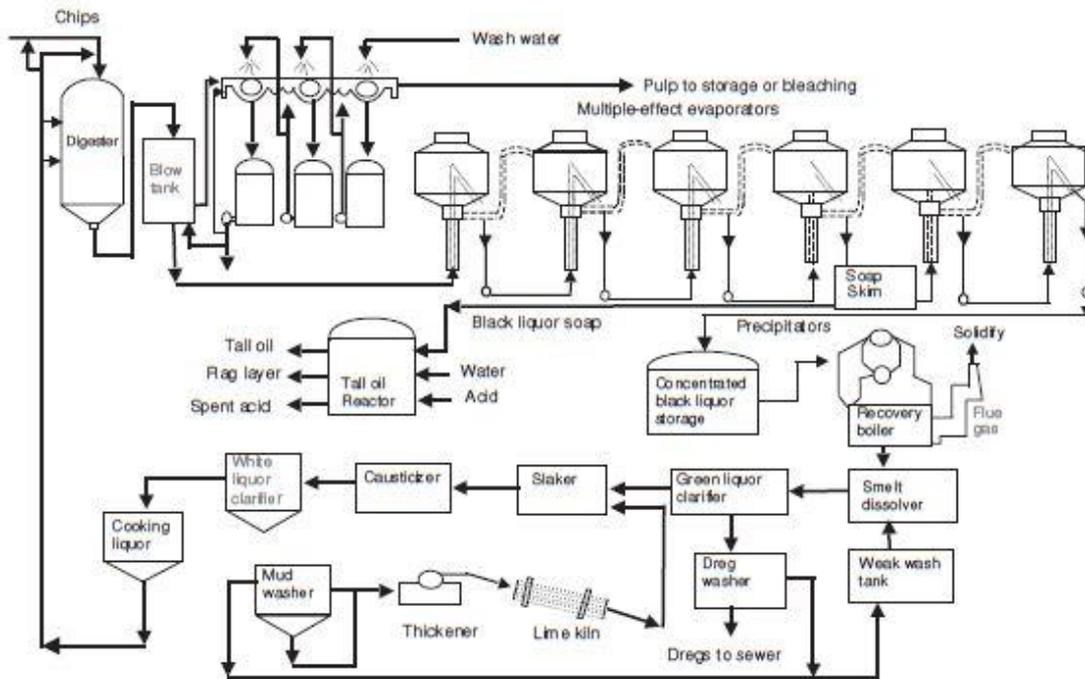
Für die Herstellung von Zellstoffprodukten sind 3 elementare Verfahrensschritte:

- Faserherstellung
- Bleichen
- Konfektionieren

In Abbildung 2-4 sind die Verfahrensschritte des Papiermachens in einem Block-Diagramm veranschaulicht. Die dazu notwendigen einzelnen Apparate zeigt Abbildung 2-5.



**Abbildung 2-4:** Blockverfahrnsfließbild der Papierherstellung [Baumann + Herberg-Liedtke, 1994]

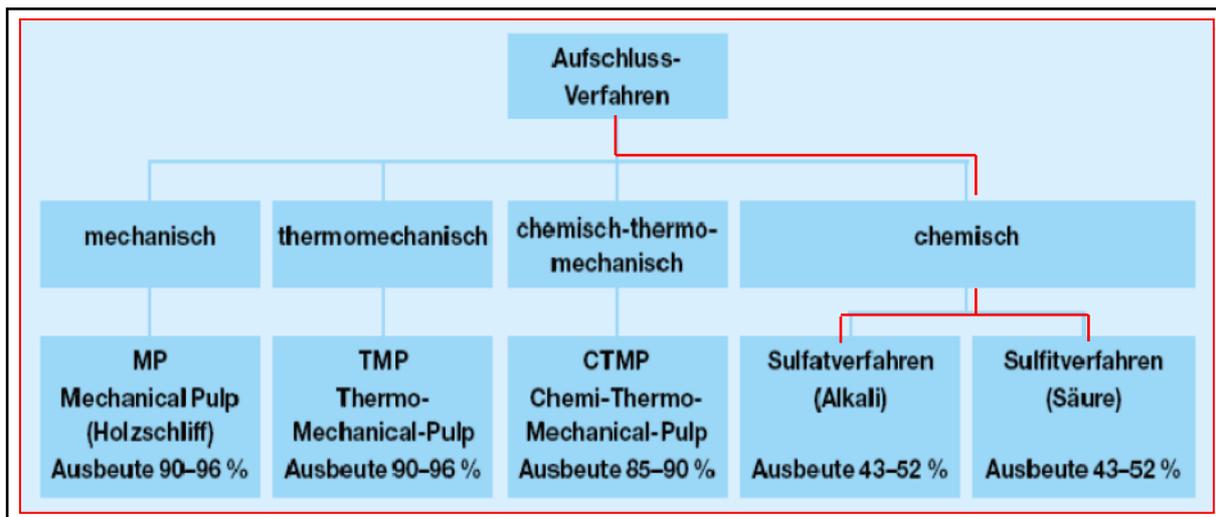


**Abbildung 2-5:** Schematische Darstellung der Herstellung von Kraftzellstoff mit seinen Haupt- und Nebenströmen [Smook, 1992]

**Holzaufschlussverfahren**

Um aus dem Rohstoff Holz die einzelnen Zellstofffasern zu gewinnen, muss es aufgeschlossen werden: Günther [2011] unterscheidet vier Methoden des Holzaufschlusses: den mechanischen, den thermomechanischen, den chemisch-thermomechanischen und den chemischen Holzaufschluss. Der chemische Holzaufschluss erfolgt entweder im Sulfat- oder im Sulfitverfahren (siehe Tab. 2-3).

**Tabelle 2-3:** Verfahren des Holzaufschlusses [Wolfer, 2008]



Beim chemischen Holzaufschluss wird das Holz zunächst zu Hackschnitzeln von zwei bis fünf Zentimetern Länge zerkleinert. Je nachdem welches Verfahren angewandt wird, erfolgt anschließend das Kochen der Hackschnitzel in saurer, alkalischer oder neutraler Lösung. Durch das Kochen wird das Lignin mit den Harzen aus dem Holz weitgehend gelöst und von der Zellulose abgetrennt [Baumann + Herberg-Liedtke, 1994].

Wenn die Kochtemperatur erreicht ist, laufen folgende chemischen Prozesse ab [Gruber, 2011]:

- Lignin wird gespalten bzw. derivatisiert, ionisiert und weitgehend gelöst.
- Hemicellulosen werden teilweise abgebaut, teilweise gelöst.
- Cellulose wird teilweise abgebaut.

Keines der bestehenden Aufschlussverfahren ist in der Lage, das Lignin zu 100% aus dem Zellstoff zu lösen, deshalb besitzt der Zellstoff nach dem Kochaufschluss eine gelbe bis braune Farbe. Dieser Zellstoff kann als ungebleichter Zellstoff direkt eingesetzt werden. In den meisten Fällen wird jedoch der Zellstoff nach dem Aufschluss gebleicht, bevor er weiterverarbeitet wird [Göttsching, 1990].

International überwiegt als Aufschlussverfahren das Sulfatverfahren, denn es liefert besonders festen Zellstoff, der gut für die Papierherstellung geeignet ist. In Deutschland wird Zellstoff überwiegend nach dem Sulfitverfahren hergestellt. Dies geschieht vor allem aus ökonomischen Gründen. Beide Verfahren machen das Lignin durch chemische Umwandlung wasserlöslich. Verschiedene organische Lösungsmittel können Lignin auch direkt aus dem Zellstoff lösen. Diese Methode nutzen die Organosolv-Verfahren [Göttsching, 1990].

- Sulfatzellstoff

Sulfatzellstoff wird durch Kochen von Holzschnitzeln in alkalischer Lösung bei Temperaturen von 170 - 190°C erzeugt [Göttsching, 1990]. Da beim Sulfataufschluss durch die alkalische Kochung die Harzbestandteile verseift und gelöst werden, können auch harzreiche Hölzer wie Kiefern-Holz zur Zellstoffherstellung genutzt werden. Kennzeichnend sind die Bildung übelriechender Schwefelverbindungen und vor allem die schwierige Bleichbarkeit von Sulfatzellstoff [Baumann + Herberg-Liedtke, 1994], weshalb in Deutschland das Sulfatverfahren nicht angewendet wird. Die Aufschlusslösung setzt sich aus Natronlauge und Natriumsulfid zusammen, in manchen Fällen Natriumcarbonat und geringen Mengen Anthrachinon zur Erhöhung der Ausbeute. Unter den stark alkalischen Reaktionsbedingungen (pH 14) entsteht wasserlösliches Alkali-Lignin innerhalb von vier bis sechs Stunden, wobei durch den Alkaliverbrauch der pH-Wert auf pH 10 absinken kann. In diesem Aufschlussprozess werden ferner ein Teil der Hemizellulosen und der Zellulose gelöst [Baumann + Herberg-Liedtke, 1994].

Die Qualität des erhaltenen Zellstoffs wird durch die Chemikalienszusammensetzung der Lösung, die Temperatur und die Kochzeit bestimmt. Die verbrauchte Aufschlusslösung, die sogenannte „Schwarzlauge“, welche die herausgelösten Holzbestandteile enthält, wird nach Eindampfen thermisch verwertet. Die hierbei zurückgewonnenen Kochchemikalien dienen zur Herstellung neuer Kochlösung, der sogenannten „Weißlauge“, für einen weiteren Aufschlussprozess [Baumann + Herberg-Liedtke, 1994].

- Sulfitzellstoff

Bei der Herstellung von Sulfitzellstoff erfolgt der Holzaufschluss in Calcium-, Natrium-, Ammonium- und Magnesium-hydrogensulfithaltiger Lösung, welche durch Zusatz von Schwefeldioxid je nach angewandtem Verfahren auf einen pH-Wert von 1,5 bis 2 angesäuert oder auf einen schwach sauren Bereich von pH 3,5 bis 5,5 eingestellt wird (125 - 145°C) [Baumann + Herberg-Liedtke, 1994].

Beim sauren Calciumbisulfit-Verfahren enthält die Kochsäure Calciumoxid in einer Konzentration von 9 bis 13 g/l und Schwefeldioxid in einer Konzentration von 50 bis 100 g/l, beim Magnesit-Verfahren beträgt die Schwefeldioxid-Konzentration der Aufschlusslösung 40 g/l und die Magnesiumoxid-Konzentration 12,5 g/l. Für den Neutralsulfit-Aufschluss wird eine

Kochlösung aus Natriumsulfit eingesetzt, welcher Natriumhydrogencarbonat als puffernde Substanz zur Aufrechterhaltung des pH-Wertes im Bereich zwischen 7 und 9 zugesetzt ist [Baumann + Herberg-Liedtke, 1994].

Bei diesem Aufschlussverfahren wird das Lignin durch Sulfonierung und hydrolytische Spaltung in Lignin-Sulfonat überführt und in Lösung gebracht. Neben der Spaltung der Lignin-Moleküle kommt es bei Einführung der schwefelhaltigen Sulfogruppen in die Seitenketten des Moleküls zur Abspaltung von Hydroxyl- oder Alkylethergruppen [Baumann + Herberg-Liedtke, 1994]. Nach dem Kochprozess wird der erhaltene Zellstoff gewaschen, die restliche Kochflüssigkeit vom Fasermaterial abgepresst und die verbrauchte Aufschlusslösung mit dem gelösten Lignin zur Chemikalienrückgewinnung durch Verbrennung geleitet.

Beim Sulfitverfahren ist es möglich, die beim Kochaufschluss gelösten Holzbestandteile, die Sulfit-Ablauge, durch Verbrennung thermisch zu verwerten oder Wertstoffe, wie z.B. Furfural, zu gewinnen. Weiterhin dient die Sulfit-Ablauge als Substrat für die biochemische Erzeugung von Alkohol bzw. von Hefen (bei Fichtenholz). Beim Calciumverfahren wird die Sulfitablauge eingedampft und so in ein verkaufsfähiges Pulver umgewandelt. Für solche Lignosulfonate besteht beschränkter Bedarf als Bindemittel, z.B. bei der Futtermittel- oder Granulatherstellung [Göttsching 1990]. Beim Magnesiumverfahren werden die Bestandteile der Kochflüssigkeit (Magnesiumoxid und Schwefeldioxid) aus den Verbrennungsabgasen zurückgewonnen und zu neuer Kochsäure verarbeitet. Beim Calciumverfahren ist dies nur für das Schwefeldioxid möglich [Baumann + Herberg-Liedtke, 1994].

Sulfitzellstoff-Fabriken können auch in kleineren Produktionseinheiten noch ökonomisch effizient sein, vor allem bei einer Angliederung an eine Papierfabrik. Da in Deutschland die Holzeinschlaggebiete oft räumlich weit auseinander liegen und die Transportwege entsprechend lang sind, ist dies oft sinnvoll. Auch ist die Akzeptanz der Gesellschaft in Regionen mit hoher Bevölkerungsdichte (Schwefel-Gerüche beim Sulfat-Zellstoff) gegenüber einer Sulfitzellstoff-Fabrik höher, da die Geruchsemissionen niedriger sind. Außerdem können Sulfitzellstoff-Fabriken eine größere Bandbreite an Zellstoffsorten produzieren und sind somit flexibler, was die Spezialisierung für kleine Firmen erleichtert, die sich Anwendungsgebiete außerhalb der Papiererzeugung sichern [Göttsching, 1990].

- Alternative Verfahren (bisher nicht in der Anwendung)

Neben dem Sulfat- und Sulfit-Verfahren gibt es neuere Aufschlussmethoden, die die schwefelhaltigen Aufschlusschemikalien ersetzen. Dabei sollen sie die gleichen Festigkeitseigenschaften erfüllen und ebenso gut bleichbar sein, wie die Sulfat- und Sulfit-Zellstoffe. Bei Organosolv-Verfahren werden im Kochprozess Lösemittel-Wasser-Gemische allein oder kombiniert mit anorganischen Aufschlusschemikalien angewendet, um das Lignin und die Hemizellulosen zu lösen. Durch organische Lösungsmittel kann gleichzeitig das weiterverwertbare Lignin und die Hemizellulose isoliert werden [Baumann + Herberg-Liedtke, 1994].

Das alkalische Sulfit-Verfahren mit Anthrachinon und Methanol (ASAM-Verfahren) basiert auf einem Natronlauge-Anthrachinon-Aufschluss (ohne Natriumsulfit) oder einem Natronlauge-Soda-Natriumsulfit-Aufschluss. Es setzt Methanol als Lösemittel für abgebaute Ligninbestandteile ein. Die Aufschlusstemperatur beträgt 170°C bis 180°C, die Qualität des erhaltenen Zellstoffs kann durch Variieren des Verhältnisses NaOH zu Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> verändert werden. Anthrachinon und Methanol unterstützen die Delignifizierung als Verstärkerchemikalien [Baumann + Herberg-Liedtke, 1994]. Methanol löst Extraktstoffe, verbessert die Imprägnierung der Hackschnitzel sowie die Ligninlöslichkeit und macht die Holzporen besser zugänglich. Anthrachinon dient als Katalysator und verbessert ebenso die Ligninlöslichkeit. Dieses Verfahren arbeitet

vorwiegend mit anorganischen Aufschlusschemikalien. Deshalb wird es nicht zu den Organosolv-Verfahren gerechnet. Die anorganischen Aufschlusschemikalien werden nach dem Eindicken und der Verbrennung zu 96% aus der Kochablage zurückgewonnen. Während Anthrachinon sich beim Kochprozess weitgehend selbst verbraucht, wird Methanol zum größten Teil aus den Abgasen des Kochers kondensiert und der Rest aus den Brügendämpfen der Eindampfung zurückgewonnen [Baumann + Herberg-Liedtke, 1994]. Alle gängigen Holzsorten können mit dem ASAM-Verfahren aufgeschlossen werden. Besonders positiv ist, dass nach diesem Aufschlussverfahren ein besonders niedriger Restligningehalt des Zellstoffs vorliegt (1,5-3%). Dadurch wird bei der vierstufigen Bleiche weniger Bleichmittel benötigt [Baumann + Herberg-Liedtke, 1994].

Ein anderes Verfahren, das Organocell-Verfahren, nutzt ein Methanol-Wasser-Gemisch von 30 - 50% Lösemittelkonzentration als Aufschlusslösung. Der Aufschluss erfolgt unter hohem Druck von etwa 13 bar. Die Imprägnierung erfolgt bei Temperaturen von 140 °C, der Aufschluss bei etwa 165 °C. Das Lösemittel Methanol und die Natronlauge werden im Kreislauf geführt. Die Bleiche wird noch nicht immer chlorfrei durchgeführt [Baumann + Herberg-Liedtke, 1994].

Beim Acetosolv-Verfahren läuft der Extraktionsprozess unter Normaldruck mit Essigsäure ab. Der Prozess wird durch Salzsäure oder Schwefelsäure katalysiert. Das Verfahren eignet sich auch zum Aufschluss harzreicher Hölzer und Einjahrespflanzen. Lignin und Hemizellulose können zu etwa 90 % herausgelöst werden. Die Essigsäure und die Salzsäure können durch Destillation der verbrauchten Kochlösung zurückgewonnen werden [Baumann + Herberg-Liedtke, 1994].

### Reinigung des Zellstoffs

Nach dem Holzaufschluss folgen bei allen Verfahren eine Auswaschung der gelösten Holzbestandteile sowie eine Sortierstufe. Diese Verfahrensschritte sind miteinander verknüpft. Bei der Sortierstufe werden in mehreren Einrichtungen hintereinander die Verunreinigungen von den Fasern für die Produktion abgetrennt. Je sorgfältiger diese Sortierstufe durchgeführt wird, desto höher ist die Wahrscheinlichkeit, dass der Zellstoff für die Herstellung von höherwertigen Papieren genutzt werden kann [Göttsching, 1990].

#### **2.1.2 Bleichen – Probleme mit Mangan**

Wenn das Papierendprodukt über besondere Schmutzfreiheit, Vergilbungsstabilität, Weiße, Saugfähigkeit oder Weichheit verfügen soll, ist im Anschluss an das Aufschlussverfahren ein aufwändiger Bleichprozess notwendig. Der Weißegrad ist seit jeher ein wichtiger Faktor in der Papierherstellung. Stets war die Optimierung des Weißegrades Motor der Weiterentwicklung in der Papierindustrie. Bestimmt wird der Weißegrad eines Papiers über die Abweichung des Papiers vom physikalischen Optimalweiß (= 100 %) in Bezug auf Helligkeit, Farbe und Sättigung. Die Bestimmung des Weißegrades erfolgt durch die Messung des Reflexionsfaktors bei einer Wellenlänge von 457 nm [Zimmer, 1994].

Bei der Bleiche wird vor allem das restliche Lignin aus dem Zellstoff gelöst. Aber auch die oxidative Aufhellung der färbenden Stoffe fällt darunter [Göttsching, 1990]. Jedoch sind die benötigten Chemikalien teuer und ihre Reaktionsprodukte wirken umweltbelastend. Um die unerwünschten Begleitstoffe möglichst faserschonend herauszulösen, eignet sich am besten die Bleiche mit Chlor und einiger seiner Verbindungen [Göttsching, 1990].

Das bei der klassischen Zellstoffbleiche eingesetzte Chlor wird zur Oxidation des Restlignins verwendet. Die fünf bis sechsstufigen Bleichverfahren benutzen anschließend im Wechsel

alkalische Extraktionsstufen sowie erneute Oxidationen mit Chlordioxid oder Hypochlorit. In der ersten Bleichstufe wurde früher ausschließlich elementares Chlor eingesetzt, mit dem hochweiße Zellstofffasern produziert werden können, ohne die Festigkeitseigenschaften der Fasern zu beeinträchtigen [Baumann + Herberg-Liedtke, 1994]. In West-Europa wird Elementarchlor oder Hypochlorit nirgends mehr eingesetzt; wenn überhaupt, wird in einigen Fabriken in geringem Maße Chlordioxid eingesetzt [Reinhard, 2021]. Die dominante Art des Bleichens ist der Verzicht auf chlorhaltige Bleichmittel, die sogenannte chlorfreie Bleiche wo im wesentlichen Sauerstoff-haltige Bleichmittel, wie Wasserstoffperoxid oder Ozon sowie Peressigsäure eingesetzt werden [Reinhard, 2021].

Um die Emissionen von chlororganischen Stoffen, darunter auch chlorierten Dibenzodioxinen und Dibenzofuranen, zu vermeiden, wurden als Alternativen zum Elementarchlor insbesondere in der ersten Bleichstufe und zur Nachbleiche Verfahren mit Sauerstoff und Peroxid (Natriumperoxid oder Wasserstoffperoxid) entwickelt; die Verwendung von Ozon ist ebenfalls möglich. Eine Verringerung der Einsatzmenge chlorhaltiger Bleichmittel kann auch durch verlängerte Kochzeiten beim Zellstoffaufschluss erreicht werden [Baumann + Herberg-Liedtke, 1994]. Zur Verringerung der Abwasserbelastung mit halogenierten Verbindungen hat sich die Installation einer Sauerstoff-Delignifizierungsstufe vor der eigentlichen Bleiche durchgesetzt. Durch diese Maßnahmen vermindert sich der Chlorbedarf zur Endbleiche um 40 - 50 %. Eine weitere Verminderung der Abwasserbelastung mit chlorierten Verbindungen wird durch die Substitution von Chlor mit Chlordioxid erreicht. Der Substitutionsgrad des Chlors durch Chlordioxid erreicht oft 50 % oder mehr [Baumann + Herberg-Liedtke, 1994].

Durch die Kombination von intensiver Sauerstoff-Delignifizierung mit Maßnahmen zur Entfernung der Schwermetalle (beispielsweise saure Wäsche oder Behandlung mit Komplexbildnern) sowie einer nachgeschalteten Peroxidbleiche werden Weißgehalte erreicht, die den meisten Anforderungen heute genügen [Reinhard, 2021].

Die Sulfat-Zellstoffbleiche zur Herstellung hochgebleichten Faserstoffes erfolgt meist in sechs Stufen mit Sauerstoff, Chlor und Chlordioxid. Zwischen den einzelnen Bleichstufen wird jeweils eine Extraktion mit Natronlauge zwischengeschaltet, die ein gutes Lösemedium für viele der oxidierten und chlorierten Stoffe darstellt [Baumann + Herberg-Liedtke, 1994]. Eine typische Bleichsequenz besteht aus den Bleichstufen O (Sauerstoff), C/D (Chlor/Chlordioxid), E (Natronlauge) und D (Chlordioxid). In der Sauerstoffbleiche wird etwa die Hälfte des Lignins herausgelöst, die Chlordioxidstufen entfernen das restliche Lignin [Baumann + Herberg-Liedtke, 1994]. Die Delignifizierung von Sulfatzellstoff erfolgt – neben anderen Bleichstufen mit Sauerstoff und Peroxid – meist noch unter Einsatz chlorhaltiger Aufschlusschemikalien. Peroxid- oder sauerstoffgebleichter Sulfatzellstoff, der geringere Weißgrade aufweist, wird heute noch nicht für dünne Offsetdruckpapiere und Tiefdruckpapiere (LWC-Papier) für den Druck, z.B. von Illustrierten, eingesetzt. Wegen der hohen Druckmaschinengeschwindigkeit ist hier hohe Reißfestigkeit gefordert. Nach Angaben von Papierherstellern kann insbesondere für hochwertige Papiersorten noch kein chlorfrei gebleichter Sulfat-Zellstoff in der gewünschten Qualität geliefert werden. Für den Einsatz dieser Zellstoffe ist hierbei weniger der Weißegrad bestimmend, sondern vielmehr die etwa fünfmal höhere Zahl an Verunreinigungen im chlorfrei gebleichten Faserstoff. Diese können beim Druckprozess große Papiermengen verderben [Baumann + Herberg-Liedtke, 1994].

Sulfitzellstoffe sind erheblich besser ohne den Einsatz von Chlor zu bleichen. In Deutschland wird praktisch ausschließlich absolut chlorfrei unter Verwendung von Sauerstoff, Ozon und Wasserstoffperoxid gebleicht. Die chlorfreie Vorbleiche mit einer durch Sauerstoff und Peroxid verstärkten Extraktionsstufe (EOP, E= Natronlauge, O= Sauerstoff, P= Peroxid) ist in

deutschen Zellstofffabriken seit längerem Stand der Technik. Die Bleichverfahren bestehen aus zwei- oder dreistufigen Prozessen, bei denen zunächst mit einer Kombination von Sauerstoff und Wasserstoffperoxid delignifiziert wird und daran anschließend die eigentliche Weißgehaltsentwicklung durch eine Wasserstoffperoxidbleiche erfolgt [Baumann + Herberg-Liedtke, 1994]. Da der Sulfitaufschluss in einem sauren Verfahren erfolgt, enthält Sulfitzellstoff nach Aufschluss, Bleiche und Waschstufen nur noch wenige Schwermetalle, denn diese sind im Sauren häufig gut löslich. Im alkalischen Milieu hingegen bilden sie häufig schwerlösliche Verbindungen [Gruber, 2011].

Beim Einsatz dieser sauerstoffhaltigen Bleichchemikalien als Bleichmittel müssen allerdings vorher Komplexbildner eingesetzt werden, um die im Zellstoff enthaltenen Metalle zu „maskieren“. Die Metalle, wie Eisen + Mangan, führen gleich oder später zu Verfärbungen [Schultz, 2003], da sie mit dem Sauerstoff z.B. aus den umweltfreundlicheren Sauerstoff-abspaltenden Bleichchemikalien oder der Umgebungsluft zu farbigen Metalloxiden führen. Wird Mangan zu Kaliumpermanganat oxidiert, greift es als starkes Oxidationsmittel die Faseroberflächen an, abgesehen davon, dass Kaliumpermanganat eine dunkelrot-violette Farbe aufweist. Bioverfügbare Metalle können das Wachstum von Mikroorganismen befördern („maskierte“ in Chelaten gebundene Metalle sind nicht bioverfügbar). Je geringer der bioverfügbare Metallanteil im Zellstoff verfügbar sind, desto weniger Mikrobiozide werden gebraucht [Trobas, 1982, Kunz + Frietsch 1984] Hauptthema beim Bleichen mit Wasserstoffperoxid ist die Zersetzungsreaktion ausgelöst durch die katalytische Spaltung infolge Anwesenheit von Mangan, Eisen oder Kupferionen, die durch die Gasbildung die Verweilzeiten in den Bleichen reduzieren, und somit die Qualitäts- und Prozesskontrolle erheblich erschweren, oder gar unmöglich machen [Reinhard, 2021].

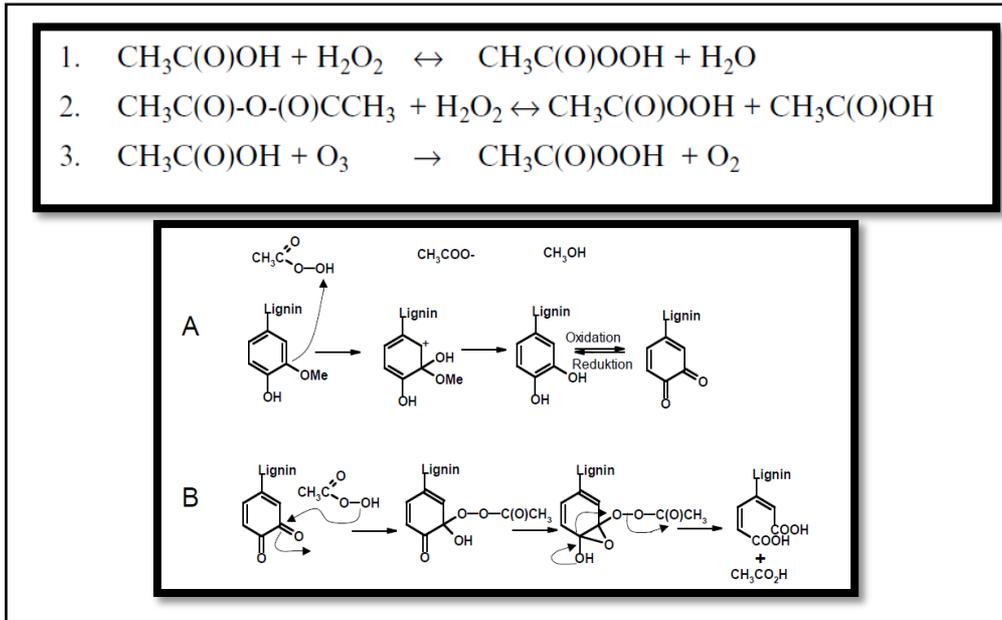
Gründe für den Einsatz von Komplexbildnern und deren Wirkung, insbesondere bei der Zellstoffbleiche mit Sauerstoff-abspaltenden Oxidantien, sind in Abschnitt 1.5 beschrieben.

Die Hauptbleiche von Zellstoff mit Hilfe von Wasserstoffperoxid ist in Deutschland etabliert. Die Bleiche findet unter alkalischen Bedingungen statt (pH-Wert zwischen 10 und 10,5) und einer Temperatur von bis zu 100 °C je nach Zellstoffdichte [Blechs Schmidt, 2010; Baumann + Herberg-Liedtke, 1994; Götttsching, 1990]. Die Komplexierung von Metallen im Zellstoff ist im Allgemeinen unter alkalischen Bedingungen ungünstig, da z.B. Eisen durch Ausfällen in Form von Hydroxiden, Oxiden und Oxyhydroxiden sehr schwer lösliche Verbindungen bildet. Die Chelatierung findet daher meist im sauren Bereich in einem separaten Schritt beim alkalischen Bleichen statt (bei einem pH-Wert über 7 sind die Bindungen zwischen den Metallen und dem Zellstoff sehr stark, so dass die Bleiche nicht zufriedenstellende Ergebnisse bringt [Jäkärä et al., 2004]).

