Bildung und Verbleib von PAK-Abbauprodukten in einfach- und mischkontaminierten Bodenmaterialien

Einfluß von Schwermetallen auf den PAK-Abbau und ¹³C-CPMAS-NMR-Studien an PAK/Huminstoff-Komplexen

DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades des Fachbereichs Chemie der Universität Hamburg

aus dem Institut für Biochemie und Lebensmittelchemie -Abteilung Lebensmittelchemieder Universität Hamburg

vorgelegt von

Thomas Käcker

aus Eutin

Hamburg 2000

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Januar 1995 bis Juni 1998 unter der Leitung von Professor Dr. Dr. H. Steinhart am Institut für Biochemie und Lebensmittelchemie, Abteilung Lebensmittelchemie, an der Universität Hamburg angefertigt.

1. Gutachter : Professor Dr. Dr. H. Steinhart

2. Gutachter : Professor Dr. J. Voß

Tag der mündlichen Prüfung : 22. Mai 2000

Danksagungen

Bei der Anfertigung dieser Arbeit habe ich eine vielfältige Unterstützung erfahren, für die ich mich an dieser Stelle ganz herzlich bedanke. Mein Dank gilt im einzelnen:

Herrn Prof. Dr. Dr. H. Steinhart für die Überlassung der interessanten Themenstellung sowie für die Betreuung dieser Arbeit.

Herrn Prof. Dr. J. Voß für die bereitwillige Übernahme des Koreferates.

Herrn Dr. E.T.K. Haupt für die Durchführung der NMR-Messungen, die stete Diskussionsbereitschaft, die Korrekturdurchsicht sowie die freundschaftliche Unterstützung.

Herrn Prof. Dr. W. Francke und Herrn C. Garms für die Synthese und Überlassung der ¹³C-angereicherten PAK.

Frau B. Teichmann für die ständige Hilfsbereitschaft bei der mikrobiologischen Charakterisierung und der Sterilisierung der Bodenmaterialien.

Frau S. Pape, Frau S. Hampel und Frau K. Rhode für ihre Hilfsbereitschaft und ihre Beiträge zur Analytik von mischkontaminierten Bodenmaterialien.

Für ihre Hilfs- und Diskussionsbereitschaft danke ich Herrn Dr. H. Wischmann sowie Frau Dr. S. Meyer, die ebenfalls die Korrekturdurchsicht vorgenommen hat.

Meiner lieben Ehefrau Mehrnosh für ihr Verständnis und ihre moralische Unterstützung.

Allen Kolleginnen und Kollegen der Abteilung Lebensmittelchemie für die gute Zusammenarbeit.

Diese Arbeit wurde mit Mitteln der Deutschen Forschungsgemeinschaft im Rahmen des Sonderforschungsbereiches "Reinigung kontaminierter Böden" (SFB 188) gefördert.

Meiner lieben Ehefrau Mehrnosh

Folgende Publikationen gingen bisher aus dieser Arbeit hervor:

Käcker, T.; Steinhart, H. (1996):

Analytik des Abbaus von Kohlenwasserstoffen in mineralöl- und mischkontaminierten Böden und Identifizierung von Intermediärprodukten.

In: Neue Techniken der Bodenreinigung, Hamburger Berichte 10 (Stegmann, R., Hrsg.), Economia Verlag GmbH, Bonn, 125-136

Käcker, T.; Wischmann, H.; Steinhart, H. (1996):

Analysenschema für die Charakterisierung von Mineralölrückständen und ihrer Abbauprodukte im Boden.

In: Biologische und chemische Behandlung von PAK-haltigen Böden und Abwässern, Schriftenreihe Biologische Abwasserreinigung 7 (Cuno, M., Hrsg.), Papyrus-Druck GmbH, Berlin, 27-42

Steinhart, H.; Käcker, T.; Meyer, S. (1996):

Complete analytical scheme for the characterization of mineral oil residues in soil including their degradation products.

Posterbeitrag, 21th International Symposium on Chromatography, 15.-20. September 1996 in Stuttgart

Käcker, T.; Haupt, E.T.K.; Steinhart, H. (1998):

¹³C-CPMAS-NMR-Studien an Huminstoffen ¹³C-PAK-dotierter Bodenmaterialien.

Posterbeitrag, Norddeutsches NMR / ESR-Meeting, 10. März 1998 in Hamburg

Käcker, T.; Steinhart, H.; Haupt, E.T.K. (1998):

Analysis of soil humus matrix spiked with ¹³C-labelled PAHs by ¹³C-CPMAS-NMR.

Posterbeitrag, GDCh-FGMR und GERM XVI-Tagung "New frontiers in magnetic resonance", 27.-30. September 1998 in Obernai, Frankreich

Käcker, T.; Haupt, E.T.K.; Steinhart, H. (2000):

Structural characterization of humic-acid-bound PAH residues in soil by ¹³C-CPMAS-NMR: Evidence of covalent bonds, *in Vorbereitung*

Käcker, T.; Steinhart, H. (2000):

Effects of heavy metals on the biodegradation of monoaromatic and polycyclic aromatic hydrocarbons in soils and soil/compost-mixtures, *in Vorbereitung*

Verzeichnis der Abkürzungen

¹³ C₁-Phe	Phenanthren, angereichert mit ¹³ C-Isotop an Position-1
AAS	Atomabsorptionsspektrometrie
Abb.	Abbildung
AES	Atomemissionsspektroskopie
Ah	A oberer Bodenhorizont h humusreich
BBodSchG	Bundes-Bodenschutzgesetz
hez	bezogen
BUT	Butylbydroxytoluol
BSTEN	Bis(trimothylsilyl)trifluoracotamid
	oirea
Ca.	ullud organiaabar Kablanatoffaabalt
	Viganischer Komensiongenalt
	Kreuzpolansation (engl.: cross polanzation)
	continous wave
DAD	Diodenarray-Detektor
DDQ	2,3-Dichlor-5,6-dicyan-p-benzochinon
DECHEMA	Deutsche Gesellschaft für Chemisches Apparatewesen
DEV	Deutsche Einheits-Verfahren
DHB	3,4-Dihydroxybenzoeäure
DIN	Deutsche Industrie-Norm
DL	Doppellactatlösliches Phosphat
DP	Direct Polarization
DTPA	Diethylentriaminpentaessigsäure
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
entspr.	entspricht
ESR	Elektronen-Spin-Resonanz
FG	Feuchtgewicht
FID	Flammenionisations-Detektor
FIMS	Feldionisationsmassenspektrometrie
FS	Fulvinsäure
FT	Fourier-Transformation
FT-IR	Fourier-Transformations-Infrarot-Spektroskopie
GC	Gaschromatographie
GDCh	Gesellschaft Deutscher Chemiker
Gow -%	Gewichtsprozent
	Colormostionschromstographie
GFC h	Stundo
	Siunde
HNS	1-Hydroxy-2-naphthoesaure
HPLC	Hochleistungsflussigkeits-Chromatographie
	(engl. high performance liquid chromatography)
HS	Huminsaure
i.d.R.	in der Regel
ICP	induktiv gekoppeltes Plasma
	(engl. inductively coupled plasma)
ID	Innendurchmesser
IHSS	International Humic Substances Society
IR	Infrarotspektrometrie
IRM	Isotope Ratio Monitoring
IS	Interner Standard

Kap.	Kapitel
KBE	Koloniebildende Einheiten
Ко	Kompost
kon	Kontrolle
Konz., konz.	Konzentration, konzentriert
KW	Kohlenwasserstoffe
LAS	Lineares Alkylbenzolsulfonat
lfd.	laufend
Lsg.	Lösuna
m	Masse
m/z	Masse/Ladungs-Verhältnis
MAS	magic angle spinning
Med	Medium
MIBK	Methylisobutylketon Isobutylmethylketon
min	Minute
mind	mindue
Me	Magaananaktromatria
	Massenspekilomelne Massenspekilomelne
IVISD	
msec	
MWCO	Molecular-weight-cut-off
n.d.	nicht bestimmt
N-PAK	stickstoffhaltige PAK
N _{ges}	Gesamt-Stickstoffgehalt
NH	Nichthuminstoffe
NMR	Kernresonanzspektroskopie
	(engl. nuclear magnetic resonance)
Nr.	Nummer
NWG	Nachweisgrenze
PAK	Polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe
PCB	Polychlorierte Biphenyle
PHS	ortho-Phthalsäure
ppb	parts per billion
ppm	parts per million
PTFE	Teflon, Polytetrafluorethylen
PVP	Polyvinylpyrrolidon
PVPP	Polyvinylpolypyrrolidon
Pv	Pyrolyse
RFA	Röntgenfluoreszenzanalyse
RRT	Relative Retentionszeit
S	steril
S	siehe
sec	Sekunde
SEB	Sonderforschungsbereich
SM	Schwermetall, Schwermetall-Lösung
	Eastphasonovtraktion (and solid phaso ovtraction)
	Pet von Sachverständigen für Umweltfregen
T	
I Tab	I Cola
	Gesamtkonienstorr (engl. total carbon)
IMCS	I rimethylchlorsilan

TMS-	Trimethylsilyl-
u.a.	unter anderem
UV	Ultraviolett
VIS	Sichtbarer Spektralbereich des Lichtes (engl. visible)
WFR	Wiederfindungsrate
WHK _{max}	Maximale Wasserhaltekapazität
z.A.	zur Analyse
z.B.	zum Beispiel
z.S.	zur Synthese

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Problemstellung und Zielsetzung	9
3	Material	12
	3.1 Bodenmaterialien und Huminstoffe	12
	3.2 Modellverbindungen	13
4	Analytik von Schwermetallen, Mineralölprodukten, PAK und PAK-Abbauprodukten	20
	4.1 Schmieröl, Dieselöl, PAK und ihre Oxidationsprodukte	20
	4.1.1 Ausgangssituation 4.1.2 Durchführung	20 21
	4.2 Schwermetalle	23
	4.2.1 Ausgangssituation4.2.2 Durchführung	23 25
5	Isolierung und strukturelle Charakterisierung von Bodenhuminstoffen	27
	5.1 ¹³ C-CPMAS-NMR von Bodenhuminstoffen	27
	5.1.1 Ausgangssituation 5.1.2 Durchführung	27 32
	5.1.5 EIGEDHISSE	33
	5.2 Isolierung und Fraktionierung von Bodenhuminstoffen	33 33
	 5.1.3 Ergebnisse 5.2 Isolierung und Fraktionierung von Bodenhuminstoffen 5.2.1 Ausgangssituation	 33 33 33 39 42
	 5.1.3 Ergebnisse 5.2 Isolierung und Fraktionierung von Bodenhuminstoffen 5.2.1 Ausgangssituation	 33 33 33 39 42 46
	 5.1.3 Ergebnisse. 5.2 Isolierung und Fraktionierung von Bodenhuminstoffen. 5.2.1 Ausgangssituation. 5.2.2 Durchführung. 5.2.3 Ergebnisse. 5.3 Diskussion. 5.4 Nachweismethode für estergebundene PAK-Oxidationsprodukte. 	 33 33 33 39 42 46 49
	 5.1.3 Elgebrisse	 33 33 39 42 46 49 50
6	 5.1.3 Elgebhisse. 5.2 Isolierung und Fraktionierung von Bodenhuminstoffen. 5.2.1 Ausgangssituation. 5.2.2 Durchführung. 5.2.3 Ergebnisse. 5.3 Diskussion. 5.4 Nachweismethode für estergebundene PAK-Oxidationsprodukte. 5.4.1 Ausgangssituation. 5.4.2 Durchführung. Abbauverhalten von Mineralölprodukten und PAK unter Schwermetall-einfluß.	 33 33 39 42 46 49 50 51

	6.2. 6.2.	1 Durchführung 2 Ergebnisse	59 61
	6.3 Die	selöl-Abbaustudie	62
	6.3. 6.3.	1 Durchführung 2 Ergebnisse	62 63
	6.4 PAK	K-Abbaustudie	66
	6.4. 6.4.	1 Durchführung 2 Ergebnisse	66 68
	6.5 Disk	kussion	84
	6.5. 6.5. 6.5.	 Abbau von Mineralölprodukten unter Schwermetalleinfluß Verfügbare Schwermetallgehalte Abbau von PAK unter Schwermetalleinfluß 	84 86 91
7	¹³ C-CPN	IAS-NMR-Studien an PAK/Huminstoff-Komplexen	95
	7.1 Aus	gangssituation	95
	7.2 Dur	chführung	99
	7.2. 7.2. 7.2.	1 ${}^{13}C_1$ -Phenanthren-Abbau in Ah- und Ah/Ko-Material 2 ${}^{13}C_3$ -Fluoranthen-Abbau in Ah/Ko-Material 3 ${}^{13}C_1$ -Phenanthren-Abbau in einem Modellboden	99 102 103
	7.3 Erge	ebnisse	104
	7.3. 7.3. 7.3.	 Verbleib von ¹³C₁-Phenanthren in Ah- und Ah/Ko-Material	104 109 112
	7.4 Ver zier	ifizierung der NMR-Ergebnisse durch Abspaltung und Identifi- ung der huminstoffgebundenen PAK-Oxidationsprodukte	114
	7.4. 7.4.	1 Durchführung 2 Ergebnisse	114 115
	7.5 Disł	kussion	124
8	Zusamı	nenfassung - Summary	133
	8.1 Zus	ammenfassung	133
	8.2 Sun	nmary	136
9	Literatu	r	139

10	Anha	ng	155
	10.1	Probenmaterialien	155
		10.1.1 Bodenzusammensetzung	155
		10.1.2 Standardlösungen	157
		10.1.3 Chemikalien	160
	10.2	Geräte und Meßbedingungen	165
		10.2.1 Gaschromatographie/FID	165
		10.2.2. Gaschromatographie/MSD	166
		10.2.3 Atomabeorntionsepektrometrie	167
		10.2Λ ¹³ C-CPMAS-NMR-Spektroskopie	167
		10.2.5 ¹³ C-Hochauflösungs-NMR-Spektroskonie	168
		10.2.6 Coulometrie	168
	10.3	Arbeitsvorschriften	169
		10.3.1 Extraktion	169
		10.3.1.1 Extraktion der Mineralölprodukte, PAK und Oxidations-	400
		produkte	169
		10.3.1.2 Extraktion der Schwermetalle	169
		10.3.2 Festphasenextraktion (SPE)	170
		10.3.2.1 Material	170
		10.3.2.2 Durchfuhrung	170
		10.3.3 Derivatisierung des Saurestandards	1/1
		10.3.4 Bestimmung der Boden-pH-Werte	172
		10.3.5 Bestimmung der Koloniebildenden Einheiten (KBE)	172
		10.3.6 Isolierung der Bodennuminstoffe	172
		10.3.6.1 Vorextraktion	172
		10.3.6.2 Dithionitbehandlung.	172
		10.3.6.3 Alkalische Extraktion der Huminsauren und Fulvinsauren	173
		10.3.6.4 Gewinnung des Humins	173
		10.3.6.5 I rennung von Huminsauren und Fulvinsauren	174
		10.3.6.6 Gewinnung der Huminsauren	174
		10.3.6.7 Gewinnung der Fulvinsauren	174
		10.3.6.8 Dialyse und Getriertrocknung	175
		und Derivatisierung der Spaltprodukte	176
		10.2.7.1 Herstellung der isotopopmarkierten NoOH Lösung	176
		10.2.7.1 Herstellung der Isotopenmärklerten NaOH-Losung	170
		10.3.7.2 Alkalische Hydrolyse (Spallung von Esterbindungen)	176
			170
	10.4	Daten zu den Methodenparametern	177
	10.5	Einzelergebnisse der Abbaustudien	180
	10.6	Chromatogramme	194
	10.7	Einzelergebnisse der Esterspaltung	197

1 Einleitung

In der Bundesrepublik Deutschland sind ca. 190.000 Flächen als altlastverdächtig eingestuft, wobei jeweils etwa die Hälfte auf die neuen und alten Bundesländer entfallen. Es handelt sich dabei um ca. 87.000 altlastverdächtige Altablagerungen und ca. 103.000 altlastverdächtige Altstandorte (BMU, 1998). In etwas älteren Schätzungen wurde mit 245.000 Altlastenverdachtsflächen gerechnet (FRANZIUS, 1995). Bis vor kurzem bestand keine gesetzliche Definition der Begriffe "Altlasten" und "altlastverdächtige Flächen". Darüber hinaus war die rechtliche Behandlung der Altlastenproblematik bislang uneinheitlich durch verschiedene, meist bundesländerspezifische Regelwerke, gekennzeichnet (KNOPP und ALBRECHT, 1998). Erst mit dem Inkrafttreten des Bundes-Bodenschutzgesetzes im März 1999 (BBodSchG, 1999) wurde eine bundeseinheitliche und gültige Definition geschaffen. Danach sind Altablagerungen, Altstandorte und schädliche Bodenverunreinigungen dann eine "Altlast", wenn sie zur Gefahr für den einzelnen oder die Allgemeinheit werden.

Neben den in den Regelwerken der einzelnen Bundesländer enthaltenen Bewertungslisten zur Beurteilung des Gefahrenpotentials von kontaminierten Standorten und zur Festlegung von Sanierungsmaßnahmen und -zielen existieren zahlreiche weitere Bewertungsverfahren bzw. Empfehlungen anderer Staaten, Gremien, Arbeitsgruppen und Autoren. Eine zusammenfassende Darstellung liefern z. B. BARKOWSKI et al. (1993) und GDCh (1996). Hervorzuheben ist die sogenannte "Holland-Liste", die häufig zur Bewertung herangezogen wurde (s. dazu Kap. 3.2). Das BBodSchG enthält die Ermächtigung zum Erlaß eines untergesetzlichen Regelwerkes in Form einer Bodenschutz- und Altlastenverordnung (BodSchV). Damit soll ein bundeseinheitliches Vorgehen im Rahmen der Untersuchung und Bewertung von Altlasten sichergestellt und zugleich die derzeitige Listenvielfalt beseitigt werden (KNOPP, 1998).

Als Bodenkontaminationen kommen u. a. Pestizide, Schwermetalle, Rüstungsaltlasten (Sprengstoffe) sowie Verunreinigungen mit Mineral- und Teerölen in Betracht. Viele aktuelle Schadensfälle und Altlasten sind auf Kontaminationen durch die letztgenannte Gruppe zurückzuführen. Zu nennen sind in diesem Fall insbesondere ehemalige Kokerei- und Gaswerkstandorte. Weitere derartige Schadstoffeinträge beruhen auf Unfällen oder Leckagen durch unsachgemäß gelagerte Öl- und Chemikalienbehälter. Das Spektrum der Mineralölbestandteile umfaßt vorwiegend aliphatische verzweigte und unverzweigte sowie cyclische und aromatische Kohlenwasserstoffe, das der Teerölbestandteile polycyclische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK) und heterocyclische Verbindungen.

Hervorzuheben sind die PAK, deren chemische Struktur durch zwei oder mehr kondensierte Benzolringe gekennzeichnet ist. Die Vertreter dieser Stoffklasse unterscheiden sich nicht nur in der Anzahl ihrer aromatischen Ringe, sondern auch in der Stellung dieser Ringe zueinander. Bei heterocyclischen PAK sind ein oder mehrere C-Atome durch N-, S- oder O-Atome substituiert. Eine weitere Gruppe sind alkyl-substituierte PAK. U. a. in Abhängigkeit von ihrem Kondensationsgrad können PAK eine hohe Umweltpersistenz und ein Gefährdungspotential für die menschliche Gesundheit aufweisen. Die Entstehung von PAK geschieht hauptsächlich auf zwei Wegen: Zum einen durch die im Verlauf der Erdgeschichte erfolgte Inkohlung von organischem Material zu fossilen Brennstoffen wie Erdöl und Kohle. Zum anderen bei der unvollständigen Verbrennung von organischem Material (500-800 °C); damit einher geht auch die ubiquitäre Verteilung dieser Stoffklasse in der Umwelt.

Mineralöl- bzw. Teerölkontaminationen für sich genommen verkörpern bereits ein heterogenes Schadstoffspektrum, aber auch Mischkontaminationen aus organischen und anorganischen Stoffen (z. B. PAK und Schwermetalle) sind häufig anzutreffen und gelten in der Sanierungspraxis als besonders problematisch (WINKLER, 1994; LENOIR, 1998).

Vor dem Hintergrund der nationalen und internationalen Dimension der Altlastenproblematik wurden Bodenreinigungstechnologien und -anlagen seit Anfang der 80er Jahre insbesondere in der Bundesrepublik Deutschland, in den USA und den Niederlanden entwickelt und aufgebaut. Im Sinne einer abgestuften Altlastenstrategie umfaßt "Sanierung" gemäß dem BBodSchG primär Dekontaminationsmaßnahmen, sekundär Sicherungsmaßnahmen und schließlich Maßnahmen zur Beseitigung oder Verminderung schädlicher Veränderungen der physikalischen, chemischen oder biologischen Beschaffenheit des Bodens. Sanierungsverfahren, die eine Dekontamination zum Ziel haben, lassen sich unterscheiden in (GDCh, 1996):

Ex-situ-Verfahren, bei denen ein Bodenaushub erfolgt und die Bearbeitung des Bodens entweder auf dem Gelände (*on-site*) oder an einem anderen Ort (*off-site*) durchgeführt wird. Es gibt verschiedene Arten einer derartigen Sanierung. Die Behandlung kann biologisch (Trockenmieten, Naßmieten, Bodenfermenter und Schlammfermenter), physikalisch-chemisch (Wasch- und Extraktionsverfahren wie z. B. die Bodenwäsche) und thermisch (z. B. Hochtemperatur- bei 600-1000 °C und Niedertemperaturverfahren bei 350-600 °C) erfolgen.

In-situ-Verfahren, bei denen der Boden nicht ausgehoben wird, d.h. der Boden wird in seiner natürlichen Lage belassen. Auch hier finden physikalische (z. B. Boden-Luft-Absaugung) und biologische (z. B. Optimierung der Milieubedingungen durch Behandlung mit Sauerstoff) neben einigen weiteren Verfahren Anwendung.

In vielen Fällen preiswerter als die Dekontamination können Sicherungsverfahren (Immobilisierungsverfahren) durchgeführt werden. Ziel ist die Verhinderung der Schadstoffausbreitung in die Umwelt durch Unterbrechung der Emissionspfade Luft, Wasser und Boden.

Welche Sanierungsziele mit welchen Sanierungsverfahren erreicht werden können, ist von einer Vielzahl von Faktoren abhängig. Diese sind: Schadstoffart, Schadstoffgehalt, Bodenart bzw. -zusammensetzung, Bodenbegleitstoffe, Intensität der Behandlung, Prüfverfahren und Analysen.

Große Hoffnungen hat man auf die gezielte Dekontamination von verunreinigten Böden durch Bakterien gesetzt. Mikrobiologische Verfahren beruhen auf der Behandlung des Bodens unter zumeist aeroben Bedingungen mit dem Ziel, die organischen Schadstoffe weitestgehend zu mineralisieren. Bestimmend für den Einsatz derartiger Verfahren sind die biologische Abbaubarkeit und die Verfügbarkeit der relevanten Schadstoffe für die Mikroorganismen.

Biologische Sanierungen erfolgen unter Optimierung der natürlichen Lebensbedingungen für Mikroorganismen. Dazu zählen die Erhöhung der Bioverfügbarkeit, die Verbesserung der Sauerstoffversorgung, die Einstellung der Nährstoffund Spurenelementgehalte, die Erhöhung der biologischen Aktivität durch Zugabe von leicht abbaubaren C-Quellen, die Verbesserung der Matrixstruktur, die Einstellung des pH-Wertes, des Wassergehaltes und der Temperatur sowie der Einsatz zusätzlicher spezieller Bakterienstämme (WEBB, 1990; UBA, 1990; UBA 1991; BOCK und MAHMUTOGLU, 1992; FRANZIUS, 1993; ZEYER, 1993; BRAUN et al., 1994; SPRENGER et al., 1994; WINKLER, 1994; GDCh, 1996). Als Substrate werden beispielsweise Hausmüllkompost, gemahlene Kiefernborke, Stroh, Stroh-Pilz-Gemische, Nährstofflösungen oder Tenside eingesetzt.

Die anfängliche Euphorie mit der diese Art der Sanierung bewertet wurde wich mit zunehmender Anwendung einer kritischeren Betrachtung. Die im Laborversuch erzielten Ergebnisse ließen sich häufig nicht in der Sanierungspraxis bestätigen (DOTT und STEIOF, 1994). Es hat sich herausgestellt, daß die alleinige analytische Erfassung der Abnahme der Schadstoff-Ausgangskonzentration nicht ausreicht, um die Vorgänge im komplexen System Boden vollständig zu beschreiben. Vielmehr wurde deutlich, daß verschiedene Eigenschaften der Bodenmatrix zu einer beachtlichen Verminderung der Schadstoffbioverfügbarkeit führen können. Die Ursachen für die Entstehung sogenannter "gebundener Rückstände" liegen zum einen in Adsorptions- bzw. Inkorporationsvorgängen, die zu einer Einlagerung der Ausgangsverbindungen in die Matrix führen, und zum anderen in dem Einbau polarer Abbauprodukte in die Huminstoffe des Bodens (Humifizierung). Diese Beobachtungen führten zu der Uberlegung, biologische Verfahren zur gezielten Festlegung von Schadstoffen an die organische Bodenmatrix einzusetzen (MAHRO und KÄSTNER, 1993; JACOBI, 1995). Diese Möglichkeit scheint insbesondere für mikrobiologisch schwer abbaubare Substanzen eine sinnvolle Alternative darzustellen.

Eine wichtige Voraussetzung für die effektive Anwendung einer derartigen Verfahrensweise ist die Kenntnis über die qualitative und quantitative Entstehung, die Akkumulation und den Verbleib von Schadstoffabbauprodukten im Boden (Stoffbilanzierung). Weiterhin ist die Klärung der Frage nach der Art und damit der Stabilität von Schadstoff/Huminstoff-Komplexen unabdingbar (Langzeitverhalten). Nur wenn eine möglichst hohe Bindungsstabilität von Schadstoffen im Boden erreicht wird, kann eine Remobilisierung der eingebundenen Kontaminanten auch unter ungünstigen Umweltbedingungen vermieden werden. Auch muß eine

toxikologische Bewertung bioverfügbarer oder gebundener Schadstoffe bzw. partiell abgebauter Kontaminanten erfolgen (AHLF et al., 1993; JACOBI, 1995).

Ein weiterer nicht zu vernachlässigender Aspekt ist, daß Bodenkontaminationen in der Regel ein heterogenes Schadstoffspektrum aufweisen. Daher müssen Wechselwirkungen unter den Substanzen und im Hinblick auf Bioprozessoren mit Enzymsystemen berücksichtigt werden (SRU, 1989; SINGLETON, 1994; WINKLER, 1994). Zu untersuchen sind z. B. synergistische und antagonistische Effekte auf den mikrobiologischen Abbau einer Schadstoffart und Kombinationswirkungen verschiedener Schadstoffklassen auf die Bioverfügbarkeit oder das toxikologische Gefahrenpotential einer Mischkontamination.

Nicht zuletzt muß ein geeignetes analytisches Instrumentarium vorhanden sein, das es ermöglicht, die komplexen Vorgänge im Boden zu beschreiben (Extraktion und Detektion von Kontaminanten und ihren Abbauprodukten in Form einer Einzelstoffanalytik, Clean up, Adsorptionsvorgänge, kovalente und nicht-kovalente Bindungsarten, Struktur der Bodenmatrix u. a.).

Für die Schadstoffklasse der PAK sind die aufgezeigten Fragestellungen bisher nur teilweise beantwortet worden. Zu nennen ist in diesem Zusammenhang u. a. die Tätigkeit des Sonderforschungsbereiches (SFB) 188 "Reinigung kontaminierter Böden", der 1989 von der Deutschen Forschungsgemeinschaft an der Technischen Universität Hamburg-Harburg und der Universität Hamburg eingerichtet wurde. Im Rahmen dieses SFB werden die wissenschaftlichen Grundlagen für biologische und chemisch-physikalische Verfahren sowie mögliche Verfahrenskombinationen zur Sanierung vorwiegend mit Mineralölen und PAK kontaminierter Böden erforscht.

Die mikrobiellen Abbauwege unter Kulturbedingungen sind für eine Vielzahl von PAK bekannt (z. B. SUTHERLAND et al., 1995; SELIFONOV et al., 1996; ALLEN et al., 1997). Die Charakterisierung von PAK-Abbauprodukten in Bodenmaterialien erfolgte dagegen erst durch wenige Autoren (z. B. LANGBEHN und STEINHART, 1995; WISCHMANN und STEINHART, 1997), die zugleich einen wichtigen Beitrag zur Analytik dieser Verbindungen geleistet haben. Das Abbauverhalten von PAK in Mischkontaminationen ist unter dem Aspekt der gegenseitigen Wechselwirkungen bisher kaum untersucht worden. Die Wechselwirkungen zwischen verschiedenen PAK hinsichtlich ihres Abbaus wurden u. a. von TIEHM und FRITZSCHE (1995), KELLEY und CERNIGLIA (1995) sowie MEYER und STEINHART (2000a) untersucht. KOCH und WILKE (1998) beschrieben die Kombinationswirkung von PAK und Schwermetallen auf Bodenbakterien. KUO und SHARAK GENTHER (1996) untersuchten den Einfluß von Schwermetallen auf den anaeroben Abbau ausgewählter chlororganischer Verbindungen. Bislang fehlen Erkenntnisse über den Einfluß von Schwermetallen auf den mikrobiologischen Abbau von Mineralölkohlenwasserstoffen oder PAK in Bodenmaterialien. Es ist zu vermuten, daß der Kohlenwasserstoffabbau durch die Anwesenheit von Schwermetallen blockiert werden kann (SRU, 1989).

RICHNOW et al. (1994) führten selektive chemische Spaltungsreaktionen an Huminstoffen durch und konnten estergebundene PAK-Oxidationsprodukte nachweisen. Die Forschungsaktivitäten auf dem Gebiet der Huminstoffe sind bis zum heutigen Tage als sehr zahlreich zu bewerten, wenngleich die jeweiligen Schwerpunkte unterschiedlich waren. Die strukturelle Charakterisierung dieser äußerst komplexen, nur schwer definierbaren, makromolekularen Stoffklasse erwies sich dabei als problematisch. Basierend auf einer Vielzahl von Strukturdaten, die mit den unterschiedlichsten Analysenverfahren ermittelt wurden, sind verschiedene Strukturvorschläge gemacht worden (SCHULTEN und SCHNITZER, 1995 und 1997; SCHULTEN, 1996). Abb. 1 zeigt beispielsweise die zweidimensionale Darstellung einer Huminsäure. Derartigen Analysen vorausgegangen war meistens eine Isolierung und Fraktionierung von Bodenhuminstoffen in Huminsäuren, Fulvinsäuren und Humin. Eine zusammenfassende Darstellung dieser Techniken findet sich beispielsweise bei STEVENSON (1994). Es ist bekannt, daß die einzelnen Fraktionen unterschiedliche Eigenschaften aufweisen, die sich vermutlich auch auf das Lösungs-, Mobilitäts- und Bindungsverhalten von Schadstoffen im Boden auswirken können (z. B. SCHEUNERT et al., 1992; MAXIN und KOGEL-KNABNER, 1995; NANNY et al., 1997). Von den Methoden, die zur strukturellen Charakterisierung von Huminstoffen einsetzbar sind, stellt die Kernresonanzspektroskopie (Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, NMR), insbesondere die ¹³C-Festkörper-NMR, die geeignetste dar (BORTIATYNSKI et al., 1996; PRESTON, 1996). Demzufolge scheint diese Methode auch für die Strukturaufklärung von Schadstoff/Huminstoff-Komplexen einsetzbar zu sein.



Abb. 1 Strukturvorschlag für eine Huminsäure (schematisierte Darstellung): Die Symbole (***) stehen für einen weiten Bereich verschiedener Bindungen im Makromolekül entsprechend den variierenden Kettenlängen aliphatischer Strukturen (aus SCHULTEN und SCHNITZER, 1997)

Die Vorteile dieser Technik liegen in der Anwendbarkeit auf komplexe makromolekulare Systeme sowie in der Möglichkeit, mit nur einem Meßvorgang Hinweise auf eine Vielzahl von Bindungsstrukturen zu erhalten. Außerdem läßt sich durch den Einsatz ¹³C-angereicherter Substanzen unter geeigneten Bedingungen eine deutliche Verstärkung von Signalen im ¹³C-NMR-Spektrum sowie eine Vereinfachung der Spektren erzielen (BORTIATYNSKI et al., 1996 und 1997). Bisher fehlen Arbeiten zum kernresonanzspektroskopischen Nachweis von kovalenten Bindungen zwischen PAK bzw. ihren Oxidationsprodukten und

Bodenhuminstoffen. Daß dies prinzipiell möglich ist, zeigt zum Beispiel die Arbeit von GUTHRIE et al. (1999). Sie verfolgten den Abbau von ¹³C-angereichertem Pyren in einem Sediment. Mittels ¹³C-Festkörper-NMR gelang der Nachweis der nicht-kovalenten Assoziation des Ausgangsmoleküls mit der Huminstoffmatrix des Sedimentes.

2 Problemstellung und Zielsetzung

Aus den in Kap. 1 dargestellten Sachverhalten lassen sich vier wesentliche Kernpunkte herausarbeiten, die Bestandteil weiterer Forschungen sein sollten:

- 1) Die Stoffbilanzierung von Schadstoffen (Abbau, Entstehung, Verbleib)
- 2) Das Langzeitverhalten im System Boden (Bindungsstrukturen)
- 3) Wechselwirkungen verschiedener Schadstoffklassen beim Abbau
- 4) Neue analytische Methoden

Die Zielsetzung der vorliegenden Arbeit orientierte sich an diesem Forschungsbedarf. Im einzelnen wurden folgende Arbeitsschwerpunkte ausgewählt:

Untersuchungen zum Einfluß von Schwermetallen auf den Abbau von Mineralölkohlenwasserstoffen und PAK in Boden- bzw. Boden/Kompost-Materialien unter besonderer Berücksichtigung entstandener PAK-Abbauprodukte.

Im Rahmen von Abbauversuchen sollte in qualitativer und quantitativer Hinsicht der Abbau ausgewählter PAK und anderer Kohlenwasserstoffe (Dieselkraftstoff, Schmieröl) sowie die Entstehung und Abnahme entsprechender Abbauprodukte unter der Einwirkung von verschiedenen Schwermetallen verfolgt werden. Es galt überprüfen, inwiefern Variationen der Begleitkontamination zu (Art und Konzentration der Schwermetalle) und der Bodenmatrix (mit und ohne PAK-Abbau beeinflussen wie hoch für Kompostzusatz) den und der Mikroorganismen verfügbare Schwermetallanteil einzuschätzen ist.

Für die Analytik der organischen Kontaminanten (Ausgangsverbindungen, Abbauprodukte) konnte auf bewährte Verfahren zurückgegriffen werden (LANGBEHN, 1995). Dagegen mußten für die Erfassung der ökologisch relevanten "mobilen" Schwermetallfraktion bestehende Verfahren an die eigene Fragestellung adaptiert werden. Optimierung bestehender Verfahren zur Isolierung von Bodenhuminstoff-Fraktionen bzw. Schadstoff/Huminstoff-Komplexen.

Ziel der Adaption verschiedener in der Literatur beschriebener Verfahren sollte sein, möglichst chemisch unveränderte Huminstoff-Fraktionen in einer für die beabsichtigte ¹³C-Festkörper-NMR-Messung ausreichenden Menge und Qualität zu erhalten. Dazu sollten Verfahren der alkalischen Extraktion (Huminsäuren, Fulvinsäuren) und der Extraktion mit Methylisobutylketon (Humin) für die Huminstoff-gewinnung überprüft werden. Methoden zur Entfernung paramagnetischer Ionen (Behandlung mit Natriumdithionit) sowie zur Verminderung des Ascheanteils in den Isolaten dienen der Verbesserung der NMR-Meßempfindlichkeit und sollten daher in die Probenaufarbeitung integriert werden.

Ermittlung von Versuchsparametern zur strukturellen Charakterisierung von Bodenhuminstoffen mittels ¹³C-Cross Polarization Magic Angle (CPMAS)-NMR.

Die Festkörper-Kernresonanzspektroskopie, insbesondere die ausgewählte Technik der ¹³C-CPMAS-NMR, wird in der Literatur für die eigene Fragestellung als Methode der Wahl beschrieben. Es ist jedoch wichtig, auf eine exakte Einstellung aller Versuchsparameter zu achten. Nur dadurch können reproduzierbare Ergebnisse erzielt werden. Aus diesem Grund sollten zunächst die Ausstattung und sämtliche Meßparameter des zur Verfügung stehenden Gerätes dahingehend optimiert werden, das vorhandene Probenmaterial in geeigneter Weise vermessen zu können.

Nachweis von Bindungsarten zwischen PAK-Abbauprodukten und Huminstoffen unter Einsatz ¹³C-angereicherter PAK und ¹³C-CPMAS-NMR.

Um zur Aufklärung der genannten Fragestellung beizutragen, sollten Abbauversuche mit ¹³C-angereicherten PAK (¹³C₁-Phenanthren, ¹³C₃-Fluoranthen) in verschiedenen Bodenmaterialien (mit und ohne Kompostzusatz, Modellboden unter Verwendung kommerziell erhältlicher Huminsäuren) durchgeführt werden. In bestimmten Zeitabständen sollten Proben entnommen und die isolierten Humin-

stoffe mittels ¹³C-CPMAS-NMR vermessen werden. Anhand der bekannten Abbauwege der verwendeten PAK und der erhaltenen NMR-Spektren sollte auf potentielle Bindungsstrukturen geschlossen werden. Darüber hinaus galt es festzustellen, welche Schadstoff-Konzentrationen in derartigen Modellsystemen notwendig sind, um aussagekräftige NMR-Spektren erhalten zu können.

Verifizierung von NMR-Ergebnissen durch den gezielten Einsatz alternativer Analysenverfahren und Bilanzierung der Schadstoffverteilung.

Die mittels ¹³C-CPMAS-NMR erzielten Ergebnisse sollten bei entsprechenden Hinweisen auf bestimmte Bindungsstrukturen der Schadstoffe durch selektive, in der Literatur beschriebene, chemische Spaltungsreaktionen und anschließende Identifizierung der Spaltprodukte bestätigt werden. Durch eine geeignete Auswahl von Analysentechniken (Isotopenmarkierung, Derivatisierung, Gaschromatographie-Massenspektrometrie (GC-MS)-Detektion) sollte ebenfalls versucht werden, quantitative Aussagen über die Verteilung von intakten bzw. partiell abgebauten Schadstoffmolekülen im System Boden zu treffen.

3 Material

3.1 Bodenmaterialien und Huminstoffe

Für die Überprüfung und Optimierung der angewendeten Methoden (Kap. 4 u. 5.2) sowie für die Abbaustudien in den Kap. 6 und 7.2 wurden gut charakterisierte, unkontaminierte Boden- und Kompostmaterialien verwendet (*Tab. 1*). So wurde der AhAl-Horizont einer Parabraunerde mit einem organischen Kohlenstoffgehalt von 1,1 % eingesetzt. Die Bezeichnung dieses Materials weist auf einen Übergangshorizont zwischen huminstoffakkumulierten und lessivierten, d.h. durch Auswaschung an Ton verarmten, Kompartimenten hin (SCHACHTSCHABEL et al., 1992). Das Bodenmaterial wurde vor der Verwendung luftgetrocknet, < 2 mm gesiebt und auf eine Bodenfeuchte von 50 % maximale Wasserhaltekapazität (WHK_{max}) eingestellt.

Kenndaten	AhAl-Bodenmaterial (Ah)	Biokompost (Ko)	Ah/Ko-Material (9:1, w:w)
Bodenart	schwach lehmiger Sand		
Sand [%]	78,2		
Schluff [%]	15,4		
Ton [%]	6,4		
C _{org} [%]	1,1	14,1	2,6
N _{ges} [%]	0,08	1,62	0,86
NO ₃ ⁻ [mg/kg]	184		271
PO ₄ ³⁻ [mg/kg] (DL-Auszug)	100		378
pH-Wert	4,6		5,9
WHK _{max} [%]	31,7	213	45,9
Keimzahl [KBE/g Boden]	10 ⁵ - 10 ⁶		10 ⁶ - 10 ⁷

Tab. 1 Kenndaten der verwendeten Bodenmaterialien

[%] = Gewichtsprozent, C_{org} = organischer Kohlenstoff, N_{ges} = Stickstoffgehalt, DL = Doppellactatlösliches Phosphat, WHK_{max} = maximale Wasserhaltekapazität, KBE = Koloniebildende Einheiten

Für die Versuche mit einer an organischem Kohlenstoff angereicherten Matrix wurde das AhAl-Material mit 10 Gew.-% Hausmüllkompost (bezogen auf die Trockenmasse) gemischt. Dieser Biokompost vom Rottegrad 5 wurde vor der

Vermischung < 5 mm gesiebt. Die im folgenden mit "Ah/Ko" (AhAl-Material/ Biokompost, 9:1, w:w) bezeichnete Mischung wurde auf eine Feuchte von 57 % WHK_{max} eingestellt.

Für die Abbaustudien mit ¹³C-angereichertem Phenanthren und anschließender NMR-Messung der Huminstoff/Schadstoff-Komplexe (Kap. 7.2.3) wurde ein künstlicher Modellboden (*Tab. 2*), bestehend aus Quarzsand, Huminsäure und einem wäßrigen Ah/Ko-Extrakt, eingesetzt. Es wurde eine kommerziell erhältliche Huminsäure (Acros, Schwerte, BRD) verwendet.

Tab. 2	Zusammensetzung des	Bestandteile/Kenndaten	Gehalt [%]
	Modelibodelis	Quarzsand	75,93
		Huminsäure	1,29
		wäßriger Bodenextrakt	22,78
		C _{org}	0,43
		C _{org} = organischer Kohlenstoff	

3.2 Modellverbindungen

Für die verschiedenen Untersuchungen zum Abbauverhalten von Mineralölprodukten, einzelnen Monoaromaten und PAK in mischkontaminierten Bodenmaterialien wurden neben Motorenschmieröl und Dieselkraftstoff die in *Abb.* 2 aufgeführten Verbindungen als Kontaminanten eingesetzt.

Das Motorenschmieröl (kurz Schmieröl) und der Dieselkraftstoff (kurz Dieselöl) wurden bereits durch andere Autoren (BUNDT, 1991; PASCHKE et al., 1992 und LANGBEHN, 1995) in ihren Eigenschaften und ihrer Zusammensetzung charakterisiert. Die einzelnen Kenndaten sind in *Tab. 3* zusammengefaßt.



Abb. 2 Strukturformeln der verwendeten Modellkontaminanten

	Schmieröl	Dieselöl			
Mischung	LA 01831		Siedebereich	190 - 360 °C	
SAE-Klasse	SAE 10W-40		Zusammensetzung: (nach BUNDT, 1991)		
Dichte	0,8710 g/mL	DIN 51757	Aliphaten	71,7 %	
Viskositätsindex	166,0	DIN ISO 2909	Monoaromaten	16,4 %	
Asche (SO ₄)	1,10 % (m:m)	DIN 51575	Diaromaten	8,0 %	
Anteil Di- und Polyaromaten	< 0,5 %	PASCHKE et al., 1992	Polyaromaten (incl. Biphenyle)	3,9 %	

Tab. 3 Kenndaten der verwendeten Mineralölprodukte

Als Begleitkontamination der organischen Verunreinigungen wurden die Schwermetalle Zink, Blei, Kupfer, Chrom und Cadmium ausgewählt und in Form ihrer leichtlöslichen Sulfate bzw. Nitrate eingesetzt: Pb(NO₃)₂, 3CdSO₄ • 8 H₂O, KCr(SO₄)₂ • 12 H₂O, Cu(NO₃)₂• 3 H₂O, Zn(NO₃)₂•6 H₂O, ZnSO₄ • 7 H₂O. Die qualitative Auswahl der Schwermetalle erfolgte im Hinblick auf ihre Relevanz in realen Altlastenstandorten und ihrer unterschiedlichen Bioverfügbarkeit in Böden bzw. toxischen Wirkung auf die Bodenflora und -fauna (HERMS und BRÜMMER, 1984; BÅÅTH, HORNBURG, 1991). Die verwendete Dotierungskonzentration orientierte 1989; sich an den Belastungskategorien (B- und C-Werte) für schwermetallkontaminierte Böden der sogenannten "Holland-Liste" von 1988 (zitiert nach BARKOWSKI et al. 1993, Tab. 4). Die Holland-Liste von 1988 ist wesentlicher Bestandteil des Niederländischen Interimsgesetzes Bodensanierung vom Januar 1983 und hat die Altlastenbewertung in Deutschland nachhaltig beeinflußt. Die Liste legt für kontaminierte Standorte Orientierungswerte zur Einschätzung von gemessenen Konzentrationen fest, wobei diese Orientierungsdaten für sieben große Chemikaliengruppen (Metalle und Halbmetalle, weitere anorganische Verbin-PAK, chlororganische Verbindungen, dungen, aromatische Verbindungen, Pestizide, Sonstiges) erstellt wurden. Drei Konzentrationsniveaus werden unterschieden (VAN LIDTH DE JEUDE, 1985):

A = üblicherweise anzutreffen (Hintergrundbelastung = "Normalwert")

B = Schwellenwert für nähere Untersuchungen

C = Schwellenwert, der als Sanierungsrichtwert gelten kann

Seit dem 9. Mai 1994 sind neue Interventionswerte (I-Werte) und Referenzwerte (S-Werte) in den Niederlanden per Gesetz verbindlich eingeführt (HEIN und SCHWEDT, 1995). Im Vergleich zu den früheren C-Werten von 1988 bzw. der Novelle von 1993 gibt es bei den I-Werten keine Änderungen. Die früheren A-Werte von 1988 wurden z. T. (jetzt als S-Werte) geändert bzw. ergänzt oder sie entfallen. Mit der Einführung der I-Werte sind die ehemaligen B-Werte hinfällig. Deren Funktion wird ersetzt durch das Kriterium

15

Jahr	Kategorie	Cd	Cu	Pb	Cr	Zn
1988	A-Wert	0,8	36	85	100	140
	B-Wert	5*	100	150	250	500
	C-Wert	20*	500	600	800	3000
1993	A-Wert	0,8	36	85	100	140
	B-Wert	5	100	150	250	500
	C-Wert	12	190	530	380	720
1994	S-Wert	0,8	36	85	100	140
	(I+S)/2	6,4	113	308	240	430
	I-Wert	12	190	530	380	720

Tab. 4Belastungskategorien für schwermetallkontaminierte Böden
(Holland-Liste von 1988, 1993 u. 1994), Angaben in mg/kg Boden-TM

A = Hintergrundkonzentration, B = Schwellenwert für weitere Untersuchungen, C = Schwellenwert für Sanierungsmaßnahmen, * = für Cadmium wurde der 3-fache Tabellenwert bei der Dotierung der Versuchsansätze zugrundegelegt

Tab. **5** gibt Aufschluß über die in der Holland-Liste aufgeführten Orientierungswerte für einige der eingesetzten organischen Kontaminanten. Die in den jeweiligen Abbauversuchen eingesetzten Konzentrationen dieser Verbindungen entsprachen entweder dem C-Wert von 1988 oder überstiegen ihn deutlich.

Tab. 5	Belastungskategorien für ausgewählte organische Kontaminanten
	(Holland-Liste von 1988, 1993 u. 1994), Angaben in mg/kg Boden-TM

		1988			1993			1994	
	А	В	С	А	В	С	S	(I+S)/2	I
Aromaten		7	70						
PAK	1	20	200				1*	20*	40*
Naphthalin	0,01	5	50	0,01	5	40			
Anthracen	0,1	10	100	0,1	10	40			
Phenanthren	0,1	10	100	0,1	10	40			
Fluoranthen	0,1	10	100	0,1	10	40			
B[a]anthracen	1	5	50	1	5	40			
Mineralöle	50	1000	5000	50	1000		50	2525	5000

* = Summe von 10 individuellen PAK

Für die Untersuchungen zum Bindungsverhalten von PAK und ihren Abbauprodukten mittels ¹³C-CPMAS-NMR wurde notwendigerweise auf ¹³C-angereicherte

Abbauversuche eingesetzt.

Verbindungen zurückgegriffen. Die PAK ¹³C₃-Fluoranthen und ¹³C₁-Phenanthren (*Abb. 3*) wurden im Arbeitskreis von Herrn Prof. Dr. W. Francke (Institut für Organische Chemie im Fachbereich Chemie der Universität Hamburg) synthetisiert und für die Durchführung der genannten Versuche zur Verfügung gestellt.



Abb. 3 Strukturformeln von ${}^{13}C_3$ -Fluoranthen und ${}^{13}C_1$ -Phenanthren

Das Ausmaß der ¹³C-Anreicherung sowie die Reinheit der Syntheseprodukte wurde mittels GC-FID und GC-MSD überprüft, wobei die entsprechenden PAK mit natürlicher ¹³C-Häufigkeit als Vergleich dienten.