Erdalkalimetalle, wie Magnesium und Calcium, müssen beim Bleichprozess berücksichtigt werden. Sie stabilisieren das Peroxid bei der Peroxidbleiche und schützen die Kohlenstoffe des Zellstoffs vor dem Zersetzen durch den Sauerstoff. Die Erdalkalimetalle sollen dementsprechend nicht komplexiert werden. Bei einem niedrigen pH-Wert unter 4 sind Magnesium und Calcium löslich und dadurch komplexierbar, so dass ein pH-Wert unter 4 ungeeignet für den Prozess ist, bei einer sauren Wäsche vor dem Bleichprozess würden zwar die unerwünschten Metalle, wie Eisen + Mangan entfernt, aber eben auch die Erdalkalimetalle [Jäkärä et al., 2004]. Je saurer das Milieu desto mehr Laugen würden gebraucht, um den stark alkalischen Bleichprozess ablaufen zu lassen.

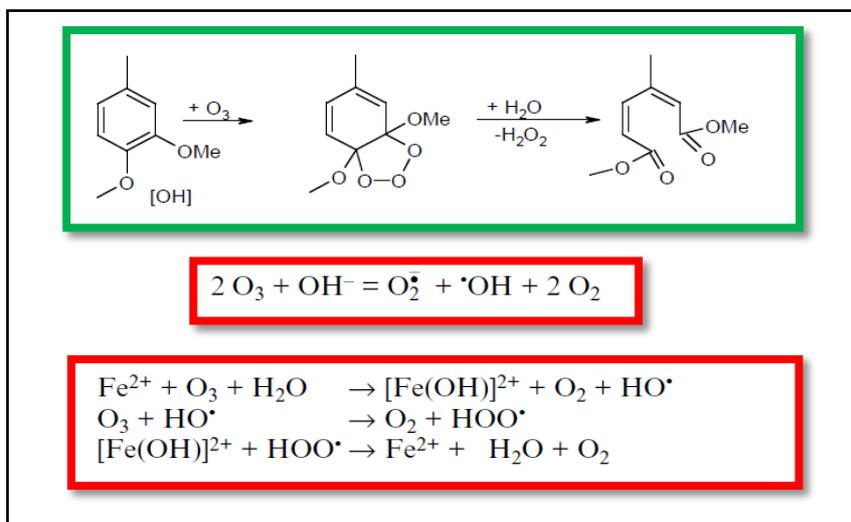
Durch ein anderes Verfahren mit neuen vier- und sechszweigen Komplexbildnern kann die Chelatisierung mit einer Persäure-Delignifizierung kombiniert werden, so dass sich das

Verfahren vereinfacht (siehe Abb. 2-6). Als Komplexbildner werden dabei N-bis-((1,2-dicarboxyethoxy)-ethyl)amin, N-bis-((1,2-dicarboxyethoxy)-ethyl)asparginsäure und N-tris-((1,2-dicarboxyethoxy)-ethyl)amin sowie deren Alkalimetallsalze und Erdalkalimetallsalze eingesetzt [Jäkärä et al., 2004]. Die Persäure- und die Chelatbildungsbehandlung werden gleichzeitig durchgeführt, indem die Persäure und die Komplexbildner in der gleichen Lösungsphase eingebracht werden und das Verfahren um einen Verfahrensschritt vermindert werden kann. Ein weiterer Vorteil ist, dass bei diesem Verfahren zwar Mangan und Eisen chelatisiert werden, Magnesium und Calcium hingegen nicht. Das Verfahren kann außerdem vorteilhaft in Verbindung mit einer Ozon-Delignifizierung verwendet werden [Jäkärä et al., 2004].



**Abbildung 2-6:** Wirkung von Peressigsäure als Bleichmittel (oben) bzw. Lignin-Reaktionen bei der Peressigsäure-Bleiche (unten) [Blechsmidt, 2010]

In Abbildung 2-7 ist gezeigt, wie Ozon als Bleichmittel eingesetzt werden kann. Im alkalischen Milieu würde es sich von selbst zersetzen: deshalb wird Ozon nur im sauren pH-Milieu eingesetzt. Bei Anwesenheit von nicht chelatisiertem Eisen fände auch hier eine Zerstörung des Bleichmittels statt.



**Abbildung 2-7:** Wirkung von Ozon als Bleichmittel am Beispiel eines aromatischen Rings des Lignins (oben) – Selbstzersetzungsreaktion des Ozons im alkalischen pH-Milieu (Mitte) –

unerwünschte Radikalbildung bei der Ozonbleiche durch freie Eisen-Ionen [Blechsmidt, 2010]

### 2.1.3 Ablagen bei der Zellstoff-Herstellung

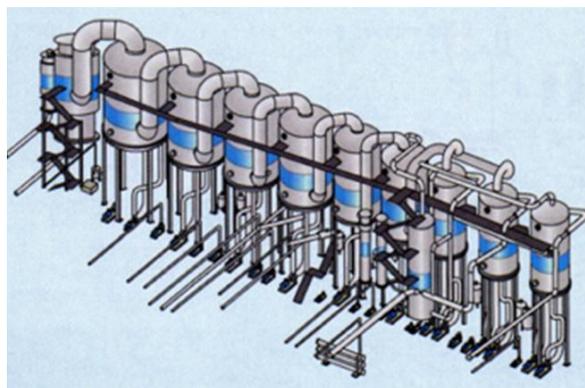
An die Bleichstufe schließt sich eine Absäuerung des Faserstoffes mit wässriger  $\text{SO}_2$  – Lösung an. Der entwässerte und getrocknete Zellstoff wird danach vor dem Einsatz im Papierherstellungsprozess noch einer Mahlung mittels eines Refiners unterworfen, bei der die Zellstofffasern durch mechanische Bearbeitung in wässriger Suspension ihre Festigkeitseigenschaften erhalten [Baumann + Herberg-Liedtke, 1994].

#### Schwarzlaugen – beim Sulfit-Zellstoff handelt es sich korrekt um Schwarzsäuren

Schwarzlauge/Rotlauge entsteht beim Abtrennen der Aufschlusslauge vom Zellstoff (siehe Abb. 2-5) und enthält ein Gemisch aus dem nach der Zellstoffabtrennung zurückbleibenden Lignin, Wasser und Chemikalien, die für den Aufschluss eingesetzt wurden. Sie ist ein Energie- und Lignin-reiches Nebenprodukt bei der Zelluloseherstellung egal nach welchem der oben beschriebenen Verfahren. Der Trockenmassegehalt beträgt etwa 58 – 78 % bei Verfeuerung im Rückgewinnungskessel [Gruber, 2011] bezogen auf die Trockensubstanz entspricht die Menge der anfallenden Schwarzlauge in etwa der Masse der produzierten Zellulose [Thrän et al., 2009].

Damit die oben beschriebenen Aufschluss-Reaktionen innerhalb der festen Phase ungehindert ablaufen können, wird dafür gesorgt, dass immer genügend Frischlauge (bzw. –säure) im Reaktor ist und dass die Reaktionsprodukte entfernt werden. Das Aufschlussgut wird intensiv gewaschen, damit auch die im Fasermaterial noch eingeschlossenen Abbauprodukte entfernt werden. Aus ökonomischen Gründen wird dabei versucht, die Ablauge zunächst möglichst wenig zu verdünnen, damit sie anschließend für die Rückgewinnung der Chemikalien leichter verbrannt werden kann [Gruber, 2011].

Die Schwarzlauge enthält direkt nach dem Aufschluss nur einen Feststoffanteil von 10 -15 % [Reinhard, 2021]. Bevor sie wie Heizöl in einem Verbrennungskessel verfeuert werden kann, muss Wasser so weit entfernt werden, dass eine einwandfreie Verbrennung möglich ist und die heiße Flüssigkeit noch pumpfähig ist. Die Eindampfung erfolgt stufenweise in einer Batterie von hintereinander und parallel geschalteten Verdampfern (siehe Abb. 2-8). Dadurch erreicht man einen Feststoffgehalt von 60 -80%.



**Abbildung 2-8:** Verdampfer-Batterie zur Einengung einer Schwarzlauge [Gruber, 2011]

Durch Verdrängen der Schwarzlauge mit Dünnlauge werden zunächst die in der Schwarzlauge gelösten Bestandteile mit dieser entfernt. Die Dünnlauge wird dann mit Waschflüssigkeit verdrängt. In der Faser verbleiben Hohlräume (Poren) die zunächst mit Lauge, nach dem Waschen mit Wasser, gefüllt sind. Beim Entleeren (Ausblasen) des Kochers entspannt sich

der Druck und die Faserstruktur wird durch teilweises Verdampfen des Wassers gelockert [Gruber, 2011].

Anschließend wird noch mit Wasser ggf. im Gegenstrom gewaschen. Sobald die Holzfasern abgetrennt sind, wird die verbleibende Schwarzlauge in der so genannten Laugenlinie bis zu einem Trockenstoffgehalt von 75 % konzentriert. Im Rückgewinnungskessel wird die eingedickte Schwarzlauge (im Wesentlichen deren organischer Anteil, vorwiegend Lignin) verbrannt. Dabei wird Energie gewonnen und in Form von Strom & Wärme im Herstellprozess genutzt. Die auf dem Kesselboden gebildete Schmelze fließt über Rinnen in den Schmelzelösebehälter. Durch Zugabe verdünnter Weißlauge entsteht Grünlauge, diese wird in der Kautifizieranlage (Produktion von Natrium- und Kalium Hydroxid) zu Weißlauge umgesetzt, die erneut für den Faseraufschluss eingesetzt wird. Ein sehr hoher Anteil der eingesetzten Chemikalien kann auf diese Weise wiederverwendet werden [Gruber, 2011].

#### 2.1.4 Auffinden von Ansatzpunkten für die Implementierung einer Bio-Fishing-Anlage

Zum einen war in einem früheren Projekt schon einmal daran gedacht worden [Kunz, 2007] das umweltkritische EDTA durch einen Mangan-Transporter versus -Chelator zu ersetzen: dazu müsste das Bio-Fishing-Verfahren vor der Bleiche zum Einsatz gebracht werden. Da allerdings Mangan nicht zu 100 % aus dem Zellstoffbrei herausgefischt werden kann und mit den Bleich-Chemikalien Mangan-Verunreinigungen nicht ausgeschlossen werden können, wird auf den Einsatz von EDTA in keinem Fall verzichtet werden können. Um eine grobe Abschätzung zu machen, würde im günstigsten Fall auf 80% der bisherigen EDTA-Einsatzmengen verzichtet werden können.

In Tabelle 2-4 wird nochmals die Tabelle 1-11 wiedergegeben, um die jeweiligen Mangan-Gehalte vor Augen zu haben, wenn es um die Potenzial-Abschätzung geht, die bei Firma ESSITY in Mannheim zu „fischen“ möglich wäre.

**Tabelle 2-4:** Mangan-Gehalte vom Holz über die Zellstoff-Produktion bis zum Abwasser bei Firma ESSITY in Mannheim-Waldhof (BSW = Ablauge [Reinhard, 2021])

Mangangehalte		
Stichproben an 3 Tagen - alle Werte in ppm		
	min	max
Flusswasser		0,1
Hackgut	60	180
Rundholz	110	250
Kochsäure	40	45
BSW	11	22
Vor Bleiche	1	4
in Bleiche	4	12
nach 1. Bleichstufe	0,7	2,2
Fertigstoff	0,5	2,1
Abwasser	1,1	2,2
Bio-Schlamm	196	248
Einlauf Biologie	493	615
Auslauf Biologie	27	30

Zum einen bietet sich als Quelle für Mangan aus dem Zellstoffprozess bei Firma ESSITY die „Kochsäure“ an, die täglich mit rund 2.500 m<sup>3</sup> bei 60 bis 70 °C anfällt (s. Abb. 2-9). Bei 40 ppm Mangan könnten 100 kg Mangan täglich gewonnen werden. In der Fortsetzung des Prozesses könnte diese Menge auch aus dem Ablauge-Strom (BSW) gewonnen werden, die mit 6.000 bis 7.000 m<sup>3</sup> bei ca. 100 °C vorliegt (die Mangan-Konzentration ist entsprechend geringer, der Massenstrom bleibt gleich). Die Ablauge weist einen Trockensubstanzgehalt von zwischen 10 und 15 % auf, ist also noch dünnflüssig genug.



**Abbildung 2-9:** Optische Eindrücke von den mangan-haltigen Prozessflüssigkeiten bei der Zellstoff-Produktion (links: Kochsäure – rechts: Ablauge [Jakubenko, 2021])

In diesem Zusammenhang ist interessant, dass DFOE eine hohe Komplexbildungskonstante in Höhe etwa zu EDTA aufweist, so dass zu untersuchen wäre, ob das EDTA durch diesen Prozess recycelt werden kann, da die Dünnsäure ja anschließend wieder in den Aufschlussprozess zurückgeführt wird. Konkret wäre zu untersuchen (da die Komplexbildung von physikalischen + chemischen Parametern neben Temperatur + pH-Wert abhängt), ob der eingesetzte Mangan-Komplexbilder DFOE eine höhere Komplexbildungskonstante als EDTA zum Mangan aufweist: dies hätte zur Folge, dass „freies“ EDTA erneut im Bleichprozess zur Verfügung steht und somit sehr viel weniger EDTA insgesamt durch EDTA-Rückgewinnung eingesetzt werden muss. Der große Vorteil, die Bio-Fishing-Anlage in diesem Bereich der Zellstoff-Produktion einzusetzen, liegt im pH-Wert der „Dünnlauge“, die beim Sulfit-Zellstoff-Verfahren eine Säure ist, in der Mangan zweiwertig also als  $Mn^{2+}$  vorliegt, was direkt einer Komplexbildung durch die natürlichen Chelatoren zugänglich ist [Reinhard, 2021].

Schließlich könnte man sich dem Abwasser bei der Zellstoff-Produktion zuwenden: Täglich werden rund 36.000 m<sup>3</sup> bei der ESSITY in Mannheim gereinigt, die im Zulauf zum biologischen Teil der Anlage zwischen 493 und 615 ppm Mangan aufweisen [Jakubenko, 2021; Reinhard, 2021]. Täglich könnten somit rund 200 kg Mangan (bei angenommenen 550 ppm) gefischt werden. Der Zulauf zur biologischen Abwasserreinigung weist einen pH-Wert von 7,8 – 8 (nach Neutralisation mit Kalkmilch) auf; die Temperatur im Zulauf zur Biologie beträgt etwa 36 – 39 °C [Jakubenko, 2021]. Im Bio-Schlamm findet sich Mangan mit 196 – 248 ppm bei einem pH-Wert liegen im Abwasser vor der Biologie bei eingestellt. Im Bioschlamm liegt der pH Wert bei etwa 7. Der getrocknete Schlamm mit etwa 30 – 35 % TS sieht aus wie krümelige Erde (s. Abb. 2-10).



**Abbildung 2-10:** Optischer Eindruck vom Mangan-haltigen Bioschlamm bei der Zellstoff-Produktion (nach der Entwässerung [Jakubenko, 2021])

## 2.2 Verfahrensabriss der Vergärung von Energiepflanzen in Biogas-Anlagen und Entstehung der Gärreste

Energiepflanzen werden landwirtschaftlich mit dem Ziel angebaut, daraus Energie zu gewinnen. Im folgenden werden nur die Energiepflanzen betrachtet, die in Biogas-Anlagen einen Beitrag zur Energieversorgung leisten. Unter Energiepflanzen werden im Allgemeinen jene Pflanzen verstanden, aus denen Energie gewonnen werden kann; außer dem hier betrachteten Biomethan handelt es sich beispielsweise um Zucker- und Stärke-haltige Pflanzenteile zur Ethanolproduktion, Ölpflanzen, wie den Raps oder die Sonnenblume, bzw. biogene Festbrennstoffe.

Bis 2010 bekamen Landwirte eine Energiepflanzenprämie, wenn sie die hier betrachteten Energiepflanzen auf sogenannten Brachflächen angepflanzt hatten, die aus der landwirtschaftlichen Produktion von Pflanzen zur Nahrungsmittelproduktion bzw. Futterpflanzen herausgenommen worden waren. Um entsprechende staatliche Förderungen im Rahmen des Erneuerbare Energien-Gesetz [EEG, 2020] zu bekommen, dürfen Energiepflanzen nur in solchen Biogas-Anlagen verwertet werden, in denen beispielsweise keine Abfälle mit verwertet werden. Anbauverfahren für Energiepflanzen unterscheiden sich teilweise von den bei Nahrungs- und Futtermitteln angewendeten [BUALE, 2021].

Die am meisten eingesetzte Energiepflanze ist der Mais. Mais wird seit Jahrzehnten als Futterpflanze in Deutschland großflächig angebaut; es steht heute eine ausgereifte Verfahrenstechnik für die Methanisierung bereit. Mais bringt sowohl bei der Trockenmasse als auch bei der Gasausbeute hohe Erträge. Neben Mais haben sich vor allem Getreide-Ganzpflanzensilagen, Grünroggen und Hirse bei den pflanzlichen Biogassubstraten durchgesetzt. Auch Zuckerrüben werden in den letzten Jahren vermehrt für die Biogasproduktion genutzt. Züchtung und Erprobung neuer Kulturarten für die Biogasgewinnung wurden in Versuchen und Praxistests zur Verfahrenstechnik, Fruchtfolge und dem Methanbildungsvermögen vorangetrieben. Dadurch sollen Weichen für mehr ökologische Vielfalt im Energiepflanzenbau gestellt werden [BUALE, 2021].

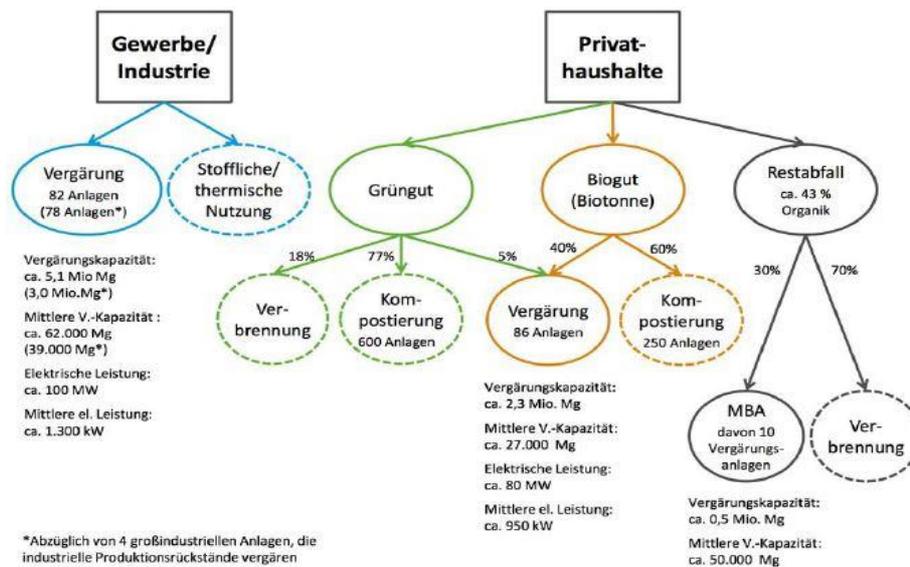
Als Energiepflanzen kommen eine Reihe von Pflanzenarten mit hoher Biomasseproduktion in Betracht. Neben den Kosten für das Verfahrens und den daraus resultierenden Bereitstellungskosten spielen für die Wirtschaftlichkeit der Trockenmasse-Ertrag und die Gasausbeute die wesentliche Rolle. Aktuell konkurrieren Sorghumarten (Hirse) auf Standorten mit geringer Wasserversorgung mit Mais. Die züchterische Bearbeitung wurde und wird intensiviert. Gleiches gilt für Ganzpflanzengetreide, wobei sich Arten- und Sortenmischungen zur Erhöhung der Ertragssicherheit anbieten. Auf guten Ackerböden kann die Zuckerrübe

Flächengaserträge von Mais sogar übertreffen. Aufgrund ihres hohen Zuckergehalts wird sie in der Biogas-Anlage schnell umgesetzt. Lagerung und Fütterung der Biogaserüben sind aufwändiger als bei Mais [BUALE, 2021].

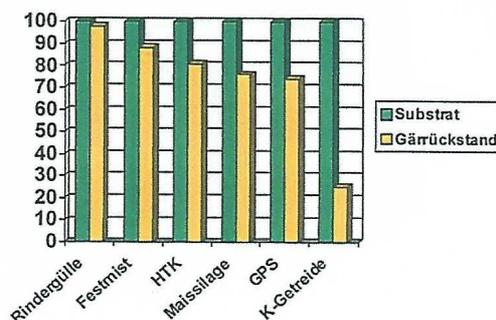
### 2.2.1 Gärreste-Anfall

Gärreste sind wässrige Schlempen, die nach der Gärung/Faulung in Biogas-Anlagen als Rückstand übrigbleiben und entsorgt werden müssen.

In Deutschland gibt es rund 10.000 Biogas-Anlagen, wovon wie Abb. 2-11 zeigt, 168 gewerbliche Abfallbehandlungsanlagen mit Vergärung sind, der Rest sind landwirtschaftliche Gülle-Behandlungen bzw. Biogas-Anlagen zur Erzeugung von Methan aus Energiepflanzen sowie Faulanlagen zur Stabilisierung von Schlämmen aus Abwasserreinigungsanlagen. Gründe für den Betrieb von landwirtschaftlichen Biogas-Anlagen waren die Massenverminderung und Stabilisierung der Gülle, insbesondere hinsichtlich Gerüchen; in größeren Abwasserreinigungsanlagen hat man schon Ende der 70iger Jahre des letzten Jahrhunderts Schlämme ausgefault [Kunz, 1995]. Abbildung 2-12 zeigt die Massenveränderungen durch Vergärung unterschiedlicher landwirtschaftlicher Substrate: während Rindergülle extrem wenig Massenverluste aufweist, gehen bei Körner-Getreide die Massen auf 25 % zurück (dies liegt im Wesentlichen an der Freisetzung von Zellwasser).



**Abbildung 2-11:** Anlagen zur Vergärung von organischen Abfällen in Deutschland 2017 - Systematisierung anhand der Herkunftsbereiche [UBA, 2019]

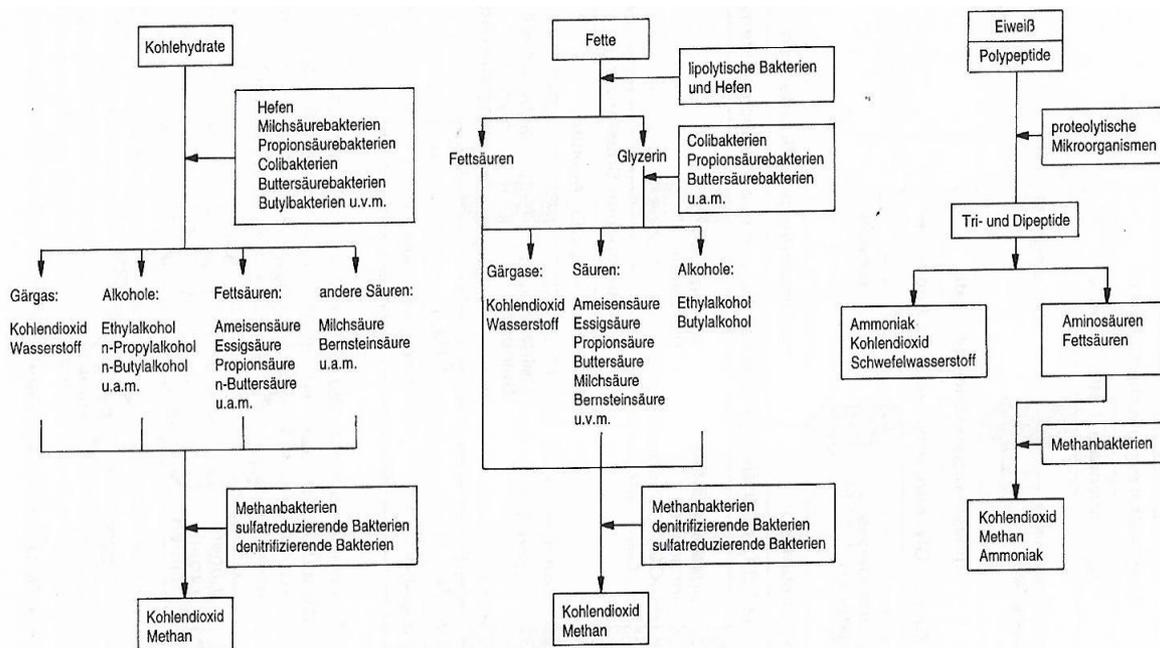


**Abbildung 2-12:** Massenveränderung durch Vergärung landwirtschaftlicher Substrate [Weiland, 2010]

Bei Energiepflanzen, wie Mais und Getreide-Ganzpflanzensilage (GPS) verbleiben rund 75 % der eingesetzten Substrate als Gärreste; von 21 Mio t/a Energiepflanzen bleiben 16 Mio t/a Gärreste – mit der Gülle zusammen liegen der Gärreste- Anfall bei 45 Mio t/a [Weiland, 2010]. Weiland [2010] nennt pro Anlage einen Wert von 10.000 t/a Gärreste-Anfall.

**2.2.2 Grundzüge der Vergärung respektive Faulung in Biogas-Anlagen**

Bei der Vergärung von Energiepflanzen (bei Kläranlagen spricht man von Faulung) macht man sich zunutze, dass unter Luftabschluss anaerob lebende Mikroorganismen organische Verbindungen zu im wesentlichen Methan, Kohlendioxid und Wasser verstoffwechseln können (siehe Abb. 2-13). Unter einem im anaeroben Milieu stattfindenden biologischen Stoffumsatz hat man Stoffwechselvorgänge zu verstehen, die von Mikroorganismen, also einzelligen Kleinstlebewesen im Mykrometerbereich, und zwar speziell von Archaeen und Bakterien durchgeführt werden. Die Mikroorganismen verwerten die Kohlenwasserstoffe, bei Energiepflanzen sind das im Wesentlichen Zucker bzw. Stärke, die enzymatisch verzuckert wird (wie bei der Malz-Herstellung aus der Gerste beim Bierbrauen), um beim Abbau der höhermolekularen Verbindungen ihrerseits Energie zu gewinnen. Eine vollständige Mineralisierung der Kohlenwasserstoffe findet jedoch nicht statt; es bleibt das organische Molekül Methan (CH<sub>4</sub>) übrig, das dann durch Verbrennung in einem Motor (Blockheizkraftwerk) energetisch genutzt werden kann. Vom gesamten Kohlenstoff der Energiepflanzen wird übrigens nur ein Bruchteil (ca. 30 % im günstigsten Fall) zu Methan umgewandelt, da Zellulose + Hemizellulose + Lignin anaerob nicht abgebaut bzw. verstoffwechselt werden können.



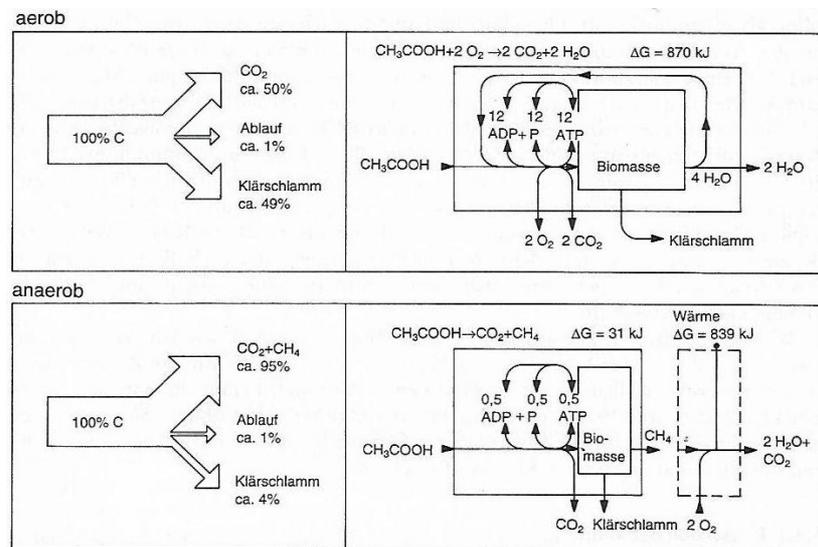
**Abbildung 2-13:** Abbau von Kohlenhydraten, Fetten und Eiweißverbindungen zu Methan und Kohlendioxid respektive Wasser [Kunz, 1995a]

Mikroorganismen bauen die hier interessierenden höhermolekularen organischen Verbindungen im Rahmen ihres Energiestoffwechsels ab und im Rahmen ihres Baustoffwechsels (Anabolismus) auch wieder zu neuen organischen Verbindungen auf. Unter anaeroben Bedingungen ist der Energiegewinn der Mikroorganismen sehr gering, was sich insbesondere bei Störungen des biologischen Prozesses bemerkbar macht, nach denen die Biogas-Produktion nur

sehr schleppend wieder anläuft. Für den auf die Biogas-Produktion schauenden Ingenieur sind nur die katabolischen Abbau-Prozesse der höhermolekularen Substrate interessant, die der Mikrobiologe als Nährstoffe ansieht.

Da es um den Abbau von organischen Verbindungen (Substrat = Nährstoffe) geht, sollen im folgenden lediglich die hierbei überwiegend beteiligten, sogenannten heterotrophen Mikroorganismen (Protozoen) insgesamt diskutiert werden: die chemoorganoheterotrophen Mikroorganismen verwenden die chemisch gebundene Energie (chemo-) für ihren Energiestoffwechsel, beziehen aus organischen Verbindungen (-organo-) ihren Wasserstoff und bauen aus organischen Molekülen heterotroph Biomasse auf.

Unter optimalen (aeroben) Bedingungen können Mikroorganismen etwa 50% des verwertbaren Kohlenstoffs in die Biomasse transferieren, unter anaeroben Milieu-Bedingungen sind es günstigstenfalls 5 % (siehe Abb. 2-14 + Abb. 2-15 [Kunz, 1995 + Kunz, 1992]).



**Abbildung 2-14:** Input-Output-Bilanz aerober + anaerober Stoffwechsel bzgl. Kohlenstoff [Kunz, 1995]

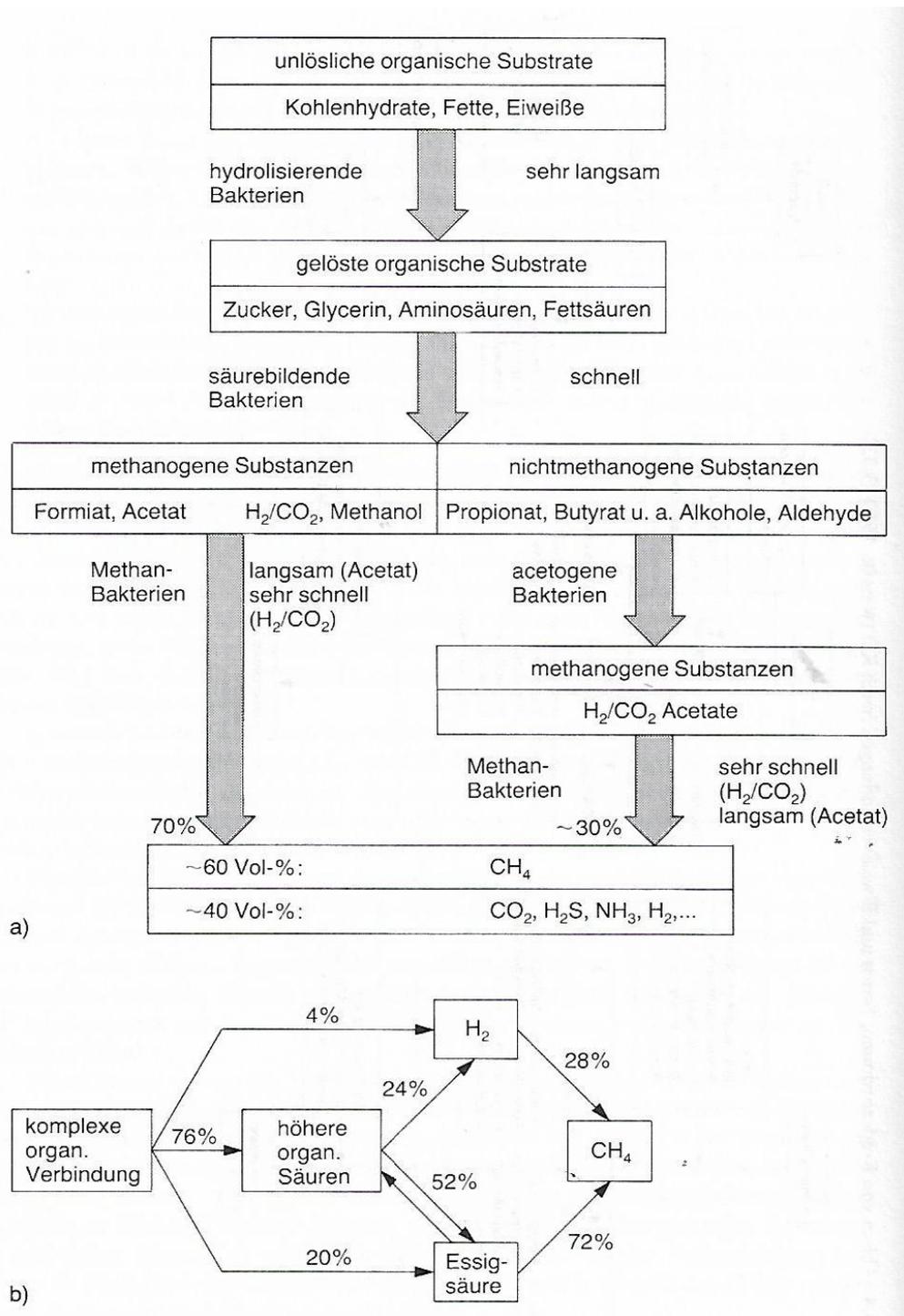
Sehr wesentlich für den Abbau-Prozess ist ein ausreichendes Angebot an essentiellen Mineralstoffen (Stickstoff, Phosphor) und an Spurenelementen (vor allem Eisen, Zink, Chrom, Vanadium + Molybdän). Die Temperatur-Zuordnung (es gibt psychro-, meso- und thermophile Mikroorganismen, die entsprechend kälte- oder wärmeliebend sind) hat sich in Deutschland um 35 °C für anaerobe Prozesse mit mesophilen Mikroorganismen eingependelt, weil sich mit zunehmender Temperatur die Kinetik verbessert und die Abstrahlungsverluste der Behälter noch in einem wirtschaftlichen Rahmen liegen.

Trotz der zum Teil hohen Feststoffgehalte werden die anaeroben Verfahren der Biomethanisierung zu den Submersverfahren gezählt (submers steht für „untergetaucht“), weil die Mikroorganismen in der flüssigen Phase anzutreffen sind. Da Methan ein entzündliches Gas ist, müssen Ex-Schutz-Maßnahmen strikt eingehalten werden.

Am anaeroben Verfahren reizt die energetisch verwertbare Gasfraktion mit rund 70 % Methangehalt. Das entstehende Biogas (oder Faulgas) ist allerdings ein Gasgemisch, das neben Methan vorwiegend CO<sub>2</sub> und in der Summe von etwa 1% H<sub>2</sub> und H<sub>2</sub>S enthält. Zur Konkretisierung der Abbauvorgänge bei anaeroben Prozessen (Abb. 2-13) veranschaulicht Abbildung 2-12 die Abbauschritte von Kohlenhydraten, Fetten und Eiweißen. Im Gegensatz zur aeroben Behandlung, bei der durchaus ein Mikroorganismus die einfachen organischen Verbindungen

durchoxidieren kann, arbeiten hier verschiedene Mikroorganismenarten (s. Abb. 2-11) zusammen. Der anaerobe Prozess der Biogasbildung wird immer von den primären Gärern eingeleitet, welche die Biomasse in organische Säuren und Alkohol umwandeln. Diese Produkte werden durch acetogene Bakterien und schließlich durch methanogene Mikroorganismen weiter verarbeitet. Acetogene Bakterien und Methanogene leben dabei in einer engen Symbiose. Die freigesetzten Abbauprodukte und die aus den Stoffwechselprozessen gewonnene Energie werden für den Aufbau und Pflege ihrer eigenen Vitalfunktionen genutzt. Das Wachstum und die Stoffwechselrate der an dem Prozess der Biogasbildung beteiligten Mikroorganismen hängen entscheidend von einer optimalen Versorgung mit Nährstoffen, Mineralien, Vitaminen und Spurenelementen ab [Bryant, 1979]. Sowohl die Nährstoffe, als auch deren erforderliche Mengen sind spezifisch für die jeweilige Art der Mikroorganismen. Eine Unterversorgung der Mikroorganismen mit diesen Nährstoffen führt zu geringeren Stoffwechselraten und kann damit, bei gleichbleibender Substratzufuhr zum Fermenter, zu einer Destabilisierung des Prozesses und einer stark verminderten Methanproduktion führen [Lemmer, 2011]. Im Detail (siehe [Kunz, 1995]):

- ✧ Hydrolytische, fermentative Bakterien, die sowohl fakultative als auch obligate Anaerobier sein können, spalten/verflüssigen die komplexen Grundbausteine Eiweiß, Fett und Kohlenhydrat durch Exoenzyme (außerhalb der Zellen ins Medium abgegeben oder an der Zelloberfläche haftend) zu einfachen Mono- und Dimeren (Stärke in Maltose und Glucose gespalten).
- ✧ Acidogene Bakterien bauen die Mono- und Dimere zu den Carboxylsäuren (Essigsäure) Acetat, Propionat und Butyrat sowie zu Milchsäure, Ethanol, Wasserstoff und Kohlenstoffdioxid ab. Inzwischen weiß man, daß die Konzentration des intermediär gebildeten Wasserstoffs die Art der Gärungsprodukte determiniert: Je höher der Wasserstoff-Partialdruck, desto weniger Essigsäure und Wasserstoff.
- ✧ Acetogene Bakterien bauen die Carboxylsäuren Butter- und Propionsäure zu Essigsäure, Wasserstoff und Kohlenstoffdioxid um, wobei auch hier der Wasserstoff-Partialdruck determiniert: Der Propionsäureabbau ist erst unter 10<sup>-5</sup> bar exergon und damit erst möglich. Deshalb müssen Wasserstoff-verwertende Mikroorganismen unbedingt vorhanden sein, wenn ein weitgehender Abbau erfolgen soll.
- ✧ Methanogene Bakterien (neben den sulfatreduzierenden Desulfurikanten) verwerten im wesentlichen Wasserstoff und Kohlenstoffdioxid bzw. Essigsäure und setzen diese zu Methan und Kohlenstoffdioxid um. Sinkt der Wasserstoff-Partialdruck zu stark ab, wird die Methanbildung aus Wasserstoff endergon, was den anaeroben Abbau zum Erliegen bringt.
- ✧ Angesichts der großen praktischen Erfahrungen bei der landwirtschaftlichen Güllebehandlung in Biogasanlagen als auch der anaeroben Klärschlammbehandlung, neuerdings auch der Biomethanisierung von Abfällen) wurden in jüngerer Zeit Versuche zur Erhöhung der Raum-Zeit-Ausbeuten (größere Stoffumsatzleistungen) durchgeführt: Dabei wurde postuliert, die Versäuerung aus dem Gesamtprozess herauszulösen und in Form einer Reaktor-Kaskade hintereinander anzuordnen. Zwar konnten jeweils im zweistufigen Verfahren die pH-Werte besser an die Prozessbedingungen angepasst werden, jedoch wurden beide Prozesse instabiler, weil die Mikroorganismen in den Lebensgemeinschaften über den Wasserstoff-Partialdruck sich gegenseitig steuern [Kunz, 1992]. Auch wenn die Prozessparameter theoretisch besser an die Erfordernisse der jeweiligen Mikroorganismen angepasst werden können, ist eine Trennung der anaeroben Stoffwechselschritte aus den oben genannten Gründen viel aufwändiger, da eine Wasserstoff-Partialdruck-Regelstrecke aufgebaut werden muss.



**Abbildung 2-15:** Anaerobe Stoffwechselschritte im Detail [Kunz, 1995]

**2.2.3 Spurenelemente bei der Vergärung/Faulung**

Hinsichtlich des Betriebes von Anaerob-Anlagen gab es in der Literatur vielfältige Optimierungshinweise hinsichtlich der Prozessführung zu pH-Wert, Temperatur und Durchmischung bis hin zur Dosierung von Spurenelementen. Über den Nährstoffbedarf der hydrolytischen, acidogenen und acetogenen Bakterien im Biogasprozess ist bis heute nur sehr wenig bekannt. Dagegen war der Mineralstoffbedarf der zu den Archaeen gehörenden Methanogenen bereits Thema zahlreicher Forschungsarbeiten. Umfassende Erfahrungen zu deren komplexen Nährstoffanforderungen konnten in den vergangenen Jahrzehnten, insbesondere bei der Abwasserreinigung, gewonnen werden. Der Bedarf der methanogenen Mikroorganismen an

Makroelementen hängt hauptsächlich von deren Wachstumsrate sowie der Zusammensetzung der bakteriellen Biomasse ab (Lettinga, 1995). Im Vergleich zu vielen Bakterien ist die Biomassebildung der Methanogenen aufgrund des langsamen Wachstums jedoch gering, woraus sich auch ein relativ niedriger absoluter Bedarf an Makroelementen ableiten lässt. Die Mikroorganismen erhalten den benötigten Kohlenstoff im Wesentlichen aus dem zugeführten Substrat und nutzen diesen zum Aufbau der Zellstruktur. Stickstoff ist vor allem für die Proteinbiosynthese notwendig. Schwefel ist ein essentieller Bestandteil wichtiger Aminosäuren und auch ein wichtiger Nährstoff für das Wachstum von Methanogenen. Untersuchungen haben gezeigt, dass die Zufuhr von Schwefel eine positive Wirkung auf die Aktivität der Methanogenen hat. Andererseits reduziert Schwefel die Bioverfügbarkeit von Spurenelementen durch die Bildung von unlöslichen Metallsulfiden (Gonzales–Gil et al., 2003; Zandvoort et al., 2005).

Der Phosphatgehalt ist entscheidend für die Bereitstellung der Energieträger ATP und NADP für den Stoffwechsel. Einige Methanogene benötigen Natrium, um ATP für ihr Wachstum bilden und die hydrogenotrophe Methanbildung durchführen zu können (Perski, 1981).

Derzeit werden als essentielle Spurenelemente für das Wachstum und den Stoffwechsel der methanogenen Mikroorganismen Eisen, Nickel, Kobalt, Selen, Molybdän, Bor und Wolfram erachtet (Jarell, 1988). Die Bedeutung von Eisen bei der anaeroben Konversion von Biomasse ist vielfältig. Aufgrund der hohen Konzentration im Vergleich zu den übrigen Mikronährstoffen kommt Eisen eine besondere Bedeutung bei der Sulfidfällung zu (Woo, 1993). Bei den Stoffwechselprozessen der Methanogenen dient es als Transport-System bei der Reduktion von  $\text{CO}_2$  zu  $\text{CH}_4$ . Eisen kann in Stoffwechselprozessen sowohl als Elektronenakzeptor als auch als Elektronendonator wirken und somit die Rolle eines Energieträgers erfüllen (Lacy, 1987). Kobalt und Bor sind essentielle Spurenelemente für acetogene Bakterien und Methanogenen. Kobalt wird als Zentralatom in Enzymen von Corrinoiden und Vitamin B12 verwendet (Jarell, 1988). Molybdän katalysiert die Oxidations- und Reduktionsreaktionen von  $\text{CO}_2$  und ist notwendig für die Bildung unterschiedlicher Enzyme. Selen kann ein wachstumslimitierender Faktor für einige Methanogene sein, da es für die Bildung von Aminosäuren wie Selenocystein erforderlich ist (Chasteen, 2003). Die Besonderheit der Methanogenen ist ihr Bedarf an Nickel, das für das Wachstum von Bakterien nur eine untergeordnete Rolle spielt (Diekert, 1980). Nickel verbessert das Wachstum von Methanogenen wie *Methanobacterium bryantii* und hilft dabei, ihre Zellmembran und damit ihre strukturelle Stabilität aufrecht zu erhalten (Jarell, 1988). Nickel ist auch an der Bildung von unterschiedlichen Enzymen wie Urease und Hydrogenase beteiligt und ist das zentrale Atom des Cofaktors F430, der essentiell für den letzten Schritt der Methanbildung ist (Diekert, 1980; Hausinger, 2001).

Bei allen Spurenelementen ist deren Konzentration von entscheidender Bedeutung (Bauer et al., 2009). Ist die Konzentration der vorhandenen Spurenelemente zu gering, so können die für den Stoffwechsel benötigten Enzyme und Coenzyme nicht mehr in ausreichenden Mengen gebildet werden. Das führt dazu, dass die Leistungsfähigkeit der Methanogenen abnimmt und der Methangehalt des Biogases und der spezifische Methanertrag deutlich sinken. Wenn ein Spurenelementdefizit in dem Gärsubstrat einer landwirtschaftlichen Biogasanlage festgestellt wird, können handelsübliche Spurenelementlösungen verwendet werden, um dieses Defizit auszugleichen. Diese flüssigen oder granulierten Mischungen erhöhen die Konzentration der Mikronährstoffe in den Fermentern. Erfahrungen aus der Praxis zeigen, dass nach einem solchen Defizitausgleich die Stoffwechselrate der Methanogenen sehr schnell zunimmt und die im Fermenter akkumulierten Säuren in kurzer Zeit zu Biogas umgesetzt werden.

Vier wesentliche Aufgaben der Spurenelemente in der anaeroben Vergärung konnten bestätigt werden.

- (1) Mikronährstoffe sind an vielen wichtigen enzymatischen Reaktionen beteiligt, da sie essentiell für den Aufbau der Coenzyme bzw. Cofaktoren sind (Bauer et al., 2009).
- (2) Spurenelemente werden von verschiedenen Nährstoffen als Bindungsatom genutzt.
- (3) Als dritte Aufgabe kann die Hemmung der Sulfidtoxizität im Fermenter genannt werden.
- (4) Als letzte Eigenschaft führen Mikronährstoffe zu einer allgemeinen Biomassestimulation (d.h. einer verbesserten Reproduktion der Mikroorganismen) (Takashima + Speece, 1989).

Bei allen Vorgängen sind Spurenelemente grundsätzlich nur in gelöster und nicht in gebundener Form für die Mikroorganismen verfügbar (Bischofsberger et al., 2005).

#### **2.2.4 Potenziale für die Mangangewinnung bzw. den Einsatz von Mangan aus dem Bio-Fishing-Prozess**

In Abschnitt 1.5 waren Konzentrationen von Mangan in den Gärresten von zwischen 360 und 460 ppm Mangan genannt worden [Cordes, 2021]. Pro 10 m<sup>3</sup> (= 10 t) Gärreste pro Tag können 4 kg Mangan nach dem Bio-Fishing-Prinzip gewonnen werden. Also bei den oben postulierten Anlagengrößen von 10.000 Jahrestonnen pro Anlage 4.000 kg Mangan im Jahr. Würden alle Gärreste verwendet (82 Mio t pro Jahr [<https://biogas.fnr.de/biogas-nutzung/gaerrestverwertung>]) würden 3.280 t Mangan gewonnen werden können.

Interessant ist, dass – wie oben beschrieben – Biogas-Prozesse in der Gasausbeute und der Raum-Zeit-Ausbeute verbessert werden können, wenn Spurenelemente, wie Mangan und Eisen zugegeben werden. Sofern durch den Bio-Fishing-Prozess weitere Spurenelemente „gefischt“ werden können, würde die Aufarbeitung des gewonnenen Mangans einfacher und die Nutzung einer „Spurenelemente-Suspension“ ökologisch sinnvoll sein (in gewissem Sinne wäre dies auch wirtschaftlich darstellbar).

### **2.3 Verfahrensabriss der Gewinnung von Silage und Gärsäften/ Silagesickersäften + deren derzeitige Verwendung**

#### **2.3.1 Produktion von Gär- und Sickersäften**

Die Produktion von Silage ist heute Standard und eine wichtige Grundlage für eine erfolgreiche Milch- und Rindfleischerzeugung. Silagen sind ein unter Luftabschluss durch Milchsäuregärung aus Futterpflanzen haltbar gemachtes Nutztierfutter (Gärfutter) oder aus Energiepflanzen haltbar gemachter nachwachsender Rohstoff für Biogasanlagen [Spiekers + Attenberger, 2013].

Silage-Silos (ähnlich anzuschauen wie Zementsilos) sind häufig neben Ställen auf den Bauernhöfen zu sehen: die auf den abgemähten Feldern zu beobachtenden „weißen Bälle oder Wagenrad-ähnlichen Gebilde“ enthalten ebenfalls Silage. Im Prinzip ähneln die Verfahren der Haltbarmachung von Milch durch Fermentation zu Joghurt oder von Kraut zu Sauerkraut (siehe im Detail dazu: Kessler + Kunz [2010]).

Für die Gärfutterbereitung werden hauptsächlich Grünfütter wie Gras, Klee, Grüngetreide, Klee, Luzerne, Mais, Rübenblatt, die Sommerzwischenfrüchte Erbsen-Wick-Gemenge, Raps, Rüben und Markstammkohl sowie Nebenprodukte des Braugewerbes (Biertreber) und der Lebensmittelverarbeitung (Zuckerrüben-Pressschnitzel, Pülpe etc.) verwendet. Auch werden Kartoffelprodukte und Kartoffel-Pressschnitzel siliert.

Gärsaft ist die bei der Silagebereitung durch Zellaufschluss oder Pressdruck entstehende säurehaltige Flüssigkeit. Der Gärsaftanfall hängt hauptsächlich vom Trockenmassegehalt (TM) des zu vergärenden Siliergutes ab. Ersichtlich ist dies aus der Tabelle 2-5.

**Tabelle 2-5:** Trockenmassegehalt und Gärsaftanfall bezogen auf ... [Spiekers + Attenberger, 2013].

<i>des Siliergutes</i>	<i>Siliergut</i>	<i>Silage</i>	<i>Siloraum</i>
%	l/dt	l/dt	l/m <sup>3</sup>
10	45	80	725
15	33	45	360
20	22	28	200
25	11	12	75
>28	0	0	0

Silagesickersaft wird auch in landwirtschaftlichen Biogasanlagen als Substrat zur Energieerzeugung genutzt; hauptsächlich wird Mais siliert. Der bei der Silagebereitung anfallende Gärsaft/ Silagesickersaft besitzt einen hohen Gehalt an Nährstoffen und bedeutet in aller Regel Nährstoffverluste, die nicht erwünscht sind + bei Silomais und Getreidepflanzen nach Möglichkeit vermieden werden. Nicht immer lässt sich allerdings Silagesickersaft vermeiden [Spiekers + Attenberger, 2013].

### 2.3.2 Potenziale

#### Silagearten

Die oben genannten Gärssubstrate schwanken stark im Gehalt an Feststofftrockenmasse. Erwünscht ist die Silage (wie das Sauerkraut) als haltbar gemachtes Nahrungsmittel. Deshalb werden Gärssubstrate, die weniger als 30 % TM-Gehalt haben, angewelkt (getrocknet) [Spiekers + Attenberger, 2013].

Neben dem aus den Pflanzen austretenden Gärsaft können in Verbindung mit Niederschlägen Silosickersäfte – also verdünnte Gärsäfte – anfallen.

#### Gärsaft-Menge

Neben dem relativ nährstoffreichen Gärsaft kann auch Haftwasser austreten. Dies gilt z. B. für Biertreber und Pülpe sowie durch Regen angefeuchtetes Erntegut. Die Trockenmasse- und Nährstoffgehalte im Haftwasser sind niedrig [Spiekers + Attenberger, 2013].

Bei Pressschnitzeln ist auf Grund der hohen Wasserbindung kein Gärsaftanfall zu erwarten obwohl der TM-Gehalt bei ca. 21 % liegt. Bei Biertrebern tritt vielfach anhaftendes Wasser aus. Im Mittel sind dies 15 %. Eine Abbindung durch Einmischen oder Unterlegen von ca. 5 % Melasseschnitzeln ist sinnvoll [Spiekers + Attenberger, 2013].

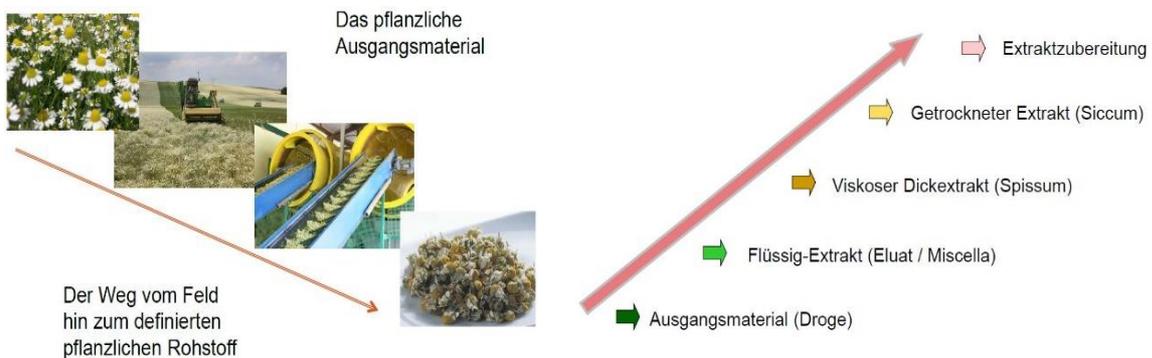
#### Landwirtschaftliche Verwertung des Gärreste- respektive Silagesickersäfte

Verfütterung: Da Silagesickersaft eine hohe Säurekonzentration aufweist und an der Luft schnell verdirbt, wird er trotz seines hohen Gehalts an Nährstoffen nicht verfüttert [Spiekers + Attenberger, 2013].



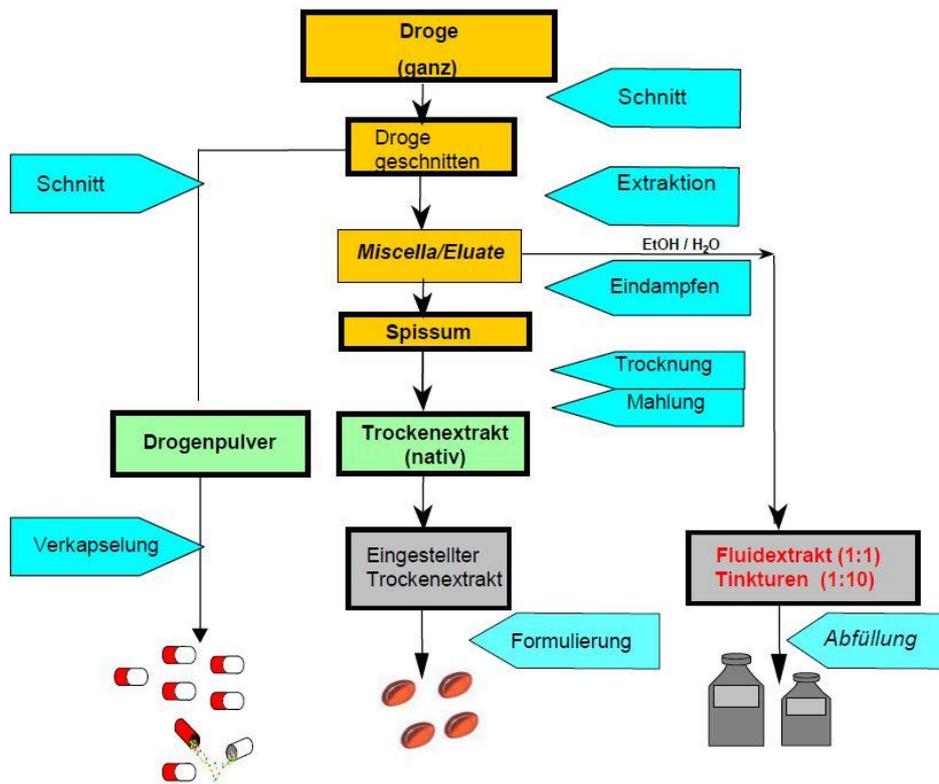
Mit dieser Klassifizierung wird das unterschiedliche Wissen über die wirksamkeitsbestimmenden Inhaltsstoffe bei der jeweiligen Arzneidroge berücksichtigt. Bei den standardisierten Extrakten (z. B. eingestellter Sennesblättertrockenextrakt) kann der Extrakt auf einen definierten Gehalt an den Inhaltsstoffen, deren Wirksamkeit bekannt ist, z. B. durch die Zugabe von inerten Hilfsstoffen oder durch Vermischen von verschiedenen Extrakt-Chargen eingestellt werden. Da bei den quantifizierten Extrakten (z. B. quantifizierter, raffinierter Ginkgo-Trockenextrakt) diese Kenntnis nicht exakt vorhanden ist, wird der Extrakt über eine oder mehrere Leitsubstanz(en) auf einen definierten Gehaltsbereich meistens durch Vermischen verschiedener Extrakt-Chargen eingestellt. Bei den anderen Extrakten (z. B. Baldriantinktur) bestimmen nur die Qualität des Ausgangsmaterials und die Eignung des Herstellungsverfahrens die Extrakt-Güte [Tegtmeier, 2021].

Die folgenden Abbildungen 2-17 a bis c zeigen den Weg von der Pflanze (a) über die Zwischenstufen der Extrakte (b) und den einzelnen verfahrenstechnischen Schritten (c).



**Abbildung 2-17(a):** von der Pflanze zur Droge [Feistel, 2021]

**Abbildung 2-17(b):** von der Droge bis zum Extrakt [Feistel, 2021]



**Abbildung 2-17(c):** Blockverfahrensfließbild von der Droge bis zu diversen Extrakt-Produkten [Feistel, 2021]

**Extraktion** [weitgehend entnommen aus Tegtmeier (2017)]

In der Phytopharmaka-Produktion werden unter Extraktionsverfahren die Verfahren der Mazeration und Perkolation verstanden. Mazeration ist eher ein „Auslaug-Prozess“, wie ein Teebeutel in heißem Wasser bestimmte Stoffe in das auslaugende Fluid abgibt – Perkolation ist eher zu vergleichen mit dem Herauslösen von Kaffee-Aromastoffen, wenn Kaffee-Mehl mit heißem Wasser in einer Filtertüte übergossen wird. Die Mazeration erfolgt üblicherweise bei relativ niedriger Temperatur. Werden höhere Temperaturen verwendet (40 bis 60 °C) spricht man von Digestion. Eine Mazeration kann auch mehrstufig erfolgen. Dies kann dann bis zu einer erschöpfenden Extraktion führen [Wagner, 2021]. Eine spezielle Form der Mazeration findet sich in der Wirbelstrom-Extraktion, bei der der Ansatz in einem hochtourigen Mixer oder Homogenisator verwirbelt wird. Die Droge wird dabei weiter zerkleinert und die Inhaltsstoffe werden so vermehrt ausgeschwemmt [Wagner, 2021].

Um eine kontinuierliche und erschöpfende Extraktion zu realisieren, folgen die modernen Anlagen dem Grundprinzip der Perkolation. Durch entsprechende Ergänzungen und Variationen, z. B. Mazeration zuvor und einer mehrstufigen Perkolation, werden die speziellen Relevanzen der jeweiligen Arzneipflanzen und ihrer unterschiedlichen Pflanzenteile berücksichtigt. So ist beispielsweise bei einigen Wurzeldrogen ein Vorquellen notwendig, während bestimmte Blüten- und Blattdrogen einen zügigen Beginn der Hauptextraktion erfordern. Bei der Herstellung pflanzlicher Arzneimittel, die zur allopathischen Therapie bestimmt sind, werden fast ausschließlich getrocknete Pflanzen eingesetzt. Meist erfolgt eine unmittelbare Verarbeitung nach der Ernte. Die Partikelgröße der Arzneidroge, der sogenannte Extraktionsschnitt, die Art des Extraktionsmittels sowie die Anlagengeometrie und -dimension beeinflussen in Verbindung mit den Umgebungsbedingungen wesentlich das Ergebnis der Extraktion [Tegtmeier (2017)].

Durch den geeigneten Extraktionsschnitt wird ein schnelles und möglichst vollständiges Benetzen der Arzneidroge mit dem Extraktionsmittel erreicht. Zu grobe Drogenteile können eine vollständige Extraktion genauso verhindern wie zu fein geschnittene oder pulverisierte Arzneidroge, bei denen sich Trockennester bilden können [Tegtmeier (2017)].