Die Untersuchung ergab, daß Fluoranthen und Phenanthren zu \ge 99 Atom % an der Position C-3 bzw. C-1 mit dem ¹³C-Isotop angereichert waren.

Das Phenanthrenprodukt bestand zu annähernd 100 % aus ¹³C₁-Phenanthren. Dagegen enthielt das Fluoranthenprodukt neben ¹³C₃-Fluoranthen (ca. 89,5 %) auch Fluoren (ca. 10,5 %) und eine unbekannte rotorange gefärbte Substanz als Verunreinigung. Das identifizierte Fluoren wies einen ¹³C-Anteil von natürlicher Häufigkeit auf (1,11 %) und lag in seiner Funktion als Syntheseausgangsverbindung in dem Syntheseprodukt vor. Die Färbung des Produktes ist vermutlich auf Rückstände der Verbindung 2,3-Dichlor-5,6-dicyan-p-benzochinon (DDQ) zurückzuführen, die im Verlauf der Synthese zur Dehydrierung eingesetzt wurde. Beide Syntheseprodukte wurden ohne weitere Aufreinigungsschritte für die Die Zusammensetzung der jeweiligen Versuchsansätze sowie die verwendeten Konzentrationen der organischen und anorganischen Kontaminanten sind in den entsprechenden Kapiteln zur Durchführung (Schmierölabbau: Kap. 6.2.1, Dieselöl-Abbau: Kap. 6.3.1, PAK-Abbau: Kap. 6.4.1, Abbau ¹³C-angereicherter PAK: Kap. 7.2) detailliert dargestellt.

Für die Methodenoptimierung zur Extraktion der Oxidationsprodukte und für deren Identifizierung und Quantifizierung wurden die in den *Abb. 4* und **5** gezeigten Verbindungen eingesetzt. Die genaue Zusammensetzung der jeweiligen Standardlösungen ist den *Tab. 26-27* (Kap. 10.1.2, S. 158 und 159) zu entnehmen.



Abb. 4 Strukturformeln der verwendeten Modell-Oxidationsprodukte (Mono- und Dicarbonsäuren)

Diese Substanzen entsprechen den nach Abbaustudien in Kulturmedien (z. B. SUTHERLAND et al., 1995; s. Kap. 6.1) und Bodenmaterialien (BUNDT, 1991; LANGBEHN, 1995; WISCHMANN et al., 1996; WISCHMANN und STEINHART, 1997; MEYER und STEINHART, 2000b) beschriebenen Kohlenwasserstoff- bzw. PAK-Oxidationsprodukten (s. *Tab. 10*, Kap. 6.1, S. 58).



Abb. 5 Strukturformeln der verwendeten Modell-Oxidationsprodukte (Hydroxy-, Monoketon- und Diketonverbindungen)

4 Analytik von Schwermetallen, Mineralölprodukten, PAK und PAK-Abbauprodukten

4.1 Schmieröl, Dieselöl, PAK und Oxidationsprodukte

4.1.1 Ausgangssituation

20

Wie bereits eingangs dargestellt (Kap. 1), kommt der chemischen Analytik bei der Beurteilung von Bodenkontaminationen eine wesentliche Bedeutung zu. Dies gilt insbesondere für den Umstand, daß derartige Kontaminationen in der Regel Vielkomponenten-Gemische in einer komplexen Matrix darstellen und somit an die analytischen Methoden hinsichtlich der Probenaufarbeitung und der Erfaßbarkeit von Schadstoffgruppen bzw. Einzelschadstoffen hohe Anforderungen gestellt werden. Weiterhin bietet die chemische Analytik die Grundlage für die geeignete Auswahl von Sanierungsmaßnahmen.

Die Analytik von organischen Bodenkontaminanten im allgemeinen und Mineralölkohlenwasserstoffen, PAK und deren Oxidationsprodukten im besonderen erfordert neben geeigneten Extraktionsverfahren und -mitteln, hinreichend wirkungsvolle Clean-up-Schritte zur Abtrennung von störenden Matrixkomponenten sowie leistungsfähige chromatographische Analysentechniken, um die idealerweise selektive Detektion der Zielanalyten gewährleisten zu können.

Aus jüngerer Zeit liegen Arbeiten vor, die sich umfassend mit der Fragestellung nach dem biotischen und abiotischen Abbau von alicyclischen, monoaromatischen und polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffen in der Bodenmatrix, der Bildung von Oxidationsprodukten sowie der Analytik derartiger Verbindungen befaßt haben:

LANGBEHN und STEINHART (1994 und 1995) entwickelten eine Methode zur kombinierten Analytik von Mineralölkohlenwasserstoffen und entsprechender Abbauprodukte aus verschiedenen Bodenmatrizes. Das Verfahren, bestehend aus einer Soxhlet-Extraktion mittels eines n-Heptan/Dichlormethan-Gemisches, einer Festphasenextraktion an desaktivierten Sorbentien (Kieselgel/basisches Aluminiumoxid) unter Verwendung von Elutionsmitteln unterschiedlicher Polarität und einem Derivatisierungsschritt auf der Festphase, ermöglicht die Abtrennung der Kohlenwasserstoffe von den Oxidationsprodukten sowie die Strukturtypentrennung der Abbauprodukte in Monoketone, Diketone und Säuren (als Methylesterderivate). Die qualitative bzw. quantitative Analyse der Mineralölfraktion und der Oxidationsprodukte erfolgte mittels gaschromatographischer Methoden in Verbindung mit Flammenionisations- und massenselektiver Detektion. Die Methode wurde an Schmieröl-, Dieselöl- und PAK-kontaminierten Modellböden überprüft und erwies sich ebenfalls für die Analytik realkontaminierter Böden als geeignet.

WISCHMANN et al. (1996) sowie WISCHMANN und STEINHART (1997) untersuchten den PAK-Abbau in Böden und entwickelten dazu eine Methode zur Erfassung der PAK sowie ihrer Oxidationsprodukte. Die Arbeitsschritte umfassen die Ultraschallextraktion der Bodenproben mit Dichlormethan, die Strukturtypentrennung der Substanzen mittels Festphasenextraktion an desaktiviertem Kieselgel sowie die anschließende Untersuchung mit flüssig- und gaschromatographischen Methoden (HPLC-DAD, GC-MSD). Es wurden drei Fraktionen erhalten (1. PAK, 2. N-PAK und Ketone und 3. aromatische Alkohole und Säuren), wobei die polaren Oxidationsprodukte vor der Analyse zu den entsprechenden Trimethylsilyl-Derivaten umgesetzt wurden.

MEYER et al. (1999) entwickelten eine Methode zur simultanen Bestimmung von PAK, Hetero-PAK und Metaboliten aus Böden. Diese Methode, bestehend aus Extraktion, Festphasenextraktion, Kationenaustauschchromatographie und HPLCbzw. GC-Analytik, zeigte sich als sehr gut geeignet für die Untersuchung realer Altlasten.

4.1.2 Durchführung

Unter den Aspekten einer vergleichsweise kurzen Probenaufarbeitung, einer möglichst hohen Extraktionsausbeute der Analyten und vor allem der gleichzeitigen Erfassung von Mineralölkohlenwasserstoffen bzw. PAK und deren Oxidationsprodukten getrennt nach Strukturtypen wurde die von LANGBEHN (1995) entwickelte Methode herangezogen. Das Verfahren wurde in einigen Punkten geringfügig modifiziert und somit an die eigenen Fragestellungen adaptiert. Nach Überprüfung der gewählten Methodenparameter auf die Wiederfindungsraten der 22

verwendeten Modellverbindungen (s. *Tab. 31*, Kap. 10.4, S. 177) wurde wie in *Abb. 6* skizziert vorgegangen (s. auch Arbeitsvorschriften Kap. 10.3.1 bis 10.3.3). Die Verteilung der einzelnen Verbindungen auf die SPE-Fraktionen ist in *Tab. 32* (S. 179) wiedergegeben. Die Quantifizierung der Kohlenwasserstoffe und der Oxidationsprodukte erfolgte mittels GC-FID. Die Identifizierung der Oxidationsprodukte erfolgte mittels GC-MSD, wobei neben dem computergesteuerten Spektrenvergleich ("Wiley 138"; HEWLETT PACKARD, 1992) ebenfalls Massenspektren vorhandener Standardsubstanzen herangezogen wurden.



Abb. 6

Fließschema der Extraktion und Strukturtypentrennung der organischen Kontaminanten

4.2 Schwermetalle

4.2.1 Ausgangssituation

Die Dotierung der verwendeten Bodenmaterialien mit den Schwermetallen Zn, Cu, Pb, Cr und Cd orientierte sich an den Belastungskategorien der Holland-Liste von 1988 (s. Kap. 3.2). Die dortigen Angaben beziehen sich, ebenso wie in vielen anderen Bewertungsverfahren, auf den Gesamtgehalt von Schwermetallen in Böden. Schwermetalle kommen in Böden jedoch in unterschiedlichen Bindungsformen vor, die sich jeweils in ihrer Löslichkeit und Bioverfügbarkeit stark voneinander unterscheiden können (HOWARD und SHU, 1996). Die Löslichkeit der Schwermetalle wird dabei durch eine Vielzahl von Faktoren beeinflußt. Zu beachten sind in diesem Zusammenhang neben den Schwermetalleigenschaften (Art, Konzentration und physikochemische Parameter) insbesondere die Bodenparameter (TYLER, 1974 und 1981; HERMS und BRÜMMER, 1984; BÅÅTH, 1989; COLLINS und STOTZKY, 1989; GADD, 1990; STEVENSON, 1994). Dazu zählen die anorganische (Silikate, Oxide, Salze) und organische (Humus) Bodensubstanz physikochemische Eigenschaften wie Temperatur, sowie Redoxpotential. Kationenaustauscherkapazität und vor allem der pH-Wert. Auch der Wasser- und Sauerstoffgehalt des Bodenmilieus ist einzubeziehen. Die Gesamtheit dieser Einflußgrößen auf die Löslichkeit und Bindung bzw. Adsorption von Schwermetallen müssen als komplexes System sich gegenseitig beeinflussender Faktoren verstanden werden (HERMS, 1989). Die bisher üblichen Gefährdungsabschätzungen für belastete Böden anhand von Schwermetall-Gesamtgehalten besitzen deshalb häufig nur eine geringe Aussagekraft und sollten, wie bereits vor Jahren gefordert (STADELMANN et al., 1982; GUPTA, 1984), unter Einbeziehung der Bodenparameter erfolgen.

Für eine Beurteilung der ökologischen Wirksamkeit von Schwermetallen in Böden ist daher die Bestimmung der Bindungsform dieser potentiell toxischen Schadelemente erforderlich, um zwischen den ökologisch relevanten "mobilen", (d.h. löslichen und leicht nachlieferbaren) Fraktionen sowie den nicht reaktiven "immobilen" Fraktionen differenzieren zu können (BRÜMMER et al., 1994). Die Erfassung mobiler und fixierter Schwermetallanteile im Boden erfolgt klassischer24

weise über sequentielle Extraktionsverfahren, die sich unterschiedlichster Extraktionsmittel bedienen. Häufig angewendete Extraktionsverfahren gehen auf TESSIER et al. (1979), FÖRSTNER und CALMANO (1982), SPOSITO et al. (1982) sowie SHUMAN und HARGROVE (1985) zurück bzw. sind in späteren Arbeiten modifiziert worden (ZEIEN und BRÜMMER, 1991; MA und UREN, 1998). *Tab. 6* zeigt eine Auswahl gebräuchlicher Extraktionsmittel, deren Bandbreite von starken Säuren über Chelatbildner bis hin zu neutralen Salzlösungen oder sogar Wasser verläuft (GUPTA und HÄNI, 1981; GUPTA, 1984; STYPEREK und SAUERBECK, 1984; HORNBURG und BRÜMMER, 1989; HÄNI, 1990; URE, et al., 1993; GUPTA und ATEN, 1993; HORNBURG et al., 1995; TACK und VERLOO, 1995; MERKEL, 1996; CRÖSSMANN, 1996).

Tab. 6Beziehung zwischen dem Mobilitätsstatus von Schwermetallen in Böden
und gebräuchlichen Extraktionsmitteln (u.a. nach FRÄNZLE et al., 1995)

Mobilitätsstatus		Extraktionslösung
kurzfristig verfügbar	wasserlösliche Fraktion	Bodensättigungsextrakt
	lösliche + leicht nachlieferbare	NaNO ₃ , KNO ₃ , NH ₄ NO ₃ , MgCl ₂ ,
	Fraktion	CaCl ₂
mittelfristig verfügbar		NH₄OAc
	mäßig nachlieferbare Fraktion	EDTA, DTPA
langfristig verfügbar		HCI, HNO ₃ (hochmolar)
Gesamtgehalte		Königswasser, HNO ₃ /HClO ₄
		Totalaufschluß (HF + HClO ₄)

Säuren und Chelatbildner setzen dabei Schwermetallanteile frei, die kurzfristig von Mikroorganismen und Pflanzen gar nicht aufgenommen werden können, d.h. sie führen zu einer falschen Vorhersage phyto- und zootoxischer Konzentrationen (HÄNI und GUPTA, 1980; GUPTA und ATEN, 1993). Im Bereich der neutralen Salzlösungen, die den pH-Wert des Bodens während der Extraktion nicht verändern, wurden Untersuchungen mit Calciumchlorid, Ammonium-, Natriumund Kaliumnitrat sowie Ammoniumacetat in Konzentrationen von 0,1 bis 1 mol/L durchgeführt (FÖRSTNER et al. 1981; GUPTA et al., 1983; STYPEREK und SAUERBECK, 1984; HORNBURG et al., 1995). Insbesondere die Arbeiten von GUPTA (1984), HÄNI (1990) sowie GUPTA und ATEN (1993) verdeutlichen die Eignung einer 0,1 mol/L Natriumnitratlösung als Extraktionsmittel für den mobilen Schwermetallgehalt in Böden. Es konnte gezeigt werden, daß die kritische Metallkonzentration, bei welcher bereits eine Phytooder Zootoxizität nachgewiesen werden kann, dank der NaNO₃-Extraktion für verschiedene Böden gleichbleibend ist. So haben die mittels dieser Extraktionsmethode bestimmten Schwermetallgehalte (Pb, Cd, Cu, Ni und Zn) bereits als Richtwerte Eingang in die "Schweizer Verordnung über Schadstoffe im Boden vom 9. Juni 1986" gefunden (zitiert nach BARKOWSKI et al., 1993). Handlungsempfehlungen für die Beurteilung sanierter Böden (GDCh, 1996) sehen für die Bestimmung des Transfers Boden -Pflanze für Schwermetalle eine Bodenextraktion mit Neutralsalz (NH₄NO₃ oder CaCl₂) vor. Für die Bestimmung der Verfügbarkeit von Kationen und Anionen für Bodenorganismen wird dagegen die Bodenextraktion mit Wasser (z.B. nach DEV, DIN 38414-S4, 1984 oder Wasser/Boden-Verhältnis 2/1) vorgeschlagen.

Die Messung von Schwermetallen erfolgt in der Regel mittels Flammen-Atomabsorptionsspektrometrie (AAS, Nachweisgrenze: ppm-Bereich), Graphitrohr-AAS (NWG: ppb-Bereich), ICP (Induktiv gekoppeltes Plasma, NWG: 0,01 bis 0,1 ppm), Atomemissionsspektroskopie (AES) oder ICP-MS. Die Auswahl der Geräte richtet sich vor allem nach der Nachweisgrenze. Als eine weitere wichtige alternative Analysenmethode ist die Röntgenfluoreszenzanalyse (RFA) zu betrachten. Sie erlaubt ohne zeitaufwendige Aufschlußmethoden die Bestimmung mehrerer Elemente in der Bodenmatrix (NWG: 1 bis 10 µg/g).

4.2.2 Durchführung

Um der ökologischen Relevanz des mobilen Schwermetallgehaltes in den mischkontaminierten Versuchsansätzen Rechnung zu tragen, wurde in Anlehnung an die Arbeiten von GUPTA (1984), HÄNI (1990) sowie GUPTA und ATEN (1993) eine 0,1 mol/L Natriumnitratlösung als Extraktionsmittel für die kurzfristig bioverfügbaren Schwermetalle ausgewählt.
Für die Extraktion wurde 50 g Bodenmaterial (Feuchtgewicht, FG) eingesetzt und unter Berücksichtigung des jeweiligen Wasseranteils in den Ah- bzw. Ah/Ko-Ansätzen mit einem definierten Volumen einer 0,12 mol/L NaNO₃-Lösung versetzt, so daß eine Suspension mit einem Wasseranteil von 50 mL und einer Konzentration von ca. 0,1 mol NaNO₃/L resultierte. Die Suspension wurde 4 h geschüttelt, anschließend zentrifugiert und der Überstand filtriert (Arbeitsvorschrift s. Kap. 10.3.1.2).

Das Filtrat wurde entsprechend dem zu bestimmenden Schwermetall verdünnt und mittels Flammen-AAS vermessen (Meßbedingungen s. Kap. 10.2.3). Um eine Verfälschung der Meßwerte durch Matrixeinflüsse zu unterbinden, wurde das Filtrat des jeweiligen einfach kontaminierten, d.h. nur Kohlenwasserstoffe enthaltenen, Versuchsansatzes (Zusammensetzung s. *Tab. 23*, Kap. 10.1.1, S. 156) ebenfalls vermessen und der so erhaltene Blindwert von dem anderen Meßwert abgezogen. Die Berechnung der mobilen Schwermetallgehalte erfolgte über die korrigierten Meßwerte anhand von Kalibriergeraden der entsprechenden Schwermetalle (Zusammensetzung der Kalibrierlösungen s. *Tab. 28*, Kap. 10.1.2, S. 159).

5 Isolierung und strukturelle Charakterisierung von Bodenhuminstoffen

5.1 ¹³C-CPMAS-NMR von Bodenhuminstoffen

5.1.1 Ausgangssituation

Die strukturelle Charakterisierung der organischen Bodensubstanz ist seit Jahr-Gegenstand vieler Forschungsarbeiten. Die zu diesem Zweck zehnten eingesetzten Methoden sind sehr vielfältig und liefern dementsprechend die unterschiedlichsten Informationen. Zu den chemischen Degradationsmethoden gehören die Hydrolyse, die Oxidation (mittels CuO oder KMnO₄) und die Reduktion mit Natriumamalgam (HATCHER et al., 1981; WILSON, 1990; KÖGEL-KNABNER, 1993). Weiterhin sind neben Elementaranalysen auch naßchemische Verfahren zur Bestimmung funktioneller Gruppen zum Einsatz gekommen (WILSON, 1987). Darüber hinaus wurden auch solche Verfahren wie Gelpermeationschromatographie (GPC), Dampfdruckosmometrie, UV-VIS-, Fourier-Transformation-Infrarot (FT-IR)- und Elektronen-Spin-Resonanz (ESR)-Spektroskopie für verschiedene Fragestellungen herangezogen (HATCHER et al., 1980a; SCHNITZER und PRESTON, 1986; POST et al., 1988; RICCA und SEVERINI, 1993). Ein wichtiges analytisches Instrument zur Strukturaufklärung stellt die Pyrolyse-GC/MS (Py-MS) bzw. die Pyrolyse in direkter Kombination mit Feldionisation-Massenspektrometrie (Py-FIMS) dar (POST et al., 1988; KOGEL-KNABNER, 1993; STEVENSON, 1994; LEINWEBER et al., 1996; SAIZ-JIMENEZ et al., 1996).

Die Aussagekraft einiger Methoden, insbesondere die der klassischen chemischen Degradation, wird von vielen Autoren kritisch diskutiert (z.B. HATCHER et al., 1980a; HATCHER et al., 1981; WILSON, 1990), da in der Regel nur bestimmte Komponenten der komplexen Huminstoffmatrix erfaßt werden. Ein wesentlicher Nachteil von Verfahren, die auf der Zerstörung des Probenmaterials beruhen, ist die mögliche Alterung der Spaltprodukte, die zu einem Verlust an struktureller Information führen kann.

Von den Methoden, die zur strukturellen Charakterisierung von Huminstoffen einsetzbar sind, stellt die NMR die geeignetste dar (PRESTON, 1996; BORTIATYNSKI et al., 1996). Die Vorteile liegen in der Bandbreite der erhältlichen

strukturellen Information, in dem Umstand, daß sowohl in der flüssigen als auch in der festen Phase gemessen werden kann, vor allem aber in der zerstörungsfreien Methode. Die in der Huminstoff-Forschung wichtigsten mittels NMR meßbaren Kerne sind ¹³C, ¹H, ¹⁵N und ³¹P (STEVENSON, 1994; LEENHEER, 1997). Huminstoffe setzen sich zu etwa 90 % aus den Elementen H, C (ca. 50 %) und O zusammen, N und P zählen dagegen zu den Minorkomponenten. Besondere Bedeutung erlangt hat die ¹³C-NMR, mit deren Hilfe sich Aussagen über das Kohlenstoffgerüst bzw. über die Verteilung der strukturell unterschiedlich vorliegenden C-Atome machen lassen. Seit einigen Jahren sind aber auch zunehmend ¹⁵N-NMR-Studien an der organischen Bodenmatrix durchgeführt worden (KNICKER, 1993; KÖGEL-KNABNER, 1997). Die ¹³C-NMR wurde häufig im Vergleich bzw. in Kombination mit einigen der oben genannten Verfahren im Bereich der Huminstoffanalytik angewendet (SCHNITZER und PRESTON, 1986; WILSON et al., 1987; RICCA und SEVERINI, 1993; BORTIATYNSKI et al., 1996; FRANCIOSO et al., 1996; LEINWEBER et al., 1996; KOGEL-KNABNER, 1997). Dadurch konnten zum Teil die Schwächen anderer Methoden aufgezeigt oder aber die NMR-Ergebnisse durch alternativ erhaltene Daten ergänzt bzw. bestätigt werden.

Auf die Darstellung der Grundlagen und Theorie der NMR-Technik wird an dieser Stelle weitestgehend verzichtet und statt dessen auf die einschlägige Fachliteratur verwiesen. Eine Einführung in die Thematik ist beispielsweise bei LINDBERG und HORTLING (1985), WILSON (1987), STEELINK et al. (1989), WILSON (1989), MALCOLM (1989), WILSON (1990), KNICKER (1993) sowie KNICKER und NANNY (1997) zu finden.

Trotz ihrer grundsätzlich hervorragenden Eignung für strukturchemische Untersuchungen weist die ¹³C-NMR auch einige Nachteile auf (STEVENSON, 1994): Das wohl wichtigste Kriterium ist die sehr geringe natürliche Häufigkeit des ¹³C-Isotopes, die nur etwa 1,1 % des Gesamtkohlenstoffs beträgt. Das ¹³C-NMR-Experiment ist mit einer vergleichsweise langen Analysendauer verbunden, da eine hohe Anzahl von Meßsignalen gesammelt und gemittelt werden muß, bevor ein geeignetes Spektrum erhalten werden kann. Im Bereich der Huminstoffanalytik ist die Interpretation der NMR-Spektren sehr vorsichtig vorzunehmen. Die Unterteilung des Spektrums in bestimmte Strukturregionen (s. unten) beruht in der Regel auf Ergebnissen, die nicht anhand von Huminstoffen sondern anhand bekannter Stoffklassen oder Verbindungen ermittelt wurden.

Die vergleichsweise gute Auflösung von Huminstoffspektren, die mittels ¹³C-Flüssigphasen-NMR (Hochauflösungs-NMR) aufgenommen wurden, kompensiert nicht in jedem Fall die Nachteile dieser Technik. Neben der geringen Löslichkeit von Huminstoffen in geeigneten NMR-Lösungsmitteln kann eine mögliche Micellenbildung oder aber der Lösungsmitteleinfluß auf die chemische Verschiebung die NMR-Messung erschweren. Darüber hinaus setzt diese Verfahrensweise grundsätzlich eine Isolierung und Präparation von Bodenhuminstoffen voraus (s. Kap. 5.2).

Die fortschreitende technische Verbesserung der NMR-Spektrometer von continuous-wave (CW)-Geräten (frühe 70er Jahre) zu Fourier-Transformation (FT)-Geräten, die zunehmende Feldstärke der verwendeten Magneten sowie die Entwicklung der CP- und MAS-Technik sind die wichtigsten Schritte, die zu den heutigen modernen Festkörper-NMR-Geräten führten (BARRON et al., 1980; HATCHER et al., 1980b; MALCOLM, 1989; PRESTON, 1996 und LEENHEER, 1997). In der Vergangenheit waren Festkörper-NMR-Spektren wegen ihrer geringen Auflösung, d.h. wegen der Linienverbreiterungen, für strukturelle Untersuchungen kaum brauchbar, da die für die Kernresonanz charakteristischen scharfen individuellen Signale unterdrückt oder überlagert wurden. Viele dieser Verbreiterungen lassen sich auf zwei Ursachen zurückführen: 1) statische Dipolwechselwirkungen zwischen ¹³C- und ¹H-Atomen (Dipolaufspaltung) und 2) anisotrope magnetische Eigenschaften bestimmter Verbindungen (solche mit mehrfach gebundenen C-Atomen, z.B. aromatisch oder carboxylisch gebundene C-Atome) und ihre Effekte auf die chemische Verschiebung (Anisotropie der chemischen Verschiebung). Es ist möglich, die Dipolaufspaltung zu eliminieren, indem man die Probe während der Aufnahme des Spektrums im Protonen-¹H-Entkopplung). frequenzbereich bestrahlt (Dipolentkopplung bzw. Die Anisotropie der chemischen Verschiebung kann durch die MAS-Technik eliminiert werden, wobei die feste Probe sehr schnell (>2 kHz) in einem speziellen Probenhalter rotiert, der in einem Winkel von 54°44 (magic angle) zum angelegten Magnetfeld orientiert ist. Eine weitere Einschränkung bei der ¹³C-Festkörper-NMR sind die langen Spin-Gitter-Relaxationszeiten angeregter ¹³C-Kerne, welche die

Ursache dafür darstellen, daß die Signalmittelung für ein gutes Spektrum oft mehrere Stunden oder gar Tage beträgt. Dieses Problem kann durch den Einsatz der *CP*-Technik gelöst werden. Der kombinierte und simultane Einsatz dieser drei Techniken ist mit heutigen Geräten ausführbar und ermöglicht die Aufnahme hochaufgelöster (im Bereich der Festkörper-NMR) ¹³C-CP/MAS-NMR-Spektren.

Der Hauptvorteil dieser Technik gegenüber der Flüssigkeits-NMR liegt in dem variablen Einsatz verschiedenster Probenmaterialien in fester Form. Damit entfällt die Suche nach geeigneten Lösungsmitteln, deren Einsatz zudem mit einer Verdünnung des Probenmaterials einhergeht. Außerdem kann in vielen Fällen das Ausgangsmaterial ohne aufwendige Probenvorbereitung direkt vermessen werden. Die Entwicklung geht soweit, daß - unter der Voraussetzung einer optimalen Geräteausstattung und einem weitestgehenden Ausschluß limitierender Faktoren - Matrizes (z. B. Gesamtböden) mit einem C-Gehalt von 1-3 % brauchbare NMR-Spektren liefern. Liegt der C-Gehalt unterhalb 1%, sind Methoden der C-Anreicherung (s. unten und Kap. 5.2) anzuwenden (BALDOCK et al., 1992; FRÜND et al., 1994a und b; und LEENHEER, 1997).

Ein in der Literatur häufig diskutiertes Problem, auf das an dieser Stelle der Vollständigkeit halber hingewiesen werden soll, ist die quantitative Auswertung von Huminstoff-NMR-Spektren (WILSON et al., 1983; OADES et al., 1987; WILSON, 1990; MALCOLM, 1992; KINCHESH et al., 1995; BORTIATYNSKI et al. 1996; PRESTON, 1996; CONTE et al., 1997a und b).

¹³C-Festkörper-NMR-Spektren von Bodenhuminstoffen werden üblicherweise in vier Haupt-Sorptionsbereiche (chemical shift range) unterteilt, die eine Zuordnung des detektierten Kohlenstoffes in bestimmte Strukturgruppen zulassen: Alkyl-C (0-45 ppm), O-Alkyl-C (45-110 ppm), Aromaten-C (110-160 ppm) und Carbonyl-C (160-210 ppm). Eine differenziertere Einteilung von Resonanzen und Struktur-komponenten ist in *Abb.* **7** und *Tab.* **7** wiedergegeben.



- *Abb.* 7 ¹³C-CPMAS-Festkörper-NMR-Spektrum organischen Materials und Zuordnung der NMR-Signale zu verschiedenen Strukturgruppen
- *Tab.* 7 Typische Zuordnungen der Resonanzen für ¹³C-CPMAS-NMR von natürlichem organischen Material*

Chemical shift		Mögliche chemische Zuordnungen
Bereiche (ppm)		
0-45		Aliphaten, paraffinische Strukturen
	0-25	terminale Methylgruppen
	25-45	Methylengruppen in aliphatischen Ringen und Ketten
45-110		O-Alkyl
	45-60	Methoxyl-Gruppen, C-6 von Kohlenhydraten und Zuckern,
		C-α von Aminosäuren
	57-65	C in CH ₂ OH-Gruppen
	60-80	CO-CN Verbindungen, C in CH(OH)-Gruppen, C-2 bis C-5 in Hexosen, ethergebundener aliphatischer C
	80-110	C-1 von Kohlenhydraten, C-2 und C-6 von Syringyleinheiten
	90-110	Acetal oder Ketal-Gruppen
110-160		Aromaten
	110-140	aromatische C-H, olefinische C
	140-160	aromatische COR- oder CNR-Gruppen
160-220		Carboxyl- und C=O-Gruppen, Amide
	160-190	Carboxyl-Gruppen
	190-220	Carbonyl-Gruppen

* nach WILSON (1987), MALCOLM (1989), BALDOCK et al. (1992), FRÜND et al. (1994a), GUGGENBERGER et al. (1995), BORTIATYNSKI et al. (1996) und KÖGEL-KNABNER (1997)

Die Qualität von ¹³C-CPMAS-NMR-Spektren (insbesondere bei der Messung von Gesamtböden) wird wesentlich durch den Kohlenstoffgehalt (natürliche Häufigkeit von ${}^{13}C = 1,1 \%$) und Gehalt an paramagnetischen Ionen (z.B. Fe³⁺) der Meßprobe limitiert. Deshalb ist gegebenenfalls eine C-Anreicherung des Probenmaterials der Huminstoffe, Korngrößen- oder Dichtefraktionierung (Isolierung des Gesamtbodens) sowie eine Reduzierung paramagnetischer Ionen (z. B. Dithionitbehandlung) erforderlich. Für den Nachweis von Bindungsstrukturen innerhalb von Schadstoff/Huminstoff-Komplexen sind diese Maßnahmen jedoch nicht ausreichend. Hier ist das Arbeiten mit ¹³C-angereicherten Schadstoffmolekülen unabdingbar (s. Kap 7.1). In diesem Zusammenhang spielt ebenfalls die Reproduzierbarkeit von NMR-Experimenten eine wesentliche Rolle. Die Vergleichbarkeit von Spektren läßt sich nur dadurch gewährleisten, daß sowohl im Rahmen der Probenvorbereitung als auch während der NMR-Messung sämtliche Parameter möglichst konstant gehalten werden (PRESTON und RIPMEESTER, 1982). Es bestand daher der Bedarf an einer Überprüfung der Probenvorbereitung (s. Kap. 5.2.2 und 5.2.3) und der Meßparameter, um optimale Bedingungen gewährleisten zu können. Um den notwendigen Einsatz von teuren und/oder aufwendig zu synthetisierenden ¹³C-angereicherten Verbindungen möglichst gering halten zu können, ist es erforderlich, daß die NMR-Messung mit entsprechend geringen Probenmengen durchgeführt werden kann.

5.1.2 Durchführung

Neben der Variation einiger Meßparameter wurde schwerpunktmäßig der Einsatz kleinerer Rotoren sowie die damit verbundene Zugänglichkeit höherer Rotationsfrequenzen (4 bis 12 kHz) überprüft. Im Gegensatz zu den bisher eingesetzten 7mm-Rotoren wurde nach Einbau eines geeigneten Probenkopfes auf 4mm-Rotoren übergegangen. Damit einher ging ein reduzierter Probenmengenbedarf, der aus den oben genannten Gründen aber auch im Hinblick auf die Probenpräparation als sehr vorteilhaft anzusehen ist. Überprüft wurde in diesem Zusammenhang, ob der dadurch zu erwartende Empfindlichkeitsverlust einen Einfluß auf die Spektrenqualität hat. Weiterhin wurde getestet, ob derartige Qualitätseinbußen durch eine erhöhte Rotationsfrequenz ausgeglichen werden können.

5.1.3 Ergebnisse

Der durch den Einsatz kleinerer Rotoren bedingte reduzierte Probenmengenbedarf hat sich für die Präparation der Huminstoff-Fraktionen erwartungsgemäß als vorteilhaft erwiesen. Für die untersuchten Huminsäure- und Huminproben war der denkbare Verlust an Empfindlichkeit infolge der geringen Substanzmenge kaum gegeben, so daß in gleicher Meßzeit Spektren vergleichbarer Qualität mit weniger Analysenmaterial als bei 7mm-Rotoren und älterer Ausrüstung erhalten werden konnten.

Die getesteten höheren Rotationsfrequenzen erwiesen sich sowohl für undotierte als auch für ¹³C-angereicherte Huminstoffmaterialien als nicht alleinig ausschlaggebend für die Qualität und Aussagekraft der Spektren. Den größten Einfluß auf die Spektrenqualität übte vielmehr der C-Gehalt bzw. der Aschegehalt der Meßprobe aus. Folglich konnte zur Materialschonung bei geeignetem Probenmaterial und für Routinemessungen auf niedrigere Frequenzen (5 kHz) zurückgegangen werden. Die Optimierung der Meßbedingungen resultierte in Geräteeinstellungen, die in Kap. 10.2.4 zusammenfassend dargestellt sind. Die bezüglich der Reproduzierbarkeit von ¹³C-CPMAS-NMR-Spektren erzielten Ergebnisse werden in Kap. 7.3.1 anhand der dort beschriebenen Versuche verdeutlicht.

5.2 Isolierung und Fraktionierung von Bodenhuminstoffen

5.2.1 Ausgangssituation

Im folgenden wird unter organischer Bodensubstanz (gleichbedeutend mit Humus) die Gesamtheit der organischen Verbindungen des Bodens verstanden. Davon ausgenommen sind die sogenannten *Streustoffe*, die nicht oder nur schwach umgewandelte, abgestorbene Pflanzenreste oder Bodenorganismen verkörpern sowie die lebende Biomasse des Bodens. Ebenso wird in den folgenden Kapiteln der Begriff organischer Schadstoff getrennt genannt. Die organische Bodensubstanz ist mit dem Mineralkörper des Bodens vermischt und wird unterteilt in *Nichthuminstoffe* und *Huminstoffe*. Zu den Nichthuminstoffen zählen hauptsächlich Aminosäuren, Kohlenhydrate und Lipide. Huminstoffe stellen eine Reihe hochmolekularer, gelb bis schwarz gefärbter Substanzen dar, die in der Regel reich an sauerstoffhaltigen funktionellen Gruppen sind. Sie sind generell komplexe, kaum auftrennbare Mischungen von sich ähnelnden Makromolekülen mit variierenden Strukturen, Funktionalitäten und molaren Massen. Huminstoffe kommen auf der Erde ubiguitär vor und bilden in Böden und Gewässern das Hauptreservoir für refraktären organischen Kohlenstoff. Sie entstehen in der Umwelt kontinuierlich durch mikrobiotische Abbauvorgänge und Umwandlungsprozesse (Humifizierung) aus abgestorbener Biomasse (STEVENSON, 1994; BURBA, 1998). Neben ihrer Bedeutung für den globalen Kohlenstoffkreislauf sind Huminstoffe aufgrund ihrer vielfältigen strukturellen und funktionellen Eigenschaften an zahlreichen Prozessen in den jeweiligen Umweltkompartimenten beteiligt (z. B. Bodenstruktur, Wasserbindungsvermögen und Pufferkapazität des Bodens). Von besonderer Relevanz für die vorliegende Arbeit sind die Eigenschaften von Bodenhuminstoffen hinsichtlich der Bindung und des Transportes von anorganischen und organischen Schadstoffen. Zu nennen ist insbesondere die im Rahmen von biologischen Bodensanierungsmaßnahmen diskutierte gezielte Förderung der Bildung von "gebundenen Rückständen" zur Immobilisierung von Bodenschadstoffen (JACOBI, 1995).

Um fundierte Aussagen über die Stabilität und damit über das Langzeitverhalten derartiger Schadstoff/Huminstoff-Komplexe treffen zu können, bedarf es der Kenntnis des Bindungscharakters zwischen diesen beiden Stoffgruppen und der Struktur der Huminstoffmatrix. Anhaltspunkte zur Beurteilung der Bindungsart/-stabilität erhielten RICHNOW et al. (1994 und 1997), indem sie mittels selektiver chemischer Spaltungsversuche an Huminstoffen ester- bzw. ethergebundene PAK-Abbauprodukte nachweisen konnten.

Die strukturelle Charakterisierung von Huminstoffen bzw. Huminstoff-Fraktionen ist seit langem Schwerpunkt vieler Arbeiten und diente beispielsweise der Erforschung von Humifizierungsprozessen bzw. von Vegetationseinflüssen auf die Bildung der organischen Bodensubstanz (z. B. WILSON, 1990; KÖGEL-KNABNER et al., 1992; KROSSHAVN et al., 1992a und b; GUGGENBERGER et al., 1995; GOLCHIN et al., 1997a und b) sowie grundsätzlich der Aufklärung der Eigenschaften und Wirkungen von Huminstoffen. Aufgrund ihrer extrem hohen Komplexität ist es nicht möglich, Huminstoffe durch eine exakte chemische Strukturformel darzustellen. Basierend auf einer Vielzahl von Strukturdaten, die mit den unterschiedlichsten Analyseverfahren (s. Kap. 5.1.1) ermittelt wurden, sind in jüngster Zeit jedoch ernstzunehmende Strukturvorschläge gemacht worden (s. *Abb. 1*, S. 7). Einen Überblick über die Arbeiten zur strukturellen Charakterisierung von Huminstoff-Fraktionen und Gesamtproben liefert BEYER (1996).

In den meisten Fällen wurden die Huminstoffe aus der Bodenmatrix isoliert und fraktioniert, um sie von den anorganischen Bodenbestandteilen abzutrennen und somit der Analytik zugänglich machen zu können. Die Huminstoffextraktion aus Bodenmaterialien ist vergleichsweise aufwendig und wird - je nach Auswahl des Extraktionsmittels - von einigen Autoren als nachteilig angesehen, was sowohl die Huminstoffausbeute als auch potentielle strukturelle Schädigungen der Isolate angeht (s. unten). Seit einigen Jahren findet die NMR verstärkt Anwendung in der Strukturanalyse von Huminstoffen (s. dazu Kap. 5.1.1). Neben den klassischen Huminstoff-Fraktionen können unter bestimmten Voraussetzungen mit der Technik der ¹³C-CPMAS-Festkörper-NMR auch unbehandelte Gesamtböden analysiert und somit die diskutierten Nachteile der Extraktion umgangen werden (FRÜND et al., 1994a, s. auch Kap. 5.1.1).

Die Fraktionierung von Bodenhuminstoffen ist aber aus verschiedenen Gesichtspunkten als sinnvoll zu bewerten. So ist eine unterschiedliche Verteilung von Schadstoffen auf die verschiedenen Fraktionen (Huminsäuren, Fulvinsäuren, Humin) zu erwarten, wie bei Experimenten mit ¹⁴C-markierten Verbindungen gezeigt werden konnte (SCHEUNERT et al., 1992). Zu beachten ist diesbezüglich die (in Abhängigkeit vom Molekulargewicht) unterschiedliche Löslichkeit der jeweiligen Huminstoff-Fraktionen (Huminsäuren und Fulvinsäuren: CHIOU et al., 1986; HERBERT et al., 1993; MAXIN und KOGEL-KNABNER, 1995; TOTSCHE et al., 1997; TANAKA et al., 1997; LASSEN und CARLSEN, 1997; RABER et al., 1998; Humin: XIE et al., 1997; KOHL und RICE, 1998) in der Bodenlösung und das damit verbundene Adsorptions- bzw. Bindungsverhalten gegenüber den Schadstoffen. Damit einher geht ein unterschiedliches Lösungs- bzw. Mobilitätsverhalten der Kontaminanten (NANNY et al., 1997). Auch die Arbeiten von MALCOLM (1990) sowie MALCOLM und MACCARTHY (1990) belegen die strukturelle Individualität der jeweiligen Huminstoff-Fraktionen. Vergleichende NMR-Untersuchungen an isolierten Bodenhuminstoffen und Gesamtböden haben darüber hinaus gezeigt,

daß die jeweiligen Huminstoffspektren (Summe der Fraktionen gegenüber Gesamtboden) bei geeigneter Wahl der Extraktionsbedingungen kaum Unterschiede aufweisen und letztlich vergleichbare strukturelle Aussagen zulassen (PRESTON und RIPMEESTER, 1982; KROSSHAVN et al., 1992b; FRÜND et al., 1994a und b).

Einen umfassenden Überblick über Methoden zur Extraktion und Fraktionierung von Bodenhuminstoffen liefern die Arbeiten von ANDERSON und SCHOENAU (1993), CLAPP et al. (1993), STEVENSON (1994) und BURBA (1998). Darüber hinaus gibt es standardisierte Verfahren der International Humic Substances Society (IHSS), die von einigen Autoren direkt oder modifiziert angewendet wurden (SCHNITZER und PRESTON, 1986; PRESTON et al., 1989; WERSHAW et al., 1990; GRØN und RABEN-LANGE, 1992). Das gebräuchlichste Extraktionsmittel für Huminstoffe ist verdünnte Natronlauge, die in Konzentrationen von 0,1 bis 0,5 mol/L eingesetzt wird. Auf dem Lösungsverhalten der Huminstoff-Fraktionen in verdünnten Basen und Säuren beruht deren Definition, die lediglich operationale Begriffe darstellen und nicht auf eine definierbare chemische Struktur zurückzuführen sind. Danach stellen Huminsäuren ein dunkel gefärbtes organisches Material dar, das aus Böden mittels verdünnten Alkalien extrahierbar und in verdünnten Säuren unlöslich ist. Die Fulvinsäurefraktion ist der Anteil der organischen Bodensubstanz, der sowohl in Alkalien als auch Säuren löslich ist. Davon zu unterscheiden sind die eigentlichen Fulvinsäuren, die das pigmentierte Material der Fulvinsäurefraktion darstellen. Humin ist dagegen die Fraktion, die in alkalischer Lösung unlöslich ist.

Als Faustregel gilt, daß mit einer 0,1 oder 0,5 mol/L NaOH-Lösung etwa zwei Drittel der organischen Bodensubstanz extrahiert werden können. Nachteile dieses Extraktionsmittels liegen in der Miterfassung von anorganischen Bestandteilen (z.B. Silikate) des Bodens (STEVENSON, 1994), die das extrahierte organische Material verunreinigen, sowie in der möglichen Autoxidation des Materials infolge der alkalischen Bedingungen und der Einwirkung von Luftsauerstoff (KHAIRY und ZIECHMANN, 1981; ANDERSON und SCHOENAU, 1993). Letzeres kann in einfacher Weise dadurch vermieden werden, daß man die Extraktion im Dunkeln unter Inertgas (z. B. Stickstoff) ausführt. Als Alternative sind auch sogenannte milde Extraktionsmittel, vorrangig Lösungen des Neutralsalzes Natriumpyro-

phosphat als komplexierendes Agens, oder kombinierte Lösungen von NaOH und Na₄P₂O₇, zum Einsatz gekommen (SCHNITZER et al., 1981; BECKWITH und NAYYAR, 1984; GOLCHIN et al., 1997a). In verschiedenen Versuchen wurde die Effektivität dieser beiden Extraktionsmittel verglichen (SCHNITZER und SCHUPPLI, 1989; TAN et al., 1992; MICHAELSON und PING, 1997) mit dem Ergebnis, daß die Vorteile bei der Extraktion mit Natronlauge überwiegen (z. B. höhere Kohlenstoffausbeute).

Eine weitere Auftrennung des Humins, dem Rückstand der alkalischen Extraktion, in vier Untereinheiten geht auf die Arbeiten von RICE und MACCARTHY (1989, 1990 und 1992) zurück, die das Lösungsmittel Methylisobutylketon (MIBK) zur Extraktion einsetzten. Diese vier Unterfraktionen bestanden aus einer mit Lösungsmitteln extrahierbaren Lipidfraktion (Bitumen), einer Huminsäureähnlichen Fraktion (gebundene Huminsäure), einer nicht-extrahierbaren Lipidfraktion (gebundene Lipide) und den mineralischen Komponenten (unlöslicher Rückstand). MIBK-Methode fand auch Die Anwendung bei Untersuchungen bezüglich der Fragestellung nach der Anbindung von Schadstoffen an die Huminfraktion des Bodens (MALEKANI et al., 1997; XIE et al., 1997, KOHL und RICE, 1998; NIEMAN et al., 1999).

Voraussetzung für die strukturelle Charakterisierung von Huminstoffen ist der Ausschluß von Störkomponenten, die das Meßergebnis verfälschen oder aber die Meßempfindlichkeit herabsetzen. Dies ist in der Regel durch die geeignete Wahl von Meßmethoden bzw. -parametern insbesondere aber durch die weitere Reinigung der erhaltenen Huminstoff-Rohextrakte zu erreichen. Im Bereich der Strukturaufklärung von Huminstoffen (als Extrakt oder im Gesamtboden) mittels ¹³C-CPMAS-NMR gibt es zwei wichtige limitierende Faktoren, die zu beachten sind (OADES et al., 1987). Zum einen muß ein hinreichend hoher Gehalt an Kohlenstoff in der Meßprobe vorhanden sein, um aussagekräftige NMR-Spektren erhalten zu können. Zum anderen können in der Meßprobe enthaltene paramagnetische Ionen (insbesondere Fe³⁺-Ionen aber auch Mn-, Co- und Cu-Ionen sowie organische freie Radikale) die Intensität der NMR-Signale deutlich herabsetzen (BALDOCK et al., 1992).

Einige Autoren berichten von Natriumdithionit als geeignetem Mittel zur Reduktion von paramagnetischen Fe³⁺-Ionen (OADES et al., 1987; WILSON, 1987). So konnten beispielsweise Festkörper-NMR-Spektren um etwa den Faktor 5 in ihrer Signalintensität verbessert werden (VASSALLO et al., 1987). ARSHAD et al. (1988) messen dem C/Fe-Verhältnis eine wichtige Rolle bei. Danach ist bei einem Verhältnis von <1 ein aussagekräftiges NMR-Spektrum nicht mehr zu erwarten, dagegen verspricht ein Verhältnis von >>1 qualitativ sehr gute Spektren. Das Problem der paramagnetischen lonen ist insbesondere in den Arbeiten diskutiert worden, die Gesamtböden als Probenmaterial beinhalteten. Grundsätzlich gelten die getroffenen Aussagen aber auch für extrahierte Huminstoffe. Unter Gesamtböden sind neben unbehandelten Ausgangsbodenmaterialien auch physikalisch behandelte Materialien zu verstehen. Dazu zählen Korngrößenfraktionen sowie die durch Dichtezentrifugation erhältlichen Fraktionen. Derartige Verfahren dienen der Anreicherung des Organik- bzw. C-Anteils der Meßproben und damit einer Verbesserung der Meßempfindlichkeit und waren daher in einigen Arbeiten Bestandteil der Probenvorbereitung (z. B. OADES et al., 1987; GUGGENBERGER et al., 1995; GOLCHIN et al., 1997a; SCHMIDT et al., 1997).

In der Literatur werden zahlreiche Reinigungsschritte für extrahierte Huminstoff-Fraktionen beschrieben. Die jeweilige Vorgehensweise variiert in den einzelnen Arbeiten, jedoch werden grundsätzlich vergleichbare Schritte vollzogen.

Huminsäuren enthalten nach alkalischer Extraktion und Fällung im sauren pH-Bereich in der Regel hohe Anteile anorganischen Materials. Eine Reduzierung dieses Ascheanteils und damit eine Erhöhung des organischen Anteils erreicht man durch wiederholtes Lösen im Alkalischen und Fällen im Sauren oder durch Behandlung mit einer Flußsäure/Salzsäure-Lösung, z. B. in den Konzentrationen HF (0,3 mol/L)/HCI (0,1 mol/L) (STEVENSON, 1994). Um das Material vollständig von Metallionen und Salzen zu befreien, folgt eine Dialyse gegen entmineralisiertes Wasser in Gegenwart eines stark sauren Kationenaustauscherharzes (KHAN, 1971).

Die nach Ansäuerung des NaOH-Extraktes und Abtrennung der Huminsäuren verbliebene Fulvinsäurefraktion enthält neben Fulvinsäuren in der Regel nennenswerte Mengen an Nichthuminstoffen (vor allem Kohlenhydrate). Zur Gewinnung der Fulvinsäuren wird die saure Lösung an Polyclar AT-Material

(Polyvinylpyrrolidon = PVP; CIAVATTA et al., 1990; WATANABE und KUWATSUKA, 1991 und 1992; CIAVATTA und GOVI, 1993) oder Amberlite XAD-Harzen (z.B. DAIGNAULT et al., 1988) von den Nichthuminstoffen getrennt und die Fulvinsäuren anschließend mittels verdünnter NaOH eluiert. KUWATSUKA et al. (1992) erhielten im Rahmen der Fulvinsäure-Gewinnung für PVP-Materialien bessere Ergebnisse im Vergleich zu XAD-8-Harzen. Die so erhaltenen Natriumsalze der Fulvinsäuren können danach mittels stark sauren Kationenaustauscherharzen in die H⁺-Form überführt werden (TOWN und POWELL, 1993; STEVENSON, 1994).

Der Rückstand der NaOH-Extraktion, die Huminfraktion, ist durch einen hohen Anteil von mineralischen Bodenbestandteilen gekennzeichnet. Die Auflösung und Abtrennung dieser anorganischen Bestandteile erfolgt durch die Anwendung einer HF/HCI-Lösung. Der Einsatz dieses Extraktionsmittels wird in der Literatur kontrovers diskutiert. Einige Autoren vermuten strukturelle Schädigungen an dem organischen Material (RICE und MACCARTHY, 1989). Andere wiederum konnten zeigen, daß diese Befürchtungen unter geeigneten Voraussetzungen selbst bei Verwendung von vergleichsweise hohen Säurekonzentrationen unbegründet sind (PRESTON et al., 1989). Auch hier eignet sich eine Dialyse, um die Huminfraktion zu entsalzen.

Die präparierten und gereinigten Huminstoff-Fraktionen werden in der Regel gefriergetrocknet und der Messung zugeführt. HATCHER und WILSON (1991) untersuchten den Einfluß der Feuchtigkeit in Fulvinsäurepräparaten auf die ¹³C-CPMAS-NMR-Spektren. Sie konnten zeigen, daß ein bestimmter Wassergehalt eine um den Faktor 10 geringere Signalintensität zur Folge haben kann. Folglich sollten gefriergetrocknete Huminstoffisolate bis zur Messung geeignet gelagert werden.

5.2.2 Durchführung

Um die Möglichkeit der direkten ¹³C-CPMAS-NMR-Messung von kontaminierten und unkontaminierten Gesamtböden an dem verfügbaren analytischen Instrumentarium zu überprüfen, wurde wie folgt vorgegangen: Luftgetrocknetes Ah-Bodenmaterial wurde nacheinander mit Aceton und Dichlormethan jeweils für 20 im Ultraschallbad extrahiert, um eventuell enthaltene extrahierbare Verunreinigungen zu entfernen. Nach Abdampfen des restlichen Lösungsmittels erfolgte die Trocknung des Materials im Vakuumtrockenschrank (50 °C, 20 mbar, 18 h). Dadurch sollten mikrobielle Aktivitäten ausgeschlossen werden. Anschließend wurde jeweils 1 g des Ah-Materials mit einer ¹³C₃-Fluoranthen-Lösung (in Dichlormethan) dotiert. Nach Aufgabe der PAK-Lösung wurde der Boden vollständig mit Dichlormethan bedeckt, die Probe für 30 sec im Ultraschallbad belassen und das Lösungsmittel am Vakuumrotationsverdampfer (600 mbar, 40 °C) entfernt. Es resultierten kontaminierte Materialien mit Dotierungskonzentrationen von 1 mg PAK/g Ah bzw. 5 mg PAK/g Ah. Entsprechend wurde eine unkontaminierte Kontrollprobe hergestellt. Diese drei Proben wurden mittels ¹³C-CPMAS-NMR vermessen (Bedingungen s. Kap. 10.2.4).

Für die Durchführung der Huminstoff-Isolierung wurde auf verschiedene Arbeiten zurückgegriffen. Einzelne Arbeitsschritte wurden teilweise modifiziert und somit den eigenen Fragestellungen angepaßt. *Abb. 9* (Fließschema Kap. 5.2.3, S. 44) und die detaillierte Arbeitsvorschrift in Kap. 10.3.6 veranschaulichen die im folgenden skizzierte Darstellung der Arbeitsschritte.

Bei den Bodenproben, die für die Versuche zur Gewinnung von Huminstoff/ Schadstoff-Komplexen verwendet wurden (s. Kap. 7), erfolgte zunächst eine dreimalige Soxhlet-Extraktion des Materials mit Aceton, Methanol und Dichlormethan. Dadurch sollten extrahierbare organische Verbindungen beseitigt werden.

Die Entfernung paramagnetischer Fe³⁺-Ionen wurde in Anlehnung an die Arbeiten von VASSALLO et al. (1987) und ARSHAD et al. (1988) mittels Natriumdithionit vorgenommen. Dazu wurde 20 g Bodenmaterial mit einer 10% igen wäßrigen Natriumdithionit-Lösung versetzt und für 15 min bei 75 °C auf dem Wasserbad gerührt. Nach mehrmaligem Waschen mit 0,05 mol/L HCI und Wasser wurde das Material für die alkalische Extraktion der Huminstoffe eingesetzt.

Als Extraktionsmittel wurde eine 0,5 mol/L Natriumhydroxidlösung verwendet (STEVENSON, 1994). 10-20 g Bodenmaterial wurden mit 100 mL NaOH unter Stickstoffatmosphäre und im Dunkeln für 24 h extrahiert. Nach der Zentrifugation und Entnahme des Überstandes wurde der Vorgang wiederholt, jedoch mit nur

zweistündiger Extraktion. Die vereinigten Extrakte wurden mit konz. HCI angesäuert und somit die Huminsäuren ausgefällt. Die Fulvinsäurefraktion wurde durch Zentrifugation abgetrennt.

Um den Organikanteil der Huminsäurefraktion zu erhöhen, wurde das Material mehrmals in 0,5 mol/L NaOH gelöst und mit konz. HCI gefällt (STEVENSON, 1994). Nach der Neutralisation der Huminsäuren durch wiederholtes Waschen mit Wasser wurde gegen bidestilliertes Wasser und einen stark sauren Kationenaustauscher (DOWEX-50W, Sigma) zur Entfernung von Salzen dialysiert (KHAN, 1971). Abschließend wurde das Material gefriergetrocknet.

Die Vorgehensweise bei der Gewinnung der Fulvinsäuren orientierte sich an den Arbeiten von CIAVATTA et al. (1990), WATANABE und KUWATSUKA (1991) sowie CIAVATTA und GOVI (1993). Die nach Fällung der Huminsäuren erhaltene Fulvinsäurefraktion wurde auf eine mit 0,5 mol/L Schwefelsäure vorbehandelte Polyvinylpolypyrrolidon (PVPP)-Säule gegeben. Nicht-Huminstoffe wurden mittels 60 mL 0,1 mol/L Schwefelsäure eluiert und die Säule anschließend mit Wasser neutral gewaschen. Die Elution der adsorbierten Fulvinsäuren erfolgte mit 0,1 mol/L Natronlauge. Durch Aufgabe des Eluates auf einen stark sauren Kationen-austauscher (DOWEX-50W, Sigma) wurden die Fulvinsäuren in die H⁺-Form überführt. Die so erhaltene Lösung wurde gefriergetrocknet.

Der Rückstand der alkalischen Extraktion wurde zur Isolierung des Humins nach der in einigen Punkten modifizierten MIBK-Methode von RICE und MACCARTHY (1989, 1990 und 1992) weiter aufgearbeitet. Dazu wurde das Material zweimal mit je 75 mL 0,1 mol/L HCI und MIBK versetzt und geschüttelt. Die wäßrige und MIBK-Phase sowie das darin suspendierte Humin wurde jeweils abgenommen und zur Phasentrennung in einem Scheidetrichter belassen. Es wurde wiederholt mit 0,1 mol/L HCI ausgeschüttelt und die wäßrige Phase verworfen bis diese farblos blieb. Zur Gewinnung des Humins wurde das Lösungsmittel (MIBK) am Vakuumrotationsverdampfer abgezogen. Nach Aufschlämmen in Wasser wurde das Humin entsprechend den Huminsäuren dialysiert und gefriergetrocknet.

Ein eventuell zu hoher Ascheanteil des auf diese Weise gewonnenen Humins wurde durch eine Behandlung mit HCI (0,1 mol/L)/HF (0,3 mol/L) reduziert (PRESTON et al., 1989; STEVENSON, 1994).

Zur Überprüfung der ausgewählten Methode wurde neben der Ausbeute (gravimetrisch) auch der Aschegehalt (4 h, 750 °C; PRESTON et al., 1989) und der Kohlenstoffgehalt (Bedingungen s. Kap. 10.2.6) der isolierten Fraktionen bestimmt.

5.2.3 Ergebnisse

¹³C-CPMAS-NMR des Gesamtbodens

Die NMR-Messung des mit ¹³C₃-Fluoranthen kontaminierten Ah-Materials erwies sich als problematisch. Erst bei einer vergleichsweise hohen Dotierungskonzentration von 5 mg PAK/g Bodenmaterial konnte die Verbindung über das zu erwartende NMR-Signal (ca. 127 ppm) nachgewiesen werden. Der Vergleich mit dem Spektrum des unkontaminierten Materials verdeutlicht, daß lediglich das durch die Dotierung eingebrachte ¹³C-Isotop unter den gewählten Meßbedingungen detektierbar war (*Abb. 8*, s. auch *Abb. 7*, S. 31).

Abb. 8





Der beabsichtigte Nachweis einer chemischen Transformation von ¹³C-markierten PAK (s. Kap. 5.1 bzw. Kap. 7) im System Boden, der über eine Verschiebung des ¹³C-Signals der Ausgangsverbindung in andere Bereiche des NMR-Spektrums geführt werden kann, erschien unter diesen Umständen als nicht erreichbar. Der Grund dafür liegt darin, daß eine Aufspaltung des ursprünglichen NMR-Signals in mehrere andere Signale (andere chemische Umgebung des ¹³C in PAK-Abbauprodukten) einen deutlichen Intensitätsverlust dieser Signale zur Folge hätte und diese somit vermutlich nicht nachweisbar wären. Auch die Möglichkeit physikalischer Fraktionierungstechniken (Korngrößenfraktionierung, Dichtezentrifugation) zur Anreicherung des C-Gehaltes konnte mit den vorhandenen Mitteln nicht durchgeführt werden. Dementsprechend wurde der Weg der direkten NMR-Messung von Gesamtböden nicht weiter verfolgt, sondern auf Methoden der Huminstoffisolierung zurückgegriffen.

Isolierung von Huminstoff-Fraktionen

Das in *Abb. 9* dargestellte Fließschema gibt Aufschluß über die Vorgehensweise bei der Huminstoff-Isolierung. Die detaillierte Arbeitsvorschrift ist in Kap. 10.3.6 wiedergegeben und umfaßt die optimierten Einzelschritte.

Ziel der Adaption verschiedener in der Literatur beschriebener Verfahren war es, möglichst chemisch unveränderte Huminstoff-Fraktionen in einer für die ¹³C-CPMAS-NMR-Messung ausreichenden Menge und Qualität zu erhalten. *Tab. 8* (S. 45) zeigt die Ausbeuten und Aschegehalte von Huminstoff-Fraktionen in Abhängigkeit vom Bodenmaterial und der Probenvorbereitung. Eingesetzt wurden jeweils 40 g [TM] Bodenmaterial, wobei entweder die Isolate aus zwei 20 g-Ansätzen vereint oder die Methodenparameter einem 40 g-Ansatz angepaßt wurden.



Abb. 9 Fließschema der Isolierung von Huminstoff-Fraktionen aus Bodenmaterial

Ah-Material, das zuvor einer Dithionitbehandlung unterzogen wurde, liefert bei gleicher Aufarbeitung im Gegensatz zu Ah/Ko-Material Huminsäuren mit wesentlich geringerem und Humin mit deutlich höherem Aschegehalt. Die Ausbeute an Huminsäuren und Humin aus Ah-Material ist im Vergleich zu Ah/Ko-Material um etwa 75-80 % (bezogen auf aschefreien Anteil) niedriger. Für die Fulvinsäuren aus beiden Bodenmaterialien lassen sich keine nennenswerten Unterschiede feststellen. Betrachtet man den Einfluß der Dithionitbehandlung auf den Aschegehalt und die Ausbeute der verschiedenen Fraktionen, so läßt sich lediglich eine um 15-25 % verringerte Ausbeute feststellen. Bestätigt wird dieses Ergebnis durch den Vergleich entsprechender NMR-Spektren. ¹³C-CPMAS-NMR-Spektren von Huminsäure- bzw. Huminfraktionen aus dithionit- und nicht dithionitbehandelten

Bodenmaterialien lassen jeweils keine signifikanten Unterschiede erkennen (hier nicht dargestellt).

Material	Dithionit-	Asche-	Fraktion*	Asche	Ausbeute	Ausbeute
	behandlung	Reduzierung		[%]	[mg]	[mg]
						aschefrei
Ah	ja		HS	7	120	112
[40 g]	ја	3 x HCI/HF	Hm	80	290	58
	ja		FS	2	45	44
Ah/Ko	ja		HS	40-45	1200	660-720
[40 g]	ja	3 x NaOH/HCI	HS	2-5	n.b.	
	nein		HS	40-45	1400	770-840
	ja		Hm	80	1400	280
	ja	3 x HCI/HF	Hm	55-60	500-600	225-240
	nein		Hm	80	1900	380
	ja		FS	3	35	34
	nein		FS	n.b.	40	

Tab. 8 Durchschnittliche Huminstoffausbeuten und Aschegehalte in Abhängigkeit vom Bodenmaterial und der Probenvorbereitung

* HS = Huminsäure, FS = Fulvinsäure, Hm = Humin

Für ausgewählte Huminstoff-Fraktionen wurde der C-Gehalt bestimmt. Für alle drei Fraktionen wurden Gehalte um 50 % ermittelt: HS (Ah) 54 %, HS (Ah/Ko) 51 %, Hm (Ah/Ko) 56 %, FS (Ah) 46 % und FS (Ah/Ko) 50 %.

Das dreifache Lösen (NaOH) und Ausfällen (HCI) von isolierten Huminsäuren resultierte in einer 85-95 %igen Reduzierung des Aschegehaltes und führte zu wesentlich aussagekräftigeren NMR-Spektren (hier nicht dargestellt). Die dreifache Behandlung von Huminfraktionen mit einer HCI/HF-Lösung führte im Gegensatz dazu lediglich zu einer 25-30 %igen Minimierung des Aschegehaltes, aber ebenfalls zu verbesserten NMR-Spektren (hier nicht dargestellt).

Während aus 20 bis 40 g Bodenmaterial ausreichende Mengen an Huminsäure bzw. Humin gewonnen werden konnten, war dies für die Fulvinsäuren nicht der Fall. Um einen 4mm-NMR-Rotor befüllen zu können, benötigt man 100 bis 150 mg Huminsäure bzw. Humin. Da die mit der oben beschriebenen Methode isolierten Fulvinsäuren eine sehr feine Konsistenz besitzen und das Material unter Druck in die Rotoren eingepreßt werden muß, wird von dieser Fraktion mindestens 300 mg benötigt. Entsprechend der **Tab. 8** müßten demnach 300 bis 400 g Bodenmaterial zur Huminstoff-Isolierung eingesetzt werden. Im Hinblick auf den Einsatz ¹³C-angereicherter PAK wäre demzufolge eine hohe Menge dieser Substanzen erforderlich, um geeignete Dotierungskonzentrationen erzielen zu können. Aufgrund der geringen vorhandenen Mengen und der kosten- bzw. zeitintensiven Synthese derartiger Verbindungen wurde dieser Aufwand als nicht gerechtfertigt erachtet.

5.3 Diskussion

Die in Kap. 5.2.3 (Abb. 8, S. 42) beschriebenen Ergebnisse haben gezeigt, daß das vorhandene analytische Instrumentarium und/oder die gewählten Parameter nicht geeignet sind, die Struktur von undotiertem oder dotiertem organischem Material in dem verwendeten unfraktionierten, weitestgehend nativen Ah-Horizont selbst ¹³Ccharakterisieren. Verwunderlich war zunächst, daß sich zu angereichertes Fluoranthen erst bei vergleichsweise hoher Dotierung im Boden nachweisen ließ. Unter Berücksichtigung der elementaren Zusammensetzung von $^{13}C_3$ -Fluoranthen ($^{13}C = 7,38$ %, $^{12}C = 87,66$ %, H = 4,96 %) sowie des Kohlenstoffgehaltes des verwendeten Bodenmaterials (TC_{Ab} = 1,10 %, 13 C = 1,11 % von TC) läßt sich anhand der vorgenommenen Dotierung von 1 mg/g bzw. 5 mg/g (TM) das Verhältnis ¹³C-Aktivität_{PAK} / ¹³C-Aktivität_{BODEN} berechnen. Für die Ansätze ergeben sich demnach maximal mögliche Verhältnisse von etwa 1/1,8 bzw. für die höhere Dotierung von 2,7/1, wobei die Verunreinigung des verwendeten Syntheseproduktes mit Fluoren eingerechnet wurde (s. dazu Kap. 3.2). Nicht berücksichtigt wurden dagegen etwaige Verluste von Boden-C durch die im Verlauf der Probenvorbereitung erfolgte Lösemittelextraktion.

Möglicherweise muß der ¹³C-Anteil aus der eingebrachten Dotierung \geq dem ¹³C-Anteil des Bodenmaterials sein, um die Dotierung im NMR-Spektrum nachweisen zu können. Dagegen spricht jedoch, daß ¹³C₃-Fluoranthen lediglich ein Signal im Aromatenbereich (ca. 127 ppm) erzeugen kann. Ein nennenswerter Abbau der

Verbindung und damit eine Verlagerung des NMR-Signals in andere Spektrumbereiche, ist aufgrund der kurzen Versuchszeit und der gewählten Bedingungen auszuschließen. Die organische Matrix des Bodens weist im Vergleich dazu einen breiten Bereich von Kohlenstoffstrukturen auf, so daß sich die ¹³C-Aktivität des Bodens auf eine Vielzahl von NMR-Signalen verteilt (0 bis 220 ppm, s. Kap. 5.1.1, *Abb. 7*, S. 31). Folglich müßte eine Erhöhung der Signalintensität bei ca. 127 ppm zu erwarten sein.

Eine weitere Erklärung besteht darin, daß im Verlauf der Probenbehandlung Verluste aufgetreten sind, beispielsweise in Form von Adsorption des PAK an Laborgeräte. Derartige Verluste wurden bestätigt, indem die Konzentration des ¹³C-Fluoranthens im dotierten Ah-Material über die Bestimmung der ¹³C/¹²C-Isotopenverhältnisse ermittelt wurde. Im geringer kontaminierten Ansatz waren lediglich 62,6 % und in der höher dotierten Probe 44,6 % der eingesetzten PAK-Menge nachweisbar (RICHNOW, 1997). Daraus ergibt sich ein korrigiertes Verhältnis ¹³C-*Aktivität*_{PAK} / ¹³C-*Aktivität*_{BODEN} von 1/3,0 (geringere Dotierung) bzw. 1,2/1 (höhere Dotierung). Daß keine NMR-Signale des natürlich enthaltenen organischen Materials nachweisbar waren, kann hierdurch jedoch nicht begründet werden.

Ein Aspekt, der vermutlich sowohl für die unzureichende Detektion des eingebrachten PAK als auch für die "Nicht-Detektion" der organischen Matrix ausschlaggebend gewesen sein kann, ist in dem Vorhandensein von paramagnetischen lonen im Bodenmaterial zu sehen. Diese können Teile des organischen Kohlenstoffes für die ¹³C-NMR "unsichtbar" machen (SCHMIDT et al., 1997). Der Eisengehalt des verwendeten Ah-Materials beträgt 0,81 %. Daraus ergibt sich ein C/Fe-Verhältnis von 1,37/1. Nach Untersuchungen von ARSHAD et al. (1988) können bei Verhältnissen von C/Fe > 1 annehmbare NMR-Spektren erhalten werden. Demnach ist der vorhandene Eisengehalt des Bodens nicht die alleinige Ursache für das erzielte Ergebnis. Inwiefern möglicherweise enthaltene andere paramagnetische Ionen ein Rolle spielen wurde nicht untersucht.

Der Vergleich mit anderen Arbeiten läßt darüber hinaus vermuten, daß die Erklärung für das erzielte Ergebnis in den gewählten Versuchsparametern zu suchen ist. Die jeweiligen Autoren verwendeten in der Regel Bodenmaterialien (unkontaminiert) mit z. T. sehr hohen Kohlenstoffgehalten und/oder arbeiteten mit sehr langen Meßzeiten, um brauchbare ¹³C-NMR-Spektren zu erhalten (*Tab. 9*).

Material	C [%]	Anzahl Scans	Quelle
Gesamtboden	2,2	> 100 000	ARSHAD et al., 1988
Korngröße- u. Dichtefraktionen	2 bis 49	bis zu 220 000	BALDOCK et al., 1992
Gesamtboden	37 bis 49	2 000 bis 3 000	KROSSHAVN et al., 1992a und b
Gesamtboden	< 2	bis zu 1 000 000	FRÜND et al., 1994a
Gesamtboden	12,8 bis 20,7	5 000 bis 20 000	GOLCHIN et al., 1997a
Gesamtboden	0,8 bis 3,5	100 000 bis 800 000	SCHMIDT et al., 1997
Gesamtboden	1,1	5 000 bis 40 000	vorliegende Arbeit, Kap. 10.2.4

Tab. 9	¹³ C-CPMAS-NMR von undotierten Gesamtböden: Anzahl akkumulierter
	Scans und C-Gehalt der Bodenmaterialien im Vergleich

Die geringen Kohlenstoffgehalte der verwendeten Materialien (Ah: 1,10 %, Ah/Ko: 2,62 %) ließen folglich erwarten, daß sehr lange Meßzeiten für die Aufnahme geeigneter Spektren notwendig wären. Bei näherer Betrachtung dieser Möglichkeit ergeben sich jedoch folgende Einschränkungen: Eine Erhöhung der Anzahl akkumulierter Scans wirkt sich auf sämtliche im NMR-Spektrum dargestellten Strukturkomponenten aus. D. h. die Gestalt der NMR-Signale von durch die Dotierung eingebrachten und natürlich enthaltenen ¹³C-Atomen wird gleichermaßen beeinflußt. Eine einseitige Signalverstärkung dotierter Kerne ist auf diese Weise nicht erreichbar. Daneben ist eine derartige Meßzeitverlängerung nur dann als sinnvoll zu bewerten, wenn bereits nach adäquaten Zeiten erkennbare Strukturen hervortreten, die eine Optimierung rechtfertigen.

Die in den vorangegangenen Abschnitten erläuterte Aufgabenstellung erschien unter diesen Umständen mit einem vertretbaren Aufwand als nicht lösbar. Dagegen bot sich mit der Verwendung von Huminstoffisolaten eine praktikable Möglichkeit, die strukturelle Charakterisierung von organischem Material mittels ¹³C-CPMAS-NMR vorzunehmen. Beispielsweise untersuchten FRÜND et al. (1994a) Huminstoffextrakte mit Kohlenstoffgehalten von ca. 35 %. Die Akkumulation von 10⁴ Scans reichte aus, geeignete Spektren zu erhalten. Die Untersuchungen an den Huminstoffisolaten haben ergeben, daß diese in ausreichender Menge (gilt für Huminsäuren und Humin) und reproduzierbarer Qualität erhalten werden können (Kap. 5.2.3, **Tab. 8**, S. 45). Die infolge der Dithionitbehandlung festgestellten Verluste an Material (und damit an Kohlenstoff) in einer Größenordnung von 15-25 % decken sich mit den Angaben von BALDOCK et al. (1992), die einen C-Verlust von 18 % beobachteten. Dieser C-Anteil entstammte überwiegend Kohlenhydratstrukturen. Auch die ermittelten Kohlenstoffgehalte der Huminstoffisolate von durchschnittlich 50 % (aschefreie Basis) sowie die im Rahmen der Aschereduzierung erzielten Ergebnisse stimmen gut mit Literaturdaten überein.

5.4 Nachweismethode für estergebundene PAK-Oxidationsprodukte

5.4.1 Ausgangssituation

Wie bereits in Kap. 5.2.1 geschildert, eignen sich selektive chemische Spaltungsmethoden zur Charakterisierung von kovalenten Bindungen zwischen PAK-Abbauprodukten und der Huminstoffmatrix. Unter bestimmten Voraussetzungen ergibt sich daraus die Möglichkeit, die mittels Festkörper-NMR erzielten Ergebnisse bezüglich der Struktur von Huminstoff/Schadstoff-Komplexen zu verifizieren und entsprechend zu untermauern. Wichtige Arbeiten auf dem Gebiet der Analyse von gebundenen Rückständen sind von RICHNOW et al. (1994, 1997 und 1998) geleistet worden:

Mittels einer alkalischen Hydrolyse von Huminsäurematerial aus einem PAKkontaminierten Boden konnte erstmalig die Existenz von Esterbindungen zwischen PAK-Abbauprodukten und der Huminstoffmatrix bewiesen werden. Der Nachweis derartiger kovalenter Bindungen gelang über das Einbringen des ¹⁸O-Isotopes (via Na¹⁸OH) in die abgespaltenen Schadstoffmoleküle, die nach anschließender Extraktion und Derivatisierung massenselektiv detektiert werden konnten. In ähnlichen Versuchen konnten über Etherbrücken gebundene PAK-Rückstände identifiziert werden. Die Spaltung der kovalenten Etherbindungen erfolgte mittels saurer Hochtemperatur-Hydrolyse (1 mol/L HCl, 315 °C, 3 h), jedoch ohne Isotopenmarkierung. In Abbauversuchen mit ¹³C₉-Anthracen und anschließender alkalischer Hydrolyse (Na¹⁶OH) der isolierten Bodenhuminstoffe wurden 2-Hydroxy-3-naphthoesäure und Phthalsäure freigesetzt und über ihre ¹³C-Markierung als Abbauprodukte der Ausgangsverbindung identifiziert.

Durch Abbauversuche mit ¹³C-angereicherten PAK sowie dem kombinierten Einsatz von ¹³C-CPMAS-Festkörper-NMR-Messungen und der alkalischen Hydrolyse mit Na¹⁸OH lassen sich im Idealfall mehrere Informationen über den Verbleib der PAK gewinnen. Zum einen erhält man aussagekräftige Ergebnisse über mögliche Esterbindungen zwischen PAK-Abbauprodukten und der organischen Bodenmatrix. Zum anderen lassen sich über die jeweiligen Isotopenmarkierungen quantitative Aussagen über die aus der Dotierung stammenden und über die estergebundenen bzw. adsorbierten Anteile der PAK-Metaboliten treffen.

5.4.2 Durchführung

Es wurde die von RICHNOW et al. (1994) beschriebene Methode der alkalischen Hydrolyse von Esterbindungen herangezogen. Dazu wurde zunächst isotopenmarkiertes Wasser (H₂¹⁸O) unter Zugabe von elementarem Natrium in eine Na¹⁸OH-Lösung mit einer Konzentration von etwa 2 mol/L überführt. 0,5 mL dieser Lösung wurden zur Hydrolyse (80 °C, 18 h) von 40 mg Huminsäure eingesetzt. Aus dem Hydrolysat wurden anschließend neutrale Spaltprodukte mit Diethylether und saure Komponenten nach dem Ansäuern ebenfalls mit Diethylether extrahiert. Die neutrale Fraktion wurde über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und mittels GC-MSD vermessen. Die saure Fraktion wurde nach dem Trocknen vollständig vom Lösungsmittel befreit und die sauren Spaltprodukte mittels Bis(trimethylsilyl)-trifluoracetamid/Trimethylchlorsilan (BSTFA/TMCS; 99:1, v:v) zu den entsprechenden Trimethylsilylderivaten umgesetzt (70 °C, 1h). Die Messung erfolgte mittels GC-MSD. Die detaillierte Arbeitsvorschrift ist in Kap. 10.3.7 aufgeführt.

6 Abbauverhalten von Mineralölprodukten und PAK unter Schwermetalleinfluß

6.1 Ausgangssituation

Kontaminierte Standorte sind in der Regel durch ein heterogenes Schadstoffspektrum gekennzeichnet. Neben organischen Kontaminanten wie PAK, PCB oder Mineralölprodukten sind häufig auch Schwermetalle als Begleitkontamination anzutreffen (ADAM et al., 1991). Schadstoffeinträge in den Boden und andere Umweltkompartimente sind primär anthropogenen Ursprungs. Neben einer ubiquitären Verbreitung von Schadstoffen, z. B. durch Industrie- und Kfz-Abgase über den Luftweg, findet man lokal extreme Bodenverunreinigungen in vielen Fällen an ehemaligen Industriestandorten. Einen Überblick über potentielle Mischkontaminationen auf derartigen Geländen liefern beispielsweise branchentypische Inventarisierungen von Stoffen, die für den jeweiligen Standort charakteristisch sind (UBA, 1986 und 1989; SRU, 1989 und 1995).

Die Heterogenität von Schadstoffgemischen beinhaltet die Möglichkeit von Wechselwirkungen zwischen den jeweiligen Kontaminationsarten bzw. den einzelnen Stoffen und der belebten und unbelebten Bodenmatrix (WINKLER, 1994). Dabei kann es sich zum einen um physikalisch-chemische Wechselwirkungen handeln (KLUMPP et al., 1992), die sich u. a. auf die Bioverfügbarkeit der Xenobiotika auswirken können (JACOBI, 1995). Zum anderen können biologisch bzw. enzymatische Prozesse dahingehend beeinflußt werden, daß die mikrobielle Abbaubarkeit einer Substanz durch die Anwesenheit einer anderen vermindert oder erhöht wird (SRU, 1989). Daraus ergibt sich ein erheblicher Forschungsbedarf zu diesem Thema.

Die synergistischen und antagonistischen Wechselwirkungen zwischen unterschiedlichen Schadstoffen bzw. ihre Kombinationswirkung auf bestimmte biologische Vorgänge war Gegenstand mehrerer Arbeiten:

Einige Chlor- und Methylaromaten werden durch geeignete Mikroorganismen vollständig abgebaut, wenn sie als individuelle Substanzen vorliegen. Das gemeinsame Vorhandensein dieser beiden Verbindungsklassen birgt dagegen ein toxisches Potential für die Mikroorganismenpopulation und führt zu anderen

Abbauwegen (ROJO et al., 1987; MÜLLER et al., 1996; PIEPER et al., 1996). TIEHM und FRITZSCHE (1995) beschrieben antagonistische und synergistische Wirkungen von Fluoren und Phenanthren auf den Pyrenabbau. Die gegenseitigen Wechselwirkungen von Toluol und Xylol auf die jeweilige Abbaurate bzw. der Einfluß von Heteroaromaten auf den Naphthalinabbau wurden von ARCANGELI und ARVIN (1995) untersucht. In Abbauversuchen mit Mono- und Diaromaten sowie S- und O-Heteroaromaten durch eine teeröl-adaptierte Mischkultur konnten DYREBORG et al. (1996) komplexe Wechselwirkungen dieser Verbindungen nachweisen. MEYER und STEINHART (2000a) konnten zeigen, daß einige Hetero-PAK (N, S, O) und PAK durch die Anwesenheit der jeweils anderen Verbindungsklasse in ihrem mikrobiologischen Abbau gehemmt werden. Auch in anderen Arbeiten wird auf synergistische und antagonistische Effekte im Rahmen des PAK-Abbaus hingewiesen. Danach unterscheiden sich die Abbauraten einzelner PAK in Abhängigkeit davon, ob sie einzeln oder im Gemisch vorliegen (SMITH, 1990; KELLEY und CERNIGLIA, 1995).

KOCH und KOWALCZYK (1991) untersuchten die Wirkung von Kupfer und Zink in Kombination mit dem Tensid LAS (lineares Alkylbenzolsulfonat) auf die mikrobielle Aktivität einer Braunerde. Vermutete Synergieeffekte in bezug auf die Veränderung der Zellmembran von Mikroorganismen konnten nicht eindeutig bestätigt werden. Verschiedene Arbeiten zur Beschreibung der Kombinationswirkung von Schwermetallen und PAK bzw. PCB auf Bodenbakterien wurden von KOCH und WILKE (1996), WILKE et al. (1996), GOGOLEV und WILKE (1997) sowie KOCH und WILKE (1998) durchgeführt. U. a. konnte belegt werden, daß Fluoranthen und Benzo[a]pyren in Abhängigkeit von der Konzentration der beteiligten Schadstoffe die Durchlässigkeit bakterieller Zellmembranen erhöhen und damit die Schadwirkung von Schwermetallen verstärken.

ZHOU et al. (1991) untersuchten die synergistischen und antagonistischen Wirkungen zwischen verschiedenen Metallen (Cd, Cu, Se) auf die Biotoxizität in unterschiedlichen Böden. Es konnte gezeigt werden, daß die Toxizität der Metalle infolge unterschiedlicher bodenchemischer Eigenschaften verschieden stark war, wobei die Konzentration des wasserlöslichen Metallanteils einen wichtigen Faktor darstellte.

SAID und LEWIS (1991) beschrieben die Hemmeffekte von Metallen (Cu, Hg, Zn, Cd und Cr) auf den aeroben mikrobiologischen Abbau von 2,4-Dichlorophenoxyessigsäuremethylester. Es wurde festgestellt, daß diese Metalle eine stärkere antagonistische Wirkung besitzen als organische Substanzen, die für die betrachtete Mikroorganismenpopulation ebenfalls toxisch wirken. Die mikrobielle Abbaurate des Tensids LAS wurde durch die Zugabe von Hg²⁺-Ionen deutlich vermindert (MISRA et al., 1991). Der Einfluß verschiedener Metalle (Cu²⁺, Fe²⁺, Fe³⁺, Pb^{2+} und die Kombination aus Fe^{3+}/Pb^{2+}) auf den biologischen Abbau von ortho-Nitrophenol war Gegenstand der Arbeit von TOPALOVA und PETROVA (1995). Cu²⁺ und Pb²⁺ hemmten die Abbauaktivität, wohingegen Fe²⁺ und Fe³⁺ einen stimulierenden Effekt zeigten. Die Fe³⁺/Pb²⁺-Kombination eliminierte die hemmende Wirkung von Pb2+. Den Einfluß von Schwermetallen (Cd, Cu, Cr und Hg) auf den anaeroben Abbau von 2-Chlorphenol und 3-Chlorbenzoesäure untersuchten KUO und SHARAK GENTHER (1996). Von der jeweiligen Metallkonzentration abhängig zeigte sich eine Verlängerung der lag-Phase, eine Verringerung der Abbaurate oder die vollständige Hemmung des Abbaus. In einigen Fällen konnte bei geringen Metallkonzentrationen andererseits auch eine erhöhte Abbaurate beobachtet werden. SHEN et al. (1996) beschrieben einen positiven Einfluß von Cr(VI)-Ionen auf den anaeroben Abbau von Benzoaten.

Bislang fehlen Untersuchungen zum Einfluß von Schwermetallen auf den mikrobiologischen Abbau von Mineralölkohlenwasserstoffen oder PAK in Bodenmaterialien. Hinsichtlich der Selbstreinigungskraft von kontaminierten Böden insbesondere aber auch im Hinblick auf die biologische Sanierung derartiger Standorte ist die Kenntnis über die Wechselwirkungen dieser Schadstoffklassen von praktischer Bedeutung. Dies gilt um so mehr, als davon auszugehen ist, daß der Kohlenwasserstoffabbau durch die Anwesenheit von Schwermetallen blockiert werden kann (SRU, 1989).

Als Basis für die Konzipierung entsprechender Versuche dienten einerseits die zahlreichen Studien zur Wirkungsweise von Schwermetallen auf Bodenmikroorganismen. Andererseits sind die Abbauwege von Kohlenwasserstoffen (vor allem PAK) weitgehend aufgeklärt und in zahlreichen Publikationen beschrieben worden: Der Einfluß von Schwermetallen auf Bodenmikroorganismen und mikrobiologisch gesteuerte ökologische Prozesse ist vielfältiger Art und in den zurückliegenden zwei Jahrzehnten mehrmals zusammenfassend dargestellt worden (z. B. TYLER, 1981; BABICH und STOTZKY, 1985; BÅÅTH, 1989; BEVERIDGE und DOYLE, 1989; TYLER et al., 1989; REBER, 1994). Entscheidend für derartige Effekte ist die Art und Lösungskonzentration und damit die Bioverfügbarkeit der vorliegenden Schwermetalle, die wiederum von zahlreichen Bodenparametern abhängt (s. dazu Kap. 4.2.1).

Einige Metalle (z.B. Cu, Zn, Fe, Mn) sind essentiell für Bodenorganismen, wobei der Bedarf bereits durch sehr geringe Konzentrationen gedeckt wird. Bestimmte Metalle sind z. B. für die Funktionalität von mikrobiellen Enzymen (Metallo-Enzyme, Metall-aktivierte Enzyme) verantwortlich (TYLER, 1981). Oberhalb toxischer Grenz-konzentrationen, die je nach Metall und Mikroorganismenpopulation variieren, kommt es in der Regel zu einer Hemmung von Enzymen und Enzymsynthesen oder des mikrobiellen Wachstums (TYLER, 1981; STADELMANN et al., 1984; REBER, 1994). Für vergleichsweise geringe Schwermetallkonzentrationen ist gelegentlich ein Anstieg der Mikroorganismenzahl festgestellt worden (STERRIT und LESTER, 1980). Die Wirkung von Schwermetallen auf bestimmte bodenbiologische Prozesse wurde u. a. von BECK (1981), BROOKES und McGRATH (1984), STADELMANN et al. (1984), BABICH und STOTZKY (1985), KANDELER et al. (1990) sowie KANDELER et al. (1996) beschrieben.

Gegenstand zahlreicher Untersuchungen war die Toleranz von Bodenbakterien gegenüber einer Schwermetallkontamination (OLSON und THORNTON, 1982; DUXBURY und BICKNELL, 1983; TREVORS et al., 1985; GADD, 1990; ANGLE et al., 1993; DíAZ-RAVIÑA et al., 1994; HIROKI, 1994). Insbesondere solche Mikroorganismen, die einem schwermetall-kontaminierten Boden entstammten, zeigten Toleranzerscheinungen bei erneuter Schwermetallzufuhr. Aber auch aus unkontaminierten Böden isolierte Mikroorganismen können Resistenzmechanismen gegenüber Schwermetallen besitzen. Beispielsweise wurde festgestellt, daß grampositive Bakterien (STERRIT und LESTER, 1980; DUXBURY und BICKNELL, 1983). Weiterhin gilt, daß Prokaryonten (Bakterien, Actinomyceten) empfindlicher gegenüber Schwermetallen reagieren als Eukaryonten (Pilze) und Bakterien empfindlicher als Actinomyceten. Bestimmte Mikroorganismen sind in der Lage,

Schwermetalle in eine andere, weniger toxische Form zu überführen (GADD, 1990; OHTAKE und SILVER, 1994).

Die Adaption der Mikroorganismenpopulation an eine Streßsituation - bedingt durch die Schwermetallkontamination - kann unter Umständen mit einer Reduzierung der Artenvielfalt und damit der Omnipotenz der autochthonen Mikroflora einhergehen (TYLER et al., 1989; BURKHARDT et al., 1993).

Überträgt man die dargestellten Sachverhalte auf eine Mischkontamination, die neben Schwermetallen zugleich organische Schadstoffe (z. B. PAK) aufweist, so ergeben sich weitaus komplexere Zusammenhänge. Es ist zu vermuten, daß sich die mikrobiellen Abbauleistungen gegenüber der organischen Kontamination in einfach und mischkontaminierten Böden deutlich voneinander unterscheiden.

Aufgrund ihrer praktischen Bedeutung als häufig anzutreffende Umweltkontaminanten stehen Mineralölkohlenwasserstoffe und vor allem PAK seit Jahren im Mittelpunkt vieler umweltbezogener Forschungsarbeiten. Ein besonderes Interesse gilt dabei der biologischen Abbaubarkeit dieser Schadstoffe vor allem im Hinblick auf die Entstehung von Intermediärprodukten. Bisherige Studien zur Charakterisierung von Abbauwegen wurden überwiegend in Kulturmedien durchgeführt. Für aliphatische und alicyclische Kohlenwasserstoffe, die in den verwendeten Mineralölprodukten die größte Stoffklasse darstellen, bzw. für Monoaromaten erfolgten derartige Untersuchungen nur vereinzelt (BLAKLEY, 1978; REHM und REIFF, 1981; PERRY, 1984; SINGER und FINNERTY, 1984; COZZARELLI et al., 1990).

Der aerobe Abbau von n-Alkanen erfolgt zunächst terminal an der ω -Position, wobei eine Hydroxylierung durch eine Oxydase stattfindet. Daran schließt eine Weiteroxidation zum entsprechenden Aldehyd und zur Carbonsäure an. Nach dieser initialen Oxidation erfolgt ein schrittweiser Abbau durch β -Oxidation. Für einige Mikroorganismenarten wurde die Fähigkeit zur diterminalen Oxidation beschrieben. Hierbei entstehen α, ω -Dicarbonsäuren. Verzweigte Alkane werden nach anfänglicher terminaler Oxidation zur alkylsubstituierten Carbonsäure weiter durch β - und ω -Oxidation umgesetzt. Cycloalkane bzw. alkylsubstituierte Cycloalkane werden im Gegensatz zu den Alkanen durch Mikroorganismen deutlich schlechter abgebaut. Auch hier kommen verschiedene Oxidationsvorgänge zum Tragen, wobei insbesondere der *Cometabolismus* (Co-Oxidation) eine wichtige Rolle spielt. Dabei wird eine nicht abbaubare Substanz bei Anwesenheit einer leicht abbaubaren Substanz, welche die Aktivität der notwendigen Enzyme induziert, zersetzt. Ebenso von Bedeutung ist der *Commensalismus*, bei dem die gesamte Mikrobengemeinschaft am Abbau beteiligt ist. Das Abbauprodukt einer Spezies wird durch eine andere Spezies weiter abgebaut oder es werden gegenseitig Cosubstrate bereitgestellt.

Das weitaus größere Interesse an den Abbauwegen von PAK spiegelt sich in den zahlreichen Arbeiten zu diesem Thema wider. Der biologische PAK-Abbau kann durch Bakterien und Pilze erfolgen, wobei grundsätzlich drei Typen des Abbaus unterschieden werden (KÄSTNER et al., 1993): Die vollständige Mineralisierung findet intrazellulär statt, Metaboliten akkumulieren in der Regel nur vorübergehend, bestimmte Stoffwechselprodukte finden Eingang in die Biomasse und das Hauptabbauprodukt ist CO₂. Der cometabolische Abbau erfolgt überwiegend intrazellulär und wurde für Bakterien und Pilze beschrieben. Das Ringgerüst wird partiell oxidiert, häufig kommt es zur Akkumulation teiloxidierter Metabolite (Hydroxyl-, Carboxyl- oder Chinon-Derivate), aber auch CO₂ ist ein mögliches Abbauprodukt. Der dritte Typ des PAK-Abbaus, die unspezifische radikalische Oxidation, wurde für Weißfäule-Pilze beschrieben und hängt mit deren Fähigkeit zum Ligninabbau zusammen (Lignin-abbauendes Enzymsystem "Ligninase"). Die Transformation erfolgt überwiegend extrazellulär, die Initialoxidation basiert auf einer Radikalbildung, die Weiterreaktion der Oxidationsprodukte ist ungerichtet. Als Abbauprodukte werden Chinon-Derivate beschrieben, aber auch CO₂ ist ein mögliches Produkt.

Eine zusammenfassende Darstellung über die Mechanismen des PAK-Abbaus und identifizierter Abbauprodukte liefern SUTHERLAND et al. (1995). Dort noch nicht aufgeführte bzw. aktuellere Studien erfolgten durch zahlreiche weitere Arbeitsgruppen (KOTTERMAN et al., 1994; TRENZ et al., 1994; VYAS et al., 1994; GRIFOLL et al., 1995; ZINK, 1995; COLLINS et al., 1996; JOHANNES et al., 1996; KIEHLMANN et al., 1996; LI et al., 1996; SELIFONOV et al., 1996; ALLEN et al., 1997; CASELLAS et al., 1997). Eine systematische Auswertung und zusammenfassende Bewertung derartiger Studien ist darüber hinaus durch die DECHEMA (1994) vorgenommen worden. Die Charakterisierung von PAK-Abbauprodukten in Bodenmaterialien erfolgte dagegen erst durch vergleichsweise wenige Autoren. GEORGE und NEUFELD (1989) identifizierten 9-Fluorenon als Abbauprodukt des Fluorens. SCHNODER et al. (1994) konnten in Lysimeterversuchen drei Benzo[a]pyrendione nachweisen. LANGBEHN und STEINHART (1995) charakterisierten aromatische Ketone neben alicyclischen und verzweigten sowie aromatischen organischen Säuren als Abbauprodukte von Diesel- und Schmierölbestandteilen in verschiedenen künstlich kontaminierten Böden. WISCHMANN et al. (1996) sowie WISCHMANN und STEINHART (1997) untersuchten die Bildung von PAK-Oxidationsprodukten in PAK-kontaminierten Böden und Boden/Kompost-Gemischen. In Abhängigkeit von der Ausgangsverbindung wurden Hydroxy-, Keton-, Carboxyl- und Chinon-Derivate nachgewiesen. MEYER und STEINHART (2000b) verfolgten die Bildung von Metaboliten in einem Boden/Kompost-System, das mit einem Gemisch aus PAK und Hetero-PAK kontaminiert war. Es konnten dreißig PAK- sowie vier Hetero-PAK-Metaboliten identifiziert werden, vorwiegend aromatische Ketone, Chinone, hydroxylierte und dihydroxylierte Verbindungen. Einige davon wurden erstmalig in einem Boden-Abbauversuch nachgewiesen.

In *Tab. 10* ist eine Auswahl der aus Abbauversuchen in Kulturmedien und Bodenmaterialien identifizierten Abbauprodukte einiger alicyclischer, monoaromatischer und polycyclisch aromatischer Kohlenwasserstoffe unter Angabe des Mediums zusammenfassend dargestellt.

Die dargestellten Sachverhalte verdeutlichen die komplexen Zusammenhänge in bezug auf den biologischen Abbau von Stoffgemischen organischer Kontaminanten in Bodenmaterialien. Die Abbauleistung der autochthonen Mikroflora wird nicht nur durch die vorherrschenden Bodenparameter und die Bioverfügbarkeit der Schadstoffe beeinflußt. Es ist vielmehr die auch Zusammensetzung der einzelnen Mikroorganismenspezies entscheidend, welche mit den verschiedensten Mechanismen und unterschiedlichen Spezifitäten am Abbau beteiligt sind. Es ist daher theoretisch denkbar, daß Schwermetall-Begleitkontaminationen nicht nur eine Verzögerung oder eine vollständige Hemmung des Abbaus bewirken, sondern auch dazu führen, daß der Abbau über neue Wege und damit über andere Zwischenstufen verläuft.