Beim Extraktionsmittel orientiert man sich an dem jeweiligen Inhaltsstoffmuster, welches aus der Arzneidroge in den Extrakt überführt werden soll. In den vergangenen Jahren haben sich Ethanol-Wasser-Mischungen, deren Mischungsverhältnis die individuellen Bedingungen der jeweiligen Arzneidroge berücksichtigt, als Standard-Extraktionsmittel etabliert. Die Verwendung von Aceton, Hexan, Methanol und Propanol sowie deren Mischungen mit Wasser werden nur bei Spezialextrakten angewendet. Bei diesen erfolgt durch sehr selektive Extraktion entweder die Anreicherung erwünschter Inhaltsstoffe oder auch die Abtrennung unerwünschter (z. B. toxischer) Substanzen. Beispiele sind Ginkgo-Trockenextrakt (Abtrennung der Ginkgol-Säuren) oder einige Hypericum-Extrakte (Anreicherung der Flavonoide) [Tegtmeier (2017)].

Analog zur klassischen Teezubereitung kann auch eine industrielle Extraktion bei höheren Temperaturen durchgeführt werden. In diesen Fällen kann der Anteil eines organischen Lösungsmittels reduziert werden oder gegebenenfalls komplett entfallen, da heißes Wasser auch eine akzeptable Lipophilie besitzt. Allerdings vermindert sich die Löslichkeit vieler Inhaltsstoffe beim Abkühlen auf normale Umgebungstemperatur wieder, so dass diese Verfahrensoption nur bei einigen Arzneidroge genutzt werden kann. Generell kann ein Temperaturgradient nur eingesetzt werden, wenn die Inhaltsstoffe höhere Temperaturen ohne Qualitätseinbußen tolerieren. In einigen Fällen wird das Extraktionsergebnis auch durch eine

Veränderung des pH-Werts erreicht. So enthält z. B. das Extraktionsmittel für die Herstellung des Thymian-Fluidextrakts etwas Ammoniak [Tegtmeier (2017)].

Ein neues, interessantes Extraktionsmittel ist überkritisches Kohlendioxid, das bereits mit großem Erfolg im Lebensmittelbereich verwendet wird. Der Vorteil von fluidem Kohlendioxid liegt in seiner exzellenten Extraktionskraft für lipophile Inhaltsstoffe und der nicht vorhandenen Rückstandsproblematik bei den Extrakten [Tegtmeier (2021)]. Die Konstruktion der Extraktionsanlagen (s. Abb. 2-18) ergibt sich aus dem gewünschten Extraktionsverfahren. Prinzipiell soll in den Anlagen durch leichte Modifikationen eine Extraktion entsprechend den spezifischen Erfordernissen der jeweiligen Arzneidroge ermöglicht werden. So sind oft Grundelemente, wie Extraktionsbehälter, mehrfach vorhanden, um durch entsprechende Serienschaltungen beispielsweise Stufenextraktionen ausführen zu können.

Als Ergebnis der Extraktion liegt ein genuiner Flüssigextrakt vor, der in den meisten Fällen zu einem Dickextrakt weiterverarbeitet wird. Allerdings kann sich auch als Zwischenschritt eine Flüssig-Flüssig-Extraktion anschließen, um eine weitere Selektion bei den Inhaltsstoffen zu erreichen. Das Europäische Arzneibuch unterscheidet verschiedene Formen des Flüssigextrakts (Ph. Eur. 8.0/0765 Extrakte – Extracta). Die Tinktur (Tinctura) folgt in ihrem Herstellungsweg dem traditionellen Extraktionsprinzip des früheren Apotheken-Alltags. So beträgt das Verhältnis von Arzneidroge zu Auszugsmittel üblicherweise 1 : 5 oder 1 : 10, wobei Ethanol in geeigneter Konzentration als Auszugsmittel verwendet wird. Anstelle der ursprünglich als einziges Verfahren zulässigen Mazeration darf nun auch eine Perkolation durchgeführt werden [Tegtmeier (2017)].

## Extraktions-Technologien

Mazeration

Perkolation



Gegenstromextraktion

Wirbelstromextraktion

Flüssig-Flüssig Extraktion

Überkritische Gas-Extraktion



GPT – Phytopharmaka und Phytotherapie Fortbildung 1. Modul, 19.03.2021

### Abbildung 2-18: Extraktions-Technologien [Feistel, 2021]

Technologisch betrachtet gehört auch die Gewinnung von ätherischen Ölen zu den Extraktionsprozessen. Dabei haben sich drei Verfahrenstechniken etabliert. Die Möglichkeit des Auspressens und -quetschens von Arzneidrogen ohne Erwärmung wie z. B. bei Zitronenöl (Limonis aetheroleum) folgt einem mechanischen Verfahrensprinzip. Dagegen nutzen die beiden anderen Herstellungsverfahren Wärme, so dass sie Bestandteil der thermischen Verfahrenstechnik sind. Während in einigen Fällen das Pflanzenmaterial ohne Zusätze erhitzt wird und die Gewinnung des ätherischen Öls über eine sogenannte „trockene Destillation“ gelingt, wird in

den meisten Fällen Wasser zu den Arzneidrogen hinzugefügt, damit der durch die Erwärmung entstehende Dampf als Schleppmedium eine möglichst vollständige Gewinnung des ätherischen Öls gewährleistet, z. B. beim durch Wasserdampf-Destillation gewonnenen Nelkenöl (*Caryophylli floris aetheroleum*). Fette Öle pflanzlichen Ursprungs werden entweder nur durch mechanische Techniken (Kaltpressen, Zentrifugieren) oder durch Kombinationen von Pressen und Lösungsmittelextraktion gewonnen. Gegebenenfalls schließen sich Raffinationsprozesse und eine chemische Behandlung an, um die gewünschte Qualität und Stabilität des pflanzlichen fetten Öls zu gewährleisten [Tegtmeier (2017)].

### Abtrennung des Extraktionsmittels

In den meisten Fällen können die genuin entstandenen Flüssigextrakte nicht unmittelbar für die Herstellung von Fertigarzneimitteln verwendet werden. Insbesondere bei der Verwendung von nicht wässrigen oder wässrig-ethanolischen Extraktionsmitteln muss im nächsten Verfahrensschritt die Abtrennung des jeweiligen organischen Auszugsmittels (z. B. Aceton, Hexan oder Methanol) erfolgen. Zudem ist oft eine Anreicherung der Extraktivstoffe, die im Sinne des Europäischen Arzneibuchs als Trockenrückstand des genuinen Flüssigextrakts quantifiziert werden, für die Weiterverarbeitung unumgänglich. So erfordern die bei der Herstellung von Trockenextrakten hauptsächlich eingesetzten Sprühtürme und Bandtrockner Extraktivstoffgehalte von mind. 50 %, während die genuinen Flüssigextrakte meist Extraktivstoffgehalte deutlich unter 20 % aufweisen. Für die Einengung der genuinen Flüssigextrakte werden üblicherweise Fallstrom-, Platten- und Vakuum-Umlaufverdampfer eingesetzt (siehe Abb. 2-19).

## Verdampfer

Fallstromverdampfer →

Zentrifugalverdampfer

Plattenverdampfer

Dünnschichtverdampfer ↙



GPT – Phytopharmaka und Phytotherapie Fortbildung 1. Modul, 19.03.2021

**Abbildung 2-19:** Verdampfer zur Aufkonzentrierung [Feistel, 2021]

Die für die jeweilige Arzneidroge und deren Extrakt am besten geeignete Technik ergibt sich unmittelbar aus dem Charakter der Extraktivstoffe. Im Vordergrund steht dabei deren Thermostabilität, und damit die Frage, wie lange und in welchem Ausmaß Wärmeenergie auf die Extraktivstoffe einwirken darf, ohne dass nennenswerte Qualitätseinbußen bei der Produktion des Dickextrakts auftreten. Es wird streng darauf geachtet, ob mit der Veränderung der Polarität und den Lösungseigenschaften der Flüssigphase, die während des Einengungsprozesses kontinuierlich stattfindet, kritische Reaktionen der Extraktivstoffe (z. B. vermehrte

Ausfällungen und/oder Aggregationen) auftreten. Neben diesen, für die Verfahrensführung sehr entscheidenden Bedingungen, bildet auch die Anwesenheit von Saponinen (das sind natürliche Tenside) in dem genuinen Flüssigextrakt einen teilweise nicht zu unterschätzenden Schwierigkeitsgrad, da Schäumen beim Einengen vermieden werden muss. Als maschinentechnische Ergänzung zu den Verdampfern sind in den meisten Betrieben Destillationsanlagen installiert worden, um die bei der Dickextrakt-Herstellung abgetrennten organischen Extraktionsmittel aufarbeiten zu können. Durch die Aufreinigung können die Flüssigkeiten wieder zur Herstellung neuer Extraktionsmittel verwendet werden, wobei die sogenannten Restdestillate nur für die gleiche Arzneidroge wieder zur Verwendung kommen [Tegtmeier (2017)].

Das Europäische Arzneibuch hat mit den Ölhärzen (Oleoresina, Oleosa) für Dickextrakte, welche ein Harz enthalten, das in einem ätherischen und/oder fetten Öl gelöst ist, eine eigene Rubrik geschaffen (Ph. Eur. 8.0/0765 Extrakte – Extracta). Aus technologischer Sicht handelt es sich wie bei den üblichen Dickextrakten um eine halbfeste Suspension, wobei der Charakter der extrahierten Pflanzeninhaltsstoffe den Umgang im Produktionsalltag bestimmt. Prominentes Beispiel für diese Extraktgruppe ist das quantifizierte, raffinierte Cayenne-Pfefferölharz (Capsici oleoresina raffinata et quantificata, Ph. Eur. 8.0/2336) [Tegtmeier (2017)].

### Extrakt-Zubereitungen

Am Ende der Extrakt-Herstellung stehen die Extrakt-Zubereitungen, welche bei der industriellen Herstellung von Phytopharmaka den Wirkstoff darstellen. Im Fall von Trocken-Extrakt-Zubereitungen wird den Dickextrakten (Extracta spissa) im Rahmen des Trocknungsvorgangs das restliche Auszugsmittel entzogen, das hauptsächlich aus Wasser besteht und nur noch Spuren der jeweiligen organischen Phase enthält. Vom Dickextrakt liegen somit nur noch die extrahierten Bestandteile der Arzneidroge vor, welche mit dem Begriff Nativextrakt bezeichnet werden. Bei den meisten Arzneipflanzen neigen die Nativextrakte zu einer plastisch-gummiartigen Konsistenz, die eine weitere Verarbeitung stark einschränken [Tegtmeier (2017)].

Deswegen erfolgt schon während des Trocknungsvorgangs die Zugabe von inerten Hilfsstoffen, die die Funktion eines Trägerstoffs und Fließmittels erfüllen. Die Auswahl der geeigneten Hilfsstoffe orientiert sich an dem Charakter der Extraktivstoffe. Dabei werden meistens Maltodextrin, Glucosesirup und mikrokristalline Cellulose als Trägermaterialien sowie hochdisperses Siliciumdioxid als Fließregulierungsmittel eingesetzt. In den letzten Jahren hat die früher gern genutzte Lactose wegen der Intoleranz-Reaktionen an Bedeutung verloren und wird in den meisten Fällen durch Maltodextrin ersetzt. Inerte Hilfsstoffe werden aber auch zur Erzielung definierter Wirkstoffkonzentrationen benötigt, wie es insbesondere das Europäische Arzneibuch für standardisierte Extrakt-Zubereitungen (z. B. eingestellter Sennesblätter-Trockenextrakt, Ph. Eur. 8.0/1261) vorsieht. Daneben existieren Arzneidrogen, wie z. B. Efeublätter, deren Nativextrakte ohne Zugabe von Hilfsstoffen bereits als Trockenextrakte eingesetzt werden können [Tegtmeier (2017)].

Für die Trocknungsverfahren (s. Abb. 2-20) werden häufig Sprühtürme (s. Abb. 2-20b) eingesetzt, mit denen große Extrakt-Mengen schnell hergestellt werden können. Eine Alternative stellen Bandtrockner dar, insbesondere in der heute üblichen Konzeption als Vakuumbandtrockner. Die Festlegung des geeigneten Trocknungsverfahrens orientiert sich primär an den Eigenschaften der Arzneidroge und ihrer Dickextrakte. Durch den Trocknungsprozess dürfen keine Qualitätseinbußen und nur geringe Ausbeuteverluste entstehen. Zusätzlich limitieren Chargengrößen und Bedarfsmengen die Maschinentechniken, indem nur

Kampagnenproduktionen im Tonnenmaßstab bei Sprühtürmen sinnvoll eingesetzt werden [Tegtmeier (2017)].

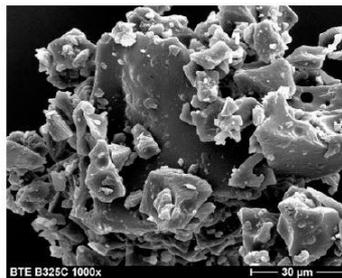
## Trocknung

Sprühtrockner

Vakuumbandtrockner

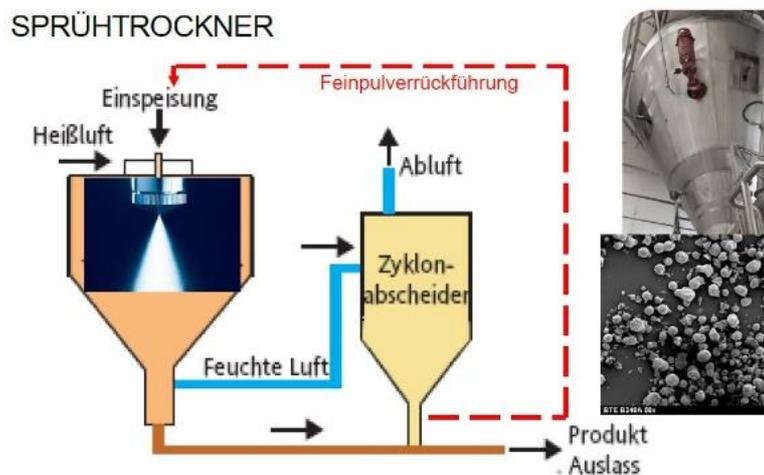
Sprühbandtrockner →

Vakuumschaufeltrockner ←



GPT – Phytopharmaka und Phytotherapie Fortbildung 1. Modul, 19.03.2021

**Abbildung 2-20a:** Trocknung zur Aufkonzentrierung genuiner Substanzen [Feistel, 2021]



GPT – Phytopharmaka und Phytotherapie Fortbildung 1. Modul, 19.03.2021

**Abbildung 2-20b:** Sprühtrockner zur Aufkonzentrierung mit Zyklon-Abscheider [Feistel, 2021]

Insbesondere bei den Sprühtürmen darf die Mikrobiologie bei der Prozessführung nicht vernachlässigt werden, um qualitativ hochwertige Trockenextrakt-Zubereitungen zu erhalten. Deswegen sorgen indirekte Uperisationsverfahren für höchste mikrobielle Reinheit bei den Dickextrakten, bevor diese in die Trocknungsanlagen gelangen [Tegtmeier (2017)].

Für Produktionsstätten, die neben der Extraktion auch eine Formgebung von Tabletten oder ähnlichem besitzen, existiert mit der Direktgranulierung eine interessante Variante bei der Herstellung von Trockenextrakten. Bei der Direktgranulierung wird der Dickextrakt, bei einigen Arzneipflanzen auch schon der genuine Flüssigextrakt, unmittelbar den Hilfsstoffen für das Granulat hinzugegeben. Bei diesem Verfahren, das sich bei Eintopf-Granulierern

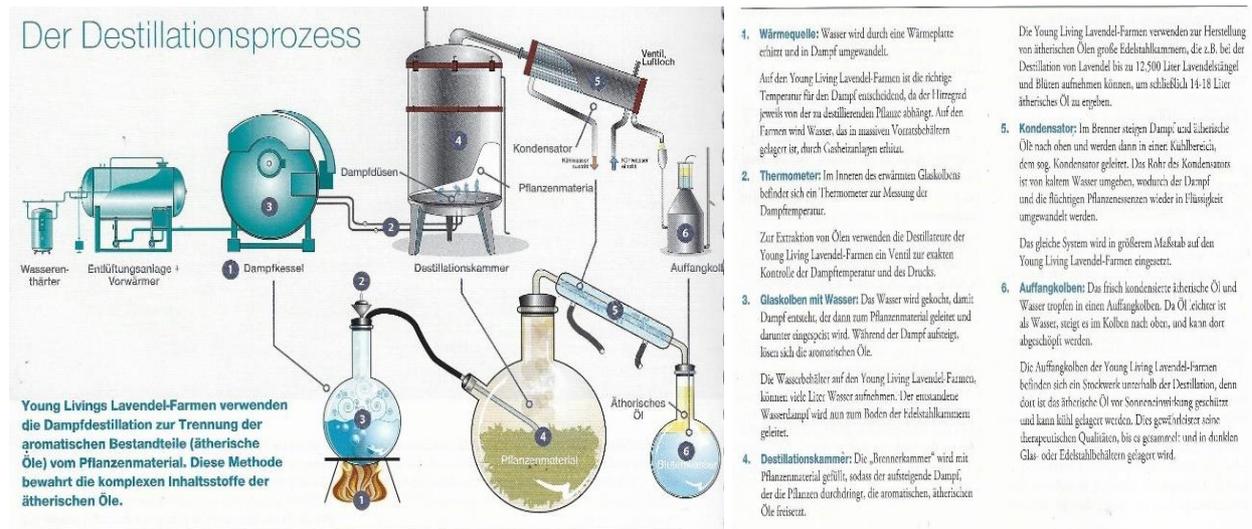
anbietet, übernimmt der Extrakt gewissermaßen die Funktion einer Granulier-Flüssigkeit. Die Technik führt zu sehr hochwertigen Trockenextrakt-Zubereitungen oder (Basis-)Granulaten und bietet sich gerade auch bei Arzneipflanzen und deren Zubereitungen an, die nicht so große Produktionsvolumina erreichen. Neben den Trockenextrakt-Zubereitungen gibt es auch flüssige Extrakt-Zubereitungen, bei denen beispielsweise ein definiertes Droge-Extrakt-Verhältnis (DEV) oder eine Standardisierung (z. B. eingestellter, ethanolischer Süßholzwurzel-Fluidextrakt, Ph. Eur. 8.0/1536) erzielt werden soll. Wiederum wird der genuine Flüssigextrakt als unmittelbares Produkt der Drogenextraktion zunächst zu einem Dickextrakt eingengt, der anschließend meistens mit Ethanol und Wasser auf die gewünschte Zusammensetzung eingestellt wird. Idealerweise entspricht das Lösungsmedium der Fluidextrakt-Zubereitung in seiner Zusammensetzung der des Extraktionsmittels, um die beste Löslichkeit für die Extraktivstoffe zu gewährleisten. Das Ergebnis einer Extraktion ist zunächst immer ein genuiner Flüssigextrakt, unabhängig davon, ob eine Einzel- oder eine Mischextraktion stattfindet. In den meisten Fällen schließt sich eine Konzentrierung zu einem Dickextrakt an, der dann die Grundlage für die Herstellung der finalen Trockenextrakt- oder Fluidextrakt-Zubereitung bildet. Die Auswahl der geeigneten Verdampfer-Technik orientiert sich am Inhaltsstoffspektrum des Extrakts, wobei insbesondere die Thermostabilität und die Löslichkeitseigenschaften der Inhaltsstoffe berücksichtigt werden [Tegtmeier (2017)].

#### 2.4.2 Phytopharmaka-Produktionen in kleineren Chargen-Produktionen

In kleineren Unternehmen der Phytopharmaka-Produktion zum Beispiel zur Herstellung von ätherischen Ölen aus Myrrhe oder Lavendel werden Dampf-Destillen verwendet. Tabelle 2-6 zeigt eine Übersicht von Pharmazien aus Pflanzen. Das Verfahren ist im Fließbild in Abbildung 2-21 schematisch an den verwendeten Apparaten und Einrichtungen im technischen Maßstab (oben) bzw. Labor-Maßstab (unten) gezeigt und im Detail beschrieben.

**Tabelle 2-6:** Pflanzenteile, die zur Destillation ätherischer Öle verwendet werden [Live-Science, 2014]

<b>Blumen</b> Amazonischer Ylang Ylang Ishpingo Jasmin Neroli Patchouli Rose Weißer Lotus Ylang Ylang	Mandarine Orange Schwarzer Pfeffer Tangerine Wacholder Yuzu Zitrone	Elemi Estragon Eukalyptus Blauer Eukalyptus Citriodora Eukalyptus Dives Eukalyptus Globulus Eukalyptus Polybractea Eukalyptus Radiata Eukalyptus Staigeriana Geranie Grüne Minze Idaho Rainfarn Kaffernlimette ( <i>Citrus hystrix</i> ) Kanadisches Berufskraut Kassien Ledum Lemongrass Majoran Manuka Melaleuca Alternifolia (Teebaum) Melaleuca Cajuput Melaleuca Ericifolia Melaleuca Quinquenervia (Niaouli) Melisse Myrte Narde Ocotea Oregano	Palmarosa Petitgrain Pfefferminze Plectranthus Oregano Ravintsara Rosmarin Ruta Salbei Spanischer Salbei Strauchminze Thymian Vitex Wacholder Wintergrün Ysop Zistrose Zitronella Zitronenmyrte	Muskat Sellerisesamen  <b>Holz/Rinde/ Zweige/Nadeln</b> Balsamtanne (Idaho) Blaue Zypresse Blaufichte (Idaho) Colorado-Tanne Douglasie Fichte Gelbkiefer (Idaho) Hinoki Hong Kuai ( <i>Chamaecyparis formosensis</i> ) Kiefer Manuka Palo Santo (heiliges Holz) Rosenholz Sandelholz Schmuckzypresse Tsuga Western Red Cedar (Lebensbaum) Zeder Zedernholz Zimtkassia Zimtrinde Zitronenmyrte Zypresse
<b>Blütenspitzen</b> Davana Echte Kamille Gemeine Scharfgarbe Geranie Gewürznelke (Knospe und Stängel) Goldrute Hybrid-Lavendel Lavendel Ledum Muskatellersalbei Rainfarn Römische Kamille Strohblume	<b>Gräser</b> Xiang Mao (Zitronengras) ( <i>Cymbopogon citratus</i> )  <b>Gummi/Harz</b> Benzoeharz Copaibabalsam Elemi Frankincense Galbanharz Heiliger Weihrauch Myrrhe Somalischer Weihrauch Süße Myrrhe ( <i>Commiphora erythraea</i> )  <b>Blätter/Stiele</b> Basilikum Berg-Bohnenkraut Cistus Hystrix/ Combava Dill Dorado Azul Echter Lorbeer (Bay Laurel)	<b>Wurzel</b> Baldrian Beifuß Engelwurz Ingwer Kalmus Narde Patchouli Vetivergras  <b>Samen</b> Anis Kardamom Karottensamen Kreuzkümmel		



**Abbildung 2-21:** Phytopharmaka-Herstellung im Labor- und Technikums-Maßstab [Live-Science, 2014]

Ein übliches Herstellverfahren im Chargenbetrieb nach Scharr [2021] sieht etwa wie folgt aus:

- ❖ 30 bis 40 kg (gemahlenes/geschnittenes) Pflanzenmaterial wird in einem 100 Liter Ethanol-Wasser-Gemisch (60 % Alkohol 96,3-prozentig) suspendiert und vermischt.
- ❖ Nach 14 Tagen wird die Pflanzenmaische als Rückstand der Extraktion (bei der Phytopharmaka-Produktion als „Droge“ bezeichnet) in der Brennblase (Destille) abdestilliert, so dass Ethylalkohol mit den Aromabestandteilen (die ätherischen Öle des Bröden) über einen Rückflusskühler aufgefangen werden können.
- ❖ In der Brennblase bleibt die Pflanzenmaische noch pumpfähig zurück. Sie wird über einen „Vibrationsteller“ entwässert. Der Pflanzenmaische-Stoffauflauf wird in einem Abfall-Container gesammelt und entsorgt.

In den nachfolgenden Abbildungen 2-22 a bis c sind mazerisierte Pflanzenteile gezeigt. In Abbildung 2-23 a und b ist die Entwässerungsanlage, vor der die Bio-Fishing-Anlage ihren Platz finden würde, gezeigt sowie der abfiltrierte Rückstand im Container zur Entsorgung.



**Abbildung 2-22:** Apfelsinenschalen (a) – Ingwerwurzeln (b) – Blutwurzeln (c) zum Abdestillieren bereitgestellt [Scharr, 2021]



**Abbildung 2-23:** (a) Entwässerungsanlage (Vibrationsfilter) + (b) Schlempe nach Entfeuchtung [Scharr, 2021]

#### 2.4.3 Nebenprodukte bei der Phytopharmaka-Produktion: Mangan-Gewinnung aus Bioabfällen

Aus den obigen Ausführungen geht noch nicht hervor, welche Nebenprodukte respektive Abfälle konkret anfallen, die einer Bio-Fishing-Anlage zugeführt werden könnten. Es ist davon auszugehen, dass es sich nahezu ausschließlich um Stoffströme handelt, die als Abfälle entsorgt werden (ausgenommen könnte davon eventuell sein, dass feuchte Abluft, insbesondere die, die den Zyklonen zur Abluftreinigung zugeführt werden, über einen Biofilter aus kugeligen Trägermaterialien mit immobilisierten Chelatoren geleitet werden könnten; siehe dazu Abb. 2-20b).

Bioabfälle sind in der Bioabfallverordnung [BioAbfV 2017] definiert: Abfälle tierischer oder pflanzlicher Herkunft oder aus Pilzmaterialien zur Verwertung, die durch Mikroorganismen, bodenbürtige Lebewesen oder Enzyme abgebaut werden können, einschließlich Abfälle zur Verwertung mit hohem organischen Anteil tierischer oder pflanzlicher Herkunft oder an Pilzmaterialien. Zu den Bioabfällen gehören somit auch alle Abfälle aus der Phytopharmaka-Produktion (Abfallschlüssel-Nr. 07-05-xx).

Vor der Extraktion der Wirkstoffe aus dem Ginkgo-Blatt werden nach dem Pressen/Mahlen der Blätter lipophile Lösungsmittel, wie Aceton oder Ethanol, den Pflanzenfasern unter Anwärmen der Pflanzenmaische untergemischt. Nach Zugabe eines Fällungsmittels werden die Pflanzenfasern über Dekanter vom Extrakt abgetrennt und anschließend über eine Trockner-Kaskade zu einer „klebrigen“ Masse aufkonzentriert (s. dazu Patente der Firma SCHWABE im Literaturverzeichnis unter Schwabe [(2019): EP 000003831214 A1 sowie (1989): DE 0000039 40094 C2]. Aus dem Dekanter werden die im Lösungsmittel aufgefangenen Extrakte abgeführt und die Brüden aus der Trocknung kondensiert, die ebenfalls noch Lösungsmittel und die Extraktstoffe enthalten. Bei dem pastösen, Chlorophyll-haltigen Abfall aus dem Fällungsprozess bei der Ginkgo-Extraktion (s. Abb. 2-24) handelt es sich um einen „speziellen“ Bioabfall, der unter Abfallschlüssel-Nr. 07 05 99 geführt wird (Bei der AVV 07 05 99 handelt es sich um „Abfälle a. n. g.“, worunter zu verstehen ist, dass sie aus organisch-chemischen Prozessen und der Unterkategorie „05“ Abfälle aus der Herstellung, Zubereitung, Vertrieb und

Anwendung (HZVA) von Pharmazeutika entstanden sind, die keinem Material der Unterkategorie 07 05 ansonsten unterzuordnen sind).



**Abbildung 2-24:** Chlorophyll-haltiger Schlamm nach der Ginkgo-Extraktion [Schlegel, 2021]

#### **2.4.4 Aspekte der Nutzung von Abfall-Stoffströmen aus der Phytopharmaka-Produktion zur Mangangewinnung**

Bei der Phytopharmaka-Produktion können die ansonsten nicht mehr nutzbaren Rückstände/Abfälle nach der Extraktion Verwendung finden, die allerdings noch Extraktionsmittel – wenn auch nur zum Teil in Spuren – enthalten. Bei ätherischen Ölen/Extrakten, die wie in Abbildung 2-21 gezeigt, mit Wasserdampf extrahiert werden, liegen die Pflanzenmaischnen feucht vor, müssten allerdings mazeriert werden, sofern das nicht vor der Wasserdampf-Destillation zur Erhöhung der Oberflächen geschehen ist.

Pflanzen-Extrakte werden oft auch über 50 % Ethanol / 50 % Wasser-Gemische extrahiert: hier ist meistens der Alkohol bis zum Ende des Prozesses abdestilliert, der Rest verdunstet. Aus den obigen Ausführungen geht hervor, dass insbesondere bei den (kleineren) Chargenanlagen die Bio-Fishing-Anlage zwischen den Prozess der Abdestillation und der nachfolgenden Entwässerung eingebunden werden kann, solange die Pflanzenmaischnen noch pumpfähig ist.

Speziell sind folgende Abfälle zu nennen, aus denen mit dem Bio-Fishing-Verfahren Mangan aus Pflanzenmaischnen zurückgewonnen werden könnte:

1. Eukalyptus (*Eucalyptus grandis*): wird zur Gewinnung von Eukalyptus-Aromen in die Ölphase extrahiert; immerhin 14.000 ppm Mangan stehen zur Verfügung. Aus einer Charge mit 40 kg können somit rund 560 g Mangan gewonnen werden.
2. Knöterich (*Polygonum tinctorium*): eine wässrige Extraktion zur Gewinnung von Indigo (Vorstufe Indican) ist großtechnisch beschrieben [Biertümpfel et al., 2021]: immerhin 11.000 ppm Mangan können theoretisch gewonnen werden. Auch hier sind 440 kg pro Charge an Mangan zu gewinnen.
3. Chlorophyll-reicher Abfallschlamm nach dem Ginkgo-Extraktionsprozess [Waimer, 2021]: hierzu konnten keine Mangan-Gehalte gefunden werden; sie dürften jedoch in der gleichen Größenordnung wie die beiden anderen Pflanzen im Blatt vorliegen; jedoch in wesentlich höherer Konzentration, da es sich um ein Chlorophyll-haltiges Konzentrat handelt, das zur Mangan-Gewinnung genutzt werden könnte. Allerdings müsste man es mit Aceton wieder verflüssigen, um den Bio-Fishing-Prozess ablaufen lassen zu können.

### 3 Verfahrensprinzip und Anlagen-Design einer Mangan-Fishing-Anlage

Bei den Recherchen zum Potenzial der Gewinnung von Mangan aus Pflanzenmaischen hat sich sehr bald herausgestellt, dass es enorme Potenziale für die Mangan-Gewinnung gibt, dass jedoch das neue Verfahren des Bio-Fishings mit immobilisierten Mangan-spezifischen Chelatoren auf magnetischen Trägermaterialien etlicher Schritte noch benötigt, um es technisch umzusetzen.

Der Fokus dieser Machbarkeitsstudie wurde deshalb auf die technische Komponente gelegt und die Planung einer Pilot- respektive Demonstrationsanlage gelegt, weil diese als der Flaschenhals der Umsetzung dieses Bio-Mining-Ansatzes gesehen wird.

#### 3.1 Verfahrensprinzip

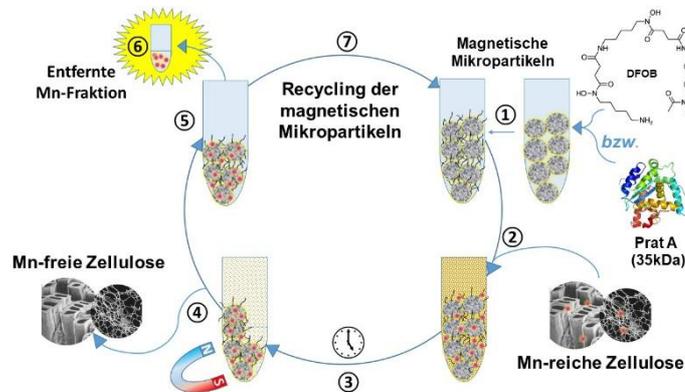
Bionisch vor Jahren entwickelte Idee des Verfassers war es angestoßen von Dr. Ulrich Maurer (Referat 53 Umweltministerium Baden-Württemberg) im Jahr 2007 gewesen, mit natürlichen Mangan-Chelatoren aus dem Zellstoff-Auflauf in der Papier-Produktion Mangan zu „fischen“, um den Einsatz von EDTA vor dem Bleichen zu substituieren bzw. zu minimieren. Aufgrund der aktuellen Ausschreibung des Bio-Mining Projektes des Umweltministeriums Baden-Württemberg [UM-BW, 2020] wurde diese „Idee“, die Niederschlag in diversen studentischen Arbeiten und schließlich in einer peer-reviewed Publikation des Verfassers [Kunz et al.; 2020] gefunden hatte, auf bereits angemischte Pflanzenbreie – wie sie beispielsweise in Gärresten und den pflanzlichen Rückständen bei der Phytopharmaka-Produktion – erweitert. Bei der Bearbeitung des Projektes haben sich ungeahnte Perspektiven für die Mangan-Gewinnung aus Pflanzen aufgetan: zum einen sind die Perspektiven, aus Kochlaugen der Zellstoff-Produktion Mangan abzutrennen hochspannend, zum anderen ergab sich bei den vielfältigen Gesprächen mit Vertretern der Phytopharmaka-Produktion (allen voran: Prof. Dr. Tegtmeier SCHAPER & BRÜMMER, Clausthal-Zellerfeld), dass aus bestimmten Gründen Chlorophyll vor einer Verarbeitung der Pflanzen abgetrennt werden oder wie bei der Phytopharmaka-Produktion aus Ginkgo aufkonzentriert wird (siehe Abschnitt 2.4).

Das publizierte Verfahrensprinzip [Kunz et al.; 2020] sieht wie in Abbildung 3.1 dargestellt folgendermaßen aus:

- Magnetische kugelige Trägermaterialien (MT), an denen die Mangan-Chelatoren (MTC) hängen, werden in die Pflanzenmaische mit hinreichender Kontaktzeit eingemischt, um die immobilisierten Chelatoren (C) – siehe Abschnitt 1.7.1 – mit dem Mangan in den Pflanzenfasern in Kontakt zu bringen.
- Die Maischen werden im Ablauf des Mischgefäßes an einem Magnet-Abscheider vorbeigeführt, um die mit dem Mangan angereicherten Trägermaterialien (Mn-MTC) zu separieren.
- Das Mangan (Mn) wird danach aus dem Komplex (Mn-MTC) abgetrennt und aufkonzentriert, während die Trägermaterialien (MTC) wieder der nächsten Charge von Pflanzenmaischen zugeführt werden.
- Das Mangan wird von Eisen-Ionen und anderen Spuren-Elementen aufgereinigt, sofern dies die jeweilige Nutzung erforderlich macht.

Abbildung 3-1 stellt die innovative Idee grafisch dar, die hinter der Entmanganung von Pflanzenmaischen steckt. Die natürlichen Mangan-Chelatoren (wie in Abschnitt 1.7.1 beschrieben Siderophore wie DFOB bzw. Prata) werden auf magnetische Trägermaterialien (MT), beispielsweise EDC-aktivierte magnetische Mikropartikeln der Firma PERKINELMER oder magnetische Kugeln der Firma HOLLAND MINERAAL, immobilisiert (1). Anschließend werden die Mangan-Chelatoren-(MTC) in die Maischen eingerührt (2), wo sie darin das Mangan

komplexieren. Das Mangan (Mn) wird von den Mn-Chelatoren (MTC) komplex gebunden (Mn-MTC) über konventionelle Magnet-Abscheider herausgefischt (3), an denen die Mischen vorbeiströmen. Als letzter Schritt wird das Mangan von den Mn-Chelatoren (MTC) getrennt (5) und nach dem Aufkonzentrieren (6) als Produkt vermarktet. Die zurückgebliebenen Mn-Chelatoren (MTC) stehen für einen nächsten Entmanganungszyklus zur Verfügung (7).



**Abbildung 3-1:** Schema des Mangan-Fishings [Kunz et al., 2020]

Wesentliche Elemente dieses Verfahrens, wie die Immobilisierung von Chelatoren auf Trägermaterialien bzw. die (Rück-)Gewinnung von Mangan aus dem Mangan-Komplex der Mn-MTC, sind in den Abschnitten 1.8 und 1.9 beschrieben. Im Folgenden werden wichtige Anlagenbaugruppen inhaltlich gewürdigt, die das Verfahren des Bio-Fishings so besonders machen.

### 3.1.1 Magnetabscheidung

Eine sehr frühe Idee des biologischen Entrostens [Kunz et al., 1994] war es gewesen, den Chelator Ferrioxamin (FOB bzw. FOE) magnetisch abzuscheiden, weil der „Vater“ des Desferal® Prof. Dr. Zähler von der Universität Tübingen entsprechende Hinweise gegeben hatte, dass das Ferrioxamin ein magnetisches Moment aufweist, wodurch der Fe-Komplex FOB bzw. FOE von den noch nicht verbrauchten Chelatoren Desferrioxamin (DFOB bzw. DFOE) einfach getrennt werden könnten.

Die magnetischen Eigenschaften von Stoffen werden in paramagnetisch und diamagnetisch unterschieden. Paramagnetisch sind Stoffe, die in einem Magnetfeld zu den Polen hin angezogen werden. Diamagnetisch sind Stoffe, die für magnetische Felder durchlässig sind und somit keine äußere Kraft im Magnetfeld auf sie ausgeübt wird. Darüber hinaus besitzen einige Stoffe (z. B. Dipole) auch noch ein magnetisches Moment, d. h. sie erfahren in einem Magnetfeld eine Ausrichtung ähnlich einer Kompassnadel. Träumer [1996] konnte in einer studentischen Arbeit zeigen, dass die Ferrioxamine zwar diamagnetisch sind, aber sich nicht in einem Magnetfeld zu den Polen hinbewegen, um abgeschieden werden zu können. Es mussten also magnetische Trägermaterialien für das Bio-Fishing von Metallen gefunden werden.

Bei der Magnettrennung oder Magnetscheidung handelt es sich um ein mechanisches Trennverfahren. Die Trennwirkung beruht auf der unterschiedlichen Magnetisierbarkeit der verschiedenen Stoffe, wobei die magnetisierbaren Substanzen von einem Magneten angezogen und in eine andere Richtung gelenkt werden als die nicht magnetisierbaren Stoffe. Ein Magnetscheider trennt also ferromagnetische Substanzen von nicht ferromagnetischen Materialien ab. Beispielsweise läuft der Materialstrom auf einem Förderband unter dem

Magneten hindurch (siehe Abb. 3.2) oder über eine Magnet-Trommel (siehe Abb. 3.3), wodurch die ferromagnetischen Substanzen aus dem Stoffstrom herausgehoben oder an die Trommel-Oberfläche gebunden werden. Abbildung 3-2 zeigt über einem Maische-Auflauf-Band den quer endlos herüberfahrenden Magnetabscheider.



**Abbildung 3-2:** Förderband mit darüber befindlichem Magnet-Abscheider-System (MAGNET-PROFIS, Dinkelscherben)



**Abbildung 3-3:** Trommelmagnet-Abscheider. Prinzip-Schaubild (links) Foto einer Anlage (rechts) (ERIETZ, Recklinghausen)

### 3.1.2 Mischen mit dem Oloid-System

Das Oloid wird zum Mischen von Flüssigkeiten bzw. Einmischen von suspendierten Stoffen in eine durchaus höherviskose Flüssigkeit eingesetzt. Die Bewegung fasziniert jeden Betrachter. Der Erfinder Paul Schatz hatte der Natur nachempfunden in den 1930er Jahren einen Schiffsantrieb entwickelt, 1969 wurde das Prinzip als Inversionsmischung bezeichnet und für das Mischen von Medikamenten und von Lebensmitteln innerhalb des Körpers patentiert. Abbildung 3-4 zeigt den Vorstand Thomas Langscheid vor einem Oloid. Das Oloid erzeugt nach vorne Wellen, ungefähr in 60 Grad Winkelbreite, im gleichen Winkel auch nach unten; zugleich entsteht ein Vortrieb sowie ein Sog, der in der Tiefe eines Behälters Teilchen aufwirbelt und in einer Wasserwalze nach oben zieht. Mittels dieser direkten Wirkungen entsteht in geschlossenen Behältern ein gründlicher Mischeffekt. Zwei Arten von Wirbelimpulsen, die durch die Bewegung im rhythmischen Wechsel, links, rechts, an Flüssigkeiten abgegeben werden plus den Beschleunigungswechsel, der für einen sich regelmäßig umkehrenden Sog sorgt. Die Paul-Schatz-Stiftung in Basel betreibt dort ein Laboratorium, das Kunst, Wissenschaft und Pädagogisches verbindet.



**Abbildung 3-4:** Oloid 600 als eigenständiges Mischgefäß/ Extraktionsbehälter (Bildquelle: Paul Schatz Stiftung, Basel [Inversionstechnik GmbH, Basel])

Über Rudolf Steiners Anregung zum Denken in fließenden Begriffen und das Phänomen der Metamorphose fand Paul Schatz mittels „formfühlendes Gewahr Werdens“ 1929 das Oloid; ausgehend von Würfelsymmetrien und der daraus abgeleiteten Aufteilung und Umstülpung des Würfels ergaben sich neue Formen, aus deren Rhythmik neuartige Bewegungsimpulse: statt verlagernd oder rotierend taumelnde Achterschleifen findet ein gegenläufiges Kreisen und Pulsieren statt, die als „Inversion“ bezeichnet wird: Taumelbewegungen erzeugen im Innenmischer „Turbula“ (Marti, 1994).

Auffallend an der Wirksamkeit der rhythmisch arbeitenden Maschinen – im Gegensatz zu taktmäßigen Maschinen – ist, dass laufend der geometrische Ort in allen drei Dimensionen und damit die Geschwindigkeit und die Drehrichtung wechselt. Tabelle 3.1 gibt die geometrischen Verhältnisse wider, die ein Oloid zu anderen Behälterformen aufweist.

**Tabelle 3.1:** Oloid im Vergleich [Oloid-Solutions {2021}]

Parameter	Kugel	OLOID	Würfel	Zylinder
Radius r [m]	2,00	2,00		2,00
Kantenlänge a [m]			4,00	
Höhe h [m]				4,00
Volumen [m <sup>3</sup> ]	33,51	24,40	64,00	50,27
Oberfläche [m <sup>2</sup> ]	50,27	50,27	96,00	75,40
Abgerollte Oberfläche [m <sup>2</sup> ]		50,27	64,00	50,27
Umfang [m]	12,57			
Koeffizient: Oberfläche/Abgerollte Oberfläche []*	4,00	1,00	1,50	1,50

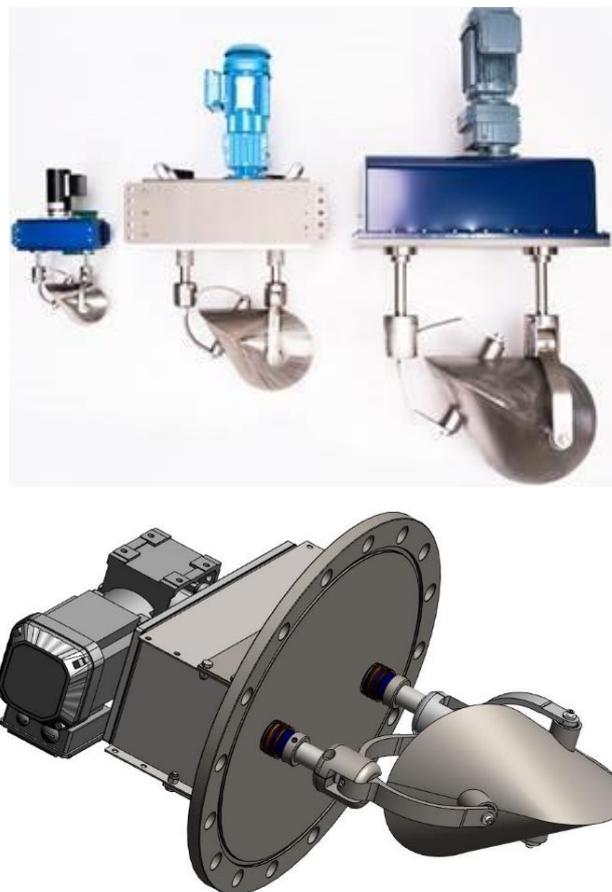
\*Dimensionslos bis auf die Kugel, bei der der Koeffizient Umfang/Oberfläche [1/m] angegeben ist.

Die Apparatur verbraucht weniger Energie (40 bis 90%, Schieblich [2021]) als herkömmliche Mischeinrichtungen und verletzt – vor allem – die sensiblen biologischen Zellstrukturen in Pflanzenmaischnen nicht, so dass sich während des Mischprozesses die Viskosität nicht ändert. Die geringere Energieaufnahme leuchtet ein, wenn man sich fragt, weshalb Fische keine Propeller haben, sondern sich über Impulse der Flossen bewegen. Physikalische Erläuterungen dazu sind [Schieblich, 2021]:

✧ ein kleiner Rührkörper ist besser als ein großer (Trägheit und weniger Widerstand)

- ✧ die Rührer-Oberfläche wird vollständig beim Oloid ausgenutzt, zeitversetzt im Vergleich zum Propeller (ca. 50 % je nach Propeller-Vorschub bzw. saugseitig)
- ✧ die relevante Fläche vor dem Oloid ist größer als beim Propeller – Impulse bewirken ein Mitnehmen von mehr Flüssigkeit
- ✧ Geringere Drehmomente (weniger Drehzahl mit hohem Effekt hat weniger Widerstand und demzufolge weniger Energieverbrauch)
- ✧ Bei Installation im Behälter von unten wird jedes Teilchen im Behälter durch die erzeugte Strömung erfasst und es entsteht eine horizontale Rundströmung und zeitgleich eine vertikale Durchmischung durch entstehende Strudel und die Impulse vom Rührwerk, welche von der Tankwand nach oben geleitet werden. Mittels dieser direkten Wirkungen entsteht in geschlossenen Behältern ein vollständiger Mischeffekt (volldurchmischer Reaktor).
- ✧ Zwei Arten von Wirbelimpulsen, die durch die Bewegung im rhythmischen Wechsel, links, rechts, an Flüssigkeiten abgegeben werden plus den Beschleunigungswechsel, der für einen sich regelmäßig umkehrenden Sog sorgt, sind verantwortlich für den geringeren Energieverbrauch.

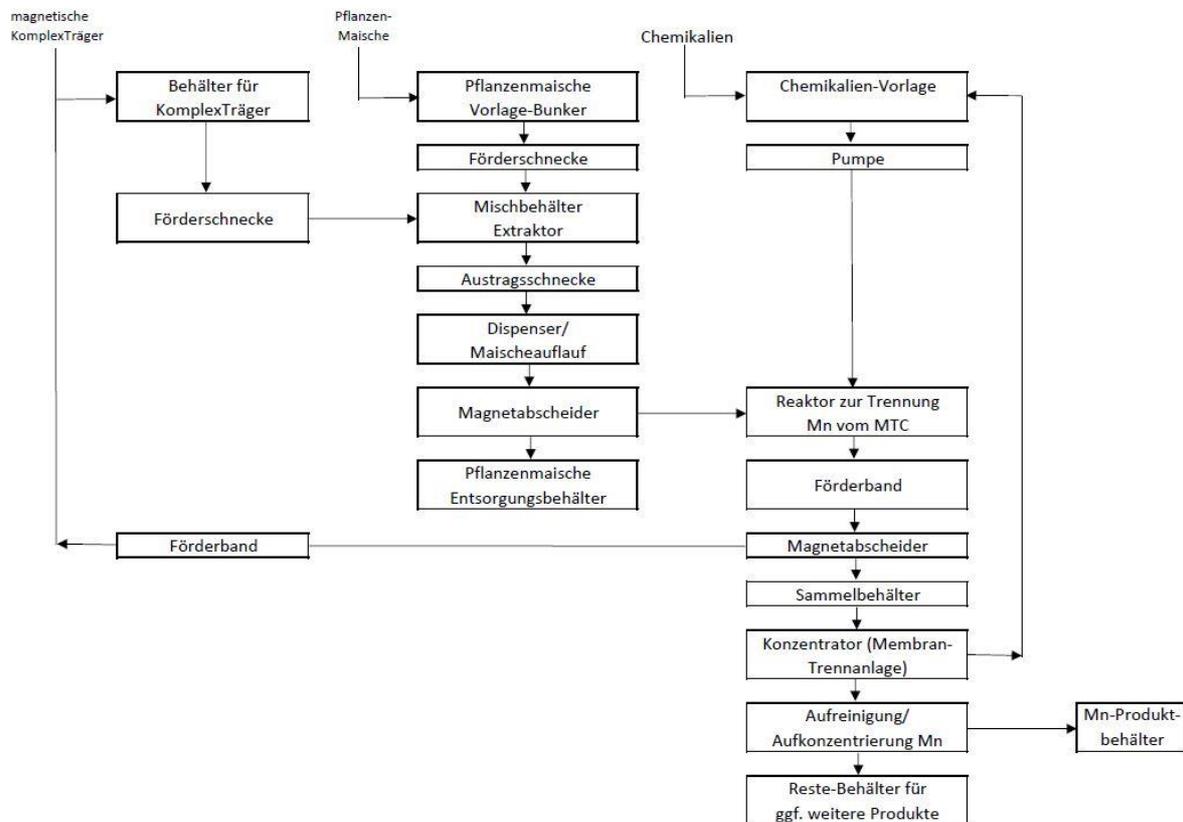
Da es sich bei Pflanzenmaischnen um heterogene Suspensionen handelt (ähnlich dem Malzschnen nach dem Einmaischnen im Brauprozess) bietet sich für die Anlagentechnik ein Oloid-Mischer an, der eine intensivere Vermischung von MTC und Pflanzenmaischnen als herkömmliche Mischer mit Rührern ermöglicht; insbesondere weil auch keine Scherkräfte entstehen. Der innovative Oloid-Mischer hat sich beim Maischnen in der Brauerei Holzhausen in Holzhausen-Igling bewährt (siehe Abb. 3-5).



**Abbildung 3-5:** Oloid-Baugrößen (oben) und Oloid-als Mischer im Behälter (Fotos Eric Schieblich, OLOID Leipzig [Schieblich, 2021])

### 3.2 Anlagendesign (Blockverfahrensfließbild)

Für eine technische Umsetzung wurde das in Abbildung 3-6 wiedergegebene Blockverfahrensfließbild entwickelt.



**Abbildung 3-6:** Blockverfahrensfließbild für die Bio-Fishing-Anlage für die Mangan-Abtrennung aus Pflanzenmaischnen mittels magnetischer Trägermaterialien über Magnetabscheider.

Aus jeweils einem Vorlagebehälter werden die MTC und Pflanzenmaischnen über Förderschnecken einem „Extraktor“ zugeführt. Da es sich bei den Pflanzenmaischnen um heterogene Suspensionen handelt (ähnlich dem Malzschrot nach dem Einmaischnen im Brauprozess) wurde für die hier vorliegende Aufgabe ein Oloid-Mischer ausgewählt, der eine intensivere Vermischung von MTC und Pflanzenmaischnen ermöglicht. Der innovative Oloid-Mischer hat sich beim Maischnen in der Brauerei Holzhausen in Holzhausen-Igling bewährt (siehe Abb. 3-5).



**Abbildung 3-7:** Förderschnecke (m-tec.gmbh, Neuenburg)

Für die Abscheidung der magnetischen Mikropartikel wurde ein offenes Verfahren gewählt, bei dem die Magnete, wie in Abbildung 3-6 gezeigt, über einem Maische-Auflauf-Band quer endlos herüberfahren. Ein Beispiel für einen Schneckenförderer zeigt Abbildung 3-7.

### 3.3 Kosten-Ermittlungen Chemie & Anlagentechnik

Neben den Kosten für den Anlagenbau der Bio-Fishing-Anlage (siehe Abschnitt 3.3.1) sind die Betriebskosten für den Anlagenbetrieb (siehe Abschnitt 3.3.2) und die Separierung von Mangan von den MTC (siehe Abschnitt 3.3.3) zu ermitteln gewesen. Hinzu kommen die Herstellkosten für die MTC (siehe Abschnitt 3.3.4).

Angesichts des bisherigen Stands des Wissens um den Bio-Fishing-Prozess für Mangan wurde nach vielfältigen Hin- und Her-Überlegungen die Kostenermittlung für eine Anlage im Pilot-Maßstab für den täglichen Durchsatz von  $1 \text{ m}^3$  Pflanzenmaische mit gerundet 1 Tonne (genauer wäre ein Raumgewicht von  $1.040 \text{ kg/m}^3$  [Quelle: Wissenschaftliche Dienste am Deutschen Bundestag: WD 8 - 3000 - 014/17 (23.03.2017)] gewählt.

Hintergrund für diesen Ansatz ist, dass Ablaugen aus der Zellstoff-Industrie oder Silagesicker-säfte eine Dichte von nahezu „1“ aufweisen und beispielsweise Pflanzenmaischen, die aus der Phytopharmaka-Produktion anfallen und in die Landwirtschaft gehen mit einem hygienisch einwandfreien Prozessabwasser verdünnt werden müssten, um ausreichend hohe Vermischungsgrade & kurze Kontaktzeiten zu erreichen.

Außerdem kommen auch andere Substanzen, wie Seltene Erden, in Betracht nach dem Prinzip Bio-Fishing aus geeigneten Substraten/Flüssigkeiten herausgefischt zu werden.

#### 3.3.1 Kosten für den Anlagenbau

Entsprechend der Nummerierungen in Abbildung 3-8 wurden in Tabelle 3-2 die Spezifikationen und ungefähren Beschaffungsausgaben für die Anlagenteile zusammengestellt.

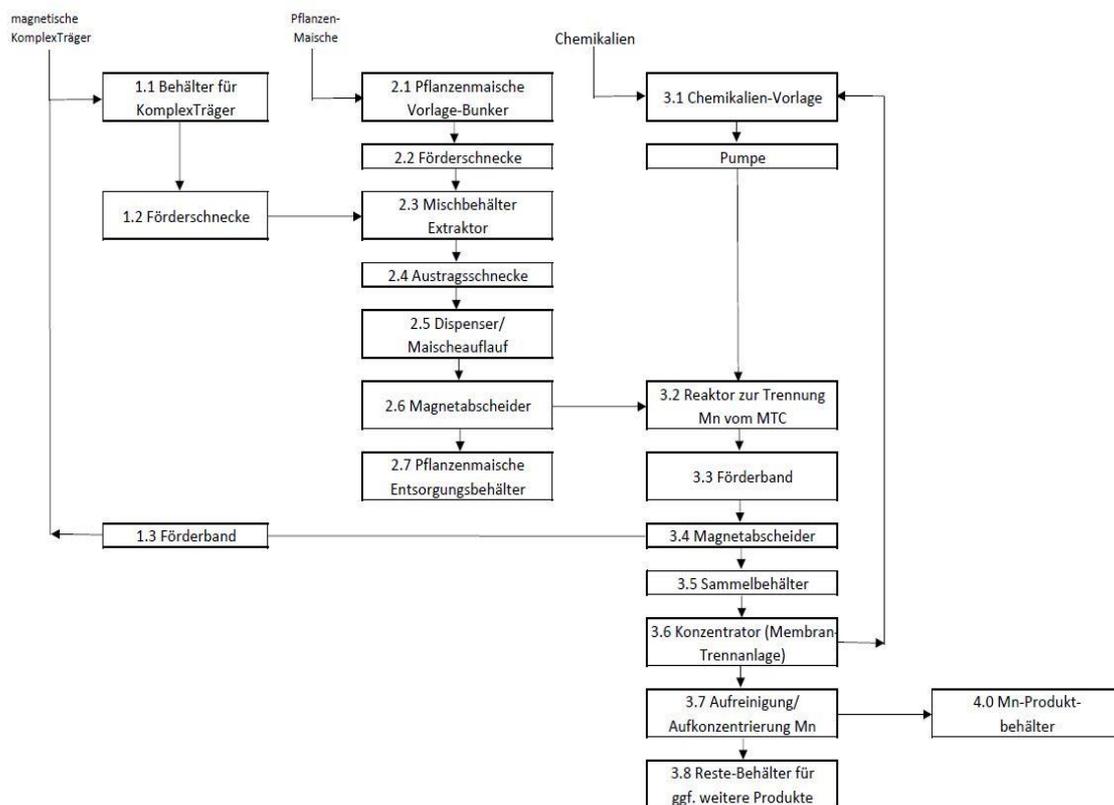


Abbildung 3-8: Blockverfahrensfließbild (nummeriert) zu Tabelle 3.1

**Tabelle 3-2:** Spezifikation der Anlagenelemente für magnetische Strahlkörper (Zahlen geschätzt von Cordes [2021], Helle [2021], Kleiser [2021], Schieblich [2021])

Anlage Nr.	Bezeichnung	Größe	Preis (€)	Bemerkungen
1.1	Silo-Behälter	1,5 m <sup>3</sup>	3.500-	
1.2	Förderschnecke	1,5 m <sup>3</sup> /h	5.000-	
1.3	Förderband	1,5 m <sup>3</sup> /h	1.500-	
2.1	Silo-Behälter	5 m <sup>3</sup>	7.000-	
2.2	Förderschnecke	1,5 m <sup>3</sup> /h	5.000-	
2.3	Oloid-Mischbehälter	1,5 m <sup>3</sup>	3.500-	
2.4	Förderschnecke	1,5 m <sup>3</sup> /h	5.000-	
2.5	Förderband	1,5 m <sup>3</sup> /h	1.500-	
2.6	Magnetabscheider	1	3.300-	
2.7	Silo-Behälter	5 m <sup>3</sup>	7.000-	
3.1	Vorlage-Behälter	1 m <sup>3</sup>	1.000	EBC-Behälter
3.2	Rührreaktor Oloid 400	2,0 m <sup>3</sup>	9.000-	Oloid200 im Rührbehälter
3.3	Förderband	1,5 m <sup>3</sup> /h	1.500-	
3.4	Magnetabscheider	1	3.300-	
3.5	Sammeltank	2,5 m <sup>3</sup>	3.000-	
3.6	Konzentrator	1	20.000	Membran-Trennanlage
3.7	Aufreinigungsanlage	1	20.000	Mangan-Eisen-Trennung
4.0	Fass-Behälter	0,1 m <sup>3</sup>	1.000	
5.0	Anlagen-Equipment	1	35.000	Kleinteile, Pumpen, Rohre, Steuerungen,
6.0	Aufbau der Anlage	1	15.000	
Summe	Gesamtanlage		151.100	

Eine Pilot-Anlage für das Bio-Fishing von Mangan kostet schätzungsweise rund 150.000 €. Hinzu kommen Engineering-Kosten, wenn für die Detailplanung ein professionelles Anlagenbau-Unternehmen eingesetzt werden soll (i.a. werden 20% der Kosten der Gesamtanlage angesetzt).

### 3.3.2 Betriebskosten Anlagenbetrieb

Die Pilotanlage wird mindestens 3 Monate in Betrieb sein. Sie ist als Chargen-Anlage konzipiert, die von einem einzigen Techniker betrieben werden kann:

- ✧ Personalkosten werden pro Monat auf 5.000 € geschätzt.
- ✧ Pro Monat werden 2.000 € an Betriebskosten geschätzt.
- ✧ Mieten werden keine angesetzt.

### 3.3.3 Betriebskosten für die Separierung von Mangan von den Mn-MTC

Für die Separierung & Aufreinigung des Mangan von den Mn-MTC und von anderen Metallen wie Eisen, die von den Chelatoren ebenfalls aus den Pflanzenmaischen entfernt werden, entstehen im Wesentlichen Chemikalienkosten für die Natronlauge sowie für den Betrieb der Membrananlage (Antiscalcing-Mittel, Membran-Reinigungsmittel) plus die Aufreinigung bzw. Separierung von Eisen neben dem Mangan. Es wird davon ausgegangen, dass über einen pH-Shift Mangan + Eisen von den MTC separat getrennt werden können und die MTC über den Magnetabscheider „entwässert“ werden, so dass sie im Behälter (1.1) unter

geringem Chemikalienverbrauch auf den erforderlichen pH-Wert des Prozesses eingestellt werden können.