Verbindung	Abbauprodukte	Med.	Zitat
Propylcyclohexan	Cyclohexancarbonsäure	В	1
Indan	1-Indanol, 1-Indanon	В	1, 2
Tetralin	1-Tetralol, 1-Tetralon	В	1, 2
Naphthalin	1-Naphthol, 2-Naphthol, Cumarin	В	1, 2
	1-Naphthol, 2-Naphthol	K	8
2-Methylnaphthalin	6- u. 7-Methylcumarin, 2-Naphtoesäure	в	1, 2
Acenaphthylen	1,2-Acenaphthylendion, 1,8-Naphthalsäureanhydrid, _1H,3H-Naphtho(1,8-cd)pyran-1-on	В	3, 5, 6
	1,2-Acenaphthylendion, 1,8-Naphthalsäureanhydrid	K	8
Fluoren	9-Fluorenol, 9-Fluorenon, 4-Hydroxy-9-fluorenon	В	4, 5, 6, 7, 10
	9-Fluorenol, 9-Fluorenon, 1- und 2-Indanon, 3-Hydroxy-1-indanon, 3,4-Dihydrocumarin, 1-, 2- u. 4-Hydroxy-9-fluorenon	К	8, 9
1-Methylfluoren	1-Methyl-9-fluorenol, 1-Methyl-9-fluorenon, 1-Indanon, 9-Fluorenon-1-carbonsäure, 7-Methyl-1-indanon	В	1, 2
Phenanthren	1-Hydroxy-2-naphthoesäure, 9,10-Phenanthrenchinon	В	4, 6, 10
	9-Phenanthrol, 3,4-Dihydroxyphenanthren, 1-Hydroxy-2-naphthaldehyd, 2-Carboxybenzaldehyd, 1-Hydroxy-2-naphthoesäure, o-Phthalsäure, 3,4-Dihydroxybenzoesäure, 9,10-Phenanthrenchinon	К	8
Anthracen	9-Anthracenon, 9,10-Anthrachinon	В	3, 5, 6
	1,2-Dihydroxyanthracen, 9,10-Anthrachinon, o-Phthalsäure, 2-Hydroxy-3-naphthaldehyd, 2-Hydroxy-3-naphthoesäure	К	8
2-Methylanthracen	2-Methylanthrachinon	В	1, 2, 5, 6
Fluoranthen	1- u. 7-Acenaphthenon, 7-Hydroxyacenaphthylen, Phenylessigsäure, 9-Fluorenol, 9-Fluorenon, Phthalsäure, 9-Fluorenon-1-carbonsäure, 9-Fluorenol-1-carbonsäure, 2-Carboxybenzaldehyd	К	8
Benz[a]anthracen	Benz[a]anthracen-7,12-dion	В	5, 6
	1-Hydroxy-2-anthracensäure, 2-Hydroxy-3-phenanthrensäure	ĸ	8
Med. = Medium (B	= Boden, K = Kultur), 1 = LANGBEHN (1995), 2	= LAN	NGBEHN und
STEINHART (1995)	, 3 = BUNDT (1991), 4 = WISCHMANN et al. (1996), 5	= WIS	CHMANN und
STEINHART (1997)	, 6 = WISCHMANN (1997), 7 = GEORGE und NE	UFELD	(1989), 8 =
SUTHERLAND et al.	(1995), 9 = CASELLAS et al. (1997), 10 = MEYER und	STEINH	IART (2000b)

Tab. 10 Ausgewählte Kohlenwasserstoffe und einige ihrer Abbauprodukte

Da bereits detaillierte Untersuchungen zum Abbauverhalten von Mineralölprodukten und PAK in Bodenmaterialien sowie zur Entstehung entsprechender Abbauprodukte vorlagen, wurde die Gestaltung der Abbauversuche auf der Basis dieser Studien vorgenommen. Neben Schmieröl und Dieselöl wurde ein Gemisch aus 3 alicyclischen bzw. monoaromatischen Verbindungen sowie 12 PAK für die Versuche eingesetzt. Als Begleitkontamination wurden qualitativ und quantitativ unterschiedliche Schwermetallkombinationen ausgewählt. Da realkontaminierte Böden in der Regel mehr als eine Schwermetallart enthalten, wurden für die eigenen Versuche Gemische aus 3 Schwermetallen verwendet. Im Fall der PAK-Studie wurde als Bodenmaterial nicht nur die Ah/Kompost-Mischung (s. Kap. 3.1) sondern auch der Ah-Horizont eingesetzt, um Zuschlagstoff-bedingte Unterschiede (positiver Einfluß auf den PAK-Abbau, Bindung der Schwermetalle) herausarbeiten zu können.

Ziel der Untersuchungen war es, das Abbauverhalten von Mineralölbestandteilen und insbesondere von PAK in mit Schwermetallen unterschiedlich kontaminierten Bodenmaterialien zu vergleichen. Dazu wurden während des Versuchszeitraumes die Ausgangskontaminanten in regelmäßigen Abständen quantifiziert. Ebenso erfolgte, wenn möglich, die qualitative und quantitative Bestimmung der entstandenen organischen Abbauprodukte (Durchführung s. Kap. 6.2, 6.3 und 6.4).

6.2 Schmieröl-Abbaustudie

6.2.1 Durchführung

Die detaillierte Zusammensetzung der Versuchsansätze ist der **Tab. 21** (Kap. 10.1.1, S. 155) zu entnehmen.

In zwei Parallelansätzen wurden je 358,1 g luftgetrocknetes und auf < 2mm gesiebtes Ah-Bodenmaterial (entspr. 342,0 g TM) in einem 1L-Weckglas mit 57,8 g feuchtem Kompostmaterial (entspr. 38,0 g TM) vermischt und mit insgesamt 63,4 g demineralisiertem Wasser auf ca. 57 % WHK_{max} eingestellt. Die Dotierung erfolgte mit 20,0 g Schmieröl. Im Fall der Mischkontamination wurde dem Gemisch zusätzlich zu den 20,0 g Schmieröl ein der einzustellenden Bodenfeuchte angepaßtes definiertes Volumen einer Schwermetall-Lösung SM1 (bestehend aus den

Nitratsalzen von Zn, Cu und Pb; Zusammensetzung s. *Tab.* 29, Kap. 10.1.2, S. 160) beigefügt. Die resultierende Konzentration der Schwermetalle im Boden orientierte sich an den C-Werten der Holland-Liste von 1988 (s. *Tab.* 4, Kap. 3.2, S. 16).

Es wurde derart vorgegangen, daß zunächst 50 g des Ah-Materials und das Schmieröl eingewogen wurden. Nach gründlicher Homogenisierung wurde das restliche Ah-Material sowie die weiteren Bestandteile eingerührt. Die Gläser wurden mit luftdurchlässiger Polyethylenfolie abgedeckt, gewogen und während der gesamten Versuchsdauer abgedunkelt bei Raumtemperatur gelagert. Vor den Probenahmen nach 1, 7, 28, 42, 70, 91 und 112 Tagen wurden die Weckgläser erneut gewogen und infolge von Verdampfung aufgetretene Wasserverluste ausgeglichen.

Zusätzlich wurden je eine undotierte und eine Sterilkontrolle angesetzt. Für die letztgenannte wurde das Bodenmaterial 35 min bei 135 °C und 1,8 bar autoklaviert und unter Beachtung der einzustellenden Bodenfeuchte mit einer HgCl₂-Lösung versetzt, so daß im Boden eine Endkonzentration von 1g HgCl₂/kg (FG) resultierte. Die begleitende Analytik der Sterilkontrollen diente dazu, den Einfluß abiotischer Prozesse auf die Abnahme des Schmierölgehaltes zu ermitteln. Die Sterilbedingungen wurden am Tag der letzten Probenahme mittels KBE-Bestimmungen überprüft (Arbeitsvorschrift s. Kap. 10.3.5). Zum Vergleich wurde ebenfalls die KBE der biologisch aktiven Ansätze ermittelt.

Es wurde lediglich der Schmierölgehalt über die Zeit verfolgt, d.h. die Extraktion erfolgte ohne vorherige Probenansäuerung (s. Arbeitsvorschrift Kap. 10.3.1.1). Dazu wurden nach gründlichem Rühren 50 g (FG) Bodenmaterial in einen Mörser eingewogen und zur Trocknung mit 50 g wasserfreiem Natriumsulfat verrieben. Nach Überführung in eine Soxhlethülse erfolgte die Extraktion. Der eingeengte Extrakt wurde mittels der in Kap. 10.3.2.2 beschriebenen SPE fraktioniert, wobei ausschließlich die Kohlenwasserstoff-Fraktion gewonnen und der GC-FID-Analytik zugeführt wurde (GC-Bedingungen s. Kap. 10.2.1, Beispielchromatogramm s. *Abb.* **33**, S. 194).

Da der mobile und damit ökologisch relevante Schwermetallgehalt im Boden in starkem Maße von dem pH-Wert der Bodenlösung abhängt, wurde auch dieser Parameter am letzten Probenahmetag bestimmt (Arbeitsvorschrift s. Kap. 10.3.4). Dazu wurden die pH-Werte der Parallelansätze gemittelt.

6.2.2 Ergebnisse

Abb. 10 veranschaulicht den Konzentrationsverlauf von Schmieröl während des Versuchszeitraumes in verschiedenen Bodenmaterialien. Während in den Sterilansätzen keine Abnahme des extrahierbaren Schmierölgehaltes festzustellen ist, zeigen die Konzentrationsverläufe des Öls der einfach- und mischkontaminierten Ansätze im direkten Vergleich deutliche Unterschiede zueinander.

In dem sowohl mit Schmieröl als auch mit den Schwermetallen Zn, Cu und Pb kontaminierten Ansatz war ähnlich den Sterilansätzen keine Abnahme des Ölgehaltes zu verzeichnen. Dagegen nahm der Ölgehalt im einfach kontaminierten Versuchsansatz innerhalb von 112 Tagen um ca. 29 % auf 71% des Ausgangsgehaltes ab (Einzelwerte s. *Tab. 33*, Kap. 10.5, S. 180).



Abb. 10

Konzentrationsverlauf (Angabe in %, bezogen auf den Gehalt nach einem Tag) von Schmieröl in Ah/Ko-Material (-- = ohne Schwermetalle; -,- = ohne Schwermetalle, steril; -O- = mit SM1; -1- = mit SM1, steril)

Die pH-Werte und Gesamtkeimzahlen der Versuchsansätze nach 112 Tagen sind in **Tab. 11** wiedergegeben. Es ist ersichtlich, daß die Schwermetallkontamination zu einer Abnahme des pH-Wertes führte. Die Sterilbedingungen für die mit Quecksilberchlorid toxifizierten Ansätze konnten bestätigt werden. Die Zugabe von Schmieröl zum Ah/Ko-Material führte über den Versuchszeitraum zu einer um eine Zehnerpotenz höheren Gesamtkeimzahl im Vergleich zum unkontaminierten Material. Dagegen führte die weitere Zugabe von Schwermetallen (Zn, Cu und Pb) zu einer um zwei Zehnerpotenzen niedrigeren Gesamtkeimzahl im Vergleich zum
einfach kontaminierten Ansatz. Über die KBE zu Beginn bzw. im Verlauf des Versuches liegen keine Werte vor, so daß keine Aussage über etwaige Veränderungen getroffen werden kann.

Tab. 11 Gesamtkeimzahlen und pH-Werte der Versuchsansätze (112. Tag)

Versuchsansatz	pH-Wert	Gesamtkeimzahl [KBE/g Boden]
Ah/Ko unkontaminiert	6,9	2,5 x 10 ⁶
Ah/Ko + Schmieröl (aktiv)	6,7	$3,0 \times 10^7$
Ah/Ko + Schmieröl + SM1 (aktiv)	5,5	3,3 x 10⁵
Ah/Ko + Schmieröl (steril)	6,2	ohne Befund
Ah/Ko + Schmieröl + SM1 (steril)	5,4	ohne Befund

KBE = Koloniebildende Einheiten

6.3 Dieselöl-Abbaustudie

6.3.1 Durchführung

Die detaillierte Zusammensetzung der Versuchsansätze ist der **Tab. 22** (Kap. 10.1.1, S. 155) zu entnehmen.

In zwei Parallelansätzen wurden je 627,0 g luftgetrocknetes und auf < 2mm gesiebtes Ah-Bodenmaterial (entspr. 598,5 g TM) in einem 1L-Weckglas mit 96,7 g feuchtem Kompostmaterial (entspr. 66,5 g TM) vermischt und mit insgesamt 115,1 g demineralisiertem Wasser auf ca. 57 % WHK_{max} eingestellt. Die Dotierung erfolgte mit 35,0 g Dieselöl. Im Fall der Mischkontamination wurde dem Gemisch zusätzlich zu den 35,0 g Dieselöl ein der einzustellenden Bodenfeuchte angepaßtes definiertes Volumen einer Schwermetall-Lösung SM2 bzw. SM3 (bestehend aus den Sulfatsalzen von Zn, Cr und Cd; Zusammensetzung s. *Tab. 29*, Kap. 10.1.2, S. 160) beigefügt. Die resultierende Konzentration der Schwermetalle im Boden orientierte sich an den B- bzw. C-Werten (im Fall von Cd an den 3-fachen Werten) der Holland-Liste von 1988 (s. *Tab. 4*, Kap. 3.2, S. 16).

Es wurde wie in Kap. 6.2.1 beschrieben vorgegangen. Die Probenahmen erfolgten nach 1, 7, 21, 35, 63, 98 und 133 Tagen.

Die Extraktion der organischen Kontaminanten erfolgte gemäß der Arbeitsvorschrift in Kap. 10.3.1.1. Nach gründlichem Rühren wurden 50 g (FG) Bodenmaterial in einen Mörser eingewogen, mit Salzsäure angesäuert und durch Verreiben mit 50 g wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet. Nach Überführung in eine Soxhlethülse erfolgte die Extraktion. Der eingeengte Extrakt wurde mittels der in Kap. 10.3.2.2 beschriebenen SPE fraktioniert und die einzelnen Fraktionen nach Fertigstellung und Zugabe eines internen Standards der Messung zugeführt. Der Dieselölgehalt wurde mittels GC-FID quantifiziert (Beispielchromatogramm s. *Abb. 34*, S. 194) und die Oxidationsprodukte mittels GC-MSD identifiziert (GC-Bedingungen s. Kap. 10.2.1 und 10.2.2). Entsprechend Kap. 6.2.1 wurde auch bei dieser Versuchsreihe der pH-Wert der Bodenansätze am letzten Probenahmetag bestimmt (Arbeitsvorschrift s. Kap. 10.3.4).

6.3.2 Ergebnisse

Abb. 11 veranschaulicht den Konzentrationsverlauf von Dieselöl während des Versuchszeitraumes in verschiedenen Bodenmaterialien (Einzelwerte s. *Tab. 34*, Kap. 10.5, S. 180). Die Abnahme des extrahierbaren Dieselölgehaltes in den Sterilansätzen verlief in etwa gleich. Innerhalb der ersten 21 Tage nahm der Gehalt auf ca. 85 bis 90 % ab und blieb bis zum 133 Tag nahezu konstant (83 bis 88 % der Ausgangskonzentration). In den mikrobiologisch aktiven Ansätzen verlief die Abnahme des Dieselölgehaltes nahezu unabhängig von der Schwermetall-kontamination. Im einfach kontaminierten Ah/Ko-Material war eine kontinuierliche Dieselölabnahme zu verzeichnen, am 133. Tag waren noch 66 % der Ausgangskonzentratile Zn, Cr und Cd erfolgte der Dieselabbau nur geringfügig langsamer und resultierte am 133. Tag in einem Gehalt von ca. 70 % (geringere Schwermetallkonzentration, SM2) bzw. ca. 75 % (höhere Konzentration, SM3).



Abb. 11

Konzentrationsverlauf (Angabe in %, bezogen auf den Gehalt nach einem Tag) von Dieselöl in Ah/Ko-Material (- -= ohne Schwermetalle; -,- = ohne Schwermetalle, steril; x- = mit SM2; -S- = mit SM2, steril; -O- = mit SM3; -1- = mit SM3, steril)

Im Verlauf des Dieselölabbaus konnten zahlreiche Oxidationsprodukte nachgewiesen werden (*Tab. 12*, s. auch *Tab. 35*, S. 181). Neben verschiedenen aromatischen Ketonen und Hydroxyaromaten wurden cyclische Mono- und Disäuren sowie aromatische Carbonsäuren identifiziert.

In den Sterilansätzen (hier nicht dargestellt) konnte ausschließlich in einem Dieselöl-kontaminierten Ansatz und nur zu einem Probenahmezeitpunkt (9. Woche) 9-Xanthenon nachgewiesen werden. Dagegen konnten in den mikrobiologisch aktiven Versuchsansätzen in Abhängigkeit von der Kontamination unterschiedliche Abbauprodukte zu verschiedenen Zeitpunkten detektiert werden. So waren in der Mischkontamination mit dem geringeren Schwermetallgehalt (SM2) im Untersuchungszeitraum insgesamt mehr verschiedene Metaboliten nachweisbar als in den beiden anderen Ansätzen. Gegenüber der höherkonzentrierten Mischkontamination überwogen die aromatischen Ketone, gegenüber der einfach kontaminierten Probe die Säuremetaboliten. In der Mischkontamination mit dem höheren Schwermetallanteil (SM3) traten insgesamt die wenigsten Abbauprodukte und dann häufig zu späteren Zeitpunkten auf.

Tab. 12 Nachweis von Oxidationsprodukten in Diesel- und Diesel/Schwermetallkontaminierten Ah/Ko-Ansätzen

Komponente	RRT	Untersuchungstage																				
					Dies	el			Diesel + SM2 Diesel + SM3													
		1	7	21	35	63	98	133	1	7	21	35	63	98	133	1	7	21	35	63	98	133
Aromatische Ketone																						
Methylacetophenon	0,47				+									+	+							
2,4-	0,74	+		+	+	+	+	+			+	+	+	+	+							
Dimethylacetophenon																						
Trimethylacetophenon	0,92			+	+		+	+						+	+							
Ethylacetophenon	0,66			+	+			+			+	+			+							
1-Indanon	0,68					+							+	+	+							
C2-1-Indanon	0,77			+			+	+			+		+	+	+							+
1-Tetralon	0,80						+					+	+	+	+					+		+
Methyl-1-tetralon	0,87							+														
9-Fluorenon	1,24		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		+	+	+		+	+	+	+	
9-Anthracenon	1,38																	+	+		+	+
9-Xanthenon	1,36		+	+	+		+	+	+	+	+			+	+	+	+	+	+	+	+	+
Hydroxyaramatan																						
	1.26	<u> </u>	Т	—	T	I	1			I			l					. .	1	. .	1	
	1,20	+	+	├──							+						-	+		+	\vdash	
C1-9-Fluorenoi	1,22	+	+														+	+	+	+		L
Cyclische Mono- und Disäuren*																						
Cyclopentancarbonsäure	0,76	Ĩ	Γ											+	+				I		+	+
C1-Cyclopentan-	0,95												+	+	+							
carbonsäure	,																					
Cyclopentanessigsäure	1,08		1		1		+							+					1			
Cyclohexancarbonsäure	1,10												+	+	+						+	+
Methylcyclohexan-	1,34			+			+	+				+	+	+							+	+
carbonsäure																						
Cyclohexanessigsäure	1,47											+	+	+								
Aromatische Carbonsäuren*						-	-			-												
Phenylessigsäure	1,58		+		+	+	+	+		+	+		+	+					+		+	+
C1-Phenylessigsäure	1,98						+						+	+							+	+
C2-Phenylessigsäure	2,29												+	+								
C1-Phenylpropionsäure	2,33												+	+							+	+
C1-Phenylbutansäure	2,56												+	+								
Naphthalincarbonsäure	2,94																					+

* = als Methylester; IS = Cyclohexylmethylketon (Säuren), BHT (Ketone, Alkohole); SM2, 3 = Cd, Cr, Zn in unterschiedl. Konz. (s. *Tab. 29*, S. 160)

Die pH-Werte und Gesamtkeimzahlen der Versuchsansätze nach 133 Tagen sind in *Tab. 13* wiedergegeben. Es ist ersichtlich, daß die Schwermetallkontamination zu einer Abnahme des pH-Wertes führte. Die Sterilbedingungen für die mit Quecksilberchlorid toxifizierten Ansätze konnten bestätigt werden. Die Zugabe von Dieselöl zum Ah/Ko-Material führte zu einer um eine Zehnerpotenz höheren Gesamtkeimzahl im Vergleich zum unkontaminierten Material. Die Gesamtkeimzahlen der Einfach- und Mischkontaminationen wiesen dagegen dieselbe Größenordnung auf.

Versuchsansatz	pH-Wert	Gesamtkeimzahl [KBE/g Boden]
Ah/Ko unkontaminiert	6,8	1,9 x 10 ⁶
Ah/Ko + Dieselöl (aktiv)	6,8	$9,4 \times 10^{7}$
Ah/Ko + Dieselöl + SM2 (aktiv)	6,4	8,6 x 10 ⁷
Ah/Ko + Dieselöl + SM3 (aktiv)	5,4	$4,5 \times 10^7$
Ah/Ko + Dieselöl (steril)	5,9	ohne Befund
Ah/Ko + Dieselöl + SM2 (steril)	5,6	ohne Befund
Ah/Ko + Dieselöl + SM3 (steril)	4,9	ohne Befund

Tab. 13 Gesamtkeimzahlen und pH-Werte der Versuchsansätze (133. Tag)

KBE = Koloniebildende Einheiten

6.4 PAK-Abbaustudie

6.4.1 Durchführung

Die detaillierte Zusammensetzung der Versuchsansätze ist der **Tab. 23** (Kap. 10.1.1, S. 156) zu entnehmen.

In zwei Parallelansätzen wurden je 806,2 g luftgetrocknetes und auf < 2mm gesiebtes Ah-Bodenmaterial (entspr. 800,0 g TM) in einem 1L-Weckglas mit insgesamt 126,8 g demineralisiertem Wasser auf ca. 50 % WHK_{max} eingestellt. Die Dotierung erfolgte mit 5,5 mL einer PAK-Lösung in Dichlormethan (Zusammensetzung s. *Tab. 25*, Kap. 10.1.2, S. 157). Im Fall der Mischkontamination wurde dem Gemisch zusätzlich zu dem PAK-Mix ein der einzustellenden Bodenfeuchte angepaßtes definiertes Volumen einer Schwermetall-Lösung SM4, SM5 bzw. SM6

(bestehend aus den Sulfat- oder Nitratsalzen von Zn, Cr, Cd, Cu und Pb; Zusammensetzung s. *Tab. 29*, Kap. 10.1.2, S. 160) beigefügt. Die Endkonzentration der Schwermetalle im Boden orientierte sich an den B- bzw. C-Werten (im Fall von Cd an den 3-fachen Werten) der Holland-Liste von 1988 (s. *Tab. 4*, Kap. 3.2, S. 16).

Entsprechend wurden Ah/Kompost-Versuchsansätze hergestellt. Dazu wurde im Gegensatz zu den Ah-Ansätzen 725,6 g luftgetrocknetes Ah-Material (entspr. 720,0 g TM), 127,4 g feuchtes Kompostmaterial (entspr. 80,0 g TM) und 5,0 mL der PAK-Lösung verwendet. Die Bodenfeuchte wurde mit insgesamt 209,1 g Wasser auf ca. 57 % WHK_{max} eingestellt. Die Dotierung mit Schwermetallen erfolgte wie oben beschrieben.

Für alle Versuchsansätze wurde derart vorgegangen, daß zunächst 50 g des Ah-Materials mit der PAK-Lösung versetzt wurden. Nach gründlicher Homogenisierung und dem Verdampfen des Dichlormethans wurde das restliche Ah-Material sowie die weiteren Bestandteile eingerührt. Die Gläser wurden mit luftdurchlässiger Polyethylenfolie abgedeckt, gewogen und während der gesamten Versuchsdauer abgedunkelt bei Raumtemperatur gelagert. Vor den Probenahmen nach 1, 7, 28, 49, 70 und 91 Tagen wurden die Weckgläser erneut gewogen und infolge von Verdampfung aufgetretene Wasserverluste ausgeglichen.

Entsprechend der Durchführung in Kap. 6.2.1 wurden undotierte und kontaminierte sterile Kontrollen angesetzt. Die begleitende Analytik der Sterilkontrollen diente dazu, den Einfluß abiotischer Prozesse auf die Abnahme der eingesetzten organischen Kontaminanten und die qualitative und quantitative Bildung von Abbauprodukten zu ermitteln. Die Sterilbedingungen wurden am Tag der letzten Probenahme mittels KBE-Bestimmungen überprüft (Arbeitsvorschrift s. Kap. 10.3.5). Zum Vergleich wurde ebenfalls die KBE der biologisch aktiven Ah-Ansätze ermittelt.

Die Extraktion der organischen Kontamination erfolgte gemäß der Arbeitsvorschrift in Kap. 10.3.1.1. Nach gründlichem Rühren wurden 50 g (FG) Bodenmaterial in einen Mörser eingewogen, mit Salzsäure angesäuert und durch Verreiben mit 50 g wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet. Nach Überführung in eine Soxhlethülse erfolgte die Extraktion. Der eingeengte Extrakt wurde mittels der in Kap. 10.3.2.2 beschriebenen SPE fraktioniert und die einzelnen Fraktionen nach Fertigstellung und Zugabe eines internen Standards der Messung zugeführt. Die Konzentration der verbliebenen Ausgangsverbindungen (PAK u.a. Kohlenwasserstoffe) wurde mittels GC-FID bestimmt. Die Oxidationsprodukte wurden mittels GC-MSD identifiziert und mittels GC-FID quantifiziert (GC-Bedingungen s. Kap. 10.2.1 und 10.2.2).

Um den ökologisch relevanten Schwermetallanteil im Boden und etwaige zeitliche Schwankungen dieses Gehaltes in die Bewertung der Abbaustudie einbeziehen zu können, wurde bei jeder Probenahme ebenfalls die mittels einer 0,1 mol/L NaNO₃-Lösung extrahierbare Schwermetallkonzentration ermittelt. Dazu wurde erneut 50 g (FG) Bodenmaterial entnommen und entsprechend der Arbeitsvorschrift in Kap. 10.3.1.2 behandelt. Der Schwermetallgehalt der erhaltenen Meßlösungen wurde mittels Flammen-AAS bestimmt (Meßbedingungen s. Kap. 10.2.3). Da der mobile Schwermetallgehalt im Boden in starkem Maße von dem pH-Wert der Bodenlösung abhängt, wurde auch dieser Parameter zu jedem Probenahmezeitpunkt bestimmt (Arbeitsvorschrift s. Kap. 10.3.4).

6.4.2 Ergebnisse

In nahezu allen Versuchsansätzen und für die Mehrheit der eingesetzten organischen Kontaminanten konnte eine Abnahme des extrahierbaren Gehaltes im Versuchszeitraum festgestellt werden. Jedoch zeigten sich in Abhängigkeit von dem Bodenmaterial und der vorliegenden Schwermetallart bzw. -konzentration erhebliche Unterschiede im Abbauverhalten der einzelnen Substanzen. Entsprechendes gilt für das zeitliche Auftreten und die Konzentration der jeweiligen Oxidationsprodukte.

Schwermetalle und pH-Wert

Tab. 14 (S. 70) gibt Aufschluß über die mobilen Schwermetallgehalte in den Versuchsansätzen zum jeweiligen Probenahmezeitpunkt. Es wird deutlich, daß in den Ansätzen bereits nach einem Tag zum Teil wesentliche Anteile der zudotierten Schwermetalle nicht mehr extrahierbar waren. Hervorzuheben ist der Einfluß des Bodenmaterials auf die Extrahierbarkeit der Schwermetalle. Während in den Ah/Kompost-Ansätzen am ersten Probenahmetag je nach Ansatz 0-0,3 % *Cr*, 2,7-26,0 % *Cd*, 5,3-45,2 % *Zn*, 0,7 % *Pb* und 0,6 % *Cu* (bez. auf die zudotierte Menge)

extrahierbar waren, betrugen die entsprechenden Gehalte in den Ah-Ansätzen 3,5-20,7 % *Cr*, 77,1-84,0 % *Cd*, 86,5-100 % *Zn*, 5,1 % *Pb* und 15,8 % *Cu*. Diese Werte zeigen auch, daß insbesondere Cr, Pb und Cu im Vergleich zu Cd und Zn eine deutlich geringere Extrahierbarkeit aufwiesen.

Höhere Schwermetallkonzentrationen im Boden führten in der Regel zu einem höheren mobilen Schwermetallgehalt. So resultierte beispielsweise die Cd-Dotierung von 24,8 mg/kg (TM, s. *Tab. 23*, S. 156) im Ansatz "Ah/Ko+SM4" am ersten Probenahmetag in einem mobilen Gehalt von 0,2 mg Cd/100 mL Bodenlösung (entspr. 2,7 % der zudotierten Menge). Die Cd-Dotierung von 60,5 mg/kg (TM) im Ansatz "Ah/Ko+SM5" führte dagegen zu einer Cd-Konzentration von 5,4 mg/100 mL (entspr. 26,0 % der zudotierten Menge).

Während des gesamten Versuchszeitraumes war eine Abnahme des extrahierbaren Schwermetallgehaltes zu verzeichnen, wobei diese für Cd in der Regel am geringsten ausfiel.

Die zeitliche Veränderung der mobilen Schwermetallgehalte hatte jedoch keinen Einfluß auf den pH-Wert des Bodenmaterials. Der pH-Wert wurde zu jedem Probenahmezeitpunkt ermittelt und zeigte konstante Werte. **Tab. 14** gibt neben den Schwermetallgehalten ebenfalls die pH-Werte der Versuchsansätze wieder (Mittelwert aus 6 Probenahmezeitpunkten), es traten lediglich Unterschiede zwischen den verschiedenen Bodenansätzen auf (Ah: pH 3,6 bis 4,2, Ah/Ko: pH 4,9 bis 5,6).

Ansatz (pH-Wert)	Schwer -metall		Untersuchungstage Schwermetallgehalte [mg/100 mL (% bez. auf zudotierte Menge)], ($n = 2$)							
(n = 6)		1	7	28	49	70	91			
Ah+SM4 (3,9 ± 0,10)	Cr Cd Zn	5,7 (3,5) 8,2 (84,0) 312,4 (97,8)	0,6 (0,4) 8,0 (81,2) 299,1 (93,6)	0 (0) 7,3 (74,4) 309,5 (96,8)	0 (0) 7,2 (73,5) 258,8 (81,0)	0 (0) 6,8 (69,6) 266,0 (83,2)	0 (0) 7,6 (77,6) 248,7 (77,8)			
Ah+SM5 (3,6 ± 0,07)	Cr Cd Zn	105,8 (20,7) 29,8 (77,1) 1917,1 (100,0)	23,7 (4,6) 28,9 (74,8) 1792, (93,5)	9,2 (1,8) 28,5 (73,8) 1625,0 (84,7)	6,5 (1,3) 30,3 (78,5) 1492,0 (77,8)	5,4 (1,1) 30,0 (77,6) 1577,7 (82,3)	4,0 (0,8) 30,8 (79,7) 1532,9 (79,9)			
Ah+SM6 (4,2 ± 0,13)	Pb Cu Zn	5,0 (5,1) 10,2 (15,8) 276,7 (86,5)	4,0 (4,1) 8,4 (13,0) 273,2 (85,4)	3,4 (3,5) 7,0 (10,9) 284,7 (89,0)	3,4 (3,5) 6,3 (9,8) 227,9 (71,2)	3,2 (3,3) 6,0 (9,4) 223,2 (69,7)	2,9 (3,0) 6,1 (9,5) 219,4 (68,6)			
Ah/Ko+SM4 (5,4 ± 0,10)	Cr Cd Zn	0 (0) 0,2 (2,7) 9,8 (5,6)	0 (0) 0,2 (2,2) 7,9 (4,6)	0 (0) 0,2 (1,9) 6,9 (4,0)	0 (0) 0,2 (2,9) 6,1 (3,5)	0 (0) 0,3 (2,7) 5,4 (3,1)	0 (0) 0,2 (2,1) 5,1 (2,9)			
Ah/Ko+SM5 (4,9 ± 0,15)	Cr Cd Zn	0,9 (0,3) 5,4 (26,0) 469,2 (45,2)	0 (0) 4,6 (22,3) 423,3 (40,8)	0 (0) 4,2 (20,4) 429,3 (41,4)	0 (0) 3,9 (19,0) 335,6 (32,4)	0 (0) 3,9 (19,0) 326,3 (31,5)	0 (0) 4,0 (19,5) 306,9 (29,6)			
Ah/Ko+SM6 (5,6 ± 0,14)	Pb Cu Zn	0,6 (0,7) 0,2 (0,6) 9,2 (5,3)	0,6 (0,8) 0,2 (0,8) 7,8 (4,5)	0,7 (0,8) 0,1 (0,3) 6,9 (4,0)	0,9 (1,1) 0,2 (0,5) 5,4 (3,1)	1,0 (1,2) 0,2 (0,6) 5,0 (2,9)	0,9 (1,1) 0,3 (0,9) 5,0 (2,9)			

Tab. 14 Mobile Schwermetallgehalte und pH-Werte der Bodenansätze im Versuchszeitraum

SM4, SM5, SM6 = 3er-Kombination aus Cd, Cr, Pb, Cu und Zn in unterschiedlichen Konzentrationen (s. Tab. 29, S. 160)

Organische Kontamination (Ausgangsverbindungen)

Betrachtet man die Konzentrationsverläufe der organischen Kontamination in ihrer Summe (*Abb. 12*), so zeigen sich beim Vergleich der verschieden zusammengesetzten und behandelten Ansätze deutliche Unterschiede (Einzelergebnisse s. Kap. 10.5, S. 182 bis 185, *Tab. 36* bis *43*; Kap. 10.6 *Abb. 35*, S. 195).

Innerhalb der biologisch aktiven Ah/Ko-Proben (Abb. 12a) war für den Ansatz ohne Schwermetallzugabe mit 95,9 % (91. Tag) die größte Konzentrationsabnahme zu verzeichnen. Für die mischkontaminierten Versuchsansätze zeigte sich eine zunehmende Verzögerung bzw. Hemmung des Abbaus in der Reihenfolge "Ah/Ko+SM4" (Abnahme 83,4 %), "Ah/Ko+SM6" (71,7 %) und "Ah/Ko+SM5" (44,1%). Das bedeutet, daß sowohl die qualitative als auch die quantitative Zusammensetzung der Schwermetallkontamination den Abbau der ausgewählten organischen Schadstoffe auf verschiedene Weise negativ beeinflußt hat. Der festgestellte Trend resultierte aus dem Abbauverhalten von Tetralin, Naphthalin, 2-Methylnaphthalin, Acenaphthylen, Fluoren, 1-Methylfluoren, Phenanthren, 2-Methylphenanthren, Anthracen und eingeschränkt auch 2-Methylanthracen, deren Konzentrationsverläufe sich bezüglich der oben genannten Reihenfolge ähnlich darstellten (s. am Beispiel von Abb. 14a, 15a, 16a, 17a und 19a, S. 77-83). Die Konzentrationsabnahme von Propylcyclohexan, Indan, Butylbenzol (hier nicht dargestellt) und Xanthen (Abb. 18a, S.82) zeigte sich dagegen unabhängig von der Begleitkontamination. In den einfach kontaminierten Ansätzen war innerhalb des Versuchszeitraumes eine deutliche Konzentrationsabnahme von Fluoranthen (81,6 %) und Benz[a]anthracen (49,5 %) feststellbar (hier nicht dargestellt), wohingegen innerhalb der mischkontaminierten Ansätze vergleichsweise geringe Abnahmen zu verzeichnen waren (Fluoranthen: 22,9 - 24,5 %; Benz[a]anthracen: 6,9 - 29,0 %).

Innerhalb der *biologisch aktiven Ah-Proben* (*Abb. 12c*) waren für die Konzentrationsverläufe der Gesamtkohlenwasserstoffe keine signifikanten Unterschiede zu beobachten. Am 91. Tag der Probenahme konnten aus dem einfach kontaminierten Ansatz 49,9 % und aus den mischkontaminierten Ansätzen zwischen 54,5 und 57,2 % der Anfangskontamination extrahiert werden. Die etwas stärkere Konzentrationsabnahme in dem einfach kontaminierten Ansatz ist auf das entsprechende Abbauverhalten von 2-Methylnaphthalin, Fluoren (s. *Abb. 14d*, S. 77) und Phenanthren zurückzuführen. Die Konzentrationsverläufe dieser drei Verbindungen in den mischkontaminierten Ansätzen zeigten dagegen keine Unterschiede.



Abb. 12 Konzentrationsverlauf der Gesamtkohlenwasserstoffe (Summe KW) in einfach (-⁻) und mischkontaminierten (-o- = SM4, -Δ- = SM5, -x- = SM6), biologisch aktiven und sterilen (s) Ah/Ko- (a.-b.) bzw. Ah-Ansätzen (c.-d.), (Angaben in %, bezogen auf den Gesamtgehalt nach einem Tag)

Innerhalb der *sterilen Ah/Ko-Proben* (*Abb. 12b*) waren für die Konzentrationsverläufe der Gesamtkohlenwasserstoffe ebenfalls keine signifikanten Unterschiede feststellbar. Am 91. Tag der Probenahme konnten aus dem einfach kontaminierten Ansatz 73,5 % und aus den mischkontaminierten Ansätzen zwischen 81,0 und 84,1 % der Anfangskontamination extrahiert werden. Entsprechendes gilt für die *sterilen Ah-Proben* (*Abb. 12d*). Hier waren am 91. Tag der Probenahme noch zwischen 55,6 und 69,1 % der Ausgangskontamination nachweisbar. Während für die Verbindungen Propylcyclohexan, Indan, Butylbenzol, Tetralin, Naphthalin, 2-Methylnaphthalin und Xanthen in den sterilen Ah-Ansätzen eine deutlich schnellere Konzentrationsabnahme zu beobachten war als in den entsprechenden Ah/Ko-Ansätzen, sind für die anderen enthaltenen Substanzen keine signifikanten Unterschiede im Konzentrationsverlauf feststellbar gewesen (hier nicht dargestellt).

Organische Kontamination (Oxidationsprodukte)

Um zu untersuchen, ob sich die beobachteten Effekte auf die Ausgangskontamination ebenfalls in den Abbauwegen der einzelnen Verbindungen widerspiegeln, erfolgte parallel die Identifizierung und gegebenenfalls Quantifizierung entstandener Oxidationsprodukte (Einzelergebnisse s. Kap. 10.5; s. auch *Tab. 35*, S. 181 und Beispielchromatogramm in *Abb. 36-37*, S.196). Die im folgenden verwendete Formulierung "Nachweis in …. Versuchsansätzen" bedeutet nicht, daß die Substanz zu jedem Probenahmezeitpunkt und in immer der gleichen Konzentration nachgewiesen wurde. Diese Parameter variieren jeweils und sind den Tabellen zu entnehmen, auf die im Text verwiesen wird.

Diejenigen identifizierten Substanzen, die nicht bereits in den *Abb. 4* und *5* in Kap. 3 (S.18 und 19) abgebildet wurden, sind in *Abb. 13* dargestellt.

1-Indanol und 1-Indanon wurden in sämtlichen Versuchsansätzen nachgewiesen (**Tab. 44**, Kap. 10.5, S. 186) und sind als Oxidationsprodukte des Indans zu werten. 1-Indanon wurde aber auch als Abbauprodukt des Fluorens und 1-Methylfluorens beschrieben (**Tab. 10**, S. 58). Da 1-Indanon aber deutlich vor dem Einsetzen des Fluoren- bzw. 1-Methylfluorenabbaus nachweisbar war, ist davon auszugehen, daß 1-Indanon dem Indan entstammt.

1-Tetralol und 1-Tetralon wurden ebenfalls in sämtlichen Versuchsansätzen nachgewiesen (**Tab. 45**, Kap. 10.5, S. 186) und sind auf Tetralin zurückzuführen.



Abb. 13 Strukturformeln ausgewählter identifizierter Oxidationsprodukte

Cumarin als mögliches Abbauprodukt des Naphthalins wurde lediglich im Ah/Ko-Sterilansatz sowie im aktiven Ah-Ansatz identifiziert, das möglicherweise dem 2-Methylnaphthalin zuzuordnende *6-Methylcumarin* dagegen im aktiven Ah- und "Ah/Ko+SM6"-Ansatz (*Tab. 46*, Kap. 10.5, S. 187). Ob es sich bei der als *3- oder 4-Methylcumarin* identifizierten Verbindung tatsächlich um diese handelt, konnte nicht abschließend geklärt werden (*Tab. 47*, Kap. 10.5, S. 187).

Überwiegend in Sterilansätzen aber auch in den aktiven Ah-Ansätzen konnte 1-Naphthol als Oxidationsprodukt des Naphthalins detektiert werden (**Tab. 47**, Kap. 10.5, S. 187).

Der Nachweis von 9-Fluorenol und 9-Fluorenon erfolgte in sämtlichen Versuchsansätzen (**Tab. 48**, Kap. 10.5, S.188). Beide Verbindungen entstammen dem Fluoren, wobei aber auch Fluoranthen theoretisch als Ausgangsverbindung in Frage kommt (**Tab. 10**, S. 58). Auch hier erfolgte der Nachweis dieser Substanzen vor dem Einsetzen des Fluoranthen-Abbaus, so daß von Fluoren als Ausgangsverbindung auszugehen ist. 9-Xanthenon wurde in allen Ansätzen, Hydroxy-9-xanthenon dagegen nur vereinzelt in einigen biologisch aktiven Proben nachgewiesen (*Tab. 49*, Kap. 10.5, S. 188). Beide Substanzen sind vermutlich Oxidationsprodukte des Xanthens und wurden erstmalig als Abbauprodukte in einem Bodensystem identifiziert.

1,2-Acenaphthylendion und 1-Acenaphthenol traten in allen Versuchsansätzen auf (**Tab. 50**, Kap. 10.5, S. 189). Erstere Verbindung ist auf Acenaphthylen zurückzuführen. Das gleiche gilt möglicherweise auch für 1-Acenaphthenol, jedoch gibt es dafür in der Literatur keinen Beleg. 1-Acenaphthenol wurde bisher ausschließlich als Abbauprodukt des Acenaphthens beschrieben (SELIFONOV et al., 1996).

Ebenfalls als Oxidationsprodukte des Acenaphthylens sind *1,8-Naphthalsäureanhydrid* sowie *1H,3H-Naphtho(1,8-cd)-pyran-1-on* zu bewerten. Beide Substanzen wurden in nahezu allen Proben nachgewiesen (*Tab. 51*, Kap. 10.5, S. 189).

Als Abbauprodukte des Anthracens sind *9-Anthracenon* (Anthron) und *9,10-Anthrachinon* anzusehen, die in sämtlichen Ansätzen identifiziert werden konnten (*Tab. 52*, Kap. 10.5, S. 190).

Entsprechendes gilt für 2-Methylanthrachinon, dem Oxidationsprodukt des 2-Methylanthracens, und für Benz[a]anthracen-7,12-dion, einem Metaboliten des Benz[a]anthracens (**Tab. 53**, Kap. 10.5, S. 190).

Aufgrund ihrer strukturellen Verwandschaft zu Butylbenzol sind die in nahezu allen Proben nachzuweisenden Verbindungen *1-Phenylbutanol* und *1-Phenylbutanon* als Abbauprodukte dieser Substanz anzusehen (*Tab. 54*, Kap. 10.5, S. 191). Diese Metaboliten wurden erstmalig in einem Bodensystem nachgewiesen.

Ebenfalls fast in jedem Versuchsansatz identifizierbar waren *1-Methyl-9-fluorenol* sowie *1-Methyl-9-fluorenon*, die dem 1-Methylfluoren entstammen (*Tab. 55*, Kap. 10.5, S. 191).

2-Naphthaldehyd wurde ausschließlich in Ah-Ansätzen und 1-Hydroxy-2napthaldehyd lediglich im "Ah/Ko+SM6"-Ansatz nachgewiesen, beide erstmalig in einem Bodensystem (**Tab. 56**, Kap. 10.5, S. 192). 2-Napthoesäure konnte in zwei Ansätzen ("Ah+SM4", "Ah/Ko+SM4") und 1-Hydroxy-2-naphthoesäure nur in biologisch aktiven einfach kontaminierten Ansätzen identifiziert werden (**Tab. 57**, Kap. 10.5, S. 192). 1-Hydroxy-2-naphthaldehyd und 1-Hydroxy-2-napthoesäure sind Oxidationsprodukte des Phenanthrens. 2-Naphthoesäure entstammt dem 2-Methylnaphthalin. 2-Naphthaldehyd ist in der Literatur bisher nicht als PAK- Oxidationsprodukt aufgeführt worden, jedoch ist es denkbar, daß diese Verbindung ebenfalls dem 2-Methylnaphthalin entstammt.

2-Hydroxy-3-naphthoesäure wurde ausschließlich im "Ah/Ko+SM6"-Ansatz, 9-Fluorenon-1-carbonsäure ebenso und zusätzlich im "Ah/Ko+SM4"-Ansatz nachgewiesen (**Tab. 58**, S. 193). Die erstgenannte Verbindung ist auf Anthracen zurückzuführen, die zweitgenannte auf 1-Methylfluoren oder Fluoranthen (**Tab. 10**, S. 58).

Für die Konzentrationsverläufe einiger Kontaminanten und ihrer Oxidationsprodukte konnte eine gute Korrelation festgestellt werden. Dabei wiesen die identifizierten Abbauprodukte in den Ah/Ko-Proben in der Regel kurzzeitige Konzentrationsmaxima auf, während es in den Ah-Ansätzen oftmals zu einer Anreicherung kam. Der Verlauf der Metabolitenbildung stand jedoch immer im Einklang mit der Abnahme der entsprechenden Ausgangssubstanz. In Abb. 14 ist der Konzentrationsverlauf von Fluoren sowie den Metaboliten 9-Fluorenol und 9-Fluorenon in den mikrobiologisch aktiven Ah/Ko- und Ah-Ansätzen dargestellt. Der Abbau des Fluorens setzte in den mischkontaminierten Ansätzen "Ah/Ko+SM4" und "Ah/Ko+SM6" im Vergleich zum einfach kontaminierten Ansatz (Ah/Ko) um drei Wochen verzögert ein (Abb. 14a), wobei der extrahierbare Fluorengehalt im Ansatz "Ah/Ko+SM6" deutlich langsamer abnahm. Der Fluorengehalt im Ansatz mit der höchsten Schwermetallkontamination ("Ah/Ko+SM5") erfuhr über den gesamten Versuchszeitraum die geringste Abnahme, es zeigte sich eine ausgeprägte Hemmung des Abbaus. Entsprechend dieser Konzentrationsverläufe verlief die Bildung der Oxidationsprodukte (Abb. 14b + c). Während im einfach kontaminierten Ansatz am 28. Tag 0,2 % bzw. 3,8 % des am 1. Tag vorhandenen Fluorengehaltes als 9-Fluorenol bzw. 9-Fluorenon vorlagen, traten die Konzentrationsmaxima in den mischkontaminierten Ansätzen ("Ah/Ko+SM4" und "Ah/Ko+SM6") wiederum um drei Wochen verzögert auf (49. Tag). Hier lagen 0,3 % bzw. 0,6 % der anfänglichen Fluorenmenge als 9-Fluorenol und 12,6 % bzw. 13,8 % als 9-Fluorenon vor. Im dritten mischkontaminierten Versuchsansatz ("Ah/Ko+SM5") konnten dagegen keine ausgeprägten Konzentrationsmaxima der Oxidationsprodukte beobachtet werden. Lediglich in diesem Ansatz waren > 1 % der Ausgangsfluorenmenge als 9-Fluorenon noch am Tag der letzten Probenahme (91. Tag) nachweisbar. In sämtlichen biologisch aktiven Ah/Ko-Versuchsansätzen konnte zu diesem Zeitpunkt kein 9-Fluorenol mehr nachgewiesen werden.



Abb. 14 Konzentrationsverläufe von Fluoren, 9-Fluorenol und 9-Fluorenon in einfach (-⁻) und mischkontaminierten (-o- = SM4, -Δ- = SM5, -x- = SM6) Ah/Ko- (a.-c.) bzw. Ah-Ansätzen (d.-f.), (Angaben in %, bezogen auf den Fluorengehalt nach einem Tag)

In den entsprechenden mikrobiologisch aktiven Ah-Ansätzen zeigte sich ein gänzlich anderes Bild des Fluoren-Abbaus (*Abb. 14d* bis *f*). Ausschließlich im einfach kontaminierten Ansatz setzte am 28. Tag ein nennenswerter Abbau ein (*d*) und resultierte am 49. Tag in einem maximalen 9-Fluorenol-Gehalt von 4,0 % der ursprünglichen Fluorenkonzentration (*e*). Weiterhin konnte in diesem Probenansatz eine bis zum letzten Probenahmetag andauernde Anreicherung von 9-Fluorenon festgestellt werden (*f*). In den parallel angesetzten mischkontaminierten Proben erfolgte dagegen eine vergleichsweise geringe Fluorenabnahme. Während die Gehalte an 9-Fluorenol unterhalb von 0,5 % blieben (*e*), lagen am 70. Tag zwischen 2 und 3 % des anfänglichen Fluorengehaltes als 9-Fluorenon vor (*f*).

Auf eine ähnliche Weise lassen sich die Konzentrationsverläufe von Acenaphthylen und 1,2-Acenaphthylendion sowie 1,8-Naphthalsäureanhydrid (*Abb. 15*), Anthracen und 9-Anthracenon sowie 9,10-Anthrachinon (*Abb. 16*, S. 80), Tetralin und 1-Tetralon (*Abb. 17*, S. 81), Xanthen und 9-Xanthenon (*Abb. 18*, S. 82) sowie 2-Methylanthracen und 2-Methylanthrachinon (*Abb. 19*, S. 83) beschreiben.