Die Konzentrierung (3.6) und Aufreinigung (3.7) zur Abtrennung unerwünschter Bestandteile bzw. Separierung von Mangan + Eisen umfasst die Schritte:

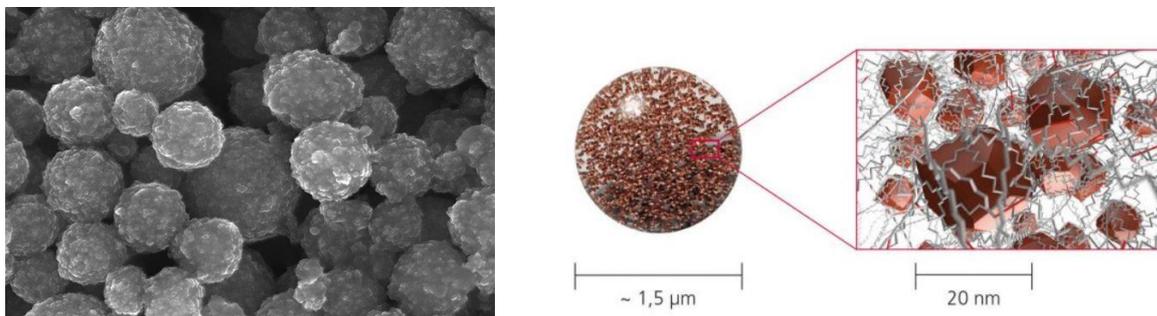
- ✧ Mikrofiltration mit einer Keramik-Membran (ggf. wird der Sammelbehälter 3.5 belüftet, um aus Mangan(II)hydroxid Manganoxid zu produzieren).
- ✧ Selektiv-Fällung zur Trennung von Mangan + Eisen sowie anderen Begleitstoffen mit Filtration über ein Filterband-System).

### 3.3.4 Herstellkosten für die MTC (magnetische Trägermaterialien mit immobilisierten Chelatoren)

Für die Immobilisierung von Desferrioxamin B (DFOB) bzw. Desferrioxamin E (DFOE) auf magnetische Trägermaterialien wurden zwei Varianten ausgearbeitet. Die eine basiert auf dem im Labormaßstab erprobten Verfahren mit den „Magnetic Beads“ der Firma PERKIN-ELMER (die Standard-Verfahrensvorschrift SOP dazu findet sich im Anhang), die andere auf einfachste, annähernd runde magnetische Trägermaterialien, wie sie beim Sandstrahlen eingesetzt werden.

#### Magnetic Beads M-PVA C22 (PERKIN-ELMER)

Für die Immobilisierung werden superparamagnetische Magnetit-Partikel (M-PVA C22 Magnetit-Partikel) verwendet, die aus einer Matrix aus Polyvinylalkohol bestehen und für eine Bindung mit Proteinen oder Siderophoren entsprechend an der Oberfläche carboxyliert werden (siehe Abb. 3-9). Die Partikel haben eine polydisperse Größenverteilung (1 – 3 µm Ø).



**Abbildung 3-9:** Magnetic Beads stark vergrößert [PerkinElmer, 2021]

Im Prinzip sind sie gut für den Anwendungsfall geeignet, insbesondere dort, wo die Pflanzensamen bei höheren Temperaturen anfallen, wie bei Schwarzlaugen oder in der Phytopharmaka-Produktion. Als Eigenschaften der M-PVA Magnetic Beads [PerkinElmer, 2021] werden genannt:

- Hoher Magnetit-Gehalt für schnelle magnetische Trennung auch aus großen Probenvolumina
- Polydisperse Partikel für eine gleichmäßige Reproduzierbarkeit der magnetischen Trennung
- µm große Beads bieten eine hohe aktive Oberfläche pro Volumen und ermöglichen eine effiziente Anpassung an spezifische Anwendungen
- Mechanische Robustheit ermöglicht unterschiedliche Verarbeitungsarten und erleichtert den automatisierten Einsatz
- Chemische Funktionalisierung der Matrix mit verschiedenen Modifikationen für hohe und spezifische Bindungskapazität

- Hydrophilie der PVA-Oberfläche, was zu geringer unspezifischer Proteinbindung führt
- Hohe thermische Stabilität ermöglicht eine einfache Sterilisation durch Autoklavieren

Die Firma Perkin-Elmer [2021] gibt dazu folgende Spezifikationen an:

PerkinElmer Katalog-Nr.	CMG-207
Magnetperlen-Typ:	M-PVA C22
Spezifikation	stark carboxyliert
Molmasse	> 950 $\mu\text{mol COOH/g}$
Konzentration	50 mg/mL
Größe (Durchmesser)	1,0 - 3,0 $\mu\text{m}$ polydisperse Größenverteilung
Einheit	500 mg
Anwendung	Kopplung von Proteinen, Nukleinsäuren und anderen Liganden mit Aminofunktionalitäten (die funktionellen Gruppen sitzen dabei auf einem C22-Spacerarm)

Diese Beads werden heute bei der DNA/RNA-Sequenzierung von Nukleinsäuren eingesetzt, sind gut erprobt, aber noch nicht für den großtechnischen Maßstab ausgelegt.

#### Berechnung der Kapazität der M-PVA C22 (Cordes, 2021)

Die Magnetit-Partikel haben 900  $\mu\text{mol COOH-Gruppen pro g}$ . Daraus ergibt sich eine (max. theoretisch) Aufnahme-Kapazität für DFOE von ca. 540 mg DFOE pro g M-PVA C22. Bei Enzymen, die ja auch über die  $\text{NH}_2$ -Gruppen gebunden werden, liegen die Ausbeuten üblicherweise zwischen 5 und 50 %. Da DFOE stabil ist, können 50 % angenommen werden. Daraus ergibt sich eine rechnerische Größe von 270 mg DFOE pro 1 g M-PVA C22.

55 mg Mangan entsprechen 1 mmol Molekulargewicht, ergo können bezogen auf 1 g M-PVA theoretisch 50 mg Mangan gefischt werden. Mit einem Kilogramm M-PVA können theoretisch 50 g Mangan gefischt werden: Um 50 g Mangan zu fischen, sind (ausgehend von 1 g Mangan pro Kg Pflanzenmaische in der Trockenmasse) müssen die MTC in > 50 kg TM einer Pflanzenmaische eingerührt werden.

#### Berechnung der Kosten für 1 Kilogramm MTC auf Basis M-PVA C22 (Cordes, 2021)

Für die Herstellung von einem Kilogramm MTC auf Basis hochreiner Laborchemikalien werden benötigt & Kosten entstehen:

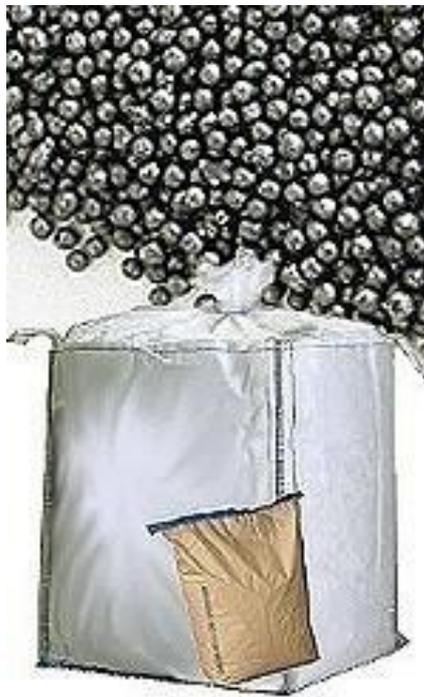
0,8 kg M-PVA C22 (80 % der Gesamtmasse)	10.000 €/kg	8.000 €
7 kg DFOE (Ausbeute 50% bei der Immobilisierung);	800 €/kg =	5.600 €
20 kg MES (98 €/kg = 10 % des Katalogpreises) =		1.960 €
7 kg EDC (2.300 €/kg = 10 % des Katalogpreises) =		3.260 €
Es ergeben sich Materialkosten insgesamt:		18.820 €
Personalkosten:		800 €
Kapital und Energiekosten: vernachlässigbar		
Gesamt-Herstellkosten für 1 kg MTC		19.620 €

#### **Mehrweg-Strahlkugeln aus Stahl - rundes Korn - 0,2 - 0,4**

Ganz andere Kosten ergeben sich, wenn man auf Mehrweg-Strahlkugeln zurückgreift. Abbildung 3-10 zeigt, wie diese aussehen.

Im Produktdatenblatt wird dazu angegeben [Holland Mineraal, 2021]:

- Die Strahlkugeln sind ein metallisches, synthetisches Strahlmittel. Sie werden aus einer Stahllegierung mit einem geringen Gehalt an Kohlenstoff, Schwefel, Phosphor und Chrom hergestellt und anschließend thermisch behandelt. Das Strahlmittel ist wasserunlöslich und besitzt eine große Härte, hohe Zähigkeit, hohe Verschleißfestigkeit und lange Lebensdauer.
- Kornform rund
- Farbe grau
- Härte 40 - 50 HRC
- spezifisches Gewicht 7.00 kg/dm<sup>3</sup>
- Schüttgewicht 4 - 4,5 t/m<sup>3</sup>
- wiederverwendbar 200 fach
- die chemische Analyse:  
C 0.85 - 1.2 % Mn 0.5 - 1.2 % Si 0.4 - 1.5 % P < 0.05 % S < 0.05 %



**Abbildung 3-10:** Stahlguss Kugeln [Holland Mineraal, 2021]

Die Funktionalisierung von Metalloberflächen ist zwar bisher ungewöhnlich im Bereich von Biosorbentien, es gibt aber Verfahren aus den bioanalytischen oder biomedizinischen Bereichen [Franzreb, 2021].

Gemäß einer auf Standardschritten basierenden Verfahrensweise [Franzreb, 2021] mit

- ✧ Aufbringen von OH-Gruppen auf das Metall
- ✧ Aufbringen von Amingruppen über ein Aminosilan
- ✧ Anbinden des Proteins/Siderophors über EDC

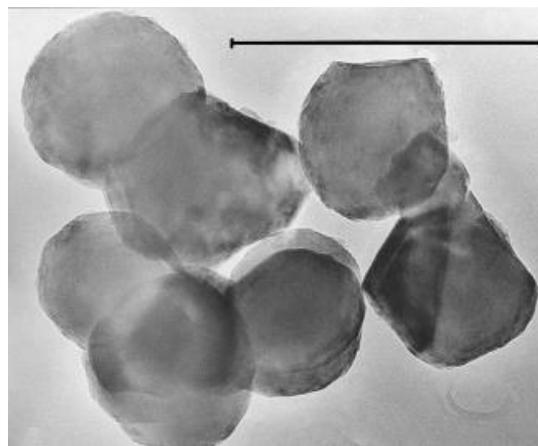
schätzt Franzreb [2021] bei einer Produktionsmenge von 1.000 kg für 1 Kilogramm MTC grob über den Daumen ca. 5 €/kg ohne Berücksichtigung der Proteinkosten (siehe Tab. 3-2). Mit dem Preis für DFOE von 800 €/kg ergeben sich bei einer Ausbeute von 70% 60 €/kg MTC.

Unter der Annahme, dass die spezifische Oberfläche der Strahlkugeln 500-fach geringer ist als die der Magnetic-Beads werden bei gleicher Anzahl aktiver Chelatoren auf der Oberfläche 500 kg Strahlkugeln benötigt, um ebenfalls 50 g Mangan zu fischen.

**Tabelle 3-3:** Herstellkosten für 1 kg MTC (Stahlkugeln) bei einer Produktionsmenge von 1.000 kg [Franzreb, 2021]

Kostenabschätzung 1 kg Magnetadsorber	Menge (kg)	Preis [€/kg]	Preis pro 1000
Stahlpartikel (Strahlgut)	1.000	2	2.000,00
Coating mit tetraethyl orthotitanate (TEOT)	1	150	150,00
Ethyl Alkohol	50	0,5	25,00
3-(aminopropyl) triethoxysilane (APTES)	1	300	300,00
1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimid-hydrochlorid (EDC-HCl)	0,5	1000	500,00
Mn-selektive Siderophore (für Beladung 1 mg/g), Bindeausbeute 70%	1,43	800	1.142,86
<b>Materialekosten</b>			<b>4.117,86</b>
Betriebskosten pro Reaktionsschritt und 1000 kg	4	200	800,00
Abschreibung Anlagenkosten pro 1000 kg			800,00
			<b>5.717,86</b>
Oberfläche der Stahlkugeln	MPVA-C22		
Durchmesser (m)	3,00E-04	2,00E-06	
Dichte (kg/m <sup>3</sup> )	7,70E+03	2000	
spezifische Oberfläche (m <sup>2</sup> /kg)	2,60E+00	1,50E+03	
spezifische Oberfläche (m <sup>2</sup> /g)	2,60E-03	1,50E+00	

Beim Einsatz von Magnetit (siehe Abb. 3-11) anstelle von Stahlpartikeln würde der OH-Schritt entfallen und das Ausgangsmaterial wäre nicht so teuer, die Magnetisierbarkeit beträgt aber nur ca. 1/3 derer der magnetischen Strahlkugeln, so dass die Leistung des Magnetabscheiders 3fach höher sein muss [Franzreb, 2021].

**Abbildung 3-11:** Magnetit-Partikeln [Huber, 2004]

### 3.4 Ökonomische Betrachtungen zum Mangan-Fishing

Die ursprünglich angedachten Wirtschaftlichkeitsberechnungen konnten entfallen, da ein realistischer Preis für Mangan nicht ermittelt werden kann. Für eine robuste Anlagentechnik in der Praxis kommen im Grunde nur die oben beschriebenen Strahlkugeln in Betracht. Die Herstellung von den MTC auf Basis magnetischer Strahlkugeln wurde mit rund 5.700 € pro kg errechnet (s. Tab. 3-3 [Franzreb, 2021]). Allein für 500 kg „MTC Strahlkugeln“ entstehen also Kosten von rund 2,5 Mio €. Die „MTC-Magnetic-Beads“ mit derselben Mangan-Gewinnungskapazität nehmen sich dem entgegen marginal aus: rund 20.000 €, um 50 g Mangan zu fischen. Die Magnetic-Beads können nur für feindisperse Pflanzenmaischnen eher mit Laboranlagen-Charakter Anwendung finden und wären sicherlich nur für die Pilot- respektive Demonstrationsanlage vorstellbar.

### 3.5 Ökologische Betrachtungen (insbesondere EDTA-Substitution)

Das Verfahren des Bio-Fishings ist in mehrerer Hinsichten ökologisch, wenn man die Ökologie als Lehre vom Haus (griechisch: oikos) bzw. der Hauswirtschaft versteht, auch wenn im Augenblick absehbar kein ökonomischer Vorteil gegenüber dem klassischen Mangan-Erzabbau besteht.

Da die magnetischen Trägermaterialien theoretisch unendlich wiederverwendet werden können und die Mangan-Gewinnung aus großen pumpfähigen Prozessströmen über eine Magnetabscheidung erfolgt, werden Chemikalien nur für die Rückgewinnung der MTC (respektive der Mangan-Abtrennung) und der Aktivierung der MTC verbraucht. In der Praxis werden aktive MTC allerdings zu einem gewissen Prozentsatz, den es zu ermitteln gilt, ständig nachproduziert werden müssen.

Das Verfahren des Bio-Fishings ist geeignet, selektiv bestimmte Substanzen aus Abfall- bzw. Abwasserströmen zu entnehmen, wenn es in der Natur dazu „Transporter“ gibt. Ausgangsüberlegung für das Mangan-Fishing war ja gewesen, dass Mangan vom die Pflanzen umgebenden Boden über die Wurzeln zu den Chloroplasten transportiert wird und es entsprechend in der Natur Mangan-Transporter geben muss. Für alle Spurenelemente (essentiellen Metalle) wird es diese geben, auch wenn bisher noch keine Nachforschungen dazu angestellt wurden. Das Prinzip des Bio-Fishings könnte ökologisch auch interessant werden, wenn es darum geht, enzymatisch auf bestimmte Substanzen einzuwirken, ohne sie aus dem Prozessstrom (respektive Abwasser) zu entfernen (man könnte das Prinzip dann als „Bio-U-Boot“ titulieren).

Bis auf den Bereich der Zellstoff-Produktion handelt es sich bei den hier näher vorgestellten Bereichen um Abfallströme. Für die Mangan-Gewinnung durch Bio-Fishing kommen im Wesentlichen die folgenden vier Bereiche in Betracht, wovon die ersten drei in den obigen Darstellungen ausführlicher gewürdigt worden sind:

1. Zellstoff-Produktion (Kochsäuren oder Ablaugen, eventuell Zellstoff-Auflauf)
2. Abfallströme aus der Phytopharmaka-Produktion
3. Gärreste (inklusive ausgefallter Klärschlämme) aus allen Arten von Biogas-Anlagen
4. Kommunales und industrielles Abwasser

#### 3.5.1 Mangan-Gewinnung aus gereinigtem Abwasser

Am Beispiel Abwasser lässt sich der Einsatz des Bio-Fishing-Verfahrens am einfachsten erläutern: entsprechend der gewünschten Mangan-Masse, die auf diese Weise gewonnen werden soll, wird ein entsprechend großer Abwasserstrom vor der Ableitung in den Vorfluter der Bio-Fishing-Anlage zugeführt und in ihr von Mangan gereinigt.

Inwieweit dem gereinigten Abwasser weitere Spurenelemente/ Metalle auf diese Weise entnommen werden können, bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten.

In industriellen Abwasserreinigungsanlagen – insbesondere der Zellstoff- bzw. Papierproduktion bietet sich das Bio-Fishing nachgerade an.

Ein ökologischer Nachteil auf die Gewässer ist nicht zu erwarten; eher ein Vorteil für die Erhaltung oligotropher Gewässer, da eine Verminderung des Mangan-Massenstroms die Eutrophierung durch Algen und pflanzliches Plankton vermindern kann.

Wenn durch Abwassereinleitungen Badeseen von Cyanobakterien kontaminiert werden, könnte die Mangan-Entnahme nach der Bio-Fishing-Methode ein ökologischer Ansatz gegen

Cyanobakterien-Toxine sein und das Baden in solchen Seen kurzfristig wieder möglich machen. Die Mangan-Gewinnung würde hier allerdings nicht im Vordergrund stehen.

### **3.5.2 Mangan-Gewinnung bei der Zellstoff-Produktion**

Wie oben ausgeführt sind die Stoffströme „Kochsäure“ und „Ablauge“ für die Mangan-Gewinnung interessant. Aufgrund ihrer verhältnismäßig geringen Feststoff-Anteile sind sie wie „Abwasser“ nach Abschnitt 3.5.1 anzusehen.

Der besondere Vorteil der Mangan-Gewinnung aus den Kreislaufprozessen der Zellstoff-Produktion liegt darin, dass das Mangan aus den EDTA-Komplexen freigesetzt wird, so dass das EDTA vor dem Bleichen „regeneriert“ wird und nichtmehr so viel „frisches“ EDTA zugesetzt werden muss.

Die Einsatzmenge EDTA Handelsware liegt zwischen 0,5 kg /t Zellstoff und geht bis zu 1 in einigen Fällen auch 1,5 kg/t Zellstoff hoch (bei Kosten zwischen 650 und 750 €/t Handelsware; [Reinhard, 2021]) wäre eine Verminderung der Einsatzmenge an EDTA auch ein ökonomischer Vorteil: Wenn man von rund 1,7 Mio t Zellstoff pro Jahr [Reinhard, 2021] ausgeht und im Durchschnitt von einer Einsparung von 50 % bei einer angenommenen Verbrauchsmenge von 1 kg EDTA pro Tonne Zellstoff ausgeht, könnten 850 Tonnen EDTA pro Jahr eingespart werden (bei 700 €/t EDTA immerhin rund 600.000 €/a).

Der ökologische Vorteil der EDTA-Verminderung lässt sich ohne weitergehende Untersuchungen nicht beziffern, der ökonomische wird vorläufig das Verfahren auch nicht in die Zone bringen, in der Unternehmen der Zellstoff-Produktion ernsthaft über den Einsatz des Bio-Fishings nachdenken werden.

### **3.5.3 Mangan-Gewinnung aus Abfallströmen der Phytopharmaka-Produktion**

In Abfällen der Phytopharmaka-Produktionen kommen zum Teil exorbitant hohe Mengen an Mangan vor. Allerdings sind die Abfallströme zum Teil so hoch eingeeengt, dass man Lösemittel wie Aceton zum Verflüssigen ansetzen müsste, um das Mangan fischen zu können. Aus ökologischen Gründen verbietet sich das.

Bei kleineren Unternehmen, die mit der Wasserdampf-Destillation ihre ätherischen Öle extrahieren, liegen pumpfähige Pflanzenmaischnen vor, in die insbesondere die „MTC-Strahlkugeln“ gut eingebracht werden könnten.

Da die Phytopharmaka-Produktion den Gedanken im Hintergrund hat, Inhaltsstoffe von Pflanzen zu nutzen, liegt die Implementation des Bio-Fishing-Verfahrens in diesem Bereich geradezu auf der Hand.

### **3.5.4 Mangan-Gewinnung aus Gärresten**

Zur Steigerung der Biogas- und Raum-Zeit-Ausbeuten werden dem zu vergärenden Substrat bzw. den auszufaulenden Gällen und Schlämmen Spurenelemente-Lösungen zugesetzt, die mit den Gärresten verloren gehen. Mit dem Bio-Fishing-Verfahren können zumindest ein Teil davon zurückgewonnen werden.

Die Aufreinigung des Mangans vom Eisen (und ggf. weiterer Spurenelemente) kann entfallen, damit wird das Bio-Fishing-Verfahren in dieser Anwendung „chemikalienfrei“ (abgesehen von der Herstellung der MTC).

#### 4 Zusammenfassung und Ausblick

Die vorliegende Machbarkeitsstudie hatte zur Aufgabe, verständlich darzustellen, wie man aus der Natur Ideen für die industrielle Produktion von Warengütern gewinnen kann. Im speziellen Segment des Bio-Mining im Rahmen der globaleren Bioökonomie wurde hier das Bio-Fishing von Mangan aus Abwässern und Reststoffen, speziell in Pflanzenmaischnen betrachtet, weil in letzteren zum Teil sehr hohe Mangan-Gehalte anzutreffen sind.

So gut wie unbekannt – auch bei den Fachkollegen außerhalb derer, die sich mit der Photosynthese im Detail befassen – ist das natürliche Vorkommen von Mangan in allen grünen Pflanzen. Überall – auch im Reich der Archaeen, speziell aber der Cyanobakterien, die als erste Organismengruppe über frühe Photosynthese-Mechanismen verfügen – ist Mangan an der Freisetzung des Sauerstoffs mit nicht gar wenigen Mn-Atomen beteiligt. Im Abschnitt 1.1 sind die Orte des Vorkommens von Mangan in der unbelebten und belebten Natur zusammengetragen. Nicht nur in den Chloroplasten ist Mangan anzutreffen: auch in den Wurzeln und den Stängeln bzw. im Holzstamm finden sich Mangane und Mangantransporter, da das Mangan aus dem Boden hin zu den Blättern respektive Nadeln transportiert werden muss, um die Photosynthese zu ermöglichen.

Alle Pflanzen verfügen über Mangan, allerdings in unterschiedlich hohen Konzentrationen. Es war Aufgabe dieser Machbarkeitsstudie zusammenzustellen, wo besonders viel Mangan anzutreffen ist (Abschnitt 1.3). In Abschnitt 1.5 ist zusammengestellt, welche Abwässer respektive Schlämme, Reststoffe und Abfälle aus Nutzenwendungen von Pflanzen bzw. Pflanzenteile für das Bio-Fishing von Mangan besonders in Betracht kommen (Klärschlämme aus kommunalen Kläranlagen enthalten auch „Pflanzenmaischnen“, da aus den menschlichen Fäces „Ballaststoffe“ also Pflanzenfasern im Abwasser landen, die in konventionellen Abwasserreinigungsanlagen nicht abgebaut werden):

##### aus der Zellstoff-Produktion (im Verlauf des Prozesses)

- ✧ Kochsäure: 40 ppm Mn bezogen auf TS
- ✧ Ablauge BSW: 10 ppm Mn bezogen auf TS
- ✧ Abwasserzulauf Biologie: 500 ppm Mn bezogen auf TS
- ✧ Bio-Schlamm: 220 ppm Mn bezogen auf TS

##### aus Gärrückständen + kommunalem Klärschlamm

- ✧ Mais-Silage: 60 ppm Mn bezogen auf TM
- ✧ Gärreste Energieanlagen: 400 ppm Mn bezogen auf TS
- ✧ Klärschlamm (kommunal): 400 ppm Mn bezogen auf TS

##### aus der Phytopharmaka-Produktion (alphabetisch)

- ✧ Eukalyptus-Blätter: 13.000 ppm Mn bezogen auf TM
- ✧ Ginkgo-Extraktabfall: keine Konzentrationsangaben ermittelbar
- ✧ Kiefer-Nadeln: 11.000 ppm Mn bezogen auf TM
- ✧ Knöterich: 8.300 ppm Mn bezogen auf TM
- ✧ Myrte (aus *Gossia bidwillii* oder ähnlichen Myrtaceae): 26.000 ppm Mn bezogen auf TM

Bei der Phytopharmaka-Produktion handelt es sich ausschließlich um Pflanzenabfälle nach der Produktion, was besonderen Charme dahingehend hat, dass zunächst konventionell ätherische Öle oder andere Pflanzenwirkstoffe extrahiert werden und nun auch Spurenelemente „extrahiert“ werden könnten.

Beim Bio-Fishing geht es im Prinzip auch um eine „Extraktion“, also um ein „Herausziehen“ eines Elements (hier: Mangan) aus einem Pflanzenbrei respektive einer Pflanzenmaische, wobei das Extrahieren über einen natürlichen „Angelhaken“ läuft, der an einen magnetischen Träger gekoppelt ist, der über einen Magnetabscheider extrahiert/herausgezogen wird. Der „Angelhaken“ beim Bio-Fishing weist eine Besonderheit auf: sie ist spezifisch auf das jeweilige Element ausgerichtet. Bekanntermaßen sind zum Beispiel Enzyme Substrat- und wirkungsspezifisch, das heißt, dass nur bestimmte Substrate einen Stoffwechsel erfahren und das in immer derselben Weise. Für die Mangan-Chelatoren gilt dies in fast dergleichen Weise: da die Eisen-Komplexierung eine wichtige Vorstufe für den später aeroben Stoffwechsel aus den später aus den Archaeen hervorgegangenen Bakterien gewesen ist, nutzten die Cyanobakterien die Eisen-Chelatoren auch als Mangan-Chelatoren (siehe Abschnitt 1.4). Ein glücklicher Zufall für diese Machbarkeitsstudie ist, dass das für die biologische Entrostung des Verfassers etablierte Siderophor Desferrioxamin E die höchsten Mangan-Bindungskräfte aufweist (im Vergleich mit allen bisher untersuchten Siderophoren bzw. dem Mangan-Transporter PrtA: siehe Abschnitt 1.7).

Neben Mangan (und Eisen) kann das Bio-Fishing-Prinzip auch auf andere Spurenelemente oder Substanzen Anwendung finden, die mit natürlichen selektiven Bindungssystemen korrespondieren.

Eine Perspektive des Bio-Fishings könnte auch werden, in Prozesslösungen Bio-U-Boote zu schicken, um bestimmte Moleküle enzymatisch zu verändern, ohne diese aus den jeweiligen Lösungen oder Suspensionen entfernen zu müssen.

Im Kapitel 2 sind die Verfahren, allen voran die Zellstoff-Produktion, im Detail dargestellt, um zu erläutern wo und wie im Einzelnen das Bio-Fishing-Verfahren etabliert werden könnte. Ganz wesentlich hierfür sind die jeweiligen Prozessparameter wie Konsistenz, pH-Wert und Temperatur. Darauf aufbauend kann, sofern es zu einer Fortsetzung des Projektes mit dem Bau einer Pilot-/Demonstrationsanlage kommt, eine Detailplanung erfolgen.

Der Verfasser ist der Ansicht, dass in der Phytopharmaka-Produktion, speziell bei Firma VÖGELE in Lauffen am Neckar, eine Pilot-/Demonstrationsanlage eingerichtet werden könnte (Details hierzu im Abschnitt 2.4.4).

Wie bereits oben ausgeführt, ist nach derzeitigem technologischem Stand die Mangan-Gewinnung aus Pflanzenmaischnen technisch-wirtschaftlich noch nicht darstellbar: als magnetische Trägermaterialien kommen für den rauen Alltag nur Strahlkugeln in Betracht, die eine spezifisch geringe Oberfläche aufweisen. Auf diese müssen dann die Chelatoren (im vorliegenden Fall dürften es die bereits gut beschriebenen + wirtschaftlich gut etablierten Desferrioxamine E „DFOE“ sein) auf die Träger immobilisiert werden.

Um 1 g Mangan zu fischen, benötigt man derzeit im jetzigen Entwicklungsstand rund 20 kg Strahlkugeln – 1 kg Strahlkugeln mit immobilisierten DFOE kostet überschlägig 5.700 € (s. Abschnitt 3.3.4). Für eine Pilot-/Demonstrationsanlage könnte man die Magnetic-Beads verwenden: 1 kg davon könnten 50 g Mangan fischen zu Kosten von 20.000 t€. Wohlgedenkt werden die MTC immer wieder verwendet werden (mit einem entsprechend kalkulierten „Verschleiß“).

Während die ökonomische Seite – kurzgefasst wegen der hohen Kosten für die Immobilisierung der Mangan-Chelatoren auf die magnetischen Trägermaterialien – derzeit noch nicht darstellbar ist, sind die ökologischen Aspekte des Bio-Fishings sehr attraktiv, weshalb die Ausführungen dazu hier nochmals wiedergegeben werden sollen:

### Mangan-Gewinnung aus gereinigtem Abwasser

Am Beispiel Abwasser lässt sich der Einsatz des Bio-Fishing-Verfahrens am einfachsten erläutern: entsprechend der gewünschten Mangan-Masse, die auf diese Weise gewonnen werden soll, wird ein entsprechend großer Abwasserstrom vor der Ableitung in den Vorfluter der Bio-Fishing-Anlage zugeführt und in ihr von Mangan gereinigt.