Abb. 15 Konzentrationsverläufe von Acenaphthylen, 1,2-Acenaphthylendion und 1,8-Naphthalsäureanhydrid in einfach (-[×]-) und mischkontaminierten (-o- = SM4, $-\Delta$ - = SM5, -x- = SM6) Ah/Ko- (a.-c.) bzw. Ah-Ansätzen (d.-f.), (Angaben in %, bezogen auf den Acenaphthylengehalt nach einem Tag)



Abb. 16 Konzentrationsverläufe von Anthracen, 9-Anthracenon und 9,10-Anthrachinon in einfach (-⁻) und mischkontaminierten (-o- = SM4, -Δ- = SM5, -x- = SM6) Ah/Ko- (a.-c.) bzw. Ah-Ansätzen (d.-f.), (Angaben in %, bezogen auf den Anthracengehalt nach einem Tag)



Abb. 17 Konzentrationsverläufe von Tetralin und 1-Tetralon in einfach (-*-) und mischkontaminierten (-o- = SM4, -Δ- = SM5, -x- = SM6) Ah/Ko- (a.-b.) bzw. Ah-Ansätzen (c.-d.), (Angaben in %, bezogen auf den Tetralingehalt nach einem Tag)

Es konnte gezeigt werden, daß eine Schwermetallkontamination in Abhängigkeit von ihrer Zusammensetzung und vom Bodenmaterial einen wesentlichen Einfluß auf den PAK-Abbau und damit verbunden auch auf das zeitliche Auftreten und die gebildete bzw. nachweisbare Menge der Oxidationsprodukte nehmen kann:

Sofern Effekte durch die Schwermetalle beobachtet werden konnten (vergleiche Ah- und Ah/Ko-Ansätze) waren diese sämtlich antagonistischer Natur, d.h. der Abbau wurde zeitlich verzögert oder über Wochen deutlich gehemmt. Der verzögerte Abbau war durch eine verlängerte lag-Phase gekennzeichnet. Die Konzentration der ausgewählten Schwermetalle zeigte in der Regel eine größere Wirkung als die qualitative Zusammensetzung. Die beobachteten Abbauwege der eingesetzten organischen Kontaminanten in den mischkontaminierten Versuchsansätzen (Ah und Ah/Ko) entsprachen denen in den einfach kontaminierten Proben. Der Schwermetalleinfluß äußerte sich lediglich im zeitlichen und quantitativen Auftreten der Oxidationsprodukte. Weiterhin konnte gezeigt werden, daß die organischen Kontaminanten eines einzelnen Versuchsansatzes nicht gleichermaßen von dem dort vorliegenden Schwermetallspektrum in ihrem Abbau beeinflußt wurden.



Abb. 18 Konzentrationsverläufe von Xanthen und 9-Xanthenon in einfach (-^{*}-) und mischkontaminierten (-o- = SM4, -Δ- = SM5, -x- = SM6) Ah/Ko- (a.-b.) bzw. Ah-Ansätzen (c.-d.), (Angaben in %, bezogen auf den Xanthengehalt nach einem Tag)



Abb. 19 Konzentrationsverläufe von 2-Methylanthracen und 2-Methylanthrachinon in einfach (-⁻) und mischkontaminierten (-o- = SM4, -Δ- = SM5, -x- = SM6) Ah/Ko- (a.-b.) bzw. Ah-Ansätzen (c.-d.), (Angaben in %, bezogen auf den 2-Methylanthracengehalt nach einem Tag)

Die in den mikrobiologisch aktiven Versuchsansätzen identifizierten Oxidationsprodukte konnten bis auf wenige Ausnahmen ebenfalls in den sterilen Kontrollansätzen nachgewiesen werden (s. Kap. 10.5, **Tab. 44** bis **58**, S. 186 bis 193). Die Sterilität dieser Proben konnte mittels einer KBE-Bestimmung belegt werden. Das zeitliche und quantitative Auftreten dieser Verbindungen zeigte sich unabhängig von dem Vorhandensein einer Schwermetallkontamination. In der Regel war eine Anreicherung der Oxidationsprodukte über den gesamten Versuchszeitraum zu beobachten. Im Vergleich zu den in den aktiven Ansätzen festgestellten Gehalten traten in den Sterilproben meistens deutlich geringere Konzentrationen auf. Für einige wenige Substanzen wurden aber vergleichbare Größenordnungen ermittelt. In einigen Fällen konnten Oxidationsprodukte nur im Sterilansatz und nicht im entsprechenden aktiven Ansatz nachgewiesen werden (z.B. 1-Indanol, 1-Phenylbutanol und 1-Naphthol).

6.5 Diskussion

6.5.1 Abbau von Mineralölprodukten unter Schwermetalleinfluß

Die Versuche haben gezeigt, daß der mikrobiologische Abbau von Mineralölkohlenwasserstoffen durch das Vorhandensein von Schwermetallen zeitlich verzögert bzw. deutlich gehemmt werden kann. Der beobachtete Konzentrationsverlauf des Dieselöls in den Mischkontaminationen gibt jedoch nur bedingt Aufschluß über den antagonistischen Einfluß der Schwermetallkonzentration.

Die Abnahme des extrahierbaren Dieselölgehaltes in den mischkontaminierten und sterilen Ansätzen innerhalb der ersten 3 Wochen ist vorwiegend auf die Verdunstung leichtflüchtiger Dieselölkomponenten zurückzuführen und weniger auf biotische oder abiotische Abbauvorgänge. Das zeigen auch die Konzentrationsverläufe der Schmierölkontaminationen in den entsprechenden Versuchsansätzen. Hier ist infolge der überwiegend schwererflüchtigen Verbindungen keine Abnahme zu verzeichnen.

Die antagonistischen Effekte der Schwermetallkontamination zeigten sich deutlicher im qualitativen Auftreten von Abbauprodukten der Dieselölbestandteile (*Tab. 12*, S. 65):

Der Umstand, daß im mikrobiologisch aktiven Ansatz mit der geringeren Schwermetallkonzentration (SM2) im Vergleich zum einfach kontaminierten Ansatz mehr Metaboliten (in diesem Fall Säuremetaboliten) nachweisbar waren, spricht für eine kurzzeitige Akkumulation dieser Verbindungen im Boden. Dafür könnte es verschiedene Gründe geben. a) Der weitere Abbau wird vermutlich durch die Schwermetallkontamination verzögert. D. h., der Schwermetalleinfluß bewirkt eine Veränderung der Mikroorganismenpopulation. Dadurch kann die mikrobielle Artenvielfalt abnehmen und/oder Abbaufähigkeiten, z. B. infolge der Durchsetzung schwermetall-toleranter Bakterienarten, können gehemmt werden bzw. verloren gehen (BÅÅTH, 1989; REBER, 1992; BURKHARDT et al., 1993). Der umgekehrte Fall, daß Säuremetaboliten erst durch neu ausgebildete Fähigkeiten der Mikroorganismenpopulation entstanden sind, kann ausgeschlossen werden. Denn in vergleichbaren Versuchen wurden diese Verbindungen ebenfalls in reinen Dieselöl-kontaminationen nachgewiesen (LANGBEHN und STEINHART, 1995). Das gilt ebenfalls für die anderen identifizierten Abbauprodukte des Dieselöls, so daß die Möglichkeit der Ausbildung neuer Abbauwege für die betrachteten Kontaminanten unter den gegebenen Versuchsbedingungen nicht gegeben scheint. b) Durch eine Konkurrenz um Bindungsplätze der Bodenmatrix ist es möglich, daß Schwermetallionen eine Anbindung von polaren Abbauprodukten einschränken, so daß diese analytisch erfaßt werden können. KLUMPP et al. (1992) und JACOBI (1995) stellten fest, daß physikalisch-chemische Wechselwirkungen zwischen verschiedenen Schadstoffklassen möglich sind, und daß diese sich auf die Bioverfügbarkeit von Xenobiotika auswirken können.

Vergleicht man das Abbauverhalten in den beiden Mischkontaminationen, so traten im Ansatz mit höherer Schwermetallkonzentration (SM3) weniger Metaboliten (vor allem weniger aromatische Ketone) und diese zu späteren Zeitpunkten auf. Hier scheint die antagonistische Wirkung der Schwermetalle darin begründet zu liegen, daß der Abbau der Ausgangsverbindungen zeitlich verzögert wird und somit auch die Abbauprodukte erst zu späteren Zeitpunkten in nachweisbaren Konzentrationen gebildet werden.

Im Gegensatz zur PAK-Abbaustudie, in dessen Verlauf auch in den Sterilansätzen Metaboliten nachweisbar waren (s. Kap. 6.4.2), konnten im Rahmen des Dieselölabbaus keine entsprechenden Verbindungen identifiziert werden. Vermutlich waren die Einzelsubstanzen des Dieselöls insgesamt zu gering konzentriert, als daß durch abiotische Vorgänge entstandene Abbauprodukte in detektierbarer Konzentration entstehen konnten.

Die hier dargestellten Ergebnisse belegen eindeutig den antagonistischen Effekt von Schwermetallen auf den mikrobiologischen Abbau von Mineralölkohlenwasserstoffen in Bodenmaterialien. Es konnte jedoch lediglich eine zeitliche Verzögerung des Abbaus sowie das qualitative Auftreten von Metaboliten beschrieben werden. Einige der identifizierten Abbauprodukte konnten ihrer jeweiligen Ausgangsverbindung zugeordnet werden (vergl. *Tab.* 12, S. 65 und *Tab.* 10, S. 58). Ein differenzierteres Bild hinsichtlich der quantitativen Metabolitenbildung unter dem Aspekt der jeweils verfügbaren Schwermetallkonzentration im Boden liefert die PAK-Abbaustudie.

6.5.2 Verfügbare Schwermetallgehalte

Die ermittelten verfügbaren Schwermetallgehalte (*Tab. 14*, S. 70) zeigten sich abhängig vom verwendeten Bodenmaterial und von der Art und Konzentration der eingesetzten Schwermetalle.

Im Ah/Ko-Material wurden im Vergleich zum Ah-Material weitaus geringere extrahierbare Schwermetallgehalte festgestellt. Eine Ursache hierfür liegt im eingestellten Wassergehalt der Versuchsansätze (Verdünnungseffekt) in Verbindung mit der jeweiligen Schwermetalldotierung. Die Ah-Ansätze wiesen einen Wassergehalt von 13,7 % (bez. auf FG) auf (*Tab. 23*, S. 156), die Ah/Ko-Ansätze dagegen von 20,7 %. Unter der Annahme, daß der gesamte Schwermetallgehalt gelöst vorliegt, wäre z. B. im Ansatz "Ah+SM4" maximal eine Konzentration von 318 mg Zn/100 mL möglich, im Ansatz "Ah/Ko+SM4" statt dessen nur eine um den Faktor 1,8 geringere Konzentration (173 mg Zn/100 mL). Die Gründe für die Wahl dieser Parameter liegen zum einen in der auf den Ah-Anteil der Trockensubstanz bezogenen Schwermetalldotierung, denn der Kompostzusatz erfolgt in der Sanierungspraxis zum kontaminierten Boden. Zum anderen liegt der für mikrobielle Aktivitäten günstigste Wassergehalt zwischen 50 und 80 % der WHK_{max} (HUPE et al., 1993). Eine Angleichung des Wassergehaltes hätte beispielsweise für den Ah/Ko-Ansatz in einem Wert von ca. 35 % der WHK_{max} resultiert.

Weitaus bedeutendere Ursachen für den ermittelten mobilen Schwermetallgehalt liegen in den weiteren Eigenschaften der Bodenmatrix. Vergleicht man die Gehalte in den jeweiligen Versuchsansätzen (*Tab. 14*, S. 70, z. B. "Ah+SM4" mit "Ah/Ko+SM4"), so wird deutlich, daß diese sich um weitaus mehr als den Faktor 1,8 unterscheiden. Wie bereits dargestellt wurde, bestimmen die stofflichen und physikalisch-chemischen Charakteristika eines Bodensystems die Form und biologische Verfügbarkeit, und damit die Toxizität, von Schwermetallen (BÅÅTH, 1989; GADD, 1990). In einigen Arbeiten wurden Reihenfolgen für die Festlegung

von Schwermetallen an bestimmte Bodenbestandteile beschrieben (BABICH und STOTZKY, 1980; HERMS, 1989), z. B. für Tonminerale (Pb>Cu>Zn≥Cd), Huminstoffe (Cu>Cd>Zn>Pb), wenig zersetzte, lösliche organische Komplexbildner (Cu>Cd>Zn>Pb), Fe-, Mn-, Al-Oxide (Pb>Cu>Cd>Zn), sowie für die organische Bodensubstanz (Cu>Pb»Cd>Zn). Eine wesentlich größere Bedeutung als den genannten stofflichen Eigenschaften ist dem pH-Wert zuzuschreiben (HERMS, 1989). Während für Zn und Cd bereits ab pH 7 und weniger eine steigende Löslichkeit zu verzeichnen ist, lösen sich Cu und Pb erst bei tieferen pH-Werten und in geringerem Umfang. Der pH-Wert beeinflußt sowohl den Komplexierungsgrad von Schwermetallen mit der anorganischen und organischen Bodenmatrix und die chemische Form der Metalle als auch den metabolischen Status von Mikroorganismen und das Ausmaß verschiedener Bodenprozesse (BÅÅTH, 1989). In Tab. 14 (S. 70) und Tab. 1 (S. 12) ist ersichtlich, daß mit dem Zusatz von Kompostmaterial eine pH-Erhöhung einhergeht. Damit verbunden ist eine geringere Löslichkeit der Schwermetalle in diesen Ansätzen. Auch die Art und Konzentration der Schwermetalle beeinflußt ihre Verfügbarkeit im Boden, denn die Zugabe von Schwermetallen führt zu einer pH-Erniedrigung. Die größte pH-Abnahme ist nach Zugabe von Zn, Cd und Cr (höhere Kontamination, SM5) zum unkontaminierten Ansatz zu verzeichnen (Ah: von 4,6 auf 3,6, Ah/Ko: von 5,9 auf 4,9), die geringste nach Zugabe von Zn, Cu und Pb (SM6; Ah: von 4,6 auf 4,2, Ah/Ko: von 5,9 auf 5,6). Diese Beobachtung deckt sich mit der Aussage von HERMS (1989), daß mit steigendem Schwermetall-Gesamtgehalt im Boden auch die ökologisch wirksamen Anteile zunehmen, und spiegelt sich ebenfalls in den extrahierbaren Schwermetallgehalten wider. Während im Versuchszeitraum für Cr, Zn, Cu und Pb in der Regel eine deutliche Abnahme der extrahierbaren Gehalte zu verzeichnen war, fiel diese für die Cd-Konzentration am geringsten aus. Da über den Versuchszeitraum konstante pH-Werte gemessen wurden, lieat die Vermutung nahe, daß die oben skizzierte schwermetall-beeinflußte pH-Anderung zu Versuchsbeginn im wesentlichen auf Cd zurückzuführen ist.

Die hier beschriebenen komplexen Sachverhalte stimmen mit der Beobachtung überein, daß von den untersuchten Schwermetallen Zn und Cd die größte Extrahierbarkeit aufwiesen. Bezogen auf die zudotierte Menge wurden maximal 100,0 % (Zn), 84,0 % (Cd), 20,7 % (Cr), 15,8 % (Cu) und 5,0 % (Pb) in der Bodenlösung nachgewiesen. Betrachtet man die absoluten Konzentrationen, so

lagen innerhalb der ersten Woche infolge der unterschiedlichen Schwermetall-Dotierung teilweise andere Verhältnisse vor, die sich jedoch im Verlauf der Studie wieder umkehrten. In diesem Zusammenhang ist ebenfalls zu beachten, daß der extrahierbare Schwermetallgehalt eines Bodens lediglich einen sehr geringen Anteil der Gesamtkontamination darstellt. Das gilt insbesondere für reale Altlasten, in denen sich bereits ein stabiles Gleichgewicht zwischen gelösten und gebundenen Schwermetallen eingestellt hat. Beispielsweise resultierte die Zn-Konzentration eines realkontaminierten Bodens (Zinkschmelzhütte, 100 Jahre) von 1540 mg/kg in einem extrahierbaren Gehalt von 0,47 mg/kg, was einem Anteil von 0,03 % entspricht (ANGLE et al., 1993). Dagegen wird in Laborversuchen ein sehr geringer Zeitraum betrachtet, in dem sich ein entsprechendes Gleichgewicht noch nicht einstellen kann. So konnten aus den Ah-Ansätzen am Versuchsende noch zwischen 70 und 80 % der zudotierten Menge extrahiert werden. Dieser Aspekt ist bei der toxikologischen Bewertung von Laborversuchen zu berücksichtigen.

Tab. 15 verdeutlicht, daß die Ableitung von Schwermetall-Toxizitätsgrenzwerten aus Literaturdaten nur eingeschränkt möglich ist, da die Bandbreite gefundener Werte vergleichsweise groß ist. Solche Grenzwerte bezeichnen die Schwermetallkonzentration, bei der toxische Einflüsse auf die Wachstums- und/oder Stoffwechselleistung von Mikroorganismen feststellbar sind. Das liegt zum einen daran, daß sich die jeweils verwendeten Bodenmaterialien (und damit ihre Eigenschaften bzw. die verfügbaren Schwermetallkonzentrationen) unterscheiden und zum anderen an verschiedenen methodischen Vorgehensweisen. Auch die in der vorliegenden Arbeit ermittelten toxischen Konzentrationen verfügbarer Metalle resultieren aus den gewählten Versuchsparametern. Möglicherweise könnten ähnliche Beobachtungen bereits bei wesentlich geringeren Schwermetallkonzentrationen in der Bodenlösung gemacht werden. Hervorzuheben ist jedoch, daß auf diesem Wege die Vorgänge innerhalb einer komplex kontaminierten Bodenmatrix beschrieben werden konnten. In bisherigen Arbeiten wurde in der Regel lediglich die toxische Wirkung einzelner Metalle betrachtet, die nur teilweise Rückschlüsse auf reale Gegebenheiten zulassen.

Für die Darstellung der eigenen Ergebnisse in **Tab. 15** wurden die Schwermetallkonzentrationen ausgewählt, die am ersten Versuchstag in den Ansätzen "Ah/Ko+SM4" (Cr, Cd, Zn) und "Ah/Ko+SM6" (Cu, Pb, Zn) bestimmt wurden (s. **Tab.** *14*, S. 70). Diese stellen die geringsten Konzentrationen dar, bei denen bereits zu Versuchsbeginn eine toxische Wirkung beobachtet werden konnte.

Medium	Mikroorganismen	Schwer-	Konz	toxische Wirkung	Quelle
mean	(MO)	motall	[ma/100 ml]	toxicono minang	Quono
	(100)				
Plate Count -Agar	MO-Isolat aus Industrieboden	Hg ²⁺ Cd ²⁺ Cr ³⁺ Cu ²⁺	>10 >10 >80 >80	vermindertes Wachstum	MOL et al. (1998)
Nähragar	MO-Isolat aus Ah- Horizont	Cd ²⁺ Cu ²⁺ Zn ²⁺	>0,1 0,05 0,05	vermindertes Wachstum	GOGOLEV und WILKE (1997)
Nähragar	MO-Isolat aus Ah- Horizont	Cd ²⁺ +FLA* Cu ²⁺ +FLA Zn ²⁺ +FLA	≤ 0,05 ≤ 0,05 ≤ 0,05	vermindertes Wachstum	GOGOLEV und WILKE (1997)
Nähragar	MO-Isolat aus Ah- Horizont	Cd ²⁺ Cu ²⁺ Zn ²⁺	>1 5 5	kein Wachstum	GOGOLEV und WILKE (1997)
Flüssigkultur (anaerob)	MO-Isolat aus aquat. Sediment	Cd ²⁺ , Cr ⁶⁺ , Cu ²⁺ , Hg ²⁺	jeweils ca. 0,01-0,20	verlängerte lag- Phase bis Abbau bestimmter organischer Verbindungen	KUO und SHARAK GENTHNER (1996)
Flüssigkultur (anaerob)	MO-Isolat aus aquat. Sediment	Cd ²⁺ , Cr ⁶⁺ , Cu ²⁺ , Hg ²⁺	jeweils ca. 0,01-0,20	verminderte Abbaurate für bestimmte organische Verbindungen	KUO und SHARAK GENTHNER (1996)
Flüssigkultur (anaerob)	MO-Isolat aus aquat. Sediment	Cd ²⁺ , Cr ⁶⁺ , Cu ²⁺ , Hg ²⁺	jeweils ca. 0,05-0,50	kein Abbau bestimmter organischer Verbindungen	KUO und SHARAK GENTHNER (1996)
Nähragar	MO-Isolat aus Schwermetall- kontaminiertem Boden	Zn ²⁺	>7,5	keine Toleranz gegenüber Zn	ANGLE et al. (1993)
Nähragar	MO-Isolat aus unkontaminiertem Boden	Zn ²⁺	>2,6	keine Toleranz gegenüber Zn	ANGLE et al. (1993)
Boden (bzw. -lösung)	Mikroflora	Hg ²⁺ Cd ²⁺	≤0,0041 ≤0,025 0,001-0,113 0,032-16,9	EC ₁₀ ** EC ₅₀ EC ₁₀ EC ₅₀	WELP und BRÜMMER (1989)

Tab. 15 Ausgewählte Daten zur Toxizität von Schwermetallen gegenüber Mikroorganismen

Medium	Mikroorganismen	Schwer-	Konz.	toxische Wirkung	Quelle
	(MO)	metall	[mg/100 mL]		
Flüssigkultur	MO einer Boden- suspension	Cd ²⁺	0,5-2,5	TGK*** für Bakterien- vermehrung	STADELMANN et al. (1984)
			12,5	kein Wachstum	
Boden (bzw. -lösung)	Mikroflora	Cd ²⁺	0,66-1,07	Reduzierung der Keimzahl	STADELMANN et al. (1982)
			0,16-0,24	Hemmung der Bodenatmung	
Aquatisches System	Bakterien- Population	Cu ²⁺ Hg ²⁺	0,2 0,004	Reduzierung der Artenvielfalt	STERRIT und LESTER (1980)
nicht angegeben	K. aerogenes	Cr³⁺	1,24	24 %ige Reduktion der Glucose- Oxidation	STERRIT und LESTER (1980)
		CrO ₄ ²⁻	0,49	45 %ige Reduktion der Glucose- Oxidation	
Boden Ah/Ko (9:1) (bzw. -lösung)	autochthone Mikroflora	Kombina- tion aus PAK-Mix und Cr ³⁺ Cd ²⁺ Zn ²⁺	«0,1 0,2 9,8	verlängerte lag- Phase, verringerte Abbaurate von PAK	vorliegende Arbeit, vergl. Kap. 6.4.2 und Tab. 14 (S. 70), Tab. 36-43 (182-185)
Boden Ah/Ko (9:1) (bzw. -lösung)	autochthone Mikroflora	Kombina- tion aus PAK-Mix und Pb ²⁺ Cu ²⁺ Cu ²⁺ Zn ²⁺	0,6 0,2 9,2	verlängerte lag- Phase, verringerte Abbaurate von PAK	vorliegende Arbeit, vergl. Kap. 6.4.2 und Tab. 14 (S. 70), Tab. 36-43 (182-185)

Tab. 15 (Forts.):

 = Fluoranthen-Zusatz von 0,02 mg/100 mL
= Effektive Dosis, die zu 10 bzw. 50 %iger Aktivitätsminderung (Fe³⁺-Reduktionstest) führt **

*** = Toxische Grenzkonzentration

Trotz der beschriebenen Probleme, die ein Vergleich verschiedener Untersuchungen mit sich bringt, läßt sich die relative Toxizität von Schwermetallen gegenüber Mikroorganismen anhand folgender Reihenfolge aufzeigen (WELP und BRÜMMER, 1989; BÅÅTH, 1989; DOELMAN et al., 1994 und MOL et al., 1998):

Hg > Cd > Cu = Cr > Zn > Pb.

6.5.3 Abbau von PAK unter Schwermetalleinfluß

Das zu beobachtende Abbauverhalten der eingesetzten Kontaminanten in den jeweiligen Ansätzen ist auf verschiedene Faktoren zurückzuführen. Als wichtige Parameter sind die physikalisch-chemischen Eigenschaften der organischen Verbindungen zu nennen. In Abhängigkeit von ihrer chemischen Struktur unterscheiden sie sich in ihrer Bioverfügbarkeit (Dampfdruck, Löslichkeits- und Adsorptionsverhalten) und ihrer Eignung als Substrat für die Mikroorganismenpopulation des Bodens. Der Zusatz von Kompost und Schwermetallen scheint ebenfalls die Bioverfügbarkeit der Schadstoffe zu beeinflussen, jedoch wirken diese Komponenten hauptsächlich auf das Abbaupotential der Mikroflora. Die Tatsache, daß in den Sterilansätzen (Ah und Ah/Ko) sowohl eine gewisse Abnahme der organischen Ausgangskontamination als auch die Bildung entsprechender Oxidationsprodukte zu verzeichnen war, deutet auf einen nicht zu vernachlässigenden Anteil abiotischer Prozesse hin. WISCHMANN und STEINHART (1997), die gleichartige Beobachtungen machten, vermuteten anhand von Literaturdaten, daß die Ursache in katalytisch wirkenden anorganischen Bodenkomponenten zu suchen ist. So können beispielsweise Eisen- und Manganoxide die chemische Oxidation in Gegenwart von Radikalbildnern und geeigneten Sauerstoffkonzentration ermöglichen.

Ebenfalls in diese Überlegungen einzubeziehen sind die Wechselwirkungen der organischen und anorganischen Schadstoffe untereinander. Wie Untersuchungen gezeigt haben, hängt der PAK-Abbau davon ab, ob die PAK einzeln oder im Gemisch vorliegen (SMITH, 1990; KELLEY und CERNIGLIA, 1995). In bestimmten Konzentrationsbereichen kann die toxische Wirkung von Schwermetallen durch PAK beeinflußt werden (GOGOLEV und WILKE, 1997). Dieser Effekt wird auf die Fähigkeit der PAK zurückgeführt, die Permeabilität der Zellmembranen von Mikroorganismen zu erhöhen, so daß Schwermetalle vermehrt in die Zellen eindringen können. Andere Autoren weisen darauf hin, daß auch Schwermetalle (Cd²⁺, Pb²⁺) die Zellmembranen zu verändern vermögen (MONTUELLE et al., 1994). Diese Aspekte wurden im Rahmen der beschriebenen Versuche nicht einbezogen, so daß diesbezüglich keine detaillierten Aussagen getroffen werden können.

Hingegen zeigte sich, wie zu erwarten, ein deutlich positiver Einfluß des Kompostzuschlages auf den Abbau der organischen Kontaminanten. Diese Eigenschaft des Zuschlagstoffes ist ein vielbeschriebens Phänomen (z. B. WISCHMANN und STEINHART, 1997). Entgegen früheren Annahmen führten KASTNER und MAHRO (1996) diesen Effekt alleinig auf die makroskopische Struktur des Kompostmaterials zurück. Weder die im Kompost enthaltenen Nährstoffe und Mikroorganismen noch der Einfluß auf den Boden-pH zeigten eine Wirkung auf den Abbau. Eine, für die Sanierungspraxis von nicht unerheblicher Bedeutung, weitere Eigenschaft des Kompostes zeigte sich insbesondere in den Mischkontaminationen als förderlich für den Abbau der organischen Kontaminanten. Die Fähigkeit Schwermetalle zu binden resultierte im Vergleich zu den Ah-Ansätzen in geringeren verfügbaren Schwermetallgehalten in den Ah/Ko-Ansätzen und damit in einer Toxizitätsabnahme. Ebenfalls vorteilhaft ist der einzustellende optimale Wassergehalt in solch einem Bodensystem. Dadurch erfolgt eine zusätzliche Verringerung der in der Bodenlösung vorliegenden Schwermetallkonzentration. Dieser positive Effekt ist insofern zu relativieren als er von der Schwermetallkonzentration im Gesamtboden abhängig ist.

Hohe Kohlenstoffgehalte der Bodenmatrix können weiterhin zu einer vermehrten Sorption leichtflüchtiger Boden- bzw. Kontaminationsbestandteile führen. BUNDT (1991) beobachtete für niedermolekulare PAK in einem Bt-Material (stark lehmiger Sand, C-Gehalt: 0,14 %) eine stärkere Konzentrationsabnahme als in einem Ah-Material (schwach lehmiger Sand, C-Gehalt: 1,10 %). Es wurde vermutet, daß die lockere Gesamtstruktur des Bt- im Vergleich zum Ah-Material ein schnelleres Ausgasen der leichtflüchtigen Komponenten ermöglichte. KÄSTNER und MAHRO (1996) stellten in sterilem Ah/Ko-Material im Vergleich zu einem sterilen Ah-Material eine geringere Naphthalinabnahme fest. Begründet wurde diese Beobachtung damit, daß der durch den Kompostzusatz bedingte höhere Kohlenstoffgehalt eine Sorption des leichtflüchtigen Naphthalins bewirkt. Diese Ergebnisse decken sich mit den eigenen Beobachtungen, wonach die Konzentrationsabnahmen von Propylcyclohexan, Indan, Butylbenzol, Tetralin, Naphthalin, Acenaphthylen und 2-Methylnaphthalin in den Ah-Proben nicht nur durch einen Abbau gekennzeichnet waren, sondern in hohem Maße durch Verdunstungseffekte. Besonders deutlich wird dies beim Vergleich der Konzentrationsverläufe dieser Verbindungen in den sterilen Ah- und Ah/Ko-Ansätzen.

Der Vergleich der Konzentrationsverläufe in den Ah- und Ah/Ko-Ansätzen läßt weiterhin auf folgendes schließen: Der zeitlich verzögerte Einsatz der Konzentrationsabnahme in den mikrobiologisch aktiven Ah/Ko-Ansätzen sowie die vergleichsweise hohen Abbauraten belegen, daß es sich vorwiegend um biologische Abbauvorgänge handelt. Daß auch abiotische Vorgänge eine Rolle spielen, zeigt sich in den sterilen Ah/Ko-Ansätzen. In den Ah-Ansätzen scheint das Verhältnis umgekehrt zu sein. Die Konzentrationsabnahme in den biologisch aktiven Proben erfolgt im Vergleich zu den Sterilansätzen nur geringfügig schneller. Das bedeutet, daß hier abiotische Vorgänge dominieren. Die Tatsache, daß die Konzentrationsverläufe der organischen Kontaminanten in einfachund mischkontaminierten Ah-Ansätzen keine signifikanten Unterschiede aufweisen (Ausnahmen: 2-Methylnaphthalin, Fluoren, Phenanthren), verdeutlicht, daß die zugesetzten Schwermetalle keinen Einfluß auf die beobachteten abiotischen Prozesse haben.

In den beschriebenen Abbauversuchen konnte eine gute Korrelation zwischen der Abnahme der Ausgangsverbindung und dem Auftreten von Oxidationsprodukten beobachtet werden. Darüber hinaus konnten in den mischkontaminierten im Vergleich zu den einfach kontaminierten Versuchsansätzen keine qualitativen Unterschiede im identifizierten Metabolitenspektrum festgestellt werden. Diese Ergebnisse zeigen, daß die verwendeten Schwermetallkontaminationen lediglich den Abbau verzögern. Die am Abbau beteiligten Mikroorganismen erleiden anscheinend keinen Verlust an ihren Fähigkeiten, die organischen Kontaminanten zu verstoffwechseln. Es findet ausschließlich eine Anpassung der Mikroorganismenpopulation an die Streßsituation statt. Diese Phase der Anpassung spiegelt sich ebenfalls in den Konzentrationsmaxima der Abbauprodukte wider. In einigen Mischkontaminationen konnten für einige Verbindungen kurzzeitig höhere Konzentrationsmaxima festgestellt werden als in den entsprechenden einfach kontaminierten Ansätzen. D. h. auch der weitere Abbau der Intermediärprodukte wurde durch die Begleitkontamination gehemmt. In anderen Mischkontaminationen wurden aber auch geringere Konzentrationsmaxima beobachtet. Hier war der Abbau der Ausgangsverbindung vermutlich derart gehemmt, daß Intermediärprodukte in geringerem Maße auftraten als in den Ansätzen ohne Begleitkontamination.

Andere Autoren konnten dagegen zeigen, daß sich schwermetallresistente Bakterien im Vergleich zu schwermetall-empfindlichen Bakterien in ihren Abbaufähigkeiten unterscheiden; die Einteilung in "Empfindlichkeit" und "Resistenz" erfolgte dabei willkürlich. "Empfindliche" Bakterien wuchsen signifikant besser auf aromatischen Verbindungen als "resistente" (DOELMAN et al., 1994). Derartige aromatische Substanzen waren beispielsweise Benzoesäure, 3,4-Dihydroxybenzoesäure oder Phenylessigsäure, also Verbindungen, die als PAK-Abbauprodukte bekannt sind. BURKHARDT et al. (1993) untersuchten Bodenbakterien hinsichtlich der Verteilung/Häufigkeit von 20 Abbaufähigkeiten. Sie stellten fest, daß Bakteriengemeinschaften, die einem Schwermetalleinfluß ausgesetzt waren (Isolate aus entsprechend kontaminierten Böden), eine geringere Anzahl seltener Abbaufähigkeiten aufwiesen als unbeeinflußte Gemeinschaften. Für häufige Abbaufähigkeiten einer Bakterienpopulation wurde das Gegenteil beobachtet, d.h. die Verhältnisse waren umgekehrt. Bezogen auf die eigenen Beobachtungen während eines vergleichsweise kurzen Zeitraumes muß berücksichtigt werden, daß die o. a. Ergebnisse anhand von Bakteriengemeinschaften ermittelt wurden, die über einen langen Zeitraum einer Realkontamination ausgesetzt waren.

Die vorgestellten Ergebnisse lassen den Schluß zu, daß eine biologische Sanierung mischkontaminierter (PAK, Schwermetalle) Böden hinsichtlich der organischen Schadstoffe grundsätzlich durchführbar ist. Voraussetzung ist jedoch, daß die bioverfügbare Schwermetallkonzentration hinreichend gering ist, um eine Hemmung der mikrobiellen Abbauprozesse weitestgehend zu minimieren bzw. zu vermeiden. Die Zugabe von Kompostmaterial ist eine geeignete Maßnahme, den mobilen Schwermetallanteil deutlich zu verringern. Inwiefern die Sanierung derartiger Böden aufgrund eines eventuell erhöhten Zeitbedarfs aus ökonomischer Sicht sinnvoll ist, muß im Einzelfall geprüft werden. Ebenso muß eine ökotoxikologische Bewertung hinsichtlich der im Boden enthaltenen bzw. verbleibenden Schwermetallkontamination erfolgen. Weitere Forschungsaktivitäten sollten auch unter diesem Aspekt die Abschätzung von Grenzwerten für die verfügbare Schwermetallkonzentration zum Ziel haben. Dabei sollte ein heterogenes Schwermetallspektrum berücksichtigt werden. Ebenfalls besteht Bedarf an weitergehenden Erkenntnissen darüber, in welchem Ausmaß erworbene Resistenzen gegenüber Schwermetallen das Abbaupotential einer Mikroorganismenpopulation beeinträchtigen.

7 ¹³C-Festkörper-NMR-Studien an PAK/Huminstoff-Komplexen

7.1 Ausgangssituation

Die Thematik der Wechselwirkungen von Xenobiotika mit der organischen Matrix des Bodens gewinnt im Rahmen von Sanierungsmaßnahmen und der Umweltanalytik zunehmend an Bedeutung. So ist bekannt, daß organische Kontaminanten (z.B. PAK, Pestizide) mit der Bodenmatrix in Form kovalenter und/oder nichtkovalenter Bindungen assoziieren können. Die damit verbundene eingeschränkte Bioverfügbarkeit hat einen unmittelbaren Einfluß auf die Effektivität des biologischen Abbaus. Andererseits wird diskutiert, organische Schadstoffe durch Einbringen von Zuschlagstoffen (z.B. Kompost) gezielt im Boden festzulegen, um auf diese Weise eine Detoxifizierung zu erreichen. Ein solches biologisches Sanierungskonzept könnte insbesondere für biologisch schwer abbaubare Substanzen sinnvoll sein (JACOBI, 1995; KASTNER et al., 1995). Die praktische Umsetzung eines derartigen Vorhabens setzt die Kenntnis über die Bindungsart und -stabilität von Schadstoff/Huminstoff-Assoziaten voraus.

Zu den nicht-kovalenten Bindungsarten gehören Ionenaustauschreaktionen, Wasserstoffbrücken, Charge-transfer-Komplexe, Ligandenaustauschreaktionen, Van-der-Waals-Kräfte und hydrophobe Bindungen (RICHNOW et al., 1994; BORTIATYNSKI et al., 1997). Unter dem Gesichtspunkt einer langfristigen Stabilität bzw. Irreversibilität sind allerdings kovalente Bindungen zwischen der organischen Matrix und Schadstoffmolekülen in den Mittelpunkt des Interesses zu stellen. Für die Beurteilung der praktischen Relevanz dieser Vorgänge sind neben der Kenntnis über die Art kovalenter Bindungen vor allem auch quantitative Aspekte zu berücksichtigen. Grundlegende Voraussetzung für derartige Untersuchungen ist das Vorhandensein geeigneter Nachweismethoden:

Erste Rückschlüsse auf mögliche Bindungsarten lassen sich bereits durch die Kenntnis über die funktionellen Gruppen der Huminstoffe und der Schadstoffabbauprodukte ziehen.

Aus dem Bereich der analytischen Methoden sind vor allem Studien mit ¹⁴Cmarkierten Substanzen zu nennen, die wesentlich zum Verständnis des Schadstoffverbleibs im Boden beigetragen haben (z.B. BOLLAG und LOLL, 1983; SCHEUNERT et al., 1992; KÄSTNER et al., 1995; SCHEUNERT et al., 1995; KOHL und RICE, 1998). Mit diesem Verfahren lassen sich jedoch keine strukturellen Aussagen treffen.

Spektrometrische Methoden wie bestimmte UV-, Fluoreszenz- oder IR-Techniken eignen sich zwar zum Nachweis von verschiedenen funktionellen Gruppen, sind aber aufgrund der Komplexität der Huminstoffe für die Charakterisierung von kovalenten Bindungen untauglich (BORTIATYNSKI et al., 1997). Das Problem der Komplexität der Makromoleküle läßt sich umgehen, indem man mit ausgewählten Modellsubstanzen arbeitet, von denen man annimmt oder weiß, daß sie Bausteine der Huminstoffe darstellen. Wichtige Arbeiten auf diesem Gebiet wurden insbesondere von BOLLAG et al. (1980, 1983) geleistet.

RICHNOW et al. (1994, 1997 und 1998) konnten über selektive chemische Spaltungsreaktionen an Huminstoffen ester- und ethergebundene PAK-Oxidationsprodukte nachweisen (s. Kap. 5.4.1). Der Vorteil der Selektivität ist zugleich ein Nachteil, da für jede Bindungsart unterschiedliche Verfahren eingesetzt werden müssen.

Ein vergleichsweise neues Verfahren in der Umweltanalytik stellt der Immunoassay dar (WELLER, 1997). Es konnte gezeigt werden, daß Sandwich-Immunoassays geeignet sind, gebundene Rückstände von Umweltkontaminanten nachzuweisen. Beispielsweise gelang der Nachweis und die Quantifizierung von huminsäuregebundenen Triazin-Pestiziden aus Böden (ULRICH et al., 1996).

Als wichtigstes Instrument zur strukturellen Charakterisierung von Huminstoffen und Huminstoff/Schadstoff-Komplexen haben sich verschiedene NMR-Techniken erwiesen. Die wesentlichen Vorteile liegen in der Anwendbarkeit auf komplexe makromolekulare Systeme sowie in der Möglichkeit, mit nur einer Messung Hinweise auf eine Vielzahl von Bindungsstrukturen zu erhalten. Außerdem läßt sich durch den Einsatz ¹³C-markierter Substanzen unter geeigneten Bedingungen eine deutliche Verstärkung der Signale im ¹³C-NMR-Spektrum sowie eine Vereinfachung der Spektren erzielen (BORTIATYNSKI et al., 1996; BORTIATYNSKI et al., 1997). Gleiches gilt für die ¹⁵N-NMR und den Einsatz von ¹⁵N-angereicherten Verbindungen.

Die Vorteile der Kombination aus ¹³C-NMR und ¹³C-Anreicherung haben auch im Bereich der Strukturaufklärung von Huminstoffen bzw. in der Aufklärung von Abbauwegen ¹³C-markierter Verbindungen Eingang gefunden. So konnten mittels

¹³C-angereicherten Derivatisierungsreagenzien Erkenntnisse über funktionelle Gruppen von Humin- bzw. Fulvinsäuren gewonnen werden (MIKITA et al., 1981). Die Reaktivität und der Verbleib aromatischer Verbindungen in komplexen Systemen, wie thermisch gealtertem Flugzeugtreibstoff, wurde beispielsweise von McKINNEY et al. (1993) untersucht. Aus jüngerer Zeit gibt es Arbeiten über den Verbleib und die mikrobiologischen Abbauprodukte von ¹³C-markierten PAK, in denen die IRM (Isotope Ratio Monitoring)-GC/MS oder ¹³C-Flüssigkeits-NMR zur Detektion herangezogen wurden (CASTRO et al., 1996; NANNY et al., 1996a und b; SELIFONOV et al., 1998; RICHNOW et al., 1998).

Der Nachweis und die strukturelle Charakterisierung von kovalenten Bindungen zwischen organischer Matrix und Xenobiotika war die Zielsetzung zahlreicher Forschungsaktivitäten:

DEC et al. (1997) untersuchten die Bildungsmechanismen für gebundene Rückstände des ¹³C-markierten Fungizids Cyprodinil in Anwesenheit von Huminsäuren. Es konnte die Spaltung des Ausgangsmolekül sowie die unabhängige Bindung von Phenyl- und Pyrimidyl-Komponenten an die Huminsäuren nachgewiesen werden.

NANNY et al. (1996b) konnten zeigen, daß ¹³C-markiertes 2,4-Dichlorophenol in Anwesenheit des Weißfäule-Pilzes *Phanerochaete chrysosporium* einem schnellen Abbau unter Bildung neuer Produkte unterliegt. Durch die Zugabe von organischer Matrix war eine deutliche Zunahme der Reaktionsrate zu verzeichnen. Mittels ¹³C-Hochauflösungs-NMR wurde die Bildung von Alkyl- und Alkenethern beobachtet.

JURKIEWICZ und MACIEL (1995) untersuchten die Wechselwirkungen von ¹³Cmarkierten organischen Kontaminanten (Aceton, Trichlorethylen, Tetrachlorkohlenstoff) mit anorganischen und organischen Bodenbestandteilen unter Anwendung der ¹³C-Festkörper-Direct Polarization (DP)/MAS-NMR. Kovalente Bindungen konnten nicht nachgewiesen werden, dafür aber Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Schadstoffen und Tonmineralien bzw. Huminsäuren.

NÈGRE et al. (1995) untersuchten den Einfluß der Ethylenoxid-Sterilisation auf Huminsäuren im Zusammenhang mit den Wechselwirkungen von Pestiziden und der organischen Bodenmatrix. Mit Hilfe der ¹³C-CPMAS-NMR wurden Esterbindungen nachgewiesen.
HAIDER et al. (1992; 1993) sowie WAIS et al. (1993; 1995a und b) untersuchten den Verbleib ¹³C-angereicherten Anilazins in Modellhuminstoffen aus ¹³C-abgereichertem, humifiziertem Maisstroh. Die kovalente Bindung des Fungizids an die Huminstoffe über Ether- bzw. Esterbrücken konnte dabei sowohl mittels ¹³C-Hochauflösungs-NMR silylierter Huminstoffe als auch mittels ¹³C-CPMAS-NMR nachgewiesen werden.

HATCHER et al. (1993) untersuchten den biologischen Abbau von ¹³C-markiertem 2,4-Dichlorophenol in Anwesenheit und Abwesenheit von organischer Matrix. Die mittels ¹³C-Hochauflösungs-NMR erzielten Ergebnisse beweisen die Bildung von kovalenten Bindungen zwischen Schadstoff und Huminstoff über enzymatische Kopplungsreaktionen. Es fanden sich Hinweise auf C-O (Ether- und Esterbrücken) und C-C Bindungen.

Der Einsatz der ¹³C-NMR (hier CPMAS) an Mineralböden in Verbindung mit ¹³Cmarkierten Substanzen (hier ¹³C-Acetat) wurde erstmalig von PRESTON und RIPMEESTER (1983) beschrieben. Die NMR-Spektren von dotierten und undotierten Gesamtböden zeigten bereits Unterschiede, jedoch waren diese nicht hinreichend genau. Eine Verbesserung der Spektrenqualität wurde durch die Messung der Feinkornfraktion (< 50 µm) und die Anwendung der Differenzspektroskopie erzielt. Das Differenzspektrum erhält man durch die computergesteuerte Subtraktion der Spektren aus dotiertem und undotiertem Material. Diese Verfahrensweise erleichtert die Spektrenauswertung und wurde auch von anderen Autoren eingesetzt (WAIS et al., 1995a und c).

Die Anwendung der ¹⁵N-NMR auf dem Gebiet der gebundenen Rückstände ist bisher nur in wenigen Arbeiten publiziert worden. THORN und MIKITA (1992) untersuchten die Reaktion von ¹⁵N-markiertem Ammoniumhydroxid mit Fulvin- und Huminsäuren unter Einsatz der ¹⁵N-Hochauflösungs-NMR. Sie konnten einige heterocyclische Verbindungen als Primärprodukte der Ammoniumfixierung an Huminstoffe nachweisen. Ähnliche Produkte wurden in Studien mit ¹⁵N-markiertem Chloramin und Fulvinsäuren festgestellt (GRINWALLA und MIKITA, 1992). Die Bindungsform von Anilin mit Huminstoffen unter Anwendung der ¹⁵N-Hochauflösungs-NMR und ¹⁵N-Festkörper-NMR war Gegenstand der Forschungsarbeiten von THORN et al. (1996a und b). Es konnten die Strukturen verschiedener

durch nucleophile Addition gebildeter Schadstoff/Huminstoff-Konjugate aufgeklärt werden.

Die ¹³C-NMR eignet sich ebenfalls zur Untersuchung schwacher, nicht-kovalenter Bindungen zwischen Schadstoffen und Huminstoffen (BORTIATYNSKI et al., 1997; NANNY et al. 1997; NANNY, 1997). Beispielsweise untersuchten GUTHRIE et al. (1999) den Abbau von ¹³C-angereichertem Pyren in einem Sediment. Mittels ¹³C-CPMAS-NMR konnte eine nicht-kovalente Assoziation des unveränderten Ausgangsmoleküls mit der Huminstoffmatrix des Sedimentes nachgewiesen werden.

Bisher fehlen Arbeiten zum kernresonanzspektroskopischen Nachweis von kovalenten Bindungen zwischen PAK bzw. ihren Oxidationsprodukten und Bodenhuminstoffen. Demgegenüber steht die lückenhafte Kenntnis über den Verbleib von in Bodensystemen zeitlich begrenzt nachweisbaren PAK-Transformationsprodukten (s. Kap. 6).

Um zur Aufklärung dieser Fragestellungen beizutragen, wurden Abbauversuche mit ¹³C-angereicherten PAK in Bodenmaterialien durchgeführt. In bestimmten Zeitabständen wurden Proben entnommen und die isolierten Huminstoffe mittels ¹³C-CPMAS-NMR vermessen. In parallelen Kontrollansätzen erfolgte die Dotierung mit entsprechenden PAK, die eine natürliche ¹³C-Häufigkeit aufwiesen bzw. es erfolgte keine Dotierung. Die Kontrollproben dienten dazu, detektierbare NMR-Signale auf die ¹³C-Anreicherung zurückführen zu können. Neben Ah- und Ah/Kompost-Material wurde auch ein künstlicher Modellboden konzipiert, bei dem störende Einflüsse durch anorganische Bodenbestandteile ausgeschlossen werden konnten (s. Kap. 3).

7.2 Durchführung

7.2.1 ¹³C₁-Phenanthren-Abbau in Ah- und Ah/Ko-Material

Es wurde 100,6 g luftgetrocknetes und auf < 2mm gesiebtes Ah-Bodenmaterial (entspr. 100,0 g TM) in einem 1L-Weckglas mit insgesamt 15,85 g demineralisiertem Wasser auf ca. 50 % WHK_{max} eingestellt. Die Dotierung erfolgte mit 100 mg ¹³C₁-Phenanthren, das entspricht einer Konzentration von 1 g/kg TM. Auf die gleiche Weise wurden Kontrollansätze mit Phenanthren (natürliche Häufigkeit an ¹³C) bzw. ohne Dotierung angesetzt. Entsprechend wurden Ah/Kompost-Versuchsansätze hergestellt. Dazu wurde im Gegensatz zu den Ah-Ansätzen 90,5 g luftgetrocknetes Ah-Material (entspr. 90,0 g TM) und 13,9 g feuchtes Kompostmaterial (entspr. 10,0 g TM) verwendet. Die Bodenfeuchte wurde mit insgesamt 26,1 g Wasser auf ca. 57 % WHK_{max} eingestellt.

Für alle Versuchsansätze wurde derart vorgegangen, daß zunächst 35 g des Ah-Materials mit der PAK-Lösung (100 mg gelöst in 5 mL Dichlormethan) bzw. im Fall der unkontaminierten Kontrolle mit 5 mL Dichlormethan versetzt wurden. Nach gründlicher Homogenisierung und dem Verdampfen des Lösungsmittels wurde das restliche Ah-Material sowie die weiteren Bestandteile eingerührt. Die Gläser wurden mit luftdichter Polyethylenfolie abgedeckt, gewogen und während der gesamten Versuchsdauer abgedunkelt bei Raumtemperatur gelagert. In siebentägigen Abständen wurden die Gläser erneut gewogen und infolge von Verdampfung aufgetretene Wasserverluste ausgeglichen. Die Probenahme erfolgte nach 87 und 168 Tagen.