Inwieweit dem gereinigten Abwasser weitere Spurenelemente/ Metalle auf diese Weise entnommen werden können, bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten.

In industriellen Abwasserreinigungsanlagen – insbesondere der Zellstoff- bzw. Papierproduktion bietet sich das Bio-Fishing nachgerade an.

Ein ökologischer Nachteil auf die Gewässer ist nicht zu erwarten; eher ein Vorteil für die Erhaltung oligotropher Gewässer, da eine Verminderung des Mangan-Massenstroms die Eutrophierung durch Algen und pflanzliches Plankton vermindern kann.

Wenn durch Abwassereinleitungen Badeseen von Cyanobakterien kontaminiert werden, könnte die Mangan-Entnahme nach der Bio-Fishing-Methode ein ökologischer Ansatz gegen Cyanobakterien-Toxine sein und das Baden in solchen Seen kurzfristig wieder möglich machen. Die Mangan-Gewinnung würde hier allerdings nicht im Vordergrund stehen.

### Mangan-Gewinnung bei der Zellstoff-Produktion

Wie oben ausgeführt sind die Stoffströme „Kochsäure“ und „Ablauge“ für die Mangan-Gewinnung interessant. Aufgrund ihrer verhältnismäßig geringen Feststoff-Anteile sind sie wie „Abwasser“ nach Abschnitt 3.5.1 anzusehen.

Der besondere Vorteil der Mangan-Gewinnung aus den Kreislaufprozessen der Zellstoff-Produktion liegt darin, dass das Mangan aus den EDTA-Komplexen freigesetzt wird, so dass das EDTA vor dem Bleichen „regeneriert“ wird und nichtmehr so viel „frisches“ EDTA zugesetzt werden muss.

Die Einsatzmenge EDTA Handelsware liegt zwischen 0,5 kg /t Zellstoff und geht bis zu 1 in einigen Fällen auch 1,5 kg/t Zellstoff hoch (bei Kosten zwischen 650 und 750 €/t Handelsware; [Reinhard, 2021]) wäre eine Verminderung der Einsatzmenge an EDTA auch ein ökonomischer Vorteil: Wenn man von rund 1,7 Mio t Zellstoff pro Jahr [Reinhard, 2021] ausgeht und im Durchschnitt von einer Einsparung von 50 % bei einer angenommenen Verbrauchsmenge von 1 kg EDTA pro Tonne Zellstoff ausgeht, könnten 850 Tonnen EDTA pro Jahr eingespart werden (bei 700 €/t EDTA immerhin rund 600.000 €/a).

Der ökologische Vorteil der EDTA-Verminderung lässt sich ohne weitergehende Untersuchungen nicht beziffern, der ökonomische wird vorläufig das Verfahren auch nicht in die Zone bringen, in der Unternehmen der Zellstoff-Produktion ernsthaft über den Einsatz des Bio-Fishings nachdenken werden.

### Mangan-Gewinnung aus Abfallströmen der Phytopharmaka-Produktion

In Abfällen der Phytopharmaka-Produktionen kommen zum Teil exorbitant hohe Mengen an Mangan vor. Allerdings sind die Abfallströme zum Teil so hoch eingengt, dass man Lösemittel wie Aceton zum Verflüssigen ansetzen müsste, um das Mangan fischen zu können. Aus ökologischen Gründen verbietet sich das.

Bei kleineren Unternehmen, die mit der Wasserdampf-Destillation ihre ätherischen Öle extrahieren, liegen pumpfähige Pflanzenmaischnen vor, in die insbesondere die „MTC-Strahlkugeln“ gut eingebracht werden könnten.

Da die Phytopharmaka-Produktion den Gedanken im Hintergrund hat, Inhaltsstoffe von Pflanzen zu nutzen, liegt die Implementation des Bio-Fishing-Verfahrens in diesem Bereich geradezu auf der Hand.

#### Mangan-Gewinnung aus Gärresten

Zur Steigerung der Biogas- und Raum-Zeit-Ausbeuten werden dem zu vergärenden Substrat bzw. den auszufaulenden Gällen und Schlämmen Spurenelemente-Lösungen zugesetzt, die mit den Gärresten verloren gehen. Mit dem Bio-Fishing-Verfahren können zumindest ein Teil davon zurückgewonnen werden.

Die Aufreinigung des Mangans vom Eisen (und ggf. weiterer Spurenelemente) kann entfallen, damit wird das Bio-Fishing-Verfahren in dieser Anwendung „chemikalienfrei“ (abgesehen von der Herstellung der MTC).

#### **Ausblick**

Das Prinzip des Bio-Fishings mit der Idee aus der Natur zu lernen, wie man hoch-selektive oder zumindest sehr selektive biologische Komponenten nutzen kann, um in Suspensionen bestimmte ökologische Effekte zu erzielen, verdient eine breitere Sicht: beispielsweise könnten enzymatische Reaktionen in wässrigen Suspensionen (wie einem problematischen Abwasser) eingeleitet werden, wobei die immobilisierten Reaktanden, weil z.B. die Enzyme sehr teuer sind, auf verhältnismäßig einfache Weise über Magnetabscheider wieder aus den Suspensionen entfernt werden.

In Fragestellungen des Bio-Minings kommt mit diesem Verfahrensprinzip die Selektivität zum Ausdruck – vielleicht in Kombination zu Entwicklungen anderer Forschergruppen, die über Mikroorganismen und deren negativen Oberflächenladungen unspezifischer zum Beispiel seltene Erden aufsammeln, die dann nach dem Bio-Fishing-Prinzip selektiv sortiert werden können.

Im Rahmen des Mangan-Fishings würde es sich anbieten, eine Demonstrationsanlage als Pilot bei der Firma VÖGELE in Lauffen am Neckar zu installieren. Hierfür ist mit Anlagenkosten von rund 150.000 € zu rechnen. In der Pilotanlage könnten die Magnetic-Beads Verwendung finden, zu denen bereits Labor-Erfahrungen mit DFOE gemacht wurden.

## 5 Literatur-Verzeichnis

- Abu Dahi, Y. (1973): Einfluss der Phosphaternährung auf die Versorgung der monokyten Pflanzen (Sommergerste, Winterweizen und Mais) mit Zink, Mangan, Kupfer und Eisen. Dissertation Institut für Pflanzenernährung Universität Gießen
- Alloway, B. J. (1999): Schwermetalle in Böden. Analytik, Konzentrationen, Wechselwirkungen, Springer, Berlin/ Heidelberg
- Alscher, R.G. (2002). Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. *Journal of Experimental Botany*. 53, S. 1331–1341.
- Archibald, F. (1983): *Lactobacillus plantarum*, an organism not requiring iron, in: *FEMS Microbiol. Lett* 19 (1983), S. 29-32
- Bhadra, P.; P.N. Patel, E. Bhattacharya; A. Chadha, P.K. Sekhar (2018): Immobilizing Siderophores on Solid Surfaces for Bacterial Detection. *Journal of the Electrochemical Society*, 165 (8)
- Barchini, E.; R. Cowart (1996): Extracellular iron reductase activity produced by *Listeria monocytogenes*. *Arch. Microbiol.* 166 (1996), S. 51-57
- Bartsevich, V.V.; H.B. Pakrasi (1996): Manganese transport in the cyanobacterium *Synechocystis sp.* PCC 6803. *J. Biol. Chem.* 271 (1996), S. 26057–26061
- BAUA (2017): Vierte Verordnung zur Änderung der Berufskrankheiten-Verordnung (BKV) vom 10. Juli 2017 (BGBl. I S. 2299)
- Bauer C.; M. Lebuhn, A. Gronauer (2009): Mikrobiologische Prozesse in landwirtschaftlichen Biogasanlagen. *Direktmarketing & Digitaldruck Hallbergmoos, Freising-Weihenstephan*. S. 15-35
- Baumann, W.; B. Herberg-Liedtke (1994): Papierchemikalien. Daten und Fakten zum Umweltschutz, Springer, Berlin/ Heidelberg
- Bayerl, G.; K. Pichol (1986): Papier. Produkt aus Lumpen, Holz und Wasser, Rowohlt-Verlag, Reinbek bei Hamburg
- Belitz, H.D.; W. Grosch (2013): Lehrbuch der Lebensmittelchemie. Springer-Verlag, Heidelberg
- Beppler, E.; R. Fichte, A. Berger (1984): „Mangan“, in: *Ullmanns Encyklopädie der technischen Chemie* 16, Wiley-VCH, Weinheim 1984, S. 425-480.
- Bickel, H.; R. Bosshardt, E. Gäumann, P. Reusser, E. Vischer, W. Voser, A. Wettstein, H. Zähler (1960): Stoffwechselprodukte von Actinomyceten. 26. Mitt.: Über die Isolierung und Charakterisierung der Ferrioxamine A-F, neuer Wuchsstoff der Sideramin-Gruppe, in: *Helv. Chim. Acta* 43 (1960), S. 2118-2128
- Bickel, H.; H. Keberle, E. Vischer, E. (1963): Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen, 43. Mitt.: Zur Kenntnis von Desferrioxamin B, in: *Helv. Chim. Acta* 46 (1963), S.1385-1389
- Biertümpfel, A.; G. Wurf, I. Schwabe (2021): Vergleichende Betrachtung zur Indigo-Produktion aus Waid und Färberknöterich. *Thüringisches Zentrum Nachwachsende Rohstoffe*, 07778 Dornburg (abgerufen am 27.09.2021)
- BioAbfV – Bioabfallverordnung (2013) Verordnung über die Verwertung von Bioabfällen auf landwirtschaftlich, forstwirtschaftlich und gärtnerisch genutzten Böden. vom 4. April 2013 (BGBl. I Nr. 16 vom 08.04.2013 S. 658; 05.12.2013 S. 4043; 27.09.2017 S. 3465) Gl.-Nr.: 2129-27-2-11
- Bischofsberger W.; N. Dichtl, K.-H. Rosenwinkel, C.F. Seyfried, B. Böhnke (2005): *Anaerobtechnik*, Springer Verlag Berlin, Heidelberg 2005, S. 23–86.
- Blehschmidt, J. (2010): *Taschenbuch der Papiertechnik*. Carl Hanser Verlag, München 2010
- Boetius, A. (2021): Das dunkle Paradies: Was es in der Tiefsee noch zu entdecken gibt <https://www.br.de/fernsehen/ard-alpha/sendungen/campus/talks/campus-talks-boetius>

[antje104.html](#) (abgerufen 18.11.2021)

Bondarava, N.; S. Un, A. Krieger-Liszkay (2007): Manganese binding to the 23 kDa extrinsic protein of photosystem II, in: *Biochim. Biophys. Acta* 1767 (2007), S. 583–588

Boukhalfa, H.; A.L. Crumbliss (2002): Chemical aspects of siderophore mediated iron transport. *Bio-Metals* 15 (2002), S. 325-339

Brain (2014): Biobergbau-Allianz. In *BioÖkonomie.de* 06.05.2014

Braun, V. (1991): Eisen als Virulenzfaktor, in: *Novo acta Leopold* 279 (1991), S. 105-117

Bromfield, S. M. (1976): The deposition of manganese oxide by an alga on acid soil. *Aust. J. Soil Res.* 14, 95-102

Bryant, M.P. (1979): Microbial methane production—theoretical aspects. *J. Anim. Sci.* 1979, 48, 193–201.

BUALE (2021): Energiepflanzen für die Biogas-Erzeugung. Bundesinformationszentrum Landwirtschaft an der Bundesanstalt für Landwirtschaft + Ernährung. <https://www.praxis-agrar.de/betrieb/erneuerbare-energien/energiepflanzen-fuer-die-biogaserzeugung> abgerufen am 23.09.2021

Bundesministerium für Bildung und Forschung (2007): Weiße Biotechnologie. Chancen für neue Produkte und umweltschonende Prozesse. Bonn/ Berlin

Burghardt, R.; W. Trowitzsch-Kienast (2008): Synthese neuer Siderophore. Thümer, R.; G. Görlitz (Hrsg.): Forschungsassistent IV der Technischen Fachhochschule Berlin. Berlin (2008) S. 24-27

Burström, H. (1939): Die Rolle des Mangans bei der Nitratassimilation. *Planta*, Jhrg. 29, S. 292-305

BW Bioökonomie: Landesstrategie Nachhaltige Bioökonomie Baden Württemberg. <https://um.baden-wuerttemberg.de/de/wirtschaft/biooekonomie/landesstrategie-nachhaltige-biooekonomie/> abgerufen am 17.11.2021 mit pdf dazu vom 04. Juni 2019

Callander I.J.; J.P. Barford (1983): Precipitation, chelation, and the availability of metals as nutrients in anaerobic digestion. I. Methodology, *Biotechnol. Bioeng.* 1983, 25, 1947–1957

Challis, G.L.; J.N. Naismith (2004): Structural aspects of non-ribosomal peptide biosynthesis. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 14 (2004), S. 748-756

Challis, G.L. (2005): A widely distributed bacterial pathway for siderophore biosynthesis independent of non-ribosomal peptide synthetases. *ChemBiochem.* 6 (2005), S. 601- 611

Chasteen T.G.; R. Bentley (2003): Biomethylation of selenium and tellurium. *Microorganisms and plants.* *Chem. Rev.* 2003, 103, 1–25

Chemie (2021): <http://www.e-learning.chemie.fu-berlin.de/bioanorganik/mangan/molekuele/mnkatalase/index.html> (abgerufen am 19.09.2021)

Cordes, A. (2021): persönliche Mitteilungen 16.08.2021 ASA Spezialenzyme, Am Exer 19, Wolfenbüttel

Crosa, J.H.; C.T. Walsh (2002): Genetics and assembly line enzymology of Siderophore biosynthesis in bacteria. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 66 (2002), S. 223-249

Demirel B.; P. Scherer (2011): Trace element requirements of agricultural biogas digesters during biological conversion of renewable biomass to methane. *Biomass Bioenergy* 35 (2011), 992–998

Demuth, R.; F. Kober (1992): Grundlagen der Komplexchemie. 2. Aufl., Otto Salle Verlag, Frankfurt am Main

Diekert G.; B. Klee, R.K. Thauer (1980): Nickel, a component of factor F430 from *Methanobacterium thermoautotrophicum*. *Arch. Microbiol.* 1980, 124 (1), 103–106

- Dietz, F. (1974): Bestimmung einzelner Komplexbildner in Wässern, speziell der synthetischen Komplexbildner Nitrilotriessigsäure (NTA) und Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA). Z. Wasser- und Abwasserforsch. 7 (1974), S. 74-80
- DIN-Taschenbuch 213 (1996): Papier, Pappe und Halbstoff. DIN 30646 bis DIN-54377-2, Beuth-Verlag, Berlin/ Wien/ Zürich
- Dokuzovic, D. (2009): Komplexometrie, Höhere Bundeslehr- und versuchsanstalt für chemische Industrie. Wien
- Döring, J. C. (2013): Neue katalytische Bleichaktivatoren auf Basis von Mangan-Chelatkomplexen, Dissertation Philipps-Universität Marburg, Fachbereich Chemie, Marburg/ Lahn
- Duckworth, O. W.; G. Sposito (2005): Siderophore-Manganese(III) Interactions. I. Air-Oxidation of Manganese(II) Promoted by Desferrioxamine B. Environ. Sci. Technol. 39 (2005), S. 6037-6044
- EEG (2020): Erneuerbare Energien Gesetz: s. <https://de.wikipedia.org/wiki/Erneuerbare-Energien-Gesetz> (zuletzt heruntergeladen am 30.09.2021)
- Eriez Deutschland GmbH Henrichenburger Str. 103 D-45665 Recklinghausen Deutschland Magnettrommelabscheider
- Farke, H. (1992): *Einsatz von Komplexon in der Textilrestaurierung*. ADR Arbeitsblätter für Restauratoren, Gr. 10, Heft 2, (1992): 176-178
- Farkas, E.; O. Szabó, P.L. Parajdi-Losoncz, G. Balla, I. Pócsi (2014): Mn(II)/Mn(III) and Fe(III) binding capability of two *Aspergillus fumigatus* siderophores, desferricrocin and N',N'',N'''- triacetylfusarinine C, in: Journal of Inorganic Biochemistry 139 (2014), S. 30-37
- Faulkner, K.M.; R.D. Stevens, I. Fridovich (1994): Characterization of Mn(III) complexes of linear and cyclic desferrioxamine as mimics of superoxide dismutase activity, in: Arch. Biochem. Biophys. 310 (1994), S. 341-346.
- Feistel, B. (2021): Anbau, Verarbeitung und Qualitätssicherung von Arzneipflanzen – Basis für die Herstellung moderner Pflanzenextrakt-Zubereitungen. FINZELBERG, Arnsberg. GPT – Phytopharmaka und Phytotherapie Fortbildung 1. Modul, 19.03.2021
- Fernando, D.R.; E.J. Bakkaus, N. Perrier, A.J.M. Baker, I. E. Woodrow, G.N. Batianoff, R.N. Collins (2006): Manganese accumulation in the leaf mesophyll of four tree species: a PIXE/EDAX localization study. New Phytologist 171 (2006): 751–758
- Ferner, M. (2016): Immobilisierung von Glycosidasen an magnetische Partikel mit dem Ziel einer Weinaromaverbesserung, Fachbereich Maschinenbau und Verfahrenstechnik, Dissertation Technische Universität Kaiserslautern
- Franzreb, M.: persönliche Mitteilungen vom 22.08.2021, Prof. Dr. Matthias Franzreb IFG am KIT Karlsruhe
- Gade, L.H.: Koordinationschemie: Wiley-VCH Verlag, Weinheim (1998).
- Gold, M.H., H. Wariishi, K. Valli (1989): Extracellular peroxidases involved in lignin degradation by the white rot basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. Biocatalysis in Agricultural Biotechnology; ed. Whitaker, J.; P. Sonnet, P. Toronto, Ontario, Canada: American Chemical Society. P. 127-140
- Göttsching, L. (1990): Papier in unserer Welt. Handbuch, Econ-Verlag, Düsseldorf-Wien-New York 1990
- Gonzalez-Gil, G.; S. Jansen, M.H. Zandvoort, H.P. van Leeuwen (2003): Effect of yeast extract on speciation and bioavailability of nickel and cobalt in anaerobic bioreactors. Biotechnol. Bioeng. 2003, 82(2), 134–142
- Goodwin, J.A.S.; D.A.J. Wase, C.F. Forster: Effects of nutrient limitation on the anaerobic upflow sludge blanket reactor. Enzyme Microb. Tech. 1990, 12(11), 877–884

- Groß, R.; A. Leisewitz, K. Moch (2012): Untersuchung der Einsatzmengen von schwer abbaubaren organischen Inhaltsstoffen in Wasch- und Reinigungsmitteln im Vergleich zum Einsatz dieser Stoffe in anderen Branchen im Hinblick auf den Nutzen einer Substitution, Öko-Institut e.V. - Institut für Angewandte Ökologie, Freiburg
- Gruber, E. (2011): Grundlagen der Zellstofftechnologie, Vorlesungsskript Papiertechnik, Studiengang Papiertechnologie, Duale Hochschule Karlsruhe
- Grass, G.: Iron transport in *Escherichia coli*: all has not been said and done. *Biometals* 19 (2006), S. 159-72
- Gruber, E.: Grundlagen der Zellstofftechnologie, Vorlesungsskript Papiertechnik, Studiengang Papiertechnologie, Duale Hochschule Karlsruhe, Karlsruhe 2011
- Gwinner, T.: Das Siderophor-Antibiotikum Salmycin. Studien zu Wirkspektrum, Aufnahmemechanismus, Resistenzbildung und in-vivo-Wirksamkeit, Dissertation, Eberhard-Karls-Universität Tübingen, Fakultät für Biologie, Tübingen 2008.
- Haase, T. (2004): Online-Kopplung Ionenchromatographie-Atomspektrometrie als Werkzeug für die Ultrapurenanalyse in hochreinen Ca-Salzen, Dissertation Universität Hannover, Fachbereich Chemie, Hannover
- Handtke, K.; G. Nicholson, W. Rabsch, G. Winkelmann (2003): Salmochelins, siderophores of *Salmonella enterica* and uropathogenic *Escherichia coli* strains, are recognized by the outer membrane receptor IroN, in: *PNAS* 100/7 (2003), S. 3677-3682.
- Harris, D.C. (2014): Lehrbuch der Quantitativen Analyse, Springer, Berlin-Heidelberg
- Hausinger R.P.; P.A. Karplus (2001): Urease, in: K. Wieghardt, T.R. Huber, T.L. Poulos, A. Messerschmidt (Eds.), *Handbook of Metalloproteins*, Wiley Verlag, West Sussex, 2001, pp. 867–879.
- Hecht, H. (1978): Spurenelemente in Gewürzen. Die Gehalte an Übergangsmetallen Chrom, Eisen, Kupfer, Mangan und Zink. *Die Fleischwirtschaft* 58 (1978) 1351 -1357
- Heggemann, S. (2007): Neue synthetische Eisenchelatoren auf der Basis von Monosacchariden in Analogie zu bakteriellen Siderophoren, Dissertation Friedrich-Schiller-Universität Jena, Chemisch-Geowissenschaftliche Fakultät, Jena
- Hein, H.; W. Kunze (1994): Umweltanalytik mit Spektrometrie und Chromatographie, VCH, Weinheim 1994, S. 111-113, S. 224-229
- Heinrich, C; P. Weis, R. Kündig, W. Leu, F. Schenker (2014): Rohstoffe der Erde, Vorlesungsskript, ETH Zürich, Zürich 2014.
- Heßberger, I. (1996): Niederschrift des Experimentalvortrages zum Thema: Papier, Philipps-Universität Marburg, Fachbereich Chemie, Marburg
- Hewitt, E.J. (1958): The role of mineral elements in the activity of plant enzyme systems. *Handbuch der Pflanzenphysiologie*; Band 4 S. 427 – 481, Springer-Verlag
- Hider, R.C.; X. Kong (2010): Chemistry and biology of siderophores, in: *Nat. Prod. Rep.* 27 (2010), S. S. 637-657.
- Hider, R.C. (1984): Siderophore mediated absorption of iron, in: Clarke, M.J.; J.A. Ibers, D.M.P. Mingo, G.A. Palmer, P.J. Sadler, J.P. Williams (1984): *Siderophores from Microorganisms and Plants*, Berlin 1984, S. 26-87.
- Hiller, J. E.: Phasenumwandlungen im Rost. *Werkstoffe und Korrosion* 17 (1966): 943-51
- Hofrichter, M. (2000): Mangan-Peroxidasen: Enzymatische Verbrennung von Lignin, *Biospektrum* 6, 198-199

- Hofrichter, Martin (2002): Review: lignin conversion by manganese peroxidase (MnP). *Enzyme and Microbial Technology* 30 (4), S. 454–466. DOI: 10.1016/S0141-0229(01)00528-2
- Holland Mineraal (2021): Tielstraat 8 7418 CS Deventer, Holland [www.hollandmineraal.nl](http://www.hollandmineraal.nl) Tel. +31 (0)570-621161 Fax +31 (0)570-634336 [info@hollandmineraal.nl](mailto:info@hollandmineraal.nl)
- Holleman, A.F.; E. Wiberg (1985): *Lehrbuch der anorganischen Chemie*, 91. - 100. Auflage; Walter de Gruyter; Berlin, New York
- Hu Q.-H.; F. Li, H. Liu, G.-C. Du, J. Chen (2008): Enhancement of methane fermentation in the presence of Ni<sup>2+</sup> chelators. *Biochem. Eng. J.* 2008, 38, 98–104
- Hu, E.; Y. Zhang, S. Wu, J. Wu, L. Liang, F. He (2017). Role of dissolved Mn(III) in transformation of organic contaminants: Non-oxidative versus oxidative mechanisms. *Water Research*, 111, 234-243
- Huber, J. (2004): Zur Natur von  $\gamma$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Inaugural-Dissertation im Fachbereich Biologie, Chemie und Geowissenschaften der Justus-Liebig-Universität Gießen
- Huheey, J. E. (1988): *Anorganische Chemie*, Walter de Gruyter, Berlin New York, 8.983
- Internetquelle 1 (2019): Enzyme Immobilization Methods and Applications (Biotechnology Lecture Notes, abgerufen unter <https://www.easybiologyclass.com/enzyme-cell-immobilization-techniques/>, zuletzt abgerufen am 25.04.2019
- Internetquelle 2 (2019): Pauli Prinzip, abgerufen unter <https://de.wikipedia.org/wiki/Pauli-Prinzip>, zuletzt abgerufen am 25.04.2019
- ISE (2019): Institut für Strategische Metalle + Seltene Erden Mangan-Preise 2019. <https://institut-seltene-erden.de/aktuelle-preise-von-strategischen-metallen> (Aufgerufen am 13.08.2021)
- Jacobi F.H.; J. Liebetrau, M. Nelles (2013): Flexibel und effizient – Lösungen für die Biogasanlage von morgen. Projekttag Bioenergie Berlin
- Jakubenko, S. (2021): persönliche Mitteilungen Sven Jakubenko, ESSITY Mannheim vom 24.09.2021
- Jander, G. (1986): *Maßanalyse*. Gruyter-Verlag, Berlin-New York
- Jäkärä, J.; A. Paren, R. Aksela, I. Renvall (2004): Verfahren zum Bleichen von Zellstoff, Patent DE 697 25 573 T2 2004.08.19, Deutsches Patent- und Markenamt 2004
- Janiak, C. *Komplex- und Koordinationschemie. Moderne Anorganische Chemie*, E. Riedel (Hrsg.), 2. Aufl., Walter de Gruyter, Berlin (2003): 167-349.
- Jarrell, K.F.; M.L. Kalmokoff (1988): Nutritional requirements of the methanogenic archaeobacteria, *Microbiology* 1988, 34, 557–576
- Jones, L.H.P.; G.W. Leeper (1951): The availability of various manganese oxides to plants, in: *Plant and Soil* 3, 2 (1951), S. 141-153.
- Jouini, B. (2015): Entfernung von Mangan aus ungebleichtem Zellstoff durch innovative biologische Komplexbildner. Bachelor-Arbeit am Institut für Biologische Verfahrenstechnik Mannheim
- Kadam, M.S.; A.B. Chaudhari, S.B. Chincholkar (2012): Optimal Pyoverdin–CPG Composites for Development of an Optical Biosensor to Detect Iron. *Biochemistry (Moscow) Supplement Series A: Membrane and Cell Biology*, 2012, 6 (3), 249–254
- Kaim, W.; B. Schwederski (1991): Aufnahme, Transport und Speicherung eines essentiellen Elements: Das Beispiel Eisen. *Bioanorganische Chemie*, Teubner-Verlag, Stuttgart
- Kaim, W.; B. Schwederski (1991): *Bioanorganische Chemie*. Teubner Studienbücher, Stuttgart (1991).
- Kang, C.-K.; Y.S. Lee (2007): The surface modification of stainless steel and the correlation between the surface properties and protein adsorption. *J Mater Sci: Mater Med*, 18, 1389–1398

- Kanyo, Z.F., L.R. Scolnick, D.E. Ash, D.W. Christianson (1996): Structure of a unique binuclear manganese cluster in arginase. *Nature* 383:554-557.
- Keberle, H.: Vom Antibiotikum zum Chelator, in: Gross, K.; J. Aumiller, J. Gelze (1992): Desferrioxamin. Geschichte, Stellenwert, Perspektiven, München 1992, S. 28-39.
- Keller-Schierlein, W.; V. Prelog, H. Zähler (1964): Siderochrome (Natürliche Eisen-III-trihydroxamat-Komplexe), in: Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe 22 (1964), S. 279-322.
- Kenten, R. H.; P. J. Mann (1953): The oxydation of certain dicarboxylic acids by peroxidase systems in presence of Manganese. *Biochem Journal* 53 (1953) S.498-505
- Keren, N.; M.J. Kidd; J.E. Penner-Hahn, H.B. Pakrasi (2002): A light-dependent mechanism for massive accumulation of manganese in the photosynthetic bacterium *Synechocystis sp. PCC 6803*, in: *Biochemistry* 41 (2002), S. 15085-15092.
- Kessler, K; P.M. Kunz (2010): Die Fermentation von Sauerkraut. BIUZ: Biologie in unserer Zeit, 40 (2010) S. 2 – 10 DOI:10.1002/biuz.201010419
- Klebba, P. E.; B. Jin, S.M. Newton (2006): Iron acquisition systems for ferric hydroxamates, haemin and haemoglobin in *Listeria monocytogenes*, in: *Molecular Microbiology* 59 (2006), S. 1185-98
- Kleiser, A. (2021): persönliche Mitteilungen am 20.08.2021 von m-tec mathis technik gmbh, Otto-Hahn-Str. 6, 79395 Neuenburg
- Kober, F. (1979): Grundlagen der Komplexchemie. 1. Aufl. Otto Salle Verlag, Frankfurt am Main (1979).
- Koch, M. (1995): Komplexchemisches und bakterientoxisches Verhalten ausgewählter Schwermetall-phosphonatkomplexe. in: Stuttgartar Berichte zur Siedlungswasserwirtschaft 134, München 1995.
- Koch, S. (1997): Messung von Strömungspotentialen mittels ionensensitiver Feldeffekttransistoren, Verlag: München Utz, Wiss.
- Krause, T. (1991): Chemische und mikrobiologische Verfahren, in: Prüfung von Papier, Pappe, Zellstoff und Holzstoff 1, Springer, Berlin/ Heidelberg/ New York
- Kubicek, C.P. (2013): Fungi and Lignocellulosic Biomass, Wiley-Blackwell, USA 2013
- Kunz, P.M. (2007): Substitution von EDTA durch Mangan-Chelatoren bei der Zellstoffbleiche. Projektantrag an die DBU (Deutsche Bundesstiftung Umwelt)
- Kunz, P.M. (1998): Behandlung von Schlamm. Vogel-Verlag Würzburg
- Kunz, P.M. (1995): Behandlung flüssiger Abfälle. Vogel-Verlag Würzburg
- Kunz, P.M. (1995): Behandlung von Abwasser. 4. Auflage, Vogel-Verlag Würzburg
- Kunz, P. (1992): Umwelt-Bio-Verfahrenstechnik. Vieweg Verlag, Wiesbaden
- Kunz, P.M.; M. Dausmann, H. Paul, M. Willrett, H. Zähler (1994): Mittel zur Entrostung von Oberflächen auf organischer Basis sowie dessen Herstellung und Anwendung. Deutsches Patent P 44 33 376 C1 Az 44 33 376.5-45 Anmeldetag 20.09.1994 veröffentlicht 04.04.1996
- Kunz, P.; G. Frietsch (1986): Mikrobiozide Stoffe in Kläranlagen. Springer-Verlag Berlin Heidelberg
- Kunz, P.M.; A. Neuhaus, M. Willrett, J. Gregor, A. Obermeier (1997): „Biologisches“ Entrosten von Oberflächen, in: Gesellschaft für Technische Biologie und Bionik, Rundschreiben Nr. 21, S. 1-2.
- Kwok, E. Y.; S. Severance, D.J. Kosman (2006): Evidence for iron channeling in the Fet3p-Ftr1p high-affinity iron uptake complex in the yeast plasma membrane. *Biochemistry* 45 (2006), S. 6317-6327
- Lacy D.; B. Negash, S.R. Basvapatna, J.W. Paul (1987): Bacterial methanogenesis and growth from CO<sub>2</sub> with elemental iron as the sole source of electrons. *Science* 1987, 237, 509–511