1. Probenahme (87. Tag):

Für die Bestimmung des Anteils der extrahierbaren organischen Kontaminanten wurde im Fall des Ah-Ansatzes 46,4 g (FG, entspr. 40,0 g TM) und im Fall des Ah/Ko-Ansatzes 50,5 g (FG, entspr. 40,0 g TM) Bodenmaterial nach gründlichem Rühren des Versuchsansatzes in eine Soxhlethülse eingewogen. Auf eine Trocknung des Materials wurde verzichtet, um ein Verschleppen des Trocknungsmittels in die Huminstoff-Isolate (s. unten) zu vermeiden. Die Extraktion erfolgte nacheinander und jeweils für 8 h mit 200 mL Aceton, Methanol und Dichlormethan in der Soxhlet-Apparatur. Die Extrakte wurden jeweils über einer geeigneten Menge an wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, filtriert, am Vakuumrotationsverdampfer auf ca. 50 mL eingeengt, vereinigt und schließlich zur Trockne eingeengt. Nach Aufnahme mit ca. 35 mL n-Heptan wurde der vereinigte Extrakt mittels der in Kap. 10.3.2.2 beschriebenen SPE fraktioniert und die einzelnen Fraktionen nach Fertigstellung und Zugabe eines internen Standards der Messung zugeführt. Die Konzentration des verbliebenen extrahierbaren PAK-Anteils wurde mittels GC-FID

bestimmt. Extrahierbare Abbauprodukte wurden mittels GC-MSD identifiziert (GC-Bedingungen s. Kap. 10.2.1 und 10.2.2).

Das extrahierte Bodenmaterial wurde vollständig von Lösungsmittelresten befreit und nach gründlicher Homogenisierung in zwei Hälften zu je 20,0 g aufgeteilt. Die Isolierung der Huminstoff-Fraktionen erfolgte gemäß der in Kap. 10.3.6 beschriebenen Vorgehensweise, wobei für beide Probenhälften zunächst die Dithionit-Behandlung (Fe³⁺-Reduktion) durchgeführt wurde. Isoliert wurden die Fraktionen Huminsäure, Fulvinsäure und Humin. Die jeweiligen Huminstoff-Isolate der beiden Parallelansätze wurden vereinigt, um eine größere Probenmenge zur Verfügung zu haben. Für die NMR-Messung (Bedingungen s. Kap. 10.2.4) wurden ausschließlich die Huminsäure- und Huminproben eingesetzt, da die isolierte Fulvinsäuremenge nicht zum Befüllen des NMR-Rotors ausreichte. Für einige Huminstoff-Isolate wurde der Aschegehalt (s. Kap. 5.2.2) bestimmt.

2. Probenahme (168. Tag):

Die Extraktion der organischen Kontaminanten erfolgte entsprechend der ersten Probenahme, wobei diesmal das gesamte restliche Bodenmaterial verwendet wurde (entspr. 59,3 g TM für Ah-Ansatz und 57,6 g TM für Ah/Ko-Ansatz). Im Gegensatz zum 87. Tag wurden die vereinigten und zur Trockne eingeengten Extrakte mit deuteriertem Methanol aufgenommen und mittels ¹³C-Hochauf-lösungs-NMR vermessen (Bedingungen s. Kap. 10.2.5). Damit sollte untersucht werden, ob über die ¹³C-Markierung ein Nachweis von der extrahierbaren Ausgangsverbindung bzw. von entsprechenden Abbauprodukten geführt werden kann.

Das extrahierte Bodenmaterial wurde entsprechend der ersten Probenahme vorbehandelt. Entgegen der ersten Probenahme wurde lediglich die Huminsäure-Fraktion gemäß Kap. 10.3.6 gewonnen, wobei für alle Ansätze auf die Dithionit-Behandlung (Fe³⁺-Reduktion) verzichtet wurde. Neben der NMR-Messung (Bedingungen Kap. 10.2.4) erfolgte die Bestimmung des Aschegehaltes (Kap. 5.2.2).

7.2.2 ¹³C₃-Fluoranthen-Abbau in Ah/Ko-Material

Es wurde 90,5 g luftgetrocknetes und auf < 2 mm gesiebtes Ah-Bodenmaterial (entspr. 90,0 g TM) und 15,6 g feuchtes Kompostmaterial (entspr. 10,0 g TM) in einem 1L-Weckglas mit insgesamt 26,1 g demineralisiertem Wasser auf ca. 57 % WHK_{max} eingestellt. Die Dotierung erfolgte mit 100 mg ¹³C₃-Fluoranthen, das entspricht einer Konzentration von 1 g/kg TM. Entsprechend wurden Kontrollansätze mit Fluoranthen (natürliche Häufigkeit an ¹³C) bzw. ohne Dotierung angesetzt.

Für alle Versuchsansätze wurde wie in Kap. 7.2.1 beschrieben vorgegangen. Die Probenahme erfolgte nach 110 und 300 Tagen.

1. Probenahme (110. Tag):

Für die Bestimmung des Anteils der extrahierbaren organischen Kontaminanten wurde 50,5 g (FG, entspr. 40,0 g TM) Bodenmaterial nach gründlichem Rühren des Versuchsansatzes in eine Soxhlethülse eingewogen. Die Extraktion, das Clean-up und die GC-Messung erfolgte wie in Kap. 7.2.1 (erste Probenahme) dargestellt. Das extrahierte Bodenmaterial wurde vollständig von Lösungsmittelresten befreit und nach gründlicher Homogenisierung in zwei Hälften zu je 20,0 g aufgeteilt. Die Isolierung der Huminstoff-Fraktionen erfolgte gemäß der in Kap. 10.3.6 beschriebenen Vorgehensweise, wobei für die eine Probenhälfte zunächst die Dithionit-Behandlung (Fe³⁺-Reduktion) durchgeführt wurde. Für die andere Probenhälfte wurde dieser Schritt umgangen, es wurde sofort mit der alkalischen Extraktion begonnen. Isoliert wurden die Fraktionen Huminsäure, Fulvinsäure und Humin. Zur NMR-Messung (Bedingungen s. Kap. 10.2.4) wurden ausschließlich die Huminsäure- und Huminproben eingesetzt, da die isolierte Fulvinsäuremenge nicht zum Befüllen des NMR-Rotors ausreichte. Für einige Huminstoff-Isolate wurde der C-Gehalt (Bedingungen s. Kap. 10.2.6) und der Aschegehalt (s. Kap. 5.2.2) bestimmt.

2. Probenahme (300. Tag):

Die Extraktion der organischen Kontaminanten erfolgte entsprechend der ersten Probenahme, wobei diesmal das gesamte restliche Bodenmaterial verwendet wurde (entspr. 58,7 g TM). Im Gegensatz zum 110. Tag wurde der vereinigte und zur Trockne eingeengte Extrakt mit deuteriertem Methanol aufgenommen und aus den in Kap. 7.2.1 (zweite Probenahme) genannten Gründen mittels ¹³C-Hochauflösungs-NMR vermessen (Bedingungen s. Kap. 10.2.5).

Das extrahierte Bodenmaterial wurde vollständig von Lösungsmittelresten befreit und nach gründlicher Homogenisierung wurden zweimal 20,0 g entnommen. Die Isolierung der Huminstoffe erfolgte gemäß der in Kap. 10.3.6 beschriebenen Vorgehensweise, wobei in beiden Fällen die Dithionit-Behandlung (Fe³⁺-Reduktion) ausgelassen und lediglich die Huminsäure-Fraktion gewonnen wurde. Es wurde anschließend wie bei der ersten Probenahme vorgegangen, jedoch wurden zuvor die jeweiligen Huminsäure-Isolate der beiden Parallelansätze miteinander vereinigt, um eine größere Probenmenge zur Verfügung zu haben.

7.2.3 ¹³C₁-Phenanthren-Abbau in einem künstlichen Modellboden

Es wurden 10 g feinkörniger, geglühter Quarzsand, 26,37 mg ¹³C₁-Phenanthren sowie 174,4 mg (entspr. 130,8 mg aschefreier Substanz) einer kommerziell erhältlichen Huminsäure (Acros, Na-Salz) in eine 50 mL-Braunglasflasche eingewogen und das Material zwecks optimaler Verteilung der Kontamination vollständig mit Dichlormethan übergossen. Nach gründlicher Homogenisierung der Suspension wurde das Lösungsmittel im Stickstoffstrom vorsichtig abgedampft. Der Ansatz wurde anschließend mit 3 mL eines wäßrigen Bodenextraktes befeuchtet und nochmals homogenisiert. Die Herstellung des wäßrigen Bodenextraktes erfolgte durch Zentrifugation einer Suspension aus 10 g Ah/Kompost-Material (1:1, m:m) und 20 mL demineralisiertem Wasser. Die Braunglasflasche wurde abschließend mit luftdurchlässiger Polyethylenfolie abgedeckt, gewogen und während der Versuchsdauer von 89 Tagen abgedunkelt bei Raumtemperatur gelagert. In siebentägigen Abständen wurde das Glas erneut gewogen und infolge von Verdampfung aufgetretene Wasserverluste ausgeglichen. Entsprechend wurde ein unkontaminierter Kontrollansatz hergestellt.

Für die Bestimmung des Anteils der extrahierbaren organischen Kontaminanten wurde das gesamte Bodenmaterial unter Nachspülen mit insgesamt 60 mL Aceton in ein 250 mL-Zentrifugenglas überführt. Die Extraktion erfolgte für 30 min

im Ultraschallbad. Nach Zentrifugation und Entnahme des Acetonextraktes wurde das Bodenmaterial auf die gleiche Weise mit jeweils 60 mL Methanol und Dichlormethan behandelt. Der Dichlormethanextrakt wurde so gewonnen, daß die gesamte Suspension über eine Faltenfilter filtriert und der Filterrückstand mehrmals mit Dichlormethan nachgespült wurde. Die Extrakte wurden jeweils über einer geeigneten Menge an wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet, filtriert, vereinigt und am Vakuumrotationsverdampfer auf 1 mL eingeengt. Die Konzentration des verbliebenen extrahierbaren PAK-Anteils wurde über einen externen Standard mittels GC-FID bestimmt (GC-Bedingungen s. Kap. 10.2.1). Der Extrakt wurde anschließend zur Trockne eingeengt, mit deuteriertem Methanol aufgenommen und aus den in Kap. 7.2.1 (2. Probenahme) genannten Gründen mittels ¹³C-Hochauflösungs-NMR vermessen (Bedingungen s. Kap. 10.2.5).

Der verbliebene Filterrückstand wurde vom restlichen Lösungsmittel befreit und vollständig in ein 250 mL-Zentrifugenglas überführt. Nach Zugabe von 50 mL einer 0,1 mol/L NaOH-Lösung wurde der Glasinnenraum gemäß der Arbeitsvorschrift in Kap. 10.3.6 mit Stickstoff begast und das Gefäß zügig verschlossen. Nach 15 minütigem Schütteln und Zentrifugation wurde der alkalische Extrakt in ein neues Glas filtriert und die gelösten Huminsäuren mittels konz. Salzsäure gefällt. Anschließend wurde wie in Kap. 10.3.6 beschrieben weiter verfahren. Die gefriergetrockneten Huminsäuren wurden mittels ¹³C-CPMAS-NMR vermessen (Bedingungen s. Kap. 10.2.4).

7.3 Ergebnisse

7.3.1 Verbleib von ¹³C₁-Phenanthren in Ah- und Ah/Ko-Material

Unter Berücksichtigung der elementaren Zusammensetzung von ¹³C₁-Phenanthren (¹³C = 8,22 %, ¹²C = 86,16 %, H = 5,62 %) sowie des Kohlenstoffgehaltes des verwendeten Bodenmaterials (TC_{Ah} = 1,10 %, TC_{Ah/Ko} = 2,62 %, ¹³C = 1,11 % von TC) läßt sich anhand der vorgenommenen Dotierung von 100 mg/100 g (TM) das Verhältnis ¹³C-Aktivität_{PAK} / ¹³C-Aktivität_{BODEN} berechnen. Für den Ah-Ansatz ergibt sich ein Verhältnis von etwa 1/1,5 bzw. 1/3,5 für den Ah/Ko-Ansatz.

Am 87. Tag erfolgte die erste Probenahme. Zu diesem Zeitpunkt konnten noch 33 % (Ah) bzw. 12 % (Ah/Ko) des dotierten ¹³C₁-Phenanthrens aus den jeweiligen Bodenmaterialien extrahiert werden. Oxidationsprodukte waren dagegen nicht nachweisbar. Folglich ergibt sich für das vorextrahierte Bodenmaterial am 87. Tag ein korrigiertes ¹³*C*-*Aktivität*_{PAK} / ¹³*C*-*Aktivität*_{BODEN} -Verhältnis von 1/2 (Ah) bzw. 1/4 (Ah/Ko). Etwaige Verluste von Boden-C infolge der Lösungsmittelextraktion sind hier nicht eingerechnet.

Betrachtet man den Abbauweg des Phenanthrens, so lassen sich Rückschlüsse auf die zu erwartenden NMR-Signale ziehen (*Abb. 20*). Wiedergegeben sind nur die wichtigsten Intermediärprodukte. Da die Positionen 1 und 8 im Phenanthrenmolekül einander gleichen, ergeben sich zwei mögliche Pfade für den Verbleib der ¹³C-Markierung. Je nachdem, ob die Markierung im aromatischen Ring verbleibt oder aber in eine funktionelle Gruppe transferiert wird, sind bei entsprechender Anbindung der Moleküle an die Huminstoffmatrix unterschiedliche NMR-Signale zu erwarten (um 125 ppm bei aromatischem C, um 190 ppm bei carbonylischem oder carboxylischem C, s. auch *Tab. 7*, S. 31).

Abb. 21 (S. 107) zeigt die ¹³C-CPMAS-NMR-Spektren von Huminsäuren und Huminen aus ¹³C₁-Phenanthren-dotierten Bodenproben im Vergleich zu entsprechenden undotierten Materialien. Die Unterschiede zwischen den jeweiligen Spektren basieren fast ausschließlich auf der Art des Bodenmaterials und der daraus gewonnenen Huminstoff-Fraktion. Die Vorextraktion des Ausgangsmaterials mit organischen Lösungsmitteln geht einher mit einem deutlich verminderten Aliphatensignal (0 - 45 ppm) im NMR-Spektrum (vergl. *Abb. 21a* mit den oberen Spektren aus *Abb. 21b* bis *c*). Eine durch das eingebrachte ¹³C₁-Phenanthren hervorgerufene Veränderung des Spektrums konnte nicht eindeutig belegt werden. Jedoch deutete sich in einem Fall eine Zunahme des Aromatensignals im Vergleich zum Spektrum des undotierten Materials an (*Abb. 21b*). Hervorzuheben ist jedoch, daß bei gleichem Ausgangsmaterial trotz komplexer Aufarbeitungsschritte sehr gut reproduzierbare NMR-Spektren erhalten werden können (*Abb. 21c* bis *d*). Die Prozentangaben in *Abb. 21b* und *c* beziehen sich auf den noch extrahierbaren Phenanthrenanteil (s. oben). Die Huminstoff-Isolate aus Böden, die

mit unmarkiertem Phenanthren dotiert waren, zeigten NMR-Spektren entsprechend den undotierten Materialien (hier nicht dargestellt).

Die Aschegehalte der in *Abb. 21* dargestellten Huminstoffe betrugen jeweils für das obere und untere Spektrum *a*: 23,5 und 13,4 %, *b*: 4,8 und 4,2 %, *c*: 8,3 und 6,0 % sowie *d*: 59,9 und 60,7 %.



Abb. 20 Mikrobielle Phenanthren-Abbauwege unter Berücksichtigung der ¹³C-Position (•) und zu erwartende chemische Verschiebungen



Abb. 21
¹³C-CPMAS-NMR-Spektren von Huminsäuren (HS) und Huminen (Hm) aus undotierten und mit ¹³C₁-Phenanthren (¹³C₁-Phe) dotierten Bodenmaterialien: a) ohne Vorextraktion mit Lösungsmitteln, b-d) mit Lösungsmittelvorextraktion nach einer Versuchsdauer von 87 Tagen

Am 168. Tag erfolgte die zweite Probenahme, wobei die Analyse des Lösungsmittelextraktes ausschließlich qualitativ mittels ¹³C-Hochauflösungs-NMR durchgeführt wurde. Folglich konnte für das vorextrahierte Bodenmaterial kein entsprechendes ¹³C-Aktivität_{PAK}/¹³C-Aktivität_{BODEN}-Verhältnis berechnet werden. In den Extrakten der dotierten Bodenmaterialien konnte lediglich ¹³C₁-Phenanthren nachgewiesen werden. Die detektierten Signale des NMR-Spektrums ließen nicht auf das Vorhandensein weiterer ¹³C-markierter Verbindungen schließen (hier nicht dargestellt). **Abb. 22** zeigt die ¹³C-CPMAS-NMR-Spektren von Huminsäuren aus ¹³C₁-Phenanthren-dotiertem Ah-Bodenmaterial (**b**, Aschegehalt: 5,1 %) im Vergleich zum entsprechenden undotierten Material (**a**, Aschegehalt: 4,9 %) sowie zwei auf unterschiedliche Weise erstellte Differenzen dieser Spektren (*c***-d**). Die Huminstoff-Isolate aus Böden, die mit unmarkiertem Phenanthren dotiert waren, zeigten NMR-Spektren entsprechend den undotierten Materialien (hier nicht dargestellt).

Erfolgt die Differenzbildung anhand des Hintergrundes beider Spektren (*c*), so treten deutliche Signale im Bereich von 30 ppm (Aliphaten), 55 ppm (Methoxy-Gruppen), 125 ppm (Aromaten) und 175 ppm (Carboxyl-Gruppen) hervor. Dieses Ergebnis läßt vermuten, daß eine Anbindung ¹³C-markierter Verbindungen an die Huminsäure erfolgt ist. Insbesondere die Signale bei 125 und 175 ppm waren aufgrund der bekannten Phenanthren-Abbauwege zu erwarten (*Abb. 20*, S. 106). Diese Aussage ist jedoch auf alleiniger Basis der NMR-Spektren nicht zulässig. Das zeigt sich besonders im Differenzspektrum (*d*), wo die Differenzbildung anhand der größten NMR-Signale erfolgte. Hier treten keine Signale hervor, die auf die Existenz eines Schadstoff/Huminstoff-Komplexes schließen lassen.

Dieses Beispiel verdeutlicht, daß die Differenzspektroskopie sicher ihre Berechtigung bei der Unterscheidung von NMR-Spektren besitzt, die Durchführung aber mit äußerster Sorgfalt und unter Beachtung möglicher Fehlerquellen vorzunehmen ist. Darüber hinaus deutete sich an, daß eine Dotierung des Bodenmaterials mit ¹³Cangereicherten PAK in Größenordnungen, die zu einem ¹³C-Aktivität_{PAK} / ¹³C-*Aktivität*_{BODEN}-Verhältnis von < 1/4 führen, nicht geeignet ist, Schadstoff/Huminstoff-Komplexe anhand von Huminstoffisolaten nachzuweisen. Diese Beobachtung ist vergleichbar mit den Ergebnissen, die bei NMR-Messungen von Gesamtbodenmaterial gemacht wurden (s. Kap. 5.3).



7.3.2 Verbleib von ¹³C₃-Fluoranthen in Ah/Ko-Material

Unter Berücksichtigung der elementaren Zusammensetzung von ¹³C₃-Fluoranthen (¹³C = 7,38 %, ¹²C = 87,66 %, H = 4,96 %) sowie des Kohlenstoffgehaltes des verwendeten Bodenmaterials (TC_{Ah/Ko} = 2,62 %, ¹³C = 1,11 % von TC) läßt sich anhand der vorgenommenen Dotierung von 100 mg/100 g (TM) das Verhältnis ¹³C-*Aktivität_{BODEN}* berechnen. Für den Ah/Ko-Ansatz ergibt sich ein Verhältnis von etwa 1/4,4, wobei die Verunreinigung des verwendeten Synthese-produktes mit Fluoren eingerechnet wurde.

Am 110. Tag erfolgte die erste Probenahme. Zu diesem Zeitpunkt konnten noch 48,6 % des dotierten ${}^{13}C_3$ -Fluoranthens und 5,7 % der Fluorenverunreinigung aus dem Bodenmaterial extrahiert werden. Als Oxidationsprodukt war lediglich 9-Fluorenon nachweisbar, ein Abbauprodukt des Fluorens. Folglich ergibt sich für das vorextrahierte Bodenmaterial am 110. Tag ein korrigiertes ${}^{13}C$ -*Aktivität*_{PAK}/ ${}^{13}C$ -*Aktivität*_{BODEN}-Verhältnis von ca. 1/8,6, wobei etwaige Verluste von Boden-C infolge der Lösungsmittelextraktion hier nicht eingerechnet sind.

Betrachtet man den Abbauweg des Fluoranthens, so lassen sich Rückschlüsse auf die zu erwartenden NMR-Signale ziehen (Abb. 23). Wiedergegeben ist nur das Intermediärprodukt 9-Fluorenon-1-carbonsäure. Da die Positionen 3 und 4 im Fluoranthenmolekül einander gleichen, ergeben sich zwei mögliche Pfade für den Verbleib der ¹³C-Markierung. Je nachdem, ob die Markierung im aromatischen Ring verbleibt oder aber in eine funktionelle Gruppe transferiert wird, sind bei entsprechender Anbindung der Moleküle an die Huminstoffmatrix unterschiedliche NMR-Signale zu erwarten (um 125 ppm bei aromatischem C, 160-190 ppm bei carboxylischem C, s. auch Tab. 7, S. 31). Neben 9-Fluorenon-1-carbonsäure sind nach KELLEY et al. (1993) zahlreiche weitere mikrobielle Abbauprodukte denkbar (9-Fluorenol-1-carbonsäure, 8-Hydroxy-7-methoxyfluoranthen, 9-Fluorenol, 9-Fluorenon, 1-Acenaphthenon, Phthalsäure, 2-Carboxybenzaldehyd, Benzoesäure, Phenylessigsäure und Adipinsäure, s. auch Tab. 10, S. 58). Sofern diese Metaboliten aufgrund des Abbauweges überhaupt noch die ¹³C-Markierung enthalten können, wäre diese ebenfalls im Aromatenring (ca. 125 ppm) oder in einer carbonylischen bzw. carboxylischen Gruppe (um die 190 ppm) lokalisiert. Daher wird hier auf die detaillierte Darstellung verzichtet.



Abb. 23

Mikrobieller Fluoranthen-Abbau unter Berücksichtigung der ¹³C-Position (•) und zu erwartende chemische Verschiebungen Die ¹³C-CPMAS-NMR-Spektren der am 110. Tag aus dotierten und undotierten Bodenmaterialien isolierten Huminsäuren und Humine zeigten keine signifikanten Unterschiede, die auf eine Anbindung von Schadstoffen hätten schließen lassen können (hier nicht dargestellt).

Am 300. Tag erfolgte die zweite Probenahme, wobei die Analyse des Lösungsmittelextraktes ausschließlich qualitativ mittels ¹³C-Hochauflösungs-NMR durchgeführt wurde. Folglich konnte für das vorextrahierte Bodenmaterial kein entsprechendes ¹³C-Aktivität_{PAK} / ¹³C-Aktivität_{BODEN}-Verhältnis berechnet werden. In dem Extrakt des dotierten Bodenmaterials konnte lediglich ¹³C₃-Fluoranthen nachgewiesen werden. Die detektierten Signale des NMR-Spektrums ließen nicht auf das Vorhandensein weiterer ¹³C-markierter Verbindungen schließen (hier nicht dargestellt).

Abb. 24 zeigt die ¹³C-CPMAS-NMR-Spektren von Huminsäuren aus ¹³C₃-Fluoranthen-dotiertem Ah/Ko-Bodenmaterial (**b**, Aschegehalt: 31,6 %) im Vergleich zum entsprechenden undotierten Material (**a**, Aschegehalt: 32,4 %) sowie zwei auf unterschiedliche Weise erstellte Differenzen dieser Spektren (*c***-d**). Die Huminstoff-Isolate aus Böden, die mit unmarkiertem Fluoranthen dotiert waren, zeigten NMR-Spektren entsprechend den undotierten Materialien (hier nicht dargestellt).

Erfolgt die Differenzbildung anhand des Hintergrundes beider Spektren (*c*), so treten deutliche Signale im Bereich von 30 (Aliphaten), 125 (Aromaten) und 175 ppm (Carboxyl-Gruppen) hervor. Dieses Ergebnis läßt vermuten, daß eine Anbindung ¹³C-markierter Verbindungen an die Huminsäure erfolgt ist. Im Differenzspektrum (*d*), wo die Differenzbildung anhand der größten NMR-Signale erfolgte, treten in abgeschwächter Form lediglich die Signale bei 125 und 175 ppm hervor. Obwohl in beiden Fällen auf das Vorhandensein von Schadstoff/Huminstoff-Komplexen unter Beteiligung von Fluoranthen bzw. Fluoranthenderivaten mit einer ¹³C-Markierung im Aromaten- bzw. Carboxylteil geschlossen werden kann (s. *Abb. 23* und *24*), ist dieses Ergebnis als nicht hinreichender Nachweis zu bewerten. Die NMR-Signale sind zu schwach und unspezifisch, so daß eine Absicherung mit anderen Methoden notwendig ist.



Abb. 24

¹³C-CPMAS-NMR-Spektren von Huminsäuren aus undotiertem und mit ¹³C₃-Fluoranthen dotiertem Ah/Ko-Bodenmaterial nach 300 Versuchstagen:

- a) undotiert,
- b) mit ¹³C₃-Fluoranthen dotiert,
- c) Differenzspektrum a-b
 - (Hintergrundanpassung),
- d) Differenzspektrum a-b(Signalanpassung)

Die in Kap. 7.3.1 getroffene Aussage, daß eine Dotierung des Bodenmaterials mit ¹³C-angereicherten PAK in Größenordnungen, die zu einem ¹³C-Aktivität_{PAK} / ¹³C-Aktivität_{BODEN}Verhältnis von < 1/4 führen, nicht geeignet ist, Schadstoff/Huminstoff-Komplexe nachzuweisen, konnte an dem hier vorgestellten Beispiel bestätigt werden.

7.3.3 Verbleib von ¹³C₁-Phenanthren in einem Modellboden

Unter Berücksichtigung der elementaren Zusammensetzung von ¹³C₁-Phenanthren (¹³C = 8,22 %, ¹²C = 86,16 %, H = 5,62 %) sowie des Kohlenstoffgehaltes der verwendeten Huminsäure (TC_{Acros-HS} = 44,61 %, ¹³C = 1,11 % von TC) läßt sich anhand der vorgenommenen Dotierung von 26,37 mg PAK/130,8 mg Huminsäure (TM, aschefrei; entspr. 1:5; m:m) das Verhältnis ¹³C-Aktivität_{PAK} / ¹³C-Aktivität_{BODEN} berechnen. Für den Modell-Ansatz ergibt sich ein Verhältnis von etwa 3,2/1, d.h. im Gegensatz zu den in den Kap. 7.3.1 und 7.3.2 beschriebenen Dotierungen wird die ¹³C-Aktivität hauptsächlich durch den Schadstoff eingebracht.

Am Tag der Probenahme (89. Tag) konnte noch 39,8 % des dotierten ¹³C₁-Phenanthrens aus dem Bodenmaterial extrahiert werden. Oxidationsprodukte waren gaschromatographisch nicht nachweisbar. Mittels ¹³C-Hochauflösungs-NMR konnte ebenfalls nur ¹³C₁-Phenanthren im Extrakt des dotierten Materials nachgewiesen werden. Die detektierten Signale des NMR-Spektrums ließen nicht auf das Vorhandensein weiterer ¹³C-markierter Verbindungen schließen (hier nicht dargestellt). Folglich ergibt sich für das vorextrahierte Bodenmaterial am 89. Tag ein korrigiertes ¹³C-Aktivität_{PAK} / ¹³C-Aktivität_{BODEN} -Verhältnis von 2/1. Etwaige Verluste von Huminsäure-C infolge der Lösungsmittelextraktion sind hier nicht eingerechnet.

Der Abbauweg des Phenanthrens (*Abb. 20*, S. 106) und die damit verbundenen Erwartungen an das Auftreten von NMR-Signalen wurde für ${}^{13}C_1$ -Phenanthren bereits in Kap. 7.3.1 abgehandelt.

Abb. 25 zeigt die ¹³C-CPMAS-NMR-Spektren von Huminsäuren aus dem mit ¹³C₁-Phenanthren dotierten Modellboden (a, Aschegehalt: n.b.) im Vergleich zum entsprechenden undotierten Material (b, Aschegehalt: n.b.) sowie die Differenz dieser Spektren (c). Das dargestellte Differenzspektrum erhält man sowohl bei der Differenzbildung durch Anpassung des Hintergrundes als auch durch Anpassung der größten Signale. Demzufolge ist den damit erzielten Ergebnissen eine weitaus größere Bedeutung beizumessen als den in den vorangegangenen Kapiteln veranschaulichten Differenzspektren.

Das markanteste NMR-Signal tritt bei etwa 127 ppm auf und ist auf aromatische C-Atome zurückzuführen. Aber auch die Signale bei 63 ppm (O-Alkyl, z.B. -CH₂OH), 73 ppm (O-Alkyl, z.B. =CHOH), 150 ppm (aromatische COR-Gruppe) und 190 ppm (Carboxyl- oder Carbonyl-Gruppe) treten deutlich hervor, darüber hinaus auch bei ca. 135 ppm (aromatische COR-Gruppe).

Dieses Ergebnis liefert ein deutliches Indiz dafür, daß eine Anbindung von ¹³Cmarkierten Phenanthrenderivaten an die Huminsäure erfolgt ist. Insbesondere die Signale bei 127 und 190 ppm waren aufgrund der bekannten Phenanthren-Abbauwege zu erwarten (*Abb. 20*, S. 106). Das Aromatensignal kann sowohl durch die Ausgangsverbindung als auch durch zahlreiche Abbauprodukte hervorgerufen werden. Dagegen deutet das Signal bei 190 ppm auf eine Transformation der ¹³C- Markierung vom aromatischen Ring in andere Bereiche des Moleküls hin. In Frage kommen funktionelle Carbonyl- oder Carboxylgruppen. Der Nachweis von Abbauprodukten, die eine Carboxylgruppe enthalten, würde auf estergebundene Schadstoffmoleküle hinweisen (s. hierzu Kap. 7.4). Inwiefern die zusätzlich erkennbaren NMR-Signale durch die chemische Transformation des markierten Schadstoffes hervorgerufen werden können bedurfte ebenfalls weiterer Untersuchungen (s. dazu Kap. 7.5).



7.4 Verifizierung der NMR-Ergebnisse durch Abspaltung und Identifizierung der huminstoffgebundenen PAK-Oxidationsprodukte

7.4.1 Durchführung

Die in Kapitel 7.3.3 mittels ¹³C-CPMAS-NMR erzielten Ergebnisse weisen u. a. auf eine mögliche Esterbindung zwischen Huminstoff und Schadstoff hin. Um diese gerechtfertigte Hypothese bestätigen zu können, bedurfte es einer zweiten, von der ¹³C-CPMAS-NMR-Messung unabhängigen Methode, die sowohl den Nachweis für das Vorhandensein einer Esterbindung als auch für die Anwesenheit des eingebrachten PAK (-Derivates) ermöglicht. Die Methode der alkalischen Hydrolyse mittels Na¹⁸OH (RICHNOW et al., 1994) in Kombination mit der Verwendung ¹³C-markierter PAK erfüllt diese Anforderungen und wurde deshalb zur Verifizierung der NMR-Ergebnisse herangezogen (s. dazu Kap. 5.4).

Dazu wurde die aus dem kontaminierten Modellboden isolierte (s. Kap. 7.2.3) und mittels NMR strukturell charakterisierte (s. Kap. 7.3.3) Huminsäure alkalisch derart hydrolysiert, daß abgespaltene und zuvor estergebundene (über ihre Carboxylgruppe) Schadstoffmoleküle eine ¹⁸O-Isotopenmarkierung aufweisen. Nach der Extraktion und anschließenden Derivatisierung dieser Spaltprodukte erfolgte deren Identifizierung mittels GC-MSD (s. Arbeitsvorschrift Kap. 10.3.7). Über den Anteil isotopenmarkierter (¹⁸O, ¹³C) Verbindungen, d. h. über das Verhältnis zwischen den entsprechenden Massenfragmenten im Spektrum, wurde ebenfalls die Quantifizierung der über die Dotierung eingebrachten als auch der estergebundenen PAK-Metabolite vorgenommen.

7.4.2 Ergebnisse

Sowohl in der Fraktion 1 (neutral) als auch in der Fraktion 2 (sauer) des Huminsäurehydrolysates konnte die Ausgangsverbindung ¹³C₁-Phenanthren nachgewiesen werden (s. am Beispiel der Fraktion 2, *Abb.* 26). Darüber hinaus erfolgte in der sauren Fraktion der Nachweis von drei Spaltprodukten, die als Trimethylsilylether und -ester (TMS)-Derivate von 1-Hydroxy-2-naphthoesäure (HNS), ortho-Phthalsäure (PHS) und 3,4-Dihydroxybenzoesäure (DHB) identifiziert wurden (*Abb.* 26). Diese drei Spaltprodukte stellen Abbauprodukte des Phenanthrens dar (*Abb.* 20, S. 106). Durch die Auswertung der jeweiligen Massenspektren - zusätzlich über den Vergleich mit den Spektren unmarkierter Standardsubstanzen - konnten isotopenmarkierte (¹⁸O, ¹³C) Moleküle identifiziert und über die Isotopenverhältnisse auf den durch die Dotierung eingebrachten und den estergebundenen Anteil geschlossen werden (*Abb.* 27 bis 29, S. 117 bis 121).



Abb. 26 GC-MSD-Chromatogramm der sauren Fraktion (2) des Huminsäurehydrolysates. TMS = Trimethylsilylether bzw. -ester-Derivate von Phthalsäure (PHS), 3,4-Dihydroxybenzoesäure (3,4-DHB) und 1-Hydroxy-2naphthoesäure (1-HNS)

Mögliche Fragmente von trimethylsilylierten Verbindungen sind in *Tab. 16* wiedergegeben. Eine Markierung durch das Isotop ¹⁸O wurde dabei berücksichtigt.

Struktur	Fragment (m/z)	Struktur	Fragment (m/z)
CH ₃ •	15	(CH ₃) ₃ SiOH	90
$CH_3^{\bullet} + CO_2$	59	(CH ₃) ₃ Si ¹⁸ O [•]	91
CH ₃ • + C ¹⁸ OO	61	(CH ₃) ₃ Si ¹⁸ OH	92
$CH_{3}^{\bullet} + C^{18}O_{2}$	63	(CH ₃) ₃ SiOCO [•]	117
(CH ₃) ₃ Si [•]	73	(CH ₃) ₃ Si ¹⁸ OCO [•]	119
(CH ₃) ₂ SiOH	75	(CH ₃) ₃ Si ¹⁸ OC ¹⁸ O [•]	121
(CH ₃) ₂ Si ¹⁸ OH	77	$(CH_3)_2SiOSi(CH_3)_3$	147
(CH ₃) ₃ SiO [•]	89	$(CH_3)_2Si^{18}OSi(CH_3)_3$	149

Tab. 16 Struktur und Masse von Fragmenten trimethylsilylierter Verbindungen



Abb. 27 Massenspektrum des unmarkierten (oben) und isotopenmarkierten (unten) TMS-Derivates der 1-Hydroxy-2-naphthoesäure (HNS)

Abb. 27 zeigt die Massenspektren von unmarkierten und isotopenmarkierten TMS-Derivaten der HNS. Charakteristische Massenfragmente der unmarkierten Verbindung sind m/z 332, 317, 259, 243, 185 und 73. Je nachdem ob eine ¹³Coder ¹⁸O-Markierung vorliegt, erhöhen sich die Massen der entsprechenden Fragmentionen. Da die alkalische Esterspaltung eine Gleichgewichtsreaktion darstellt, ist es möglich, daß zwei ¹⁸O-Atome in das abgespaltene Molekül eingebaut werden (RICHNOW et al., 1994). *Tab.* 17 gibt Aufschluß über die Massenfragmente der TMS-Derivate der HNS sowie über die Zuordnung zu den entsprechenden Strukturvarianten. Der Vergleich mit *Abb.* 27 (unten) belegt, daß alle möglichen drei isotopenmarkierten Strukturvarianten (A, B und C) des HNS-2TMS-Derivates im Huminsäurehydrolysat nachweisbar waren. Im Grunde handelt es sich dabei um sechs Strukturmöglichkeiten, da die ¹³C-Markierung sowohl im aromatischen Ring als auch in der funktionellen Gruppe des Moleküls auftreten kann (vergl. *Abb.* 20, S. 106 und *Abb.* 38, S. 197). Beide Möglichkeiten sind gleich wahrscheinlich.

Aus dem Abbauweg des Phenanthrens (*Abb. 20*, S. 106) und dem Fehlen des Massenfragmentes m/z 317 (*Abb. 27*, unten) ergibt sich, daß die identifizierte HNS ausschließlich aus dem Abbau des dotierten ${}^{13}C_1$ -Phenanthren stammt.

Fragmente	HNS	HNS-A	HNS-B	HNS-C
	(unmarkiert)	(¹³ C)	(¹³ C) (¹⁸ O)	(¹³ C) (¹⁸ O+,, ¹⁸ O")
(m/z)	(m/z)	(m/z)	(m/z)	(m/z)
М	332	333	335	337
M-15	317	318	320	322
M-73	259	260	262	264
M-89	243	244	246	248
M-91			244	246
M-147	185	186	188	190
M-149			186	188
73	73	73	73	73

Tab. 17 Strukturvarianten von HNS-2TMS und ihre Massenfragmente

Abb. 28 zeigt die Massenspektren von unmarkierten und isotopenmarkierten TMS-Derivaten der PHS. Charakteristische Massenfragmente der unmarkierten Verbindung sind m/z 310, 295, 221, 193, 163, 147 und 73. Je nachdem ob eine ¹³C- oder ¹⁸O-Markierung vorliegt, erhöhen sich die Massen der entsprechenden Fragmentionen. Da das PHS-Molekül zwei Carboxylgruppen enthält, ist der Einbau von insgesamt vier ¹⁸O-Atomen denkbar.



Abb. 28 Massenspektrum des unmarkierten (oben) und isotopenmarkierten (unten) TMS-Derivates der Phthalsäure (PHS)

Tab. 18 gibt Aufschluß über die Massenfragmente der TMS-Derivate der PHS sowie über die Zuordnung zu den entsprechenden Strukturvarianten. Der Vergleich mit *Abb. 28* (unten) belegt, daß alle möglichen zwölf (11 isotopenmarkierte und 1 unmarkierte) Strukturvarianten (A bis F3) des PHS-2TMS-Derivates im Huminsäurehydrolysat nachweisbar waren. Die ¹³C-Markierung verbleibt beim Phenanthren-Abbau entweder im aromatischen Ring oder wird - sofern sie im HNS-Molekül in der funktionellen Gruppe lokalisiert ist - "eliminiert" (vergl. *Abb. 20*, S. 106 und *Abb. 39*, S. 198). Beide Möglichkeiten sind gleich wahrscheinlich. Daraus und aus dem Verhältnis der Massenfragmente (*Abb. 28*, unten) ergibt sich,

daß die identifizierte PHS nicht ausschließlich aus dem Abbau des dotierten ¹³C₁-Phenanthrens stammt, sondern ebenfalls natürlich in der verwendeten Huminsäure enthalten gewesen sein muß.

Frag-	PHS-A	PHS-B ₁	PHS-B ₂	PHS-C ₁	PHS-C₂	$PHS-C_3$
mente	(unmarkiert)	(¹⁸ 0)	(¹⁸ 0+" ¹⁸ 0")	(2x ¹⁸ 0)	(2x ¹⁸ O+,, ¹⁸ O")	(2x ¹⁸ O+,,2x ¹⁸ O")
(m/z)	(m/z)	(m/z)	(m/z)	(m/z)	(m/z)	(m/z)
М	310	312	314	314	316	318
M-15	295	297	299	299	301	303
M-89	221	223	225	225	227	
M-91		221	223	223	225	227
M-117	193	195	197			
M-119		193		195	197	
M-121			193		195	197
M-147	163	165	167	167	169	
M-149		163	165	165	167	169
149		149	149	149	149	149
147	147	147	147	147	147	
73	73	73	73	73	73	73
Frag-	PHS-D	PHS-E₁	PHS-E₂	PHS-F₁	$PHS-F_2$	$PHS-F_3$
mente	(¹³ C)	(¹³ C)	(¹³ C)	(¹³ C)	(¹³ C)	(¹³ C)
		(¹⁸ 0)	(¹⁸ 0+" ¹⁸ 0")	(2x ¹⁸ 0)	(2x ¹⁸ O+" ¹⁸ O")	(2x ¹⁸ O+,,2x ¹⁸ O")
(m/z)	(m/z)	(m/z)	(m/z)	(m/z)	(m/z)	(m/z)
М	311	313	315	315	317	319
M-15	296	298	300	300	302	304
M-89	222	224	226	226	228	
M-91		222	224	224	226	228
M-117	194	196	198			
M-119		194		196	198	
M-121			194		196	198
M-147	164	166	168	168	170	
M-149		164	166	166	168	170
149		149	149	149	149	149
147	147	147	147	147	147	

Tab. 18 Strukturvarianten von PHS-2TMS und ihre Massenfragmente

Abb. 29 zeigt die Massenspektren von unmarkierten und isotopenmarkierten TMS-Derivaten der DHB. Charakteristische Massenfragmente der unmarkierten Verbindung sind m/z 370, 355, 311, 281, 223, 193, 73 und 59. Je nachdem ob eine ¹³C- oder ¹⁸O-Markierung vorliegt, erhöhen sich die Massen der entsprechenden Fragmentionen. Da das DHB-Molekül eine Carboxylgruppe enthält, ist der Einbau von insgesamt zwei ¹⁸O-Atomen denkbar.



Abb. 29 Massenspektrum des unmarkierten (oben) und isotopenmarkierten (unten) TMS-Derivates der 3,4-Dihydroxybenzoesäure (DHB)

Tab. **19** gibt Aufschluß über die Massenfragmente der TMS-Derivate der DHB sowie über die Zuordnung zu den entsprechenden Strukturvarianten. Der Vergleich mit der *Abb.* **29** (unten) belegt, daß alle möglichen sechs (5 isotopenmarkierte und 1 unmarkierte) Strukturvarianten (A bis D2) des DHB-3TMS-Derivates im Humin-säurehydrolysat nachweisbar sind. Die ¹³C-Markierung verbleibt entsprechend der PHS-Bildung entweder im aromatischen Ring oder wird "eliminiert" (vergl. *Abb.* **20**, S. 106 und *Abb.* **40**, S. 199). Beide Möglichkeiten sind gleich wahrscheinlich. Auch hier zeigt sich unter Berücksichtigung des Verhältnisses der Massenfragmente (Abb. **29**, unten), daß die identifizierte DHB nicht ausschließlich aus dem Abbau des dotierten ¹³C₁-Phenanthrens stammt, sondern ebenfalls natürlich in der verwendeten Huminsäure enthalten gewesen sein muß.

Fragmente	DHB-A	DHB-B₁	$DHB-B_2$	DHB-C	DHB-D₁	$DHB-D_2$
	(unmarkiert)	(¹⁸ 0)	(¹⁸ 0+" ¹⁸ 0")	(¹³ C)	(¹³ C) (¹⁸ O)	(¹³ C)
						(¹⁸ 0+" ¹⁸ 0")
(m/z)	(m/z)	(m/z)	(m/z)	(m/z)	(m/z)	(m/z)
М	370	372	374	371	373	375
M-15	355	357	359	356	358	360
M-59	311			312		
M-61		311			312	
M-63			311			312
M-89	281	283		282	284	
M-91		281	283		282	284
M-147	223	225	227	224	226	228
M-149		223	225		224	226
198						198
197			197			
196					196	196
195		195	195			
194				194	194	
193	193	193				
73	73	73	73	73	73	73
63			63			63
61		61			61	
59	59			59		

Tab. 19 Strukturvarianten von DHB-3TMS und ihre Massenfragmente

Die Massenfragmente 193 bis 198 erklären sich wie folgt: Das Fragment m/z 193 ist charakteristisch für mehrfach substituierte Benzolringe, wobei es sich bei einer der Substitutionen um eine Carboxylgruppe handeln muß (ZINK, 1995). Zwei Strukturen sind hier denkbar (*Abb. 30*). Einerseits ein positiv geladener Benzolring, der als Substituent noch eine trimethylsilylierte Carboxylgruppe enthält. Andererseits ein trimethylsilyliertes Hydroxybenzol mit einer Ketogruppe, welche die positive Ladung trägt. Die Stellung der Substituenten am Molekül ist für die Fragmentierung nicht von Bedeutung. Die positive Ladung sitzt immer dort, wo vor der Abspaltung eine Hydroxy- oder eine Carboxylgruppe positioniert war. Je nachdem ob eine ¹³C- oder ¹⁸O-Markierung vorliegt erhöht sich die Masse des Fragmentions. Da eine der beiden Varianten eine intakte Carboxylgruppe enthält, ist der Einbau von insgesamt zwei ¹⁸O-Atomen denkbar.



Eine quantitative Darstellung über die Bindungsverhältnisse der identifizierten Phenanthren-Abbauprodukte liefert **Tab. 20**. Danach stammt die nachgewiesene HNS zu 100 % aus der ${}^{13}C_1$ -Phenanthren-Dotierung. 49 % davon lagen über die Carboxylgruppe estergebunden vor. Ob die anderen 51 % ebenfalls in Form einer Esterbindung (über die Hydroxygruppe) an die Huminsäure assoziiert vorlagen oder aber nicht-kovalent bzw. nur "eingelagert" waren, kann mit der hier durchgeführten Methode nicht festgestellt werden. Im Fall der PHS konnten 49 % auf die Dotierung und 51 % auf ein natürliches Vorhandensein zurückgeführt werden. 80 % des natürlichen Anteils lagen estergebunden vor, während 20 % anders gebunden bzw. nur "eingelagert" waren. Der aus der Dotierung stammende Anteil war zu 70 % estergebunden und zu 30 % anderweitig gebunden/"eingelagert". 58 % der DHB konnten der Dotierung zugeschrieben werden, wovon 73 % über die Carboxylgruppe estergebunden und 27 % anders

gebunden/"eingelagert" waren. Von den 42 %, die natürlich in der Huminsäure enthalten waren, lagen 40 % über die Carboxylgruppe estergebunden vor.

Oxidationsprodukte	natürli	cher	dotierter		
(Anteil Dotierung)	Ante	əil	Anteil		
	über die	andere Bin-	über die	andere Bin-	
	COOH-Gruppe dungsform o.		COOH-Gruppe	dungsform o.	
	estergebunden	"eingelagert"	estergebunden	"eingelagert"	
1-Hydroxy-2- naphthoesäure (100 %)			49 %	51 %	
Phthalsäure (49 %)	80 %	20 %	70 %	30 %	
3,4-Dihydroxy- benzoesäure _(58 %)	40 %	60 %	73 %	27 %	

Tab. 20	Bindungsverhältnisse	identifizierter	Phenanthren-	Oxidationsprodukte
---------	----------------------	-----------------	--------------	--------------------

7.5 Diskussion

Es konnte gezeigt werden, daß durch die Einhaltung konstanter Parameter während der Huminstoff-Isolierung, ein hinreichend reproduzierbares Material gewonnen werden kann. Eine Verfälschung von Ergebnissen infolge zufällig eintretender struktureller Veränderungen im Verlauf einer derartigen Prozedur konnte somit ausgeschlossen werden. Die zu verzeichnenden Verluste an aliphatischen Signalen im NMR-Spektrum sind auf die Herauslösung lipophiler Huminstoffbestandteile im Verlauf der vorangestellten Soxhletextraktion zurückzuführen (OADES et al., 1987). Da dieser Arbeitsschritt Bestandteil der kontrollierten Aufarbeitung war, war folglich auch der Vergleich der so erhaltenen Materialien zulässig. Ebensowenig war damit zu rechnen, daß von der eingebrachten Dotierung unabhängige Humifizierungsprozesse im betrachteten Versuchszeitraum eine wesentliche Rolle spielen. KROSSHAVN et al. (1992b) untersuchten die chemische Zusammensetzung verschiedener Böden vor und nach einjähriger Lagerung unter kontrollierten Laborbedingungen. Beim Vergleich der ¹³C-

Festkörper-NMR-Spektren dieser Materialien konnten keine signifikanten Strukturveränderungen festgestellt werden.

Der Einsatz eines Modellbodens unter Verwendung einer kommerziell erhältlichen Huminsäure und Quarzsand ist hinsichtlich der Minimierung von störenden Matrixeinflüssen als erfolgreich zu bewerten. Kommerziell erhältliche Huminsäuren wurden häufig im Rahmen von Huminstoffuntersuchungen verwendet (HINE und BURSILL, 1984; CHOUDHRY und WEBSTER, 1989; KIM et al., 1990; MAXIN und KOGEL-KNABNER, 1995; LAOR et al., 1998), wenngleich viele Autoren den Einsatz kritisch betrachten. Fehlende Informationen über die Herkunft und die Art der Gewinnung dieser Huminsäuren sowie die im Vergleich zu originären Bodenhuminstoffen festgestellten Unterschiede hinsichtlich Struktur und Eigenschaften lassen diese Materialien als nicht repräsentativ für terrestrische und aquatische Huminsäuren erscheinen (MALCOLM und MACCARTHY, 1986; MACCARTHY und MALCOLM, 1989; GRASSO et al., 1990; QIANG et al., 1993; WAIS et al., 1996; RABER et al., 1998). Die hauptsächlichen Unterschiede liegen in einem höheren Aliphatenanteil sowie in den stärkeren hydrophoben Eigenschaften. Beispielsweise zeigte Phenanthren beim Vergleich verschiedener Huminsäuren gegenüber einem kommerziell erhältlichen Material die höchsten Sorptions- und Bindungskoeffizienten (LAOR et al., 1998). Auch STURM (1996) beschreibt derartige Huminsäuren als das Material mit den stärksten Wechselwirkungen gegenüber hydrophoben organischen Schadstoffen, schränkt aber ein, daß diese ähnliche huminstoff-typische Eigenschaften wie natürliche Huminsäuren aufweisen und der Einsatz daher nicht grundsätzlich auszuschließen ist. Im Hinblick auf die eigene Fragestellung, die Einsatzmöglichkeiten der ¹³C-CPMAS-NMR im Rahmen der strukturellen Charakterisierung von PAK/Huminstoff-Komplexen zu bewerten, erschien die Verwendung einer kommerziellen Huminsäure als durchaus legitim. Im übrigen zeigten beispielsweise die NMR-Spektren der Acros-Huminsäure (Abb. 25 b, S. 114) und des Ah-Huminsäureisolates (Abb. 21 a unten, S. 107) keine derart großen strukturellen Unterschiede, die einen Einsatz nicht zugelassen hätten.

Die Tatsache, daß in den Lösungsmittelextrakten, die im Verlauf der Abbaustudien gewonnen wurden, keine Metaboliten identifizierbar waren (GC-MSD, ¹³C-Flüssig-

NMR), steht in keinem Widerspruch zum Nachweis derartiger Verbindungen als Spaltprodukte. Das zeigen auch die in Kap. 6.4.2 beschriebenen Ergebnisse. In den dort dargestellten Versuchen waren Abbauprodukte des Phenanthrens bzw. Fluoranthens, wenn überhaupt, nur vereinzelt in nicht quantifizierbaren Mengen nachweisbar. Es ist zu vermuten, daß diese Metaboliten aufgrund ihrer Polarität sehr schnell an die Bodenmatrix gebunden bzw. sorbiert werden und sich damit der Extraktion entziehen.

Die in den drei Versuchen erzielten Ergebnisse (Kap. 7.3.1 bis 7.3.3) haben gezeigt, daß die prinzipielle Eignung der ¹³C-CPMAS-NMR zur strukturellen Charakterisierung von Schadstoff/Huminstoff-Komplexen insbesondere durch das Konzentrationsverhältnis von Schadstoff zu Huminstoffmatrix limitiert wird. Erst durch den Einsatz weit oberhalb realer Verhältnisse liegender PAK-Konzentrationen in Verbindung mit einer ¹³C-Anreicherung war ein Nachweis huminstoffgebundener PAK möglich. Basierend auf den hier beschriebenen Versuchsparametern ergibt sich die Forderung nach einem ¹³C-Aktivität_{PAK} / ¹³C-Aktivität BODEN - Verhältnis von minimal 1,5/1. Für vergleichbare Fragestellungen können möglicherweise auch andere ¹³C-Relationen in Betracht kommen. Andere Untersuchungen zeigen jedoch, daß diese Größenordnung als realistisch zu bewerten ist. PRESTON und RIPMEESTER (1983) gelang der Nachweis der Transformation von ¹³C-angereichertem Acetat (¹³C-Anteil des Methyl-C = 32 %, Na-Salz) in einem Mineralboden mittels ¹³C-CPMAS-NMR. Das ¹³C-Aktivität_{ACETAT} / ¹³C-Aktivität_{BODEN}-Verhältnis betrug ca. 2,5/1.

Von Bedeutung ist ebenfalls, daß ein mittels ¹³C-CPMAS-Technik erhaltenes Signal nicht immer den Rückschluß auf einen spezifischen PAK-Metaboliten zuläßt. So ist beispielsweise die Auflösung des Spektrumbereiches, der die aromatisch gebundenen C-Atome beschreibt, zu gering, zwischen um verschiedenen PAK bzw. zwischen PAK und aromatischem Abbauprodukt unterscheiden zu können. Daher ist es wichtig, die ¹³C-Markierung in Schadstoffmolekülen derart zu positionieren, daß diese im Verlauf der Transformation des Ausgangsmoleküls in funktionelle Gruppen "wandern". Würde man beispielsweise ausschließlich definiert ¹³C-markierte Metaboliten synthetisieren und diese für derartige Untersuchungen einsetzen, so könnte man NMR-Signale

des PAK-Ausgangsmoleküls gänzlich vermeiden und chemische Verschiebungen im NMR-Spektrum ausschließlich auf gebundene PAK-Abbauprodukte zurückführen.

¹³C-CPMAS-NMR erhaltenen Die mittels Hinweise auf die Struktur von Phenanthrenderivat/Huminstoff-Komplexen konnten zum Teil durch Abspaltung und anschließende Identifizierung estergebundener Moleküle verifiziert und auf definierte Abbauprodukte zurückgeführt werden. Ein derartiger Nachweis des PAK-Verbleibs in Bodenmaterial unter Anwendung zweier voneinander unabhängiger Analysenmethoden ist damit erstmalig gelungen. Bisherige Untersuchungen beschränkten sich entweder auf die chemische Abspaltung und massenspektrometrische Identifizierung kovalent huminstoffgebundener Intermediärprodukte des PAK-Abbaus (RICHNOW et al., 1994, 1997 und 1998) oder lieferten lediglich den kernresonanzspektroskopischen (¹³C-CPMAS-NMR) Nachweis nichtkovalent gebundener, unveränderter PAK-Moleküle in Huminstoffen (GUTHRIE et al., 1999).

Die in *Abb. 25* (S. 114) dargestellten NMR-Signalen bei ca. 190, 150, 135, 127, 73 und 63 ppm können nur teilweise durch die identifizierten Spaltprodukte erklärt werden:

Das Signal bei 190 ppm ist eindeutig auf HNS zurückzuführen, die über ihre ¹³Cmarkierte Carboxylgruppe in Form einer Esterbindung an die Huminsäure kovalent gebunden vorliegt. Daß auch die ¹³C-markierte Carbonylgruppe des 1-Hydroxy-2naphthaldehyds (vergl. mit *Abb. 20*, S. 106) zu diesem Signal beiträgt, kann weder ausgeschlossen noch bestätigt werden. Beispielsweise könnte dieses Molekül über die Hydroxygruppe an die Huminsäure gebunden sein. In Frage kommt eine Ester- oder Etherbrücke. Da das C-Atom an dieser Position nicht mit dem ¹³C-Isotop angereichert ist, sind keine prägnanten NMR-Signale zu erwarten.

Das Signal bei 127 ppm setzt sich mindestens aus der chemischen Verschiebung der ¹³C-Atome des ¹³C₁-Phenanthrens, der HNS, der PHS und der DHB (¹³C jeweils im Aromatenring lokalisiert) zusammen. Darüber hinaus tragen mit großer Wahrscheinlichkeit auch andere Abbauprodukte des Phenanthrens, die ebenfalls das ¹³C-Isotop im Aromatenring aufweisen, aber nicht als Spaltprodukte nachweisbar waren, zu diesem Signal bei. Der Nachweis von PHS und DHB belegt

im übrigen, daß der Abbau der HNS über den "*Aeromonas*-Weg" erfolgte (vergl. *Abb. 20*, S. 106).

Der in *Abb. 20* (S. 106) dargestellte Phenanthrenabbau gibt keine weiteren Aufschlüsse über mögliche Zuordnungen von Molekülstruktur und NMR-Signal. Es ist jedoch zu beachten, daß es sich hierbei um eine verkürzte Darstellung des Abbauweges handelt. In der Literatur werden weitere Intermediärprodukte beschrieben, die bei näherer Betrachtung eine Erklärung für die weiteren chemischen Verschiebungen bieten können:

Der Abbau des Phenanthrens erfolgt im Detail über 3,4-Dihydroxy-3,4dihydrophenanthren, 3,4-Dihydroxyphenanthren, über weitere Stufen zur 1-Hydroxynaphthalin-2-(4-hydroxy-2-oxobuttersäure) und schließlich zu 1-Hydroxy-2naphthaldehyd usw. (SUTHERLAND et al., 1995, Abb. 31). Die Initialoxidation des Phenanthrenmoleküls, hervorgerufen durch ein Dioxygenase-Multikomponenten-Enzymsystem, kann darüber hinaus auch zum 1,2-Dihydroxy-1,2-dihydrophenanthren erfolgen (CERNIGLIA, 1984; GIBSON und SUBRAMANIAN, 1984; SUTHERLAND et al., 1995). Hauptprodukt ist jedoch das 3,4-Dihydrodiol (> 90 %). Wenn auch nicht in der Literatur beschrieben, so ist es doch denkbar, daß aus dem 1,2-Dihydrodiol entsprechend der 3,4-Dihydroxyphenanthren-Bildung auch 1,2-Dihydroxyphenanthren im weiteren Verlauf des Abbaus entsteht (Abb. 31).

Basierend auf diesen Überlegungen und unter Berücksichtigung der ¹³C-Position im jeweiligen Molekül wurde anhand einer ¹³C-online Datenbankrecherche (SPECINFO, Wiley VCH, Weinheim) versucht, die chemischen Verschiebungen derartiger Molekül/Huminstoff-Komplexe zu ermitteln (*Abb. 32*, S. 130; s. auch *Abb.* **7** und **Tab. 7** auf S. 31):

Die in *Abb. 32* aufgeführten chemischen Verschiebungen weichen etwas von den in *Abb. 25* (S. 114) ermittelten NMR-Signalen ab. Jedoch liegen diese geringen Schwankungen durchaus innerhalb der Diskrepanzen zwischen Lösungsmittel-(Basis für die SPECINFO-Daten) und Festkörperspektren. Unterschiede in der chemischen Umgebung und in der Referenzierung tragen ebenso dazu bei. So wurde die SPECINFO-Recherche anhand von Strukturen durchgeführt, in denen R=H (Etherbrücke) bzw. R=CH₃(Esterbrücke) war.

Das Signal bei ca. 63 ppm ist möglicherweise auf die Struktur **A** in *Abb. 32* zurückzuführen. Das aliphatische ¹³C-Atom der 1-Hydroxynaphthalin-2-(4-hydroxy-2-

oxobuttersäure) ist durch eine Hydroxygruppe substituiert während die Anbindung an den Huminstoff über eine Esterbrücke erfolgt.



Abb. 31 Weitere Phenanthren-Abbauwege unter Berücksichtigung der ¹³C-Position (•)

Eine Anbindung des Abbauproduktes an den Huminstoff über die Hydroxygruppe des Aromatenrings ist ebenfalls denkbar (hier nicht dargestellt).



Abb. 32 Mögliche Strukturen für kovalent huminstoffgebundene Phenanthren-Abbauprodukte unter Berücksichtigung der ¹³C-Position (•) und zu erwartende chemische Verschiebungen (eingekreiste Strukturkomponenten beschreiben den Huminstoff; R=H für A, B, D, E, H, I; R=CH₃ für C, F, G)

Erfolgt die kovalente Verbindung zum Huminstoff dagegen über die Hydroxygruppe der ¹³C-Position (Ether- oder Esterbrücke, s. Struktur **B** bzw. **C**), so ergeben sich chemische Verschiebungen im Bereich von ca. 73 ppm.

Auch die Strukturen **D** - **G** lassen ein derartiges NMR-Signal erwarten. Das aliphatische ¹³C-Atom des 1,2-Dihydroxy-1,2-dihydrophenanthrens ist entweder durch eine Hydroxygruppe substituiert (**E** und **G**) oder aber in Form einer Ether- (**D**) bzw. Esterbindung (**F**) mit dem Huminstoff assoziiert.

Eine Anbindung des 1,2-Dihydroxyphenanthrens an den Huminstoff ist möglicherweise die Ursache für die NMR-Signale bei ca. 150 ppm (**H**, aromatisches ¹³C-Atom über Etherbrücke verbunden) und ca. 135 ppm (**I**, aromatisches ¹³C-Atom durch Hydroxygruppe substituiert).

Aufgrund der Gleichheit der Positionen 1 und 8 im Phenanthrenmolekül ergeben sich für die in *Abb. 32* aufgeführten Strukturen auch die komplementären Moleküle mit der ¹³C-Markierung im Aromatenring. Diese tragen entsprechend ihrem Anteil zum NMR-Signal bei ca. 127 ppm bei (s. o.).

Die hier aufgestellten Hypothesen scheinen nach bisherigem Kenntnisstand ihre Berechtigung zu haben, jedoch müssen diese durch weitere Untersuchungen untermauert werden. Insbesondere stellt sich die Frage nach der realen Existenz der dargestellten Phenanthrenabbauprodukte in kontaminierten Böden, da diese in einer derartigen Matrix bisher noch nicht eindeutig nachgewiesen werden konnten. MEYER und STEINHART (2000b) identifizierten in PAK-Abbaustudien (Matrix: Boden) zwar Dihydrodiole und Dihydrole von Phenanthren und/oder Anthracen, konnten die Stellung der funktionellen Gruppen im Molekül aber nicht zuordnen. Die Tatsache, daß nach erfolgter Esterspaltung (s. Kap. 7.4) keine der in *Abb. 31* (S. 129) dargestellten Phenanthrendihydrodiole bzw. Dihydroxyphenanthrene nachweisbar waren, läßt vermuten, daß diese Moleküle bevorzugt über Etherbrücken gebunden werden. Ein Indiz für die Identität der Strukturen **H** und **I** liefern darüber hinaus RICHNOW et al. (1997). Den Autoren gelang die chemische Abspaltung ethergebundener PAK-Alkohole (Phenanthrol, Anthracenol, Pyrenol) von Huminstoffen aus kontaminiertem Bodenmaterial.

Über das Verhältnis isotopenmarkierter (¹³C, ¹⁸O) zu unmarkierten Spaltprodukten konnte auf den über die Dotierung eingebrachten und estergebundenen Anteil geschlossen werden (*Tab. 20*, S. 124). Nur diejenigen Moleküle, die eine ¹⁸O-

Markierung aufwiesen, lagen über ihre Carboxylgruppe(n) an die Huminsäure estergebunden vor. Der restliche nachgewiesene Anteil lag entweder über die Hydroxygruppe estergebunden vor (ausgenommen PHS) oder war über weitere Bindungsformen an die Huminstoffmatrix assoziiert. Die Beobachtung, daß die identifizierten Substanzen (PHS, DHB) nicht ausschließlich der Dotierung entstammen, deckt sich mit den Ergebnissen anderer Autoren. RICHNOW et al. (1998) konnten in ähnlichen Versuchen zeigen, daß PHS zu vergleichsweise großen Anteilen in der natürlichen Boden- bzw. Huminstoffmatrix enthalten ist. Auch die ermittelten quantitativen Gehalte von estergebundener HNS (49 %) und aus der Dotierung stammender PHS (49 %) liegen in der Größenordnung von Literaturdaten (am Beispiel des Anthracenabbaus; RICHNOW et al., 1994: 2-Hydroxy-3-naphthoesäure, 42 %; RICHNOW et al., 1998: PHS, 40 %).

Nach Schätzungen von RICHNOW et al. (1997) kann davon ausgegangen werden, daß ca. 50 % einer applizierten PAK-Menge als gebundene Rückstände in einer Bodenmatrix vorliegen (basierend auf ¹⁴C-Experimenten). Dagegen konnten die Autoren lediglich 0,05-0,25 % bzw. 0,5-1,25 % dieser Menge als ether- bzw. estergebundene Rückstände nachweisen. Diese Diskrepanz belegt den enormen Bedarf nach weiteren Forschungen auf diesem komplexen Gebiet. Ob die beschriebenen Humifizierungsprozesse für die gezielte Festlegung von Schadstoffen im Rahmen der biologischen Bodensanierung nutzbar gemacht werden können, kann anhand der vorliegenden Ergebnisse nicht abschließend beurteilt werden. Während die nachgewiesenen Bindungsstrukturen zwischen Schad- und Huminstoffen, insbesondere Etherbindungen, auf eine für die langfristige Festlegung notwendige Stabilität hindeuten, fehlen weiterhin wichtige Daten über das Ausmaß derartiger Anbindungen. Das gilt vor allem auch für möglicherweise entstehende C-C-Bindungen zwischen Abbauprodukten und der Huminstoffmatrix. Wie die vorliegende Arbeit zeigt, kann die Technik der ¹³C-CPMAS-NMR in Kombination mit anderen Analysenverfahren bei der Aufklärung dieser Fragestellungen wertvolle Dienste leisten.

8 Zusammenfassung - Summary

8.1 Zusammenfassung

Unter den Bodenreinigungsverfahren wurde in den zurückliegenden Jahren insbesondere den biologischen Sanierungsmaßnahmen sowohl in der Grundlagenforschung als auch in der Praxisanwendung eine erhöhte Aufmerksamkeit zuteil. Trotz dieses Aufwandes besteht weiterhin ein Bedarf an der Aufklärung von möglichen Ursachen, die für die zum Teil unbefriedigenden Sanierungsergebnisse verantwortlich gemacht werden. Dazu zählen einerseits Wechselwirkungen zwischen verschiedenen Schadstoffklassen einer heterogenen Mischkontamination, die einen direkten Einfluß auf die Bioverfügbarkeit und mikrobielle Abbaubarkeit nehmen können. Andererseits ist die Entstehung gebundener Rückstände zu nennen, die auf nicht-kovalente und/oder kovalente Wechselwirkungen zwischen Schadstoffen und der organischen Bodenmatrix zurückgeführt werden. In diesem Zusammenhang stellt sich insbesondere die Frage nach der Stabilität und damit dem Langzeitverhalten derartiger Bindungsstrukturen.

In der vorliegenden Arbeit wurden die beiden genannten Aspekte im Rahmen von Modellabbaustudien betrachtet. Zum einen wurde der Einfluß einer heterogenen Schwermetallkontamination auf den biologischen Abbau von PAK und Mineralölkohlenwasserstoffen untersucht. In diesen Versuchen wurden unter Variation der Schwermetallkontamination und der Bodenmatrix sowohl die Konzentrationsverläufe der organischen Kontaminanten und ihrer Abbauprodukte als auch die biologisch verfügbaren Schwermetallgehalte bestimmt. Zum anderen wurde der Verbleib von ¹³C-angereicherten PAK in der Bodenmatrix erforscht. Dazu erfolgte die Isolierung von Huminstoffen, ihre strukturelle Charakterisierung mittels ¹³C-CPMAS-NMR sowie die chemische Abspaltung und Identifizierung huminstoffgebundener PAK-Abbauprodukte.

In den Versuchen konnte ausschließlich eine antagonistische Wirkung von Schwermetallen auf den biotischen Abbau von Kohlenwasserstoffen/PAK bzw. ihren Oxidationsprodukten beobachtet werden, die sich im wesentlichen in einer zeitlichen Verzögerung des einsetzenden Abbaus darstellte. Dieser Effekt zeigte sich abhängig von der Konzentration und nicht von der Zusammensetzung der
ausgewählten Schwermetalle. Außerdem wurde der Abbau der organischen Kontaminanten eines Versuchsansatzes von dem dort vorliegenden Schwermetallspektrum unterschiedlich beeinflußt. Ebenfalls festgestellte abiotische Vorgänge zeigten sich dagegen unabhängig von der Begleitkontamination. Die Abnahme der PAK-Konzentration korrelierte sehr gut mit dem Konzentrationsverlauf der jeweiligen Metaboliten, wobei in den einfach und mischkontaminierten Ansätzen keine Unterschiede in den PAK-Abbauwegen erkennbar waren. Insgesamt konnten in den verschiedenen Versuchen 48 Metaboliten identifiziert werden, neben einigen cyclischen Säuren insbesondere aromatische und polyaromatische Hydroxy-, Keton- und Säureverbindungen. Einzelne dieser Substanzen wurden erstmalig in einer Bodenmatrix nachgewiesen. Der Zusatz von Kompostmaterial zeigte einen positiven Einfluß auf den PAK-Abbau, in den mischkontaminierten Ansätzen insbesondere auch dadurch, daß die verfügbare Schwermetallkonzentration in der Bodenlösung infolge von Bindungsvorgängen deutlich minimiert wurde.

Die Untersuchungen haben gezeigt, daß Böden, die mit PAK und Schwermetallen kontaminiert sind, hinsichtlich der organischen Schadstoffe grundsätzlich biologisch saniert werden können. Voraussetzung dafür ist jedoch, daß die bioverfügbare Schwermetallkonzentration hinreichend gering ist bzw. durch geeignete Maßnahmen entsprechend reduziert wird, um eine Hemmung der mikrobiellen Abbauprozesse zu minimieren oder zu verhindern.

Durch Adaption und Kombination verschiedener bekannter Isolierungsmethoden ist es gelungen, Bodenhuminstoff-Fraktionen in einer für die ¹³C-Festkörper-NMR ausreichenden Menge und Qualität zu gewinnen. Die konstanten Bedingungen während dieser Vorganges und der NMR-Messung gewährleisteten reproduzier-bare Ergebnisse.

Im Rahmen der ¹³C-CPMAS-NMR-Messungen an ¹³C-PAK-dotierten Huminstoffmaterialien konnte die prinzipielle Eignung dieser Technik zur strukturellen Charakterisierung von Schadstoff/Huminstoff-Komplexen bestätigt werden. Es wurde festgestellt, daß dabei insbesondere das Konzentrationsverhältnis von PAK zu Huminstoffmatrix als limitierender Faktor wirkt. Anhand dieser Ergebnisse wurde die Forderung nach einem minimalen Verhältnis von ¹³C-Aktivität_{PAK} / ¹³C-Aktivität_{BODEN} ≈ 1,5/1 im Untersuchungsmaterial abgeleitet. Am Beispiel des ¹³C₁-Phenanthren-Abbaus ist es erstmalig gelungen, die chemische Transformation eines PAK im Boden und die Bindung der Abbauprodukte an die Huminstoffmatrix über eine Verschiebung des ¹³C-NMR-Signals der Ausgangssubstanz in andere Bereiche des NMR-Spektrums nachzuweisen. Die Beweisführung erfolgte unabhängig voneinander einerseits durch die strukturelle Zuordnung der NMR-Signale und andererseits durch die gezielte chemische Spaltung der vermuteten Bindungsstrukturen in Verbindung mit der Identifizierung der Spaltprodukte. Im Rahmen der Spaltung von Esterbindungen durch alkalische Hydrolyse der isolierten PAK/Huminstoff-Komplexe konnten die Phenanthren-Abbauprodukte 1-Hydroxy-2-naphthoesäure, ortho-Phthalsäure und 3,4-Dihydroxybenzoesäure nachgewiesen werden. Dieses Ergebnis korrelierte mit den für carboxylisch und aromatisch gebundene Kohlenstoffatome typischen NMR-Signalen. Durch weiterführende strukturelle Zuordnungen der beobachteten NMR-Signale konnte darüber hinaus auf ethergebundene Phenanthrenderivate geschlossen werden.

Durch das Arbeiten mit Isotopenmarkierungen (¹³C, ¹⁸O) war es möglich, quantitative Aussagen über den durch die Dotierung eingebrachten und estergebundenen Anteil der chemischen Spaltprodukte zu treffen. Danach lagen etwa 50 bis 70 % der aus der Dotierung stammenden Phenanthrenabbauprodukte über ihre Carboxylgruppe estergebunden am Huminstoff vor. Während 1-Hydroxy-2naphthoesäure vollständig aus dem eingebrachten Phenanthren hervorging, muß davon ausgegangen werden, daß 40 bis 50 % der nachgewiesenen 3,4-Dihydroxybenzoesäure bzw. Phthalsäure bereits natürlich in der Huminstoffmatrix eingebunden vorlagen.

Die Ausbildung von Ester- und Etherbindungen zwischen partiell abgebauten PAK-Molekülen und der Huminstoffmatrix scheint einen wichtigen Prozeß bei der Entstehung gebundener Rückstände darzustellen. In welchem Ausmaß andere Bindungsstrukturen dazu beitragen, so stehen insbesondere die sehr stabilen C-C-Bindungen in der Diskussion, muß durch weitere Untersuchungen aufgeklärt werden. Von besonderer Bedeutung sind ebenfalls Erkenntnisse über die Mechanismen, die zu den genannten Bindungsstrukturen führen.

8.2 Summary

Among soil remediation strategies in the last decade especially biological treatment of contaminated soils not only in fundamental research but also in practical applications alloted an enhanced attention. Despite these efforts there is still a need to explain possible reasons which are thought to be responsible for partly unsatisfying remediation results. On the one hand there are interaction phenomena between different kinds of xenobiotica in heterogenous mixed contaminations. They might have an effect on the bioavailability and biodegradability of organic contaminants. On the other hand the formation of bound residues have to be taken into account. In this case it is important to investigate the stability and long-term behaviour of non-covalent and covalent bonds between contaminants and the organic soil matrix.

Both aspects were examined carrying out model degradation studies. First, the effects of a heterogenous heavy metal contamination on the biodegradation of PAHs and other mineral oil hydrocarbons was investigated. Changing the composition of heavy metal contamination and soil matrix not only the contents of parent organic compounds and degradation products were determined but also the bioavailable heavy metal concentration. Second, the fate of ¹³C-labeled PAHs in soil matrix was studied. For that purpose soil humic substances were isolated followed by structural characterization using ¹³C-CPMAS-NMR. Additional, bound PAH derivatives were identified after cleavage of covalent ester bonds.

The observed influence of heavy metals on the biodegradation of organic contaminants was exclusive of antagonistic nature. The beginning of biodegradation in heavy metal contaminated soil systems was characterized by a delay of time in comparison with systems not spiked with heavy metals. This effect depended on the concentration of selected heavy metals but not on their composition. Moreover, in a certain experiment the diverse kinds of used hydrocarbons were influenced differently by the present metal contamination. On the contrary, also established abiotic degradation processes were independent on the accompanied inorganic contamination. The decrease of PAH concentration showed a good correlation to the quantitative formation of metabolites. The

degradation pathways of PAHs were similar in PAH- and mixed contaminated soil systems. All together 48 degradation products could be identified, besides some cyclic acids especially aromatic and polyaromatic alcohols, ketones, and acids. Single compounds were identified for the first time in soil systems. The addition of compost to the soil increased PAH degradation processes. In the case of mixed contaminated soil systems, one reason for this effect is the ability of compost material to bind heavy metals resulting in an evident decrease of heavy metal concentration in the soil solution.

All these results showed that biological remediation of PAH- and simultaneous heavy metal contaminated soils in a qualified sense is possible. However, such an application presuppose a sufficient low concentration of bioavailable heavy metals to avoid an inhibition of microbial degradation capability.

The adaptation and combination of several well-known isolation procedures allowed the extraction of soil humic substances in an adequate amount and quality necessary for the application of ¹³C-CPMAS-NMR. Constant parameters during extraction and measurement guaranteed reproducible results.

¹³C-CPMAS-NMR measurements of humic substances spiked with ¹³C-labeled PAHs confirmed that this technique is suitable for the structural characterization of PAH/humus-complexes. It could be demonstrated that especially the ratio between the concentrations of PAHs and the soil humus matrix limits the usefullness of this method. Based on these results a ratio of ¹³C-activity_{PAH}/¹³C-activity_{soil} \approx 1,5/1 in the test material was suggested.

In degradation experiments with ¹³C₁-phenanthrene the chemical transformation of a PAH and its bound residue formation in a soil system, detected by changes of chemical shifts in the ¹³C-NMR spectrum, was proved for the first time. The argumentation is based on two separate analytical approaches. On the one hand the structural assignment of ¹³C-NMR signals and on the other hand the chemical cleavage of supposed covalent bonds in combination with the identification of cleavage products. During the cleavage of ester bonds by alkali hydrolysis of PAH/humus-complexes the phenanthrene degradation products 1-hydroxy-2naphtoic acid, ortho-phthalic acid, and 3,4-dihydroxybenzoic acid could be identified. These results showed a good correlation with ¹³C-CPMAS-NMR signals typical for carboxylic and aromatic bound carbon. Beyond that, additional structural assignments indicated the presence of ether-bound phenanthrene derivatives.

Using isotopic-labeled (13 C, 18 O) substances it was possible to quantify the portions of cleavage products which originated from the parent compound and which were ester-bound to the humus matrix. 50 to 70 % of the phenanthrene derivatives which could be related to the 13 C₁-phenanthrene were ester-bound via their carboxylic groups. 1-hydroxy-2-naphthoic acid completely originates from 13 C₁-phenanthrene. On the contrary, 40 to 50 % of identified 3,4-dihydroxybenzoic acid and phthalic acid were part of the soil humus matrix.

The formation of ester- and ether-bonds between partly degraded PAH molecules and the soil humus matrix seemed to be an important process during the generation of bound residues. In which extent other forms of covalent bonds are involved, for example the existence of stable C-C-bonds is discussed, should be part of further studies. Also mechanisms responsible for the formation of described covalent bonds are of special importance.

9 Literatur

- Adam, R.; Genz, U.; Kaun, B. (1991): Biologische Verfahren zur Bodensanierung im Vergleich. WLB Wasser, Luft und Boden 1-2, 75-76
- Ahlf, W.; Gunkel, J.; Rönnpagel, K. (1993): Toxikologische Bewertung von Sanierungen. In: Stegmann, R. (Hrsg.): Bodenreinigung, Hamburger Berichte 6, Economica Verlag, Bonn, 275-286
- Allen, C.C.R.; Boyd, D.R.; Larkin, M.J.; Reid, K.A.; Sharma, N.D.; Wilson, K. (1997): Metabolism of naphthalene, 1-naphthol, indene, and indole by *Rhodococcus* sp. strain NCIMB 12038. Appl. Environ. Microbiol. **63**, 151-155
- Anderson, D.W.; Schoenau, J.J. (1993): Soil humus fractions. In: Carter, M.R. (ed.): Soil sampling and methods of analysis, Canadian Society of Soil Science, Lewis Publishers, 391-395
- Angle, J. S.; Chaney, R.L.; Rhee, D. (1993): Bacterial resistance to heavy metals related to extractable and total metal concentrations in soil and media. Soil Biol. Biochem. 25, 1443-1446
- Arcangeli, J.-P.; Arvin, E. (1995): Biodegradation rates of aromatic contaminants in biofilm reactors. Wat. Sci. Technol. **31**, 117-128
- Arshad, M.A.; Ripmeester, J.A.; Schnitzer, M. (1988): Attempts to improve solid state ¹³C NMR spectra of whole mineral soils. Can. J. Soil Sci. **68**, 593-602
- Bååth, E. (1989): Effects of heavy metals in soil on microbial processes and populations (a review). Water Air Soil Pollut. **47**, 335-379
- Babich, H.; Stotzky, G. (1980): Environmental factors that influence the toxicity of heavy metal and gaseous pollutants to microorganisms. CRC Critical Reviews in Microbiology **8**, 99-145
- Babich, H.; Stotzky, G. (1985): Heavy metal toxicity to microbe-mediated ecologic processes: a review and potential application to regulatory policies. Environ. Res. **36**, 111-137
- Baldock, J.A.; Oades, J.M.; Waters, A.G.; Peng, X.; Vassallo, A.M.; Wilson, M.A. (1992): Aspects of the chemical structure of soil organic materials as revealed by solid-state ¹³C NMR spectroscopy. Biogeochemistry **16**, 1-42
- Barkowski, D.; Günther, P.; Hinz, E.; Röchert, R. (1993): Altlasten: Handbuch zur Ermittlung und Abwehr von Gefahren durch kontaminierte Standorte. 4. Aufl., Verlag C.F. Müller, Karlsruhe
- Barron, P.F.; Wilson, M.A.; Stephens, J.F.; Cornell, B.A.; Tate, K.R. (1980): Cross-polarization ¹³C NMR spectroscopy of whole soils. Nature **286**, 585-587
- BBodSchG (1999): Bundesgesetzblatt. I, S. 502
- Beck, Th. (1981): Untersuchungen über die toxische Wirkung der in Siedlungsabfällen häufigen Schwermetalle auf die Bodenmikroflora. Z. Pflanzenernähr. Bodenk. **144**, 613-627
- Beckwith, R.S.; Nayyar, V.K. (1984): Extraction of soil organic matter under chemically mild conditions. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 15, 295-307
- Beveridge, T.J.; Doyle, R.J. (eds.) (1989): Metal ions and bacteria. John Wiley & Sons, New York
- Beyer, L. (1996): The chemical composition of soil organic matter in classical humic com-pound fractions and in bulk samples a review. Z. Pflanzenernähr. Bodenk. **159**, 527-539
- Blakley, E.R. (1978): The microbial degradation of cyclohexane carboxylic acid by a β -oxidation pathway with simultaneous induction to the utilization of benzoate. Can. J. Microbiol. **24**, 847-855

BMU-Information zum Bundes-Bodenschutzgesetz vom 6.2.1998, S. 9

- Bock, H.; Mahmutoglu, I. (1992): Zukunftsweisendes Verfahren PAK-Abbau bei hoher Bioverfügbarkeit. WLB Wasser, Luft und Boden 1-2, 81-82
- Bollag, J.-M.; Liu, S.-Y.; Minard, R.D. (1980): Cross-coupling of phenolic humus constituents and 2,4-dichlorophenol. Soil Sci. Soc. Am. J. 44, 52
- Bollag, J.-M.; Loll, M.J. (1983): Incorporation of xenobiotics into soil humus. Experientia **39**, 1221-1230
- Bollag, J.-M.; Minard, R.D.; Liu, S.-Y. (1983): Cross-linkage between anilines and phenolic humus constituents. Environ. Sci. Technol. **17**, 72-80
- Bortiatynski, J.M.; Hatcher, P.G.; Knicker, H. (1996): NMR techniques (C, N, and H) in studies of humic substances. In: Gaffney, J.S.; Marley, N.A.; Clark, S.B. (eds.): Humic and fulvic acids, Isolation, structure and environmental role, ACS Symposium Series **651**, 57-77
- Bortiatynski, J.M.; Hatcher, P.G.; Minard, R.D. (1997): The development of ¹³C-labeling and ¹³C NMR spectroscopy techniques to study the interaction of pollutants with humic substances. In: Nanny, M.A.; Minear, R.A.; Leenheer, J.A. (eds.): Nuclear magnetic resonance spectroscopy in environmental chemistry, Oxford University Press, New York, 26-50
- Braun, R.; Bauer, E.; Pennerstorfer, Ch. (1994): Verfahrenstechnische Konsequenzen von Einflußfaktoren auf biologische Bodensanierungsverfahren. BioEngineering **2/94**, 49-50
- Brookes, P.C.; McGrath, S.P. (1984): Effects of metal toxicity on the size of the soil microbial biomass. J. Soil Sci. **35**, 341-346
- Brümmer, G.W.; Zeien, H.; Hiller, D.A.; Hornburg, V. (1994): Bindungsformen und Mobilität von Cadmium und Blei in Böden. In: Kreysa, G.; Wiesner, J. (Hrsg.): Beurteilung von Schwermetallen in Böden von Ballungsgebieten: Arsen, Blei u. Cadmium, DECHEMA-Fachgespräch Umweltschutz, DECHEMA, Frankfurt a.M., 197-217
- Bundt, J. (1991): Bestimmung von Mineralölinhaltsstoffen und deren Abbauprodukten im Boden unter besonderer Berücksichtigung aromatischer Verbindungen. Dissertation, Universität Hamburg
- Burba, P. (1998): Analytik von aquatischen Huminstoffen und ihren Prozessen. Nachr. Chem. Tech. Lab. **46**, 426-430
- Burkhardt, C.; Insam, H.; Hutchinson, T.C.; Reber, H.H. (1993): Impact of heavy metals on the degradative capabilities of soil bacterial communities. Biol. Fertil. Soils **16**, 154-156
- Casellas, M.; Grifoll, M.; Bayona, J.M.; Solanas, A.M. (1997): New metabolites in the degra-dation of fluorene by *Arthrobacter* sp. strain F101. Appl. Environ. Microbiol. **63**, 819-826
- Castro, C.E.; O`shea, S.K.; Wen, W.; Bartnicki, E.A. (1996): 13C-NMR reactivity probes for the environment. Environ. Sci. Technol. **30**, 1185-1191
- Cerniglia, C.E. (1984): Microbial metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons. Adv. Appl. Microbiol. **30**, 31-71
- Chiou, C.T.; Malcolm, R.L.; Brinton, T.I.; Kile, D.E. (1986): Water solubility enhancement of some organic pollutants and pesticides by dissolved humic and fulvic acids. Environ. Sci. Technol. 20, 502-508
- Choudhry, G.G.; Webster, G.R.B. (1989): Soil organic matter chemistry. Part 1. Characterization of several humic preparations by proton and carbon-13 nuclear magnetic resonance spectroscopy. Toxicol. Environ. Chem. 23, 227-242
- Ciavatta, C.; Govi, M.; Antisari, L.V.; Sequi, P. (1990): Characterization of humified compounds by extraction and fractionation on solid polyvinylpyrrolidone. J. Chromatogr. **509**, 141-146
- Ciavatta, C.; Govi, M. (1993): Use of insoluble polyvinylpyrrolidone and isoelectric focusing in the study of humic substances in soils and organic wastes. J. Chromatogr. **643**, 261-270

- Clapp, C.E.; Hayes, M.H.B.; Swift, R.S. (1993): Isolation, fractionation, functionalities, and concepts of structures of soil organic macromolecules. In: Beck, A.J.; Jones, K.C.; Hayes, M.H. B.; Mingelgrin, U. (eds.): Organic substances in soil and water: natural constituents and their influences in contaminant behaviour, Special Publication - Royal Society Chemistry, Cambridge, 31-69
- Collins, P.J.; Kotterman, M.J.J.; Field, J.A.; Dobson, A.D.W. (1996): Oxidation of anthracene and benzo[a]pyrene by laccases from *Trametes versicolor*. Appl. Environ. Microbiol. **62**, 4563-4567
- Collins, Y.E.; Stotzky, G. (1989): Factors affecting the toxicity of heavy metals to microbes. In: Beveridge, T.J.; Doyle, R.J. (eds.): Metal ions and soil bacteria, John Wiley and Sons, New York, 31-90
- Conte, P.; Piccolo, A.; Van Lagen, B.; Buurman, P.; de Jager, P.A. (1997a): Quantitative aspects of solid-state ¹³C-NMR spectra of humic substances from soils of volcanic systems. Geoderma **80**, 327-338
- Conte, P.; Piccolo, A.; Van Lagen, B.; Buurman, P.; de Jager, P.A. (1997b): Quantitative differences in evaluating soil humic substances by liquid- and solid-state ¹³C-NMR spectroscopy. Geoderma **80**, 339-352
- Cozzarelli, I.M.; Eganhouse, R.P.; Baedecker, M.J. (1990): Transformation of monoaromatic hydrocarbons to organic acids in anoxic groundwater environment. Environ. Geol. Water Sci. 16, 135-141
- Crössmann, G. (1996): Chemische Bodenanalytik: Probenvorbereitung und Vor-Ort-Analytik. Nachr. Chem. Tech. Lab. 44, M 25-M 28
- Daignault, S.A.; Noot, D.K.; Williams, D.T.; Huck, P.M. (1988): A review of the use of xad to concentrate organic compounds in water. Wat. Res. 22, 803-813
- Dec, J.; Haider, K.; Benesi, A.; Rangaswamy, V.; Schäffer, A.; Plücken, U.; Bollag, J.-M. (1997): Analysis of soil bound residues of the ¹³C-labeled fungicide cyprodinil by NMR spectroscopy. Environ. Sci. Technol. **31**, 1128-1135
- DECHEMA (1994): Mikrobielle Abbaubarkeit von polyzyklischen aromatischen Kohlenwasserstoffen. In: Abbauverhalten altlastenrelevanter (Schad-)stoffe, Abschlußbericht zum Forschungsprojekt 1480743 0 des BMFT, Juli 1994, Frankfurt a. M.
- DEV (1984): DIN 38414 S 4. Bestimmung der Eluierbarkeit mit Wasser. Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlamm-Untersuchung, Bd. V; Fachgruppe Wasserchemie in der GDCh und Normenausschuß Wasser im DIN; Loseblattsammlung, VCH, Weinheim
- Díaz-Raviña, M.; Bååth, E.; Frostegård, Å. (1994): Multiple heavy metal tolerance of soil bacterial communities and its measurement by a thymidine incorporation technique. Appl. Environ. Microbiol. **60**, 2238-2247
- Doelman, P.; Jansen, E.; Michels, M.; van Til, M. (1994): Effects of heavy metals in soil on microbial diversity and activity as shown by the sensitivity-resistance index, an ecologically relevant parameter. Biol. Fertil. Soils **17**, 177-184
- Dott, W.; Steiof, M. (1994): Vom Reagenzglasversuch zur biotechnologischen Bodensanierung -Probleme des Scaling-up and -down. BioEngineering **1/94**, 20-21
- Duxbury, T.; Bicknell, B. (1983): Metal-tolerant bacterial populations from natural and metalpolluted soils. Soil Biol. Biochem. **15**, 243-250
- Dyreborg, S.; Arvin, E.; Broholm, K.; Christensen, J. (1996): Biodegradation of thiophene, benzothiophene, and benzofuran with eight different primary substrates. Environ. Toxicol. Chem. **15**, 2290-2292

- Förstner, U.; Calmano, W. (1982): Bindungsformen von Schwermetallen in Baggerschlämmen. Vom Wasser **59**, 83-92
- Förstner, U.; Rath, V.; Schoer, J.; Müller, G. (1981): Chemische Extraktionsversuche an metallkontaminierten Sedimenten aus dem Neckar und aus dessen Zuflüssen. Chemiker-Zeitung **105**, 175-179
- Francioso, O.; Sanchez-Cortes, S.; Tugnoli, V.; Ciavatta, C.; Sitti, L.; Gessa, C. (1996): Infrared, Raman, and Nuclear Magnetic Resonance (¹H, ¹³C, and ³¹P) Spectroscopy in the study of fractions of peat humic acids. Appl. Spectr. **50**, 1165-1174
- Franzius, V. (1993): Stand der Bodenreinigungsverfahren bei der Altlastensanierung. UTA 6/93, 463-472
- Franzius, V. (1995): Altlastensituation und Finanzierungsbedarf in den neuen Bundesländern. In: Franzius, V.; Wolf, K.; Brandt, E. (Hrsg.): Handbuch der Altlastensanierung, 2. Aufl., C.F. Müller Verlag, Heidelberg, Abschn. 1843
- Fränzle, O.; Schmotz, W.; Krinitz, J.; Hertling, Th.; Müller, J.; Florinski, M. (1995): Handlungsanleitung für Schadstoffuntersuchungen in Böden. Umweltbundesamt, Texte 26/95.
- Fründ, R.; Haider, K.; Lüdemann. H.-D. (1994a): Impacts of soil management practices on the organic matter structure - investigations by CPMAS ¹³C NMR spectroscopy. Z. Pflanzenernähr. Bodenk. **157**, 29-35
- Fründ, R.; Guggenberger, G.; Haider, K.; Knicker, H.; Kögel-Knabner, I.; Lüdemann, H.-D.; Luster, J.; Zech, W.; Spiteller, M. (1994b): Recent advances in the spectroscopic characterization of soil humic substances and their ecological relevance. Z. Pflanzenernähr. Bodenk. **157**, 175-186
- Gadd, G.M. (1990): Metal tolerance. In: Edwards, C. (ed.): Microbiology of extreme environments, Open Univ. Press, Milton Keynes, 178-210
- GDCh, Gesellschaft Deutscher Chemiker, Monographie Bd. 4 (1996): Leitfaden Erfolgskontrolle bei der Bodenreinigung, Arbeitskreis Bodenchemie und Bodenökologie der Fachgruppe Umweltchemie und Ökotoxikologie, GDCh, Frankfurt
- George, E.J.; Neufeld, R.D. (1989): Degradation of fluorene in soil by fungus *Phanerochaete chrysosporium*. Biotechnol. Bioeng. **33**, 1306-1310
- Gibson, D.T.; Subramanian, V. (1984): Microbial degradation of aromatic hydrocarbons. In: Gibson, D.T. (ed.): Microbial degradation of organic compounds, Marcel Dekker, Inc., New York
- Gogolev, A.; Wilke, B.-M. (1997): Combination effects of heavy metals and fluoranthene on soil bacteria. Biol. Fertil. Soils 25, 274-278
- Golchin, A.; Clarke, P.; Baldock, J.A.; Higashi, T.; Skjemstad, J.O.; Oades, J.M. (1997a): The effects of vegetation and burning on the chemical composition of soil organic matter in a volcanic ash soil as shown by ¹³C NMR spectroscopy. I. Whole soil and humic acid fraction. Geoderma **76**, 155-174
- Golchin, A.; Clarke, P.; Baldock, J.A.; Higashi, T.; Skjemstad, J.O.; Oades, J.M. (1997b): The effects of vegetation and burning on the chemical composition of soil organic matter in a volcanic ash soil as shown by ¹³C NMR spectroscopy. II. Density fractions. Geoderma **76**, 175-192
- Grasso, D.; Chin, Y.-P.; Weber, W.J. (1990): Structural and behavioral characteristics of a commercial humic acid and natural dissolved aquatic organic matter. Chemosphere **21**, 1181-1197

- Grifoll, M.; Selifonov, S.A.; Gatlin, C.V.; Chapman, P.J. (1995): Actions of a versatile fluorenedegrading bacterial isolate on polycyclic aromatic compounds. Appl. Environ. Microbiol. 61, 3711-3723
- Grinwalla, A.S.; Mikita, M.A. (1992): Reaction of Suwannee river fulvic acid with chloramine: characterization of products via 15N NMR. Environ. Sci. Technol. 26, 1148
- GrØn, C.; Raben-Lange, B. (1992): Isolation and characterization of a haloorganic soil humic acid. Sci. Total Environ. **113**, 281-286
- Guggenberger, G.; Zech, W.; Haumaier, L.; Christensen, B.T. (1995): Land-use effects on the composition of organic matter in particle-size seperates of soils: II. CPMAS and solution ¹³C NMR analysis. Europ. J. Soil Sci. **46**, 147-158
- Gupta, S.K. (1984): Importance of soil solution composition in deciding the best suitable analytical criteria for guidelines on maximum tolerable metal load and in assessing biosignificance of metals in soil. Schweiz. Landw. Fo. 23, 209-225
- Gupta, S.K.; Aten, C. (1993): Comparison and evaluation of extraction media and their suitability in a simple model to predict the biological relevance of heavy metal concentrations in contaminated soils. Intern. J. Environ. Anal. Chem. **51**, 25-46
- Gupta, S.K.; Häni, H. (1981): Einfluß von leicht extrahierbarem Boden-Cd auf die Reaktion verschiedener Testpflanzen (unter spezieller Berücksichtigung der Wurzelaustauschkapazität) und einige mikrobiologische Parameter. Korrespondenz Abwasser **4/81**, 211-213
- Gupta, S.K.; Häni, H.; Siegenthaler, A. (1983): Bedeutung von Gesamt- und biorelevanten Schwermetallgehalten zur Festlegung von Richtwerten in Böden. Schweiz. Landw. Fo. 22, 177-186
- Guthrie, E.A.; Bortiatynski, J.M.; van Heemst, J.D.H.; Richman, J.E.; Hardy, K.S.; Kovach, E.M.; Hatcher, P.G. (1999): Determination of [¹³C]Pyrene sequestration in sediment microcosms using flash pyrolysis-GC-MS and ¹³C NMR. Environ. Sci. Technol. **33**, 119-125
- Haider, K.; Spiteller, M.; Reichert, K.; Fild, M. (1992): Derivatization of humic compounds: An analytical approach for bound organic residues. Intern. J. Environ. Anal. Chem. 46, 201-211
- Haider, K.; Spiteller, M.; Wais, A.; Fild, M. (1993): Evaluation of the binding mechanism of anilazine and its metabolites in soil organic matter. Intern. J. Environ. Anal. Chem. 53, 125-137
- Häni, H. (1990): The analysis of inorganic and organic pollutants in soil with special regard to their bioavailability. Intern. J. Environ. Anal. Chem. **39**, 197-208
- Häni, H.; Gupta, S. (1980): Ein Vergleich verschiedener methodischer Ansätze zur Bestimmung mobiler Schwermetallfraktionen im Boden. Landwirtsch. Forsch., Sonderheft **37**, 267-274
- Hatcher, P.G.; Bortiatynski, J.M.; Minard, R.D.; Dec, J.; Bollag, J.-M. (1993): Use of high-resolution ¹³C NMR to examine the enzymatic covalent binding of ¹³C-labeled 2,4-dichlorophenol to humic substances. Environ. Sci. Technol. **27**, 2098-2103
- Hatcher, P.G.; Rowan, R.R.; Mattingly, M.A. (1980a): ¹H and ¹³C NMR of marine humic acids. Org. Geochem. **2**, 77-85
- Hatcher, P.G.; Schnitzer, M.; Dennis, L.W.; Maciel, G.E. (1981): Aromaticity of humic substances in soils. Soil Sci. Soc. Am. J. 45, 1089-1094
- Hatcher, P.G.; VanderHart, D.L.; Earl, W.L. (1980b): Use of solid-state ¹³C NMR in structural studies of humic acids and humin from Holocene sediments. Org. Geochem. **2**, 87-92
- Hatcher, P.G.; Wilson, M.A. (1991): The effect of sample hydration on ¹³C CPMAS NMR spectra of fulvic acids. Org. Geochem. **17**, 293-299