- Lang, K. (1970): Biochemie der Ernährung. Steinkopf-Verlag Darmstadt
- Law, N.A.; M.T. Caudle, V.L. Pecoraro (1998): Manganese Redox Enzymes and Model Systems: Properties, Structures and Reactivity. *Advances in Inorganic Chemistry* 46 (1998), S. 305-440.
- Le, P.C.; R. Grenz, J. Schneiter, N. Moran, H.G. Völkel (2002): Untersuchungen zum Einsatz alternativer Komplexbildner bei der Holzstoffbleiche. *ipw-Das Papier* 12 (2002), S. 192-197.
- Lemmer A. (2011): Biogaserzeugung, in: S. Bajohr, F. Graf (Eds.): *Biogas - Erzeugung, Aufbereitung, Einspeisung*. Oldenbourg Industrieverlag, pp. 75–118
- Lettinga, G. (1995): Anaerobic digestion and wastewater treatment systems. *Antonie van Leeuwenhoek* 1995, 67, 3–28
- Life-Science (2014): Ätherische Öle – Nachschlagewerk. Young Livings: Life-Science Publishing ISBN 978-0-9863282-2-0 [www.discoverlsp.com](http://www.discoverlsp.com)
- Lindorfer, H., A. Corcoba, V. Vasilieva, R. Braun (2008): Doubling the organic loading rate in the co-digestion of energy crops and manure - a full scale case study. *Bioresource. Technol.* 2008, 99(5), 1148–1156.
- Liu, Z.D.; R.C. Hider (2002): Design of clinically useful iron(III)-selective chelators. *Med. Res. Rev.* 22 (2002), S. 26-64.
- Lorenz, J. (1997): Remobilisierung von Schwermetallen aus ruhenden Gewässersedimenten durch EDTA und NTA bei aerober und anaerober Wasserphase, Dissertation Universität Karlsruhe, Karlsruhe
- Lundegardh, H. (1939): Mn als Katalysator der Pflanzenatmung. *Planta* 29(1939)419-476
- MAK (2009): Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) und ihre Alkalisalze [MAK Value Documentation in German language, 2009]. MAK, 46. Lieferung 2009, DOI:10.1002/3527600418. mb6000d0046
- Maresso, A.W.; O. Schneewind (2006): Iron acquisition and transport in *Staphylococcus aureus*. *Bio-metals* 19 (2006), S. 193-203
- Martell, A.E.; M. Calvin (1958): Die Chemie der Metallchelate-Verbindungen. Verlag Chemie, Weinheim
- Marti, Ernst (1994): Das Ätherische - Eine Erweiterung der Naturwissenschaft durch Anthroposophie. Verlag: Editon Verlag Die Pforte Dornach, 1994 ISBN 10-3856360859 ISBN 13: 9783856360856
- Matzanke, B.F.; S. Anemüller, V. Schünemann (2004): FhuF, part of a siderophore-reductase system. *Biochemistry* 43 (2004), S. 1386-92
- Matzanke, B.F.; G. Müller-Matzanke, K.N. Raymond (1998): Siderophore-Mediated Iron Transport. *Iron Carriers and Iron Proteins*. Loehr, T. M. (Hrsg.), VHC Publishers, New York (1998): 1-121
- McWhirter, M.J.; P.J. Bremer, L. Lamont, A.J. McQuillan (2003): Siderophore-Mediated Covalent Bonding to Metal(Oxide) Surfaces during Biofilm Initiation by *Pseudomonas aeruginosa* Bacteria. *Langmuir*, 19, 3575-3577
- Means, J.L.; T. Cucak, D.A. Crebar (1980): Relative Degradation rates of NTA, EDTA and DTPA and environmental implications. *Environmental Pollution (Series B)* 1 (1980), S. 45-60
- Meyering, G.: Rohstoff Mangan Reichtum vom Grund der Weltmeere. Rohstoffe A – Z. Technik + Einkauf vom 25.08.2020 <https://www.technik-einkauf.de/rohstoffe/rohstoffe-a-z/rohstoff-mangan-reichtum-vom-grund-der-weltmeere-100.html> heruntergeladen am 18.11.2021
- Miller, L. (2002): Eisen <http://www.fundus.org/pdf.asp?ID=11138> (abgerufen am 24. 06. 2015)
- Mizuno, K.; M.M. Whittaker, H.P. Bachinger, J.W. Whittaker(2004): Calorimetric studies on the tight binding metal interactions of *Escherichia coli* manganese superoxide dismutase, in: *J. Biol. Chem.* 279 (2004), S. 27339–27344.

- Moore, C.M.; J.D. Helmann (2005): Metal ion homeostasis in *Bacillus subtilis*, in: Current Opinion in Microbiology 8 (2005), S. 188-95.
- Moore, R.; W.D. Clark (1995): Botany, Plant Form & Function. Dubuque IA 1995.
- Morgan, J.J. (2000): Manganese in natural waters and earth's crust. Its availability to organisms. In: A. Sigel and H. Sigel (Eds.) Metal Ions in Biological Systems Manganese and Its Role in Biological Processes. Vol. 37, (pp. 1–33) New York, Marcel Dekker
- Mortimer, C.E.; U. Müller (2003): Chemie – Das Basiswissen der Chemie. 8. Aufl., Georg Thieme Verlag, Stuttgart (2003).
- Müller, C.A. (2005): Methodenentwicklung und Durchführung fortgeschrittener Röntgenabsorptionsmessungen am Mangan-Calcium-Komplex des Photosystems II, Dissertation Freie Universität Berlin, Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie, Berlin
- Müller, G.O. (1987): Lehrbuch der angewandten Chemie, Bd. 3, Leipzig
- Münzinger, M (1999): Isolierung und Strukturaufklärung der Citrat-Siderophore aus *Ralstonia eutropha* CH34 und *Ralstonia pickettii* DSM 6297, Dissertation, Universität Köln
- Neilands, J.B. (1995): Siderophores. Structure and function of microbial iron transport compounds. J. Biol. Chem 270 (1995), S. 26723-26726.
- Neilands, J.B.; K. Nakamura (1995): Detection, determination, isolation, characterization and regulation of microbial iron chelates. CRC Handbook of Microbial Iron Chelates, CRC Press, Boca Raton
- Obermeier, A. (1995): Untersuchung der Entrostungseigenschaften von Siderophoren an korrodierten Blechen. Diplomarbeit an der Hochschule Mannheim, Institut für Bioverfahrenstechnik (1995)
- OLOID Solution (2021): Broschüre zum Oloid. OLOID Solution GmbH, Wilhelm-Winkler-Straße 3, 04178 Leipzig
- Olbrich-Majer, M. (2021): Zum Schütteln + Rühren. [https://www.lebendigeerde.de/index.php?id=portrait\\_162](https://www.lebendigeerde.de/index.php?id=portrait_162) (Download am 06.09.2021)
- Opwis, K.; K. Kiehl, J.S. Gutmann, A. Cordes, B. Gilleßen, P. Lohse, M. Binsch, H. Zorn (2018): Immobilisierung von bio-katalytisch wirksamen Peroxidasen an textilen Trägermaterialien (POD-Immobilisierung), Deutsches Textilforschungszentrum Nord-West gGmbH. DTNW-Mitteilung Nr. 109, ISSN 1430-1954
- Page, E.R. (1962): Studies in soil and plant manganese, in: Plant and Soil 17 (1962), S. 99-108.
- Parker, D.L.; T. Morita, M.L. Mozafarzadeh (2007): Interrelationships of MnO<sub>2</sub> precipitation, siderophore-Mn(III) complex formation, siderophore degradation, and iron limitation on Mn(II)-oxidizing bacterial cultures, in: Geochim. Cosmochim. Acta 71 (2007), S. 5672-5683.
- Parker, D.L.; G. Sposito, B.M. Tebo (2004): Manganese(III) binding to a pyoverdine siderophore produced by a manganese(II)-oxidizing bacterium, in: Geochim. Cosmochim. Acta 68 (2004), S. 4809-4820.
- Pastusiak, R. (2003): Charakterisierung von Zellstoffkomponenten. Analytik, Spektroskopie, Reaktionskinetik und Modellierung, Dissertation Technische Universität München, Fakultät Chemie, München 2003.
- Paulin, M.G. (2010): Untersuchungen zur katalytischen Entmanganung von Bergbauwässern aus Vietnam im Technikumsversuch, Diplomarbeit Universität für Bodenkultur Wien, Institut für Siedlungswasserbau, Industriewasserwirtschaft und Gewässerschutz, Wien 2010.
- PerkinElmer (2021): Dr. Lothar a Brassard, Geschäftsführer von PerkinElmer chemagen, persönliche Mitteilungen am 09.09.2021

- Perski, H.-J.; J. Moll, R.K. Thauer (1981): Sodium dependence of growth and methane formation in *Methanobacterium thermoautotrophicum*. Arch. Microbiol. 1981, 130(4), 319–321
- Peuckert, F. (2011): Identifizierung und Charakterisierung von Siderophorbindungsproteinen aus *Bacillus subtilis*. Philipps-Universität Marburg, Fachbereich Chemie
- Phenix, A.; A. Burnstock (1992): The removal of surface dirt on paintings with chelating agents. The Conservator 16 (1992): 28-38
- Pietsch, A. (2001): Lösemittel – ein Leitfaden für die restauratorische Praxis. VDR Schriftenreihe zur Restaurierung, Band 9, Konrad Theiss Verlag, Stuttgart (2001)
- Pramanik, A. (2006): Activity spectrum, in vivo efficacy of albomycin and its use in characterization of hydroxamate iron transport in *Streptococcus pneumoniae*, Dissertation Universität Tübingen, Fakultät für Biologie, Tübingen 2006.
- Rauscher, K.; J. Voigt, I. Wilke, I.; K.-T. Wilke; R. Friebe, R. (1996): Chemische Tabellen und Rechentafeln für die analytische Praxis. 10. Aufl., Verlag Harri Deutsch, Thun und Frankfurt am Main (1996)
- Raymond, K.N.; G. Müller, B.F. Matzanke (1984): Complexation of iron by siderophores. A review of their solution and structural chemistry and biological function. Topics in Current Chemistry, Nr. 123, Springer-Verlag, Berlin
- Rehm, H.-J.; G. Reed, H. Pape (1986): Biotechnology. Ausgabe 4, Microbial Products II, VHC Verlagsgesellschaft, Weinheim (1986)
- Reinhard (2021): persönliche Mitteilungen ESSITY Mannheim 20.08 2021
- Rosson, R.A., K.H. Nealson (1982): Manganese Binding and Oxidation by Spores of a Marine Bacillus. Journal of Bacteriology, 151 (2), 1027-1034
- Rüd, C.: Analytik des Mangans in verschiedenen Oxidationsstufen mit spektroskopischen Methoden und Ionenchromatographie, Dissertation Technische Universität Clausthal, Fakultät für Natur- und Materialwissenschaften, Clausthal 2006.
- Rüdisüle, A. (1918): Aluminium, Nickel, Kobalt, Mangan, Zink, Chrom, Uran. Nachweis und Bestimmung der chemischen Elemente 5. Bern
- Scharr, S. (2021): persönliche Mitteilungen am 28.09.2021 VÖGELE INGREDIENTS Lauffen
- Schieblich, E. (2021): persönliche Mitteilungen am 27.07.2021 von OLOID Solution GmbH, Wilhelm-Winkler-Straße 3, 04178 Leipzig
- Schlegel, P. (2021): persönliche Mitteilungen vom 06.09.2021. Philipp Schlegel in Schwabe Extrakta GmbH + Co. KG, Karlsruhe
- Schlegel, H.-G. (1985): Allgemeine Mikrobiologie. Thieme-Verlag, Stuttgart
- Schlegel, H. G. (1992): Allgemeine Mikrobiologie. 7. Auflage, Thieme Verlag, Stuttgart
- Schmidt, V.M. (2012): Technische Katalyse. Vorlesungsskript Fachhochschule Mannheim, Mannheim
- Schneeberger, H. (1963): Metalltrennungen an Anionentauschern, Dissertation Eidgenössische Technische Hochschule Zürich
- Schöner, P.M. (2001): Chemisch gesteuerte flüssig/flüssig Extraktion in Hohlfasermodule. Modellierung und Verifizierung. Dissertation Technische Universität München
- Schönhard, G. (1979): Belastbarkeit von Boden und Pflanzen mit den Elementen Mangan, Nickel, Chrom, Kobalt und Vanadium. UBA-Forschungsbericht 79-108
- Schlegel, P. (2021): persönliche Mitteilungen vom 06.09.2021. Philipp Schlegel in Schwabe Extrakta GmbH + Co. KG, Karlsruhe

- Schönung, (2021): persönliche Mitteilungen vom 02.07.2021. Jürgen Schönung, EBS Mannheim<sup>2</sup> Eigenbetrieb Stadtentwässerung Mannheim
- Schoger, P. (2021): persönliche Mitteilungen am 19.07.2021 von die magnetprofis GmbH & Co.KG, Brunnenstr. 11, 86424 Dinkelscherben
- Schulte-Bockholt, M. (2008): Selektive Abtrennung von Schwermetallionen aus Industrieabwässern durch polymeregestützte Ultrafiltration. Dissertation Technische Universität München, Fachbereich Chemie
- Schultz, W.-S. (2003): Komplexbildner in der Papier- und Zellstoffindustrie. IPW 11(2003), S. 25-28
- Schwarzenbach, G.; K. Schwarzenbach (1963): Hydroxamatkomplexe I. Die Stabilität der Eisen(III)-Komplexe einfacher Hydroxamsäuren und des Ferrioxamins B. Helvetica Chimica Acta 46 (1963): 1390-1400
- Scott, D. A., G. Eggert (2009): Iron and steel in art - corrosion, colorants, conservation. Archetype Publications, London
- Seegers, Ch. (1996): Untersuchung zur Rückgewinnung eines Komplexbildners aus seinem Eisenkomplex im Rahmen der biologischen Entrostung. Diplomarbeit am IBV Fachhochschule Mannheim
- Sell, D.; M. Etschmann (1998): Biotechnologie – eine große Chance für Wirtschaft und Ökologie. Umweltforschungszentrum Leipzig-Halle (Hrsg.): Lebensräume 2 (1998), S. 6-10
- Sharma, B.P., L.F. Bailey, R.A. Messing (1982): Immobilisierte Biomaterialien - Techniken und Anwendungen. Angew. Chem. 94 (1982) 836-852
- Sickei, H.; H. Keberle, E. Fischer (1963): Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen, 43. Mitteilung zur Kenntnis von Desferrioxamin S. Helvetica Chimica Acta, Bd 46 (1963), S. 1386
- Smook, G.A. (1992): Overview of pulping methodology. Handbook for Pulp and Paper Technologies. 2nd ed. Angus Wilde Publications Vancouver
- Sommer, I. (2014): Entwurf Forschungsantrag Mangan Komplexierung von Metallen. Institut für Biologische Verfahrenstechnik Mannheim
- Spiekers, H. + E. Attenberger (2013): Silagesickersaft und Gewässerschutz - Anfall und Verwertung von Silagesickersaft aus Futtermitteln und Biomasse für Biogasanlagen. Broschüre Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL), Vöttinger Straße 38, 85354 Freising-Weißenstephan, Internet: <http://www.LfL.bayern.de> + Bayerisches Landesamt für Umwelt, Bürgermeister-Ulrich-Straße 160, 86179 Augsburg, Internet: <http://www.lfu.bayern.de> (Oktober 2013)
- Stelmaszyk, K. (2013): Synthese und Untersuchung artifizierender tripodaler Catechol-Siderophore. Dissertation Technische Universität Berlin, Fakultät II – Mathematik und Naturwissenschaften, Berlin
- Stengel, A.; I.L. Gügel, D. Hilger, B. Rengstl, H. Jung, J. Nickelsen (2012): Initial Steps of Photosystem II de Novo Assembly and Preloading with Manganese Take Place in Biogenesis Centers in *Synechocystis*, in: The Plant Cell 24 (2012), S. 660-675.
- Stenglein, M. (2011): Die Rolle von Mangan bei der Wasseroxidation. Hauptseminar AC V [www.ac2.uni-bayreuth.de/teaching/hs/vortraege/ws11-12-06-stenglein.pdf](http://www.ac2.uni-bayreuth.de/teaching/hs/vortraege/ws11-12-06-stenglein.pdf) (abgerufen am 6.07.2015).
- Stumm, W., J.J. Morgan (1996): Aquatic chemistry: chemical equilibria and rates in natural waters. p. 683. Wiley-Interscience, New York.
- SWR2 Wissen (2021): Mangan-Knollen-Ernte in der Tiefsee stört das Ökosystem. <https://www.swr.de/swr2/wissen/mangan-knollen-ernte-in-der-tiefsee-stoert-das-oekosystem-100.html> Sendung vom 21.07.2021 abgerufen am 18.11.2021
- Takashima, M. ; R.E. Speece (1989): Mineral nutrient requirement for high-rate methane fermentation of acetate at low SRT. Res. Wat. Pollut. Control Fed. 1989, 61: S. 1645-1650

- Tegtmeier M. (2016): Extrakte und Extrakterstellung. In: Blaschek W (HRSg.) Wichtl - Teedrogen und Phytopharmaka 6. Auflage, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft Stuttgart, 27-32 [[https://media.dav-medien.de/sample/9783804730687\\_p.pdf](https://media.dav-medien.de/sample/9783804730687_p.pdf)]
- Tegtmeier M. (2021): persönliche Mitteilungen am 23.08.2021 Schaper & Brümmer Clausthal-Zellerfeld
- Teske, M. (2013): Nass- und plasmachemische Oberflächenmodifizierung biodegradierbarer, polymerer Implantatwerkstoffe unter Immobilisierung von Wirkstoffen zur Optimierung der Zelle-Implantat-Interaktion. Dissertation Institut für Biomedizinische Technik, Universitätsmedizin Rostock
- Thrän, D.; F. Scholwin, I. Körner: Nebenprodukte, Rückstände und Abfälle. In: Martin Kaltschmitt, Hans Hartmann, Hermann Hofbauer (Hrsg.), 2009: Energie aus Biomasse. 2. Auflage, Springer Verlag, S.166. ISBN 978-3-540-85094-6
- Träumer, D. (1996): Planung einer Pilotanlage bei der Aufarbeitung von Komplex und Komplexbildner bei der biologischen Entrostung. Diplomarbeit am IBV Fachhochschule Mannheim
- Trobas, K. (1982): ABC des Papiers. Die Kunst, Papier zu machen, Akademische Druck- und Verlagsanstalt Graz
- Tschierske, M.; K. Goeke, H.P. Fiedler, H. Zähner (1992): Desferrioxamin E - Optimization of the production process and new hydroxamate-type siderophores obtained by precursor directed biosynthesis. Dechema Biotechnology Conferences 5 (1992), S. 762-764
- UBA-Texte (2019): Aktuelle Entwicklung und Perspektiven der Biogasproduktion aus Bioabfall und Gülle. UBA-Texte 41/2019. Frank Scholwin, Johan Grope, Angela Clinkscales Institut für Biogas, Kreislaufwirtschaft & Energie, Weimar; Jaqueline Daniel-Gromke, Nadja Rensberg, Velina Denysenko, Walter Stinner DBFZ Deutsches Biomasseforschungszentrum gemeinnützige GmbH, Leipzig; Felix Richter, Thomas Raussen, Michael Kern, Thomas Turk Witzenhausen-Institut, Witzenhausen; Gerd Reinhold Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft, Jena (abgerufen am 28.09.2021: 2019-04-15\_texte\_41-2019\_biogasproduktion)
- UM-BW (2007): persönliche Mitteilungen am 29.03.2007 von Dr. Ulrich Maurer Referat 53 Gewässerschutz Umweltministerium Baden-Württemberg
- UM-BW (2020): Bio-Mining – Innovative Bio-Technologien zur Gewinnung anorganischer Stoffe. Ausschreibung vom 17.12.2020 BioPro (aktualisiert: Biomining – wertvolle anorganische Rohstoffe zurückgewinnen vom 09.06.2021 Ministerium für Umwelt, Klima und Energiewirtschaft Baden-Württemberg <https://um.baden-wuerttemberg.de/de/wirtschaft/biooekonomie/biomining/> abgerufen am 17.11.2021)
- Umweltbundesamt (2000): Chemikalienpolitik und Schadstoffe, REACH, Wasch- und Reinigungsmittel, Informationen für Verbraucher, Stand 10. August 2010, angegebene Quelle: Industrieverband Körperpflege und Waschmittel e. V. (IKW), Februar 2000
- Umweltbundesamt (1993): Was Sie schon immer über Wasser und Umwelt wissen wollten, Stuttgart 1993.
- Umweltbundesamt (2013): Altpapier 25.09.2013, <http://www.umweltbundesamt.de/daten/abfall-kreislaufwirtschaft/entsorgung-verwertung-ausgewaehlter-abfallarten/altpapier> (abgerufen am 26.04.2015).
- Umweltbundesamt (2015): Papier. Wald und Klima schützen, Hamburg 2013, [https://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/378/publikationen/papier\\_-\\_wald\\_und\\_klima\\_schuetzen\\_reichart\\_1.pdf](https://www.umweltbundesamt.de/sites/default/files/medien/378/publikationen/papier_-_wald_und_klima_schuetzen_reichart_1.pdf) (abgerufen am 13.07.2015).
- Vetter, H. (1973): Magnesium, Mangan und Kupfer für Boden, Pflanze und Tier. AID: Land- und Hauswirtschaftlicher Auswertungs- und Informationsdienst Bonn – Bad Godesberg

- Vintiloiu, A. (2014): Einsatz von Spurenelementen bei der Vergärung von nachwachsenden Rohstoffen in Biogasanlagen. Dissertation an der für Fakultät Agrarwissenschaften Stuttgart–Hohenheim
- Wagner, Bruno (2020): Grundlagen der Herstellung pflanzlicher Zubereitungen - Begriffe, Definitionen und aktuelle Themen. WiDiSeminar „Praxiswissen Phytopharmaka“ FINZELBERG am 5. November 2020
- Waimer, F. (2021): persönliche Mitteilungen vom 02.07.2021. COO Europe/Asia/Latin America Dr. Frank Waimer, Dr. Willmar Schwabe GmbH & Co. KG Karlsruhe
- Wang, X., Müller, W. E. G. (2009). Marine biominerals: perspectives and challenges for polymetallic nodules and crusts, Trends in Biotechnology, 27:6, 375-383, 30
- Weber, T.; T. Gerke, I. Prüser, A. Hätzelt, M. Job (2014): Katalytische Verstärkung der Bleichwirkung von Persauerstoffverbindungen, Patent DE 10 2012 219 405 A1
- Weber, T.; R. Weidenhaupt, K.H. Maurer (2008): Siderophor-Metall-Komplexe als Bleichkatalysatoren, Patent WO 2008/101909 A1
- Weiland, P. (2010): Flaschenhals Gärresteverwertung. Vortrag IFA-Tulln, 30.09.2010 (abgerufen als dn047034 am 28.09.2021)
- Weiland, P. (2007): Bundesweite Evaluierung neuartiger Biomasse-Biogasanlagen, 2007, 16. Symposium Bioenergie-Festbrennstoffe, Biokraftstoffe, Biogas; Bad Staffelstein, S. 236-241
- Weiß, S.; U.H. Engelhardt (1995): Untersuchungen über Metallbindungsformen in Tee. Lebensmittelchemie 49 (1995) 10-26
- Wikipedia (2008): Diethylentriaminpentaessigsäure <https://de.wikipedia.org/wiki/Diethylentriaminpentaessigsaeure> (abgerufen am 27.10.2015)
- Wikipedia (2010): Ethylendiamintetraessigsäure. <https://de.wikipedia.org/wiki/Ethylendiamintetraessigsaeure> (abgerufen am 27.10.2015).
- Wikipedia (2012): Nitrilotriessigsäure. <https://de.wikipedia.org/wiki/Nitrilotriessigsaeure> (abgerufen am 27.10.2015)
- Wikipedia (2021): Mangan. <https://de.wikipedia.org/wiki/Mangan> (abgerufen am 07.09.2021)
- Wikipedia (2021): Photosynthese. <https://de.wikipedia.org/wiki/Photosynthese> (abgerufen am 08.09.2021)
- Wikipedia (2021): Gossia bidwillii: [https://en.wikipedia.org/wiki/Gossia\\_bidwillii](https://en.wikipedia.org/wiki/Gossia_bidwillii) (abgerufen am 13.09.2021)
- Wilbrand, S. (2012): Koordinationschemische Untersuchungen von Myxochelin A und ausgewählter Derivate, Dissertation Universität des Saarlandes, Naturwissenschaftliche-Technische Fakultät III, Saarbrücken 2012.
- Wilkesman, J. (2019): Immobilisierung von DFOB an magnetische Partikel mit dem Ziel einer aus Zellstoff Manganentfernung. SOP vom 10.07.2019
- Wilkesman, J.; K. Mörtter, I. Sommer, P.M. Kunz (2019): Fishing manganese out from cellulose: impact of coupling desferrioxamine B to stainless steel beads on the circular economy of paper+pulp industry. AVS 66th Int. Symposium and Exhibition.
- Willmes, A.: Taschenbuch Chemische Substanzen. Elemente, Anorganika, Organika, Naturstoffe, Polymere. Frankfurt am Main 2001.
- Winkelmann, G. (1991): Handbook of Microbial Iron Chelates, in: Winkelmann, G. (Hg.): CRC Press: Boca Raton FL 65 (1991).

- Winterberg, B. (2008): Untersuchung der Siderophore in *Ustilago maydis*. Biosynthese, Transport, Funktion und Regulation, Dissertation Philipps-Universität Marburg, Fachbereich Biologie, Marburg/Lahn 2008.
- Wolfer, S. (2008): Papierherstellung, in: Geldermann, J.: Vorlesungsskript Produktion und Umwelt, Universität Göttingen, Göttingen 2008.
- Wollny, S. (2015): Neuartige Funktionalisierung von magnetischen Mikropartikeln zur Prozessintensivierung. Cuvillier Verlag, Göttingen
- Woo G.J.; A. Wasserfallen, R.S. Wolfe (1993): Methyl viologen hydrogenase II, a new member of the hydrogenase family from *Methanobacterium thermoautotrophicum*. J. Bacteriol. 1993, 175, 5970–5977
- Xie Q., Z. Li, L. Yang, J. Lv, T.O. Jobe, Q. Wang (2015): A Newly Identified Passive Hyperaccumulator *Eucalyptus grandis* × *E. urophylla* under Manganese Stress. PLoS ONE 10(9): e0136606. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0136606>
- Yano, J.; J. Kern, K. Sauer, M.J. Latimer, Y. Pushkar, J. Biesiadka, B. Loll, W. Saenger, J. Messinger, A. Zouni, V.K. Yachandra (2006): Where Water is oxidized to Dioxygen: Structure of the Photosynthetic Mn<sub>4</sub>Ca Cluster. Science 314 (2006), S. 821–825.
- Yun, C.-W.; T. Ferea, J. Rashford, O. Ardon, P.O. Brown, D. Botstein, J. Kaplan, C. Philpott (2000): Desferrioxamine-mediated Iron Uptake in *Saccharomyces cerevisiae*. Evidence for two pathways of iron uptake. J. Biol. Chem. 275 (2000), S. 10709-10715.
- Zähner, H. (1992): Mikroorganismen als Produzenten von Eisen-III-Transportverbindungen, in: Gross, K.; J. Aumiller, J. Gelzer: Desferrioxamin. Geschichte, Stellenwert, Perspektiven, München 1992, S.12-27.
- Zähner, H. (1978): Mikroorganismen als Produzenten von Fe (III)-Transportverbindungen. Gross, K.; J. Aumiller, J. Gelzer: Desferrioxamin. Geschichte – Stellenwert – Perspektiven. Medizin-Verlag München, S. 12 – 27
- Zandvoort, M.H.; E.D. van Hullebusch, F.G. Feroso, P.N.L. Lens (2006): Trace metals in anaerobic granular sludge reactors: bioavailability and dosing strategies. Eng. Life Sci. 2006, 6(3), 293–301.
- Zandvoort, M.H.; E.D. van Hullebusch, J. Gieteling, G. Lettinga (2005): Effect of sulfur source on the performance and metal retention of methanol-fed UASB reactors. Biotechnol. Prog. 2005, 21(3), 839–850
- Zheng, T.; E.M. Nolan (2012): Siderophore-based detection of Fe(III) and microbial pathogens, Metallomics. abrufbar unter <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2012/mt/c2mt20082a#divAbstract>
- Zimmer, B. (1994): Untersuchungen an Douglasienholz (*Pseudotsuga menziesii* [Mirb.] Franco) im Hinblick auf seinen Einsatz für mechanische Zellstoffe, Dissertation Ludwig-Maximilians-Universität München, Forstwirtschaftliche Fakultät
- Zimpel, J. (1995): Abwasser und Abfall der Metallindustrie: Vermeiden, Vermindern, Verwerten, Behandeln und Entsorgen. Expert Verlag, Renningen-Malmsheim