- Hein, H.; Schwedt, G. (1995): Richt- und Grenzwerte, Wasser/Boden/Gefahrstoffe/Luft. 4. Aufl., Vogel Verlag, Würzburg
- Herbert, B.E.; Bertsch, P.M.; Novak, J.M. (1993): Pyrene sorption by water-soluble organic carbon. Environ. Sci. Technol. **27**, 398-403
- Herms, U. (1989): Löslichkeit von Schwermetallen in Böden unter variierenden Milieubedingungen. In: Behrens, D.; Wiesner, J. (Hrsg.): Beurteilung von Schwermetallkontaminationen im Boden, DECHEMA-Fachgespräche Umweltschutz, DECHEMA, Frankfurt a.M., 189-197
- Herms, U.; Brümmer, G. (1984): Einflußgrößen der Schwermetallöslichkeit und -bindung in Böden. Z. Pflanzenernähr. Bodenk. **147**, 400-424

Hewlett-Packard (1992): "Wiley 138" ChemStation Library, Palo Alto, USA

- Hine, P.T.; Bursill, D.B. (1984): Gel permeation chromatography of humic acid. Water Res. 18, 1461-1465
- Hiroki, M. (1994): Populations of Cd-tolerant microorganisms in soils polluted with heavy metals. Soil Sci. Plant Nutr. **40**, 515-524
- Hornburg, V. (1991): Untersuchungen zur Mobilität und Verfügbarkeit von Cadmium, Zink, Mangan, Blei und Kupfer in Böden. Dissertation, Universität Bonn, Bonner Bodenkundliche Abhandlungen, Bd. 2
- Hornburg, V.; Brümmer, G.W. (1989): Untersuchungen zur Mobilität und Verfügbarkeit von Schwermetallen in Böden. Mitteilgn. Dt. Bodenkdl. Ges. **59**, 727-732
- Hornburg, V.; Welp, G.; Brümmer, G.W. (1995): Verhalten von Schwermetallen in Böden. 2. Extraktion mobiler Schwermetalle mittels CaCl₂ und NH₄NO₃. Z. Pflanzenernähr. Bodenk. **158**, 137-145
- Howard, J.L.; Shu, J. (1996): Sequential extraction analysis of heavy metals using a chelating agent (NTA) to counteract resorption. Environ. Pollut. **91**, 89-96
- Hupe, K.; Heerenklage, J.; Lotter, S.; Stegmann, R. (1993): Anwendung von Testsystemen zur Bilanzierung und Optimierung des biologischen Schadstoffabbaus. In: Stegmann, R. (Hrsg.): Bodenreinigung. Hamburger Berichte 6, Abfallwirtschaft, Technische Universität Hamburg-Harburg, Economia Verlag, Bonn, 97-119
- Jacobi, A. (1995): Forschung und Entwicklung im Bereich der biologischen Sanierung PAKkontaminierter Böden. UTA 6/95, 542-548
- Johannes, C.; Majcherczyk, A.; Hüttermann, A. (1996): Degradation of anthracene by laccase of *Trametes versicolor* in the presence of different mediator compounds. Appl. Microbiol. Biotechnol. **46**, 313-317
- Jurkiewicz, A.; Maciel, G.E. (1995): Solid-state ¹³C NMR studies of the interaction of acetone, carbon tetrachloride and trichloroethylene with soil components. Sci. Total Environ. **164**, 195-202
- Kandeler, E.; Kampichler, C.; Horak, O. (1996): Influence of heavy metals on the functional diversity of soil microbial communities. Biol. Fertil. Soils **23**, 299-306
- Kandeler, E.; Mentler, A.; Pfeffer, M.; Horak, O. (1990): Bodenbiologische Beurteilung der Toxizität von Schwermetallen in künstlich belasteten Böden. In: VDLUFA-Schriftenreihe 32/1990, Kongressband 1990, Berlin, 621-626
- Kästner, M.; Lotter, S.; Heerenklage, J.; Breuer-Jammali, M.; Stegmann, R.; Mahro, B. (1995): Fate of ¹⁴C-labeled anthracene and hexadecane in compost-manured soil. Appl. Microbiol. Biotechnol. **43**, 1128-1135
- Kästner, M.; Mahro, B. (1996): Microbial degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil affected by the organic matrix of compost. Appl. Microbiol. Biotechnol. 44, 668-675

- Kästner, M.; Mahro, B.; Wienberg, R. (1993): Biologischer Schadstoffabbau in kontaminierten Böden. Hamburger Berichte 5, Economica Verlag, Bonn
- Kelley, I.; Cerniglia, C.E. (1995): Degradation of a mixture of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons by a *Mycobacterium* strain PYR-1. J. Soil Cont. **4**, 77-91
- Kelley, I.; Freeman, J.P.; Evans, F.E.; Cerniglia, C.E. (1993): Identification of metabolites from the degradation of fluoranthene by *Mycobacterium sp.* strain PYR-1. Appl. Environ. Microbiol. 59 (3), 800-806
- Khairy, A.H.; Ziechmann, W. (1981): Die Veränderung von Huminsäuren in alkalischer Lösung. Z. Pflanzenernähr. Bodenk. **144**, 407-422
- Khan, S.U. (1971): Distribution and characteristics of organic matter extracted from black slonetzic and black chernozemic soils of Alberta: the humic acid fraction. Soil Sci. **112**, 401-409
- Kiehlmann, E.; Pinto, L.; Moore, M. (1996): The biotransformation of chrysene to *trans*-1,2dihydroxy-1,2-dihydrochrysene by filamentous fungi. Can. J. Microbiol. **42**, 604-608
- Kim, J.I.; Buckau, G.; Li, G.H.; Duschner, H.; Psarros, N. (1990): Characterization of humic and fulvic acids from Gorleben groundwater. Fresenius J. Anal. Chem. **338**, 245-252
- Kinchesh, P.; Powlson, D.S.; Randall, E.W. (1995): 13C NMR studies of organic matter in whole soils: I. Quantitation possibilities. Europ. J. Soil Sci. 46, 125-138
- Klumpp, E.; Struck, B.D.; Schwuger, M.J. (1992): Wechselwirkungen zwischen Tensiden und Schadstoffen in Böden. Nachr. Chem. Tech. Lab. **40**, 428-435
- Knicker, H. (1993): Quantitative ¹⁵N- und ¹³C-CPMAS-Festkörper- und ¹⁵N-Flüssigkeits-NMR-Spektroskopie an Pflanzenkomposten und natürlichen Böden. Dissertation, Universität Regensburg
- Knicker, H.; Nanny, M.A. (1997): Nuclear magnetic resonance spectroscopy, basic theory and background. In: Nanny, M.A.; Minear, R.A.; Leenheer, J.A. (eds.): Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in environmental chemistry, Oxford University Press, New York, 213-220
- Knopp, L. (1998): Altlastenregelungen im neuen Bundes-Bodenschutzgesetz. Nachr. Tech. Lab. **46**, Nr. 12, 1163-1166
- Knopp, L.; Albrecht, E. (1998): Altlastenrecht in der Praxis. Unter Berücksichtigung des Bundes-Bodenschutzgesetzes, Verlag f
 ür die Rechts- und Anwaltspraxis, Herne/Berlin, Randnummer 47
- Koch, C.; Kowalczyk, Th. (1991): Wirkung von Kupfer und Zink in Kombination mit LAS auf die mikrobielle Aktivität einer sandigen Braunerde. VDLUFA-Schriftenreihe 33, Kongreßband 1991, 841-846
- Koch, C.; Wilke, B.-M. (1996): Einfluß von PAK, PCB und Schwermetallen auf die mikrobielle Aktivität in Rieselfeldböden. Mitteilgn. Dt. Bodenk. Ges. **81**, 295-298
- Koch, C.; Wilke, B.-M. (1998): Wirkung von ausgewählten PAK, PCB und Schwermetallen auf Bodenmikroorganismen und Wildpflanzen. In: Renger, M.; Alaily, F.; Wessolek, G. (Hrsg.): Bodenökologie und Bodengenese, Mobilität und Wirkung von Schadstoffen in urbanen Böden, Heft 26, Tagungsband, Papyrus-Druck GmbH Verlag, Berlin, 142-151
- Kögel-Knabner, I. (1993): Biodegradation and humification processes in forest soils. In: Bollag, J.-M. und Stotzky, G. (eds.): Soil biochemistry, vol. 8, Marcel Dekker, Inc., New York, 101-135
- Kögel-Knabner, I. (1997): ¹³C and ¹⁵N NMR spectroscopy as a tool in soil organic matter studies. Geoderma **80**, 243-270

- Kögel-Knabner, I.; de Leeuw, J.W.; Hatcher, P.G. (1992): Nature and distribution of alkyl carbon in forest soil profiles: implications for the origin and humification of aliphatic biomacromolecules. Sci. Total Environ. **117/118**, 175-185
- Kohl, S.D.; Rice, J.A. (1998): The binding of contaminants to humin: a mass balance. Chemosphere **36**, 251-261
- Kotterman, M.J.J.; Heessels, E.; de Jong, E.; Field, J.A. (1994): The physiology of anthracene biodegradation by the white-rot fungus *Bjerkandera* sp. strain BOS55. Appl. Microbiol. Biotechnol. 42, 179-186
- Krosshavn, M.; Kögel-Knabner, I.; Southon, T.E.; Steinnes, E. (1992a): The influence of humus fractionation on the chemical composition of soil organic matter studied by solid-state ¹³C NMR. J. Soil Sci. **43**, 473-483
- Krosshavn, M.; Southon, T.E.; Steinnes, E. (1992b): The influence of vegetational origin and degree of humification of organic soils on their chemical composition, determined by solid-state ¹³C NMR. J. Soil Sci. **43**, 485-493
- Kuo, C.-W.; Sharak Genther, B.R. (1996): Effect of added heavy metal ions on biotransformation and biodegradation of 2-chlorophenol and 3-chlorobenzoate in anaerobic bacterial consortia. Appl. Environ. Microbiol. 62, 2317-2323
- Kuwatsuka, S.; Watanabe, A.; Itoh, K.; Arai, S. (1992): Comparison of two methods of preparation of humic and fulvic acids, IHSS method and NAGOYA method. Soil Sci. Plant Nutr. **38**, 23-30
- Langbehn, A. (1995): Metaboliten des Mineralölabbaus in unterschiedlichen Bodenhorizonten. Dissertation, Universität Hamburg
- Langbehn, A.; Steinhart, H. (1994): Determination of organic acids and ketones in contaminated soils. J. High. Res. Chromatogr. **17**, 293-298
- Langbehn, A.; Steinhart, H. (1995): Biodegradation studies of hydrocarbons in soils by analyzing metabolites formed. Chemosphere **30**, 855-868
- Laor, Y.; Farmer, W.J.; Aochi, Y.; Strom, P.F. (1998): Phenanthrene binding and sorption to dissolved and to mineral-associated humic acid. Wat. Res. **32**, 1923-1931
- Lassen, P.; Carlsen, L. (1997): Solubilization of phenanthrene by humic acids. Chemosphere 34, 817-825
- Leenheer, J.A. (1997): Characterization of natural organic matter by Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. In: Nanny, M.A.; Minear, R.A.; Leenheer, J.A. (eds.): Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in environmental chemistry, Oxford University Press, New York, 213-220
- Leinweber, P.; Blumenstein, O.; Schulten, H.-R. (1996): Organic matter composition in sewage farm soils: Investigations by ¹³C-NMR and pyrolysis-field ionization mass spectrometry. Europ. J. Soil Sci. **47**, 71-80
- Lenoir, D. (1998): Umweltchemie. Nachr. Chem. Tech. Lab. 46, Nr. 3, 323-328
- Li, X.-F.; Cullen, W.R.; Reimer, K.J.; Le, X.-C. (1996): Microbial degradation of pyrene and characterization of a metabolite. Sci. Total Environ. **177**, 17-29
- Lindberg, J.J.; Hortling, B. (1985): Cross polarization magic angle spinning NMR studies of carbohydrates and aromatic polymers. Adv. Polm. Sci. 66, 1-22
- Ma, Y.B.; Uren, N.C. (1998): Transformation of heavy metals added to soil application of a new sequential extraction procedure. Geoderma 84, 157-168
- MacCarthy, P.; Malcolm, R.L. (1989): The nature of commercial humic acids. In: Suffet, I.H.; MacCarthy, P. (eds.): Aquatic humic substances, Advances in Chemistry Series 219, American Chemical Society, Washington, DC, 55-63

- Mahro, B.; Kästner, M. (1993): PAK-Altlasten Bewertung der mikrobiellen Sanierung. Spektrum der Wissenschaft Oktober 1993, 97-100
- Malcolm, R.L. (1989): Applications of solid-state ¹³C NMR spectroscopy to geochemical studies of humic substances. In: Hayes, M.H.B.; MacCarthy, P.; Malcolm, R.L.; Swift, R.S. (eds.): Humic Substances II, John Wiley & Sons Ltd, New York, 339-372
- Malcolm, R.L. (1990): Variations between humic substance isolated from soils, stream waters, and groundwaters as revealed by ¹³C-NMR spectroscopy. In: MacCarthy, P.; Clapp, C.E.; Malcolm, R.L.; Bloom, P.R. (eds.): Humic substances in soil and crop sciences, selected readings, American Society of Agronomy, Inc., Soil Science Society of America, Inc., Madison, 13-35
- Malcolm, R.L. (1992): ¹³C-NMR spectra and contact time experiment for Skjervatjern fulvic and humic acids. Environ. Intern. **18**, 609-620
- Malcolm, R.L.; MacCarthy, P. (1986): Limitations in the use of commercial humic acids in water and soil research. Environ. Sci. Technol. **20**, 904-911
- Malcolm, R.L.; MacCarthy, P. (1990): The individuality of humic substances in diverse environments. In: Special Publication, Royal Society of Chemistry **90**, 23-34
- Malekani, K.; Rice, J.A.; Lin, J.-S. (1997): The effect of sequential removal of organic matter on the surface morphology of humin. Soil Sci. **162**, 333-342
- Maxin, C.R.; Kögel-Knabner, I. (1995): Partitioning of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) to water-soluble soil organic matter. Europ. J. Soil Sci. **46**, 193-204
- McKinney, D.E.; Bortiatynski, J.M.; Hatcher, P.G. (1993): Use of ¹³C-labeled compounds to trace their reactivity in complex systems: A model study of a potential antioxidant in thermally altered jet fuel. Energy & Fuels **7**, 578-581
- Merkel, D. (1996): Vergleichende Untersuchungen von Cd, Cu, Ni, Pb und Zn in Weizenkörnern und Böden nach Extraktion mit CaCl₂/DTPA (CAD), CaCl₂ und NH₄NO₃. Agribiol. Res. **49**, 30-37
- Meyer, S.; Cartellieri, S.; Steinhart, H. (1999): Simultaneous determination of PAHs, hetero-PAHs (N, S, O), and their degradation products in creosote-contaminated soils. Method development, validation, and application to hazardous waste sites. Anal. Chem. **71**, 4023-4029
- Meyer, S.; Steinhart, H. (2000a): Effects of heterocyclic-PAHs (N, S, O) on the biodegradation of typical tar oil PAHs in a soil/compost-mixture. Chemosphere **40**, 359-367
- Meyer, S.; Steinhart, H. (2000b): Fate of PAHs and hetero-PAHs during biodegradation in a model soil/compost-system formation of extractable metabolites. Water Air and Soil Pollution, eingereicht
- Michaelson, G.J.; Ping, C.L. (1997): Comparison of 0.1 N sodium hydroxide with 0.1 M sodium pyrophosphate in the extraction of soil organic matter from various soil horizons. Commun. Soil Sci. Plant Anal. **28**, 1141-1150
- Mikita, M.A.; Steelink, C.; Wershaw, R.L. (1981): Carbon-13 enriched nuclear magnetic resonance method for the determination of hydroxyl functionality in humic substances. Anal. Chem. **53**, 1715-1717
- Misra, V.; et al. (1991): Retardation of biodegradation of linear alkyl benzene sulphonate by a sublethal concentration of mercuric chloride. Bull. Environ. Contam. Toxicol. **47**, 561
- Mol, S.N.; Glover, L.A.; Henkler, R.D.; Anderson, B.N. (1998): Effect of metals on growth of fieldderived soil bacteria. In: Arendt, F.; Harder, W.; Hart, I. (eds.): Contaminated Soil `98, Vol. 2, Thomas Telford Ltd. London, 865-866

- Montuelle, B.; Latour, X.; Volat, B.; Gounot, A.-M. (1994): Toxicity of heavy metals to bacteria in sediments. Bull. Environ. Contam. Toxicol. **53**, 753-758
- Müller, R.; Deckwer, W.-D.; Hecht, V. (1996): Degradation of chloro- and methyl-substituted benzoic acids by a genetically modified microorganism. Biotech. Bioeng. **51**, 528-537
- Nanny, M.A. (1997): Sorption process in the environment, nuclear magnetic resonance spectroscopy as a new analytical method. In: Nanny, M.A.; Minear, R.A.; Leenheer, J.A. (eds.): Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy in environmental chemistry. Oxford University Press, New York, 19-25
- Nanny, M.A.; Bortiatynski, J.M.; Hatcher, P.G. (1997): Noncovalent interactions between acenaphthenone and dissolved fulvic acid as determined by ¹³C NMR *T*₁ relaxation measurements. Environ. Sci. Technol. **31**, 530-534
- Nanny, M.A.; Bortiatynski, J.M.; Tien, M.; Hatcher, P.G. (1996b): Investigations of enzymatic alterations of 2,4-Dichlorophenol using ¹³C-Nuclear Magnetic Resonance in combination with site-specific ¹³C-labeling: Understanding the environmental fate of this pollutant. Environ. Toxicol. Chem. **15**, 1857-1864
- Nanny, M.A.; Selifonov, S.A.; Bortiatynski, J.M.; Hatcher, P.G. (1996a): Microbial degradation of 13C-labeled 9-Methylphenanthrene in marine sediment. In: ACS, Division of environmental chemistry, preprints of papers, 212th ACS National Meeting, Orlando, Florida, Vol. 36, 255-257
- Nègre, M.; Gennari, M.; Crecchio, C.; Ruggiero, P. (1995): Effect of ethylene oxide sterilization on soil organic matter, spectroscopic analysis, and adsorption of acifluorfen. Soil Sci. 159, 199-206
- Nieman, J.K.C.; Sims, R.C.; Sims, J.L.; Sorensen, D.L.; Mclean, J.E.; Rice, J.A. (1999): [¹⁴C] Pyrene bound residue evaluation using MIBK fractionation method for creosote-contaminated soil. Environ. Sci. Technol. **33**, 776-781
- Oades, J.M.; Vassallo, A.M.; Waters, A.G.; Wilson, M.A. (1987): Characterization of organic matter in particle size and density fractions from a red-brown earth by solid-state ¹³C N.M.R. Aust. J. Soil Res. **25**, 71-82
- Ohtake, H.; Silver, S. (1994): Bacterial detoxification of toxic chromate. In: Chaudhry, G.R. (ed.): Biological degradation and bioremediation of toxic chemicals, Dioscorides Press, 403-415
- Olson, B.H.; Thornton, I. (1982): The resistance patterns to metals of bacterial populations in contaminated land. J. Soil Sci. 33, 271-277
- Paschke, A.; Herbel, W.; Steinhart, H.; Franke, S.; Francke, W. (1992): Determination of mono- to tetracyclic aromatic hydrocarbons in lubricating oil. J. High Resolut. Chromatogr. **15**, 827-833
- Perry, J.J. (1984): Microbial metabolism of cyclic alkanes. In: Atlas, R.M. (ed.): Petroleum microbiology, Macmillan Publishing Company, New York, 61-97
- Pieper, D.H.; Timmis, K.N.; Ramos, J.L. (1996): Designing bacteria for the degradation of nitroand chloroaromatic pollutants. Naturwissenschaften 83, 201-213
- Post, B.; Hempfling, R.; Klamberg, H.; Schulten, H.-R. (1988): Zur Charakterisierung von Boden-Huminstoffen. Fresenius Z. Anal. Chem. **331**, 273-281
- Preston, C.M. (1996): Application of NMR to soil organic matter analysis: history and prospects. Soil Sci. **161**, 144-166
- Preston, C.M.; Ripmeester, J.A. (1982): Application of solution and solid-state ¹³C NMR to four organic soils, their humic acids, fulvic acids, humins and hydrolysis residues. Can. J. Spec. 27, 99-105
- Preston, C.M.; Ripmeester, J.A. (1983): ¹³C-labelling for NMR studies of soils: CPMAS NMR observation of ¹³C-acetate transformation in a mineral soil. Can. J. Soil. Sci. **63**, 495-500

- Preston, C.M.; Schnitzer, M.; Ripmeester, J.A. (1989): A spectroscopic and chemical investigation on the de-ashing of a humin. Soil Sci. Soc. Am. J. 53, 1442-1447
- Qiang, T.; Xiao-quan, S.; Zhe-ming, N. (1993): Comparative characteristic studies on soil and commercial humic acids. Fresenius J. Anal. Chem. **347**, 330-336
- Raber, B.; Kögel-Knabner, I.; Stein, C.; Klem, D. (1998): Partitioning of polycyclic aromatic hydrocarbons to dissolved organic matter from different soils. Chemosphere **36**, 79-97
- Reber, H.H. (1992): Simultaneous estimates of the diversity and the degradative capability of heavy-metal-affected soil bacterial communities. Biol. Fertil. Soils **13**, 181-186
- Reber, H.H. (1994): Einfluß von Schwermetallen auf die Mikroflora und Fauna des Bodens. In: Kreysa, G.; Wiesner, J. (Hrsg.): Beurteilung von Schwermetallen in Böden von Ballungsgebieten: Arsen, Blei und Cadmium. DECHEMA-Fachgespräche Umweltschutz, DECHEMA, Frankfurt a.M., 299-317
- Rehm, H.J.; Reiff, I. (1981): Mechanisms and occurrence of microbial oxidation of long-chain alkanes. In: Fiechter, A. (ed.): Advances biochemical engineering, Springer-Verlag, Heidelberg, 175-215
- Ricca, G.; Severini, F. (1993): Structural investigations of humic substances by IR-FT ¹³C-NMR spectroscopy and comparison with a maleic oligomer of known structure. Geoderma **58**, 233-244
- Rice, J.; MacCarthy, P. (1989): Isolation of humin by liquid-liquid partitioning. Sci. Total Environ. 81/82, 61-69
- Rice, J.A.; MacCarthy, P. (1990): A model of humin. Environ. Sci. Technol. 24, 1875-1877
- Rice, J.A.; MacCarthy, P. (1992): Disaggregation and characterization of humin. Sci. Total Environ. **117/118**, 83-88
- Richnow, H.H. (1997): Persönliche Mitteilung.
- Richnow, H.H.; Eschenbach, A.; Mahro, B.; Seifert, R.; Wehrung, P.; Albrecht, P.; Michaelis, W. (1998): The use of ¹³C-labelled polycyclic aromatic hydrocarbons for the analysis of their transformation in soil. Chemosphere **36**, 2211-2224
- Richnow, H.H.; Seifert, R.; Hefter, J.; Kästner, M.; Mahro, B.; Michaelis, W. (1994): Metabolites of xenobiotica and mineral oil constituents linked to macromolecular organic matter in polluted environments. Org. Geochem. **22**, 671-681
- Richnow, H.H.; Seifert, R.; Hefter, J.; Link, M.; Francke, W.; Schaefer, G.; Michaelis, W. (1997): Organic pollutants associated with macromolecular soil organic matter - mode of binding. Org. Geochem. 26, 745-758
- Rojo, F.; Pieper, D.H.; Engesser, K.-H.; Knackmuss, H.-J.; Timmis, K.N. (1987): Assemblage of ortho cleavage route for simultaneous degradation of chlor- and methylaromatics. Science 238, 1395-1398
- Said, W.A.; Lewis, D.L. (1991): Qantitative assessment of the effects of metals on microbial degradation of organic chemicals. Appl. Environ. Microbiol. **57**, 1498
- Saiz-Jimenez, C.; Hermosin, B.; Guggenberger, G.; Zech, W. (1996): Land use effects on the composition of organic matter in soil particle size seperates. III: Analytical pyrolysis. Europ. J. Soil Sci. 47, 61-69
- Schachtschabel, P.; Blume, H.-P., Brümmer, G.W.; Hartge, K.-H.; Schwertmann, U. (1992): Lehrbuch der Bodenkunde. 13. Aufl., Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart
- Scheunert, I.; Attar, A.; Zelles, L. (1995): Ecotoxicological effects of soil-bound pentachlorophenol residues on the microflora of soils. Chemosphere **30**, 1995-2009

- Scheunert, I.; Mansour, M.; Andreux, F. (1992): Binding of organic pollutants to soil organic matter. Intern. J. Environ. Anal. Chem. 46, 189-199
- Schmidt, M.W.I.; Knicker, H.; Hatcher, P.G.; Kögel-Knabner, I. (1997): Improvement of ¹³C and ¹⁵N CPMAS NMR spectra of bulk soils, particle size fractions and organic material by treatment with 10% hydrofluoric acid. Europ. J. Soil Sci. **48**, 319-328
- Schnitzer, M.; Lowe, L.E.; Dormaar, J.F.; Martel, Y. (1981): A procedure for the characterization of soil organic matter. Can. J. Soil Sci. 61, 517-519
- Schnitzer, M.; Preston, C.M. (1986): Analysis of humic acids by solution and solid-state carbon-13 nuclear magnetic resonance. Soil Sci. Soc. Am. J. **50**, 326-331
- Schnitzer, M.; Schuppli, P. (1989): The extraction of organic matter from selected soils and particle size fractions with 0.5 M NaOH and 0.1 M Na₄P₂O₇ solutions. Can. J. Soil Sci. **69**, 253-262
- Schnöder, F.; Mittelstaedt, W.; Führ, F. (1994): Das Verhalten von Benzo[a]pyren und Fluoranthen in einer Parabraunerde Lysimeter- und Laborabbaustudien. In: Weigert, B. (Hrsg.): Schriftenreihe Biologische Abwasserreinigung 4, Systemdruck GmbH, Berlin, 217-230
- Schulten, H.-R.; Schnitzer, M. (1995): Three-dimensional models for humic acids and soil organic matter. Naturwissenschaften 82, 487-498
- Schulten, H.-R. (1996): Three-dimensional, molecular structures of humic acids and their interactions with water and dissolved contaminants. Intern. J. Environ. Anal. Chem. **64**, 147-162
- Schulten, H.-R.; Schnitzer, M. (1997): Chemical model structures for soil organic matter and soils. Soil Sci. **162**, 115-130
- Selifonov, S.A.; Chapman, P.J.; Akkerman, S.B.; Gurst, J.E.; Bortiatynski, J.M.; Nanny, M.A.; Hatcher, P.G. (1998): Use of ¹³C nuclear magnetic resonance to assess fossil fuel biodegradation: Fate of [1-¹³C]Acenaphthene in creosote polycyclic aromatic compound mixtures degraded by bacteria. Appl. Environ. Microbiol. **64**, 1447-1453
- Selifonov, S.A.; Grifoll, M.; Eaton, R.W.; Chapman, P.J. (1996): Oxidation of naphtheno-aromatic and methyl-substituted aromatic compounds by naphthalene 1,2-dioxygenase. Appl. Environ. Microbiol. **62**, 507-514
- Shen, H.; Pritchard, P.H.; Sewell, G.W. (1996): Microbial reduction of Cr(VI) during anaerobic degradation of benzoate. Environ. Sci. Technol. **30**, 1667-1674
- Shuman, L.M.; Hargrove, W.L. (1985): Effect of tillage on the distribution of manganese, copper, iron and zinc in soil fractions. Soil Sci. Soc. Am. J. 49, 1117-1121
- Singer, M.E.; Finnerty, W.R. (1984): Microbial metabolism of straight-chain and branched alkanes. In: Atlas, R.M. (ed.): Petroleum microbiology, Macmillan Publishing Company, New York, 1-59
- Singleton, I. (1994): Microbial metabolism of xenobiotics: Fundamental and applied research. J. Chem. Technol. Biotechnol. **59**, 9-23
- Smith, M.R. (1990): The biodegradation of aromatic hydrocarbons by bacteria. Biodegradation 1, 191-206
- Sposito, G.; Lund, L.J.; Chang, A.C. (1982): Trace metal chemistry in arid-zone field soils amended with sewage-sludge: I. Fractionation of Ni, Cu, Zn, Cd and Pb in solid phases. Soil Sci. Soc. Am. J. 46, 260-264
- Sprenger, C.; Harborth, P.; Hanert, H.H.; Berger, W. (1994): Untersuchungen zur Erhöhung der Bioverfügbarkeit von adsorbierten PAK in Böden von ehemaligen Gaswerksgeländen. BioEngineering **4/94**, 16-22
- SRU (1989): Sondergutachten Altlasten des Rates von Sachverständigen für Umweltfragen. Geschäftsstelle im Statistischen Bundesamt Wiesbaden, Dezember 1989

- SRU (1995): Sondergutachten Altlasten II des Rates von Sachverständigen für Umweltfragen. Geschäftsstelle im Statistischen Bundesamt Wiesbaden, Januar 1995
- Stadelmann, F.X.; Gupta, S.K.; Rudaz, A.; Santschi-Fuhrimann, E. (1984): Die Schwermetallbelastung des Bodens als Gefahr für die Bodenmikroorganismen. Schweiz. Landw. Fo. **23**, 227-239
- Stadelmann, F.X.; Gupta, S.K.; Rudaz, A.; Stoeckli-Walter, C. (1982): Wechselbeziehungen zwischen Bodenmikroorganismen und Cadmium in Labor- und Gefäßversuchen. Landwirtsch. Forsch., Sonderheft **39**, 384-393
- Steelink, C.; Wershaw, R.L.; Thorn, K.A.; Wilson, M.A. (1989): Application of liquid-state NMR spectroscopy to humic substances. In: Hayes, M.H.B.; MacCarthy, P.; Malcolm, R.L.; Swift, R.S. (eds.): Humic Substances II, John Wiley & Sons Ltd., New York, 281-308
- Sterritt, R.M.; Lester, J.N. (1980): Interactions of heavy metals with bacteria. Sci. Total Environ. 14, 5-17
- Stevenson, F.J. (ed.) (1994): Humus Chemistry, second edition John Wiley & Sons, Inc., New York, 24-58, 259-284, 378-404
- Sturm, B. (1996): Ein System zur automatischen und ferngesteuerten Probenahme von organischen Verunreinigungen in Küstengewässern. Dissertation, Universität Hannover
- Styperek, P.; Sauerbeck, D. (1984): Eignung von chemischen Extraktionsverfahren zur Abschätzung des pflanzenverfügbaren Cd und Zn in verschiedenen Böden und Substraten. Landwirtsch. Forsch. **37**, 471-486
- Sutherland, J.B.; Rafii, F.; Khan, A.A.; Cerniglia, C.E. (1995): Mechanisms of polycyclic aromatic hydrocarbon degradation. In: Young, L.Y.; Cerniglia, C.E. (eds.): Microbial transformation and degradation of toxic organic chemicals, John Wiley & Sons Ltd., New York, 269-306
- Tack, F.M.G.; Verloo, M.G. (1995): Chemical speciation and fractionation in soil and sediment heavy metal analysis: a review. Intern. J. Environ. Anal. Chem. **59**, 225-238
- Tan, K.H.; Himmelsbach, D.S.; Lobartini, J.C. (1992): The significance of solid-state ¹³C NMR spectroscopy of whole soil in the characterization of humic matter. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 23, 1513-1532
- Tanaka, S.; Oba, K.; Fukushima, M.; Nakayasu, K.; Hasebe, K. (1997): Water solubility enhancement of pyrene in the presence of humic substances. Anal. Chim. Acta **337**, 351-357
- Tessier, A.; Chambell, P.G.; Bisson, M. (1979): Sequential extraction procedure for the specification of particulate trace metals. Anal. Chem. **51**, 844-851
- Thorn, K.A.; Goldenberg, W.S.; Younger, S.J.; Weber, E.J. (1996a): Covalent binding of aniline to humic substances. In: Gaffney, J.S.; Marley, N.A.; Clark, S.B. (eds.): Humic and fulvic acids, isolation, structure and environmental role, ACS Symposium Series **651**, 299-328
- Thorn, K.A.; Mikita, M.A. (1992): Ammonia fixation by humic substances. A nitrogen-15 and carbon-13 NMR study. Sci. Total Environ. **113**, 67-87
- Thorn, K.A.; Pettigrew, P.J.; Goldenberg, W.S. (1996b): Covalent binding of aniline to humic substances. 2. ¹⁵N NMR studies of nucleophilic addition reactions. Environ. Sci. Technol. **30**, 2764-2775
- Tiehm, A.; Fritzsche, C. (1995): Utilization of solubilized and crystalline mixtures of polycyclic aromatic hydrocarbons by a *Mycobacterium sp.*. Appl. Microbiol. Biotechnol. **42**, 964-968
- Topalova, Y.I.; Petrova, K.D. (1995): Effect of heavy metals on ortho-nitrophenol biodegradation by *Pseudomonas aeruginosa* B₈. In: Hinchee, R.E.; Hoeppel, R.E.; Anderson, D.B. (eds.): Bioremediation of recalcitrant organics, Battelle Press, Columbus, Richland, USA, 217-224

- Totsche, K.U.; Danzer, J.; Kögel-Knabner, I. (1997): Dissolved organic matter-enhanced retention of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil miscible displacement experiments. J. Environ. Qual. **26**, 1090-1100
- Town, R.-M.; Powell, H.K.J. (1993): Limitations of XAD resins for the isolation of the non-colloidal humic fraction in soil extracts and aquatic samples. Anal. Chim. Acta **271**, 195-202
- Trenz, S.P.; Engesser, K.H.; Fischer, P.; Knackmuss, H.-J. (1994): Degradation of fluorene by *Brevibacterium* sp. strain DPO 1361: a novel C-C bond cleavage mechanism via 1,10-dihydro-1,10-dihydroxyfluoren-9-one. J. Bacteriol. **176**, 789-795
- Trevors, J.T.; Oddie, K.M.; Belliveau, B.H. (1985): Metal resistance in bacteria. FEMS Microbiol. Rev. **32**, 39-54
- Tyler, G. (1974): Heavy metal pollution and soil enzymatic activity. Plant and Soil 41, 303-311
- Tyler, G. (1981): Heavy metals in soil biology and biochemistry. In: Paul, E.A.; Ladd, J.N. (eds.): Soil biochemistry, Vol. 5, Marcel Decker Inc., New York, 371-414
- Tyler, G.; Balsberg Påhlsson, A.-M.; Bengtsson, G.; Bååth, E.; Tranvik, L. (1989): Heavy-metal ecology of terrestrial plants, microorganisms and invertebrates. Water Air Soil Pollut. **47**, 189-215
- UBA (1986): Branchentypische Inventarisierung von Bodenkontaminationen ein erster Schritt zur Gefährdungsabschätzung für ehemalige Betriebsgelände. Texte 31/86, Umweltbundes-amt, Berlin, Oktober 1986
- UBA (1989): Inventarisierung von Bodenkontaminationen auf Geländen mit ehemaliger Nutzung aus dem Dienstleistungsbereich. Texte 16/89, Umweltbundesamt, Berlin, April 1989
- UBA (1990): Umweltbundesamt (Hrsg.): Entwicklung von Methoden und Maßstäben zur standardisierten Bewertung von Altablagerungsstandorten und kontaminierten Betriebsgeländen insbesondere hinsichtlich ihrer Grundwasserverunreinigungspotentiale, Ergebnisse des F+E-Vorhabens 1440464 des Bundesgesundheitsamtes, Berlin
- UBA (1991): Umweltbundesamt (Hrsg.): Technologien zur Sanierung von Altlasten (TERESA), Berlin
- Ulrich, P.; Weller, M.G.; Niessner, R. (1996): Immunological determination of triazine pesticides bound to soil humic acids (bound residues). Fresenius J. Anal. Chem. **354**, 352-358
- Ure, M.; Thomas, R.; Littlejohn, D. (1993): Ammonium acetate extracts and their analysis for the speciation of metal ions in soils and sediments. Intern. J. Environ. Anal. Chem. **51**, 65-84
- Van Lidth de Jeude, J.W. (1985): Erfahrungen mit dem Bodensanierungsprogramm in den Niederlanden. In: Umweltbundesamt (Hrsg.): Materialien 1/85, Berlin
- Vassallo, A.M.; Wilson, M.A.; Collin, P.J.; Oades, J.M.; Waters, A.G.; Malcolm, R.L. (1987): Structural analysis of geochemical samples by solid-state nuclear magnetic resonance spectrometry. Role of paramagnetic material. Anal. Chem. 59, 558-562
- Vyas, B.R.M.; Bakowski, S.; Sasek, V.; Matucha, M. (1994): Degradation of anthracene by selected white rot fungi. FEMS Microbiol. Ecol. 14, 65-70
- Wais, A.; Burauel, P.; de Graaf, A.A.; Haider, K.; Führ, F. (1996): Using 13C-NMR spectroscopy to evaluate the binding of bound pesticide residues in soils. 2. Investigations of model humic acids. J. Environ. Sci. Health B31, 1-24
- Wais, A.; Haider, K.; Spiteller, M., Fild, M. (1993): Möglichkeiten und Grenzen der C-13-NMR-Spektroskopie zur Charakterisierung gebundener Rückstände von Xenobiotika. Mitteil. Dt. Bodenk. Ges. 72, 469-472

- Wais, A.; Haider, K.; Spiteller, M.; de Graaf, A.A.; Burauel, P.; Führ, F. (1995b): Using ¹³C-NMR spectroscopy to evaluate the binding mechanism of bound pesticide residues in soils. J. Environ. Sci. Health **B 30**, 1-25
- Wais, A.; Witte, E.G.; Burauel, P.; Haider, K.; Helal, H.M.; Führ, F. (1995a): ¹³C-CP/MAS-NMR-Untersuchungen der Bindungen von Xenobiotika an Pflanzenmaterial und Modellhuminstoffe. Mitteil. Dt. Bodenk. Ges. **76**, 477-480
- Wais, A.; Witte, E.G.; de Graaf, A.A.; Mittelstaedt, W.; Haider, K.; Burauel, P.; Führ, F. (1995c): Spectroscopic demasking of soil organic matter bound anilazine by ¹³C NMR techniques. In: British Crop Protection Council (BCPC) Monograph No. 62: Pesticide movement to water, 201-206
- Watanabe, A.; Kuwatsuka, S. (1991): Fractionation of soil fulvic acids using polyvinylpyrrolidone and their ionization difference spectra. Soil Sci. Plant Nutr. **37**, 611-617
- Watanabe, A.; Kuwatsuka, S. (1992): Chemical characteristics of soil fulvic acids fractionated using polyvinylpyrrolidone (PVP). Soil Sci. Plant Nutr. **38**, 31-41
- Webb, C.L.F. (1990): Biologische Sanierung ölverschmutzter Böden am Beispiel eines Rohöl-Leitungsschadens. Erdöl Erdgas Kohle **106**, 453-455
- Weller, M.G. (1997): Immunoassays für die Umweltanalytik. Nachr. Chem. Tech. Lab. 45, 1090-1096
- Welp, G.; Brümmer, G.W. (1989): Wirkung von Schwermetallen auf Boden-Mikroorganismen. In: Behrens, D.; Wiesner, J. (Hrsg.): Beurteilung von Schwermetall-Kontaminationen in Böden. DECHEMA, Frankfurt a.M., 253-269
- Wershaw, R.L.; Pinckney, D.J.; Llaguno, E.C.; Vicente-Beckett, V. (1990): NMR characterization of humic acid fractions from different Philippine soils and sediments. Anal. Chim. Acta 232, 31-42
- Wilke, B.-M.; Koch, C.; Gogolev, A. (1996): Kombinationswirkung von PAK und Schwermetallen auf Bodenbakterien. Mitteilgn. Dt. Bodenk. Ges. 81, 283-286
- Wilson, M.A. (1990): Application of nuclear magnetic resonance spectroscopy to organic matter in whole soils. In: MacCarthy, P.; Clapp, C.E.; Malcolm, R.L.; Bloom, P.R. (eds.): Humic substances in soil and crop sciences, American Society of Agronomy, Inc., Soil Science Society of America, Inc., Madison, 221-260
- Wilson, M.A. (1987): N.M.R. techniques and applications in geochemistry and soil chemistry, Pergamon Press, Oxford, 161-216
- Wilson, M.A. (1989): Solid-state nuclear magnetic resonance spectroscopy of humic substances: Basic concepts and techniques. In: Hayes, M.H.B.; MacCarthy, P.; Malcolm, R.L.; Swift, R.S. (eds.): Humic Substances II, John Wiley & Sons Ltd., New York, 309-338
- Wilson, M.A.; Pugmire, R.J.; Grant, D.M. (1983): Nuclear magnetic resonance spectroscopy of soils and related materials. Relaxation of ¹³C nuclei in cross polarization nuclear magnetic resonance experiments. Org. Geochem. **5**, 121-129
- Wilson, M.A.; Vassallo, A.M.; Perdue, E.M.; Reuter, J.H. (1987): Compositional and solid-state nuclear magnetic resonance study of humic and fulvic acid fractions of soil organic matter. Anal. Chem. **59**, 551-558
- Winkler, H.-G. (1994): "Sanfte" Sanierung belasteter Böden. CLB 45. Jahrgang, 5, 249-253
- Wischmann, H. (1997): Analytik von PAK-Abbauprodukten in Bodenhorizonten und Boden/ Kompost-Gemischen. Dissertation, Universität Hamburg
- Wischmann, H.; Steinhart, H. (1997): The formation of PAH oxidation products in soils and soil/compost-mixtures. Chemosphere **35**, 1681-1698

- Wischmann, H.; Steinhart, H.; Hupe, K.; Montresori, G.; Stegmann, R. (1996): Degradation of selected PAHs in soil/compost and identification of intermediates. Intern. J. Environ. Anal. Chem. 64, 247-255
- Xie, H.; Guetzloff, T.F.; Rice, J.A. (1997): Fractionation of pesticide residues bound to humin. Soil Sci. **162**, 421-429
- Zeien, H.; Brümmer, G.W. (1991): Ermittlung der Mobilität und Bindungsformen von Schwermetallen in Böden mittels sequentieller Extraktionen. Mitteilgn. Dt. Bodenk. Ges. **66**, 439-442
- Zeyer, J. (1993): Biologische Sanierung Illusionen und Realitäten. Spektrum der Wissenschaft Oktober 1993, 90-92
- Zhou, D.-Z.; Gu, Z.-L.; Xie, S.-Q.; Wu, L.-S. (1991): Effect of synergism and antagonism between metals on toxicity in soils. Pedosphere 1, 177-187
- Zink, G. (1995): Identifizierung von Metaboliten beim mikrobiologischen Abbau von PAK. Dissertation, Universität Berlin

10 Anhang

10.1 Probenmaterialien

10.1.1 Bodenzusammensetzung

Tab. 21Zusammensetzung der Versuchsansätze des Schmierölabbaus (alle
Angaben bezogen auf TM, Kap. 6.2.1)

Versuchs-	Ah	Ко	H_2O^*	Schmieröl	Hg(II)	Zn	Cu(II)	Pb(II)
ansatz	[g]	[g]	[mL]	[g/kg]	[mg/kg]	[mg/kg]	[mg/kg]	[mg/kg]
Ah/Ko-kon**	342,0	38,0	99,3					
Ah/Ko	342,0	38,0	99,3	52,6				
Ah/Ko+SM1	342,0	38,0	99,3	52,6		2998,7	529,5	605,0
Ah/Ko, s	342,0	38,0	99,3	52,6	933,5			
Ah/Ko+SM1, s	342,0	38,0	99,3	52,6	933,5	2998,7	529,5	605,0

 * = setzt sich zusammen aus der Restfeuchte des Ah- und Kompostmaterials, dem Wasseranteil der Schwermetall-Lösungen sowie dem zugesetzten Wasseranteil
 ** = "kon" = Kontrolle

Tab. 22	Zusammensetzung	der	Versuchsansätze	des	Dieselölabbaus	(alle
	Angaben bezogen au	uf TM	, Kap. 6.3.1)			

Versuchs-	Ah	Ко	<i>H</i> ₂ O*	Dieselöl	Hg(II)	Zn	Cd	Cr(III)
ansatz	[g]	[g]	[mL]	[g/kg]	[mg/kg]	[mg/kg]	[mg/kg]	[mg/kg]
Ah/Ko-kon**	598,5	66,5	173,8					
Ah/Ko	598,5	66,5	173,8	52,6				
Ah/Ko+SM2	598,5	66,5	173,8	52,6		501,2	15,0	250,5
Ah/Ko+SM3	598,5	66,5	173,8	52,6		3000,9	60,0	800,1
Ah/Ko, s	598,5	66,5	173,8	52,6	982,1			
Ah/Ko+SM2, s	598,5	66,5	173,8	52,6	982,1	501,2	15,0	250,5
Ah/Ko+SM3, s	598,5	66,5	173,8	52,6	982,1	3000,9	60,0	800,1

* = setzt sich zusammen aus der Restfeuchte des Ah- und Kompostmaterials, dem Wasseranteil der Schwermetall-Lösungen sowie dem zugesetzten Wasseranteil

** = "kon" = Kontrolle

Versuchs-	Ah	Ko	H_2O^*	PAK-	Hg(II)	Cu(II)	Pb(II)	Zn	Cd	Cr(III)
ansätze				Lsg.**						
(Ah)	[g]	[g]	[mL]	[mL]	[mg/kg]	[mg/kg]	[mg/kg]	[mg/kg]	[mg/kg]	[mg/kg]
Ah-kon***	800		126,8							
Ah	800		126,8	5,5						
Ah+SM4	800		126,8	5,5				503,5	15,5	251,8
Ah+SM5	800		126,8	5,5				3021,3	61,0	805,7
Ah+SM6	800		126,8	5,5		101,7	153,1	504,2		
Ah, s	800		126,8	5,5	886,6					
Ah+SM4, s	800		126,8	5,5	886,6			503,5	15,5	251,8
Ah+SM5, s	800		126,8	5,5	886,6			3021,3	61,0	805,7
Ah+SM6, s	800		126,8	5,5	886,6	101,7	153,1			
Versuchs-	Δh	Ko	H_0*	PAK-	Ha(II)	Cu(II)	Pb(II)	Zn	Cd	Cr(III)
01000110	/ // /	1.0	1120	,,,,,					04	O(m)
ansätze	7 0 1	110	1120	Lsg.**	1.9()	Ga(II)	1 2(11)		Cu	01(111)
ansätze (Ah/Ko)	[g]	[g]	[mL]	<i>Lsg.</i> ** [mL]	[mg/kg]	[mg/kg]	[mg/kg]	/ [mg/kg]	[mg/kg]	[mg/kg]
ansätze (Ah/Ko) Ah/Ko-kon***	[g] 720	[g] 80	[mL] 209,1	Lsg. ** [mL]	[mg/kg]	[mg/kg]	[mg/kg]	[mg/kg]	[mg/kg]	[mg/kg]
ansätze (Ah/Ko) Ah/Ko-kon*** Ah/Ko	[g] 720 720	[g] 80 80	[mL] 209,1 209,1	<i>Lsg.</i> ** [mL] 5,0	[mg/kg]	[mg/kg]	[mg/kg]	[mg/kg] 	[mg/kg] 	[mg/kg]
ansätze (Ah/Ko) Ah/Ko-kon*** Ah/Ko Ah/Ko+SM4	[g] 720 720 720 720	[g] 80 80 80	[mL] 209,1 209,1 209,1	<i>Lsg.</i> ** [mL] 5,0 5,0	[mg/kg]	[mg/kg]	[mg/kg]	[mg/kg] 503,6	[mg/kg] 24,8	[mg/kg] 251,9
ansätze (Ah/Ko) Ah/Ko-kon*** Ah/Ko Ah/Ko+SM4 Ah/Ko+SM5	[g] 720 720 720 720 720	[g] 80 80 80 80 80	[mL] 209,1 209,1 209,1 209,1	<i>Lsg.</i> ** [mL] 5,0 5,0 5,0	[mg/kg]	[mg/kg] 	[mg/kg]	[mg/kg] 503,6 3022,4	[mg/kg] 24,8 60,5	[mg/kg] 251,9 803,9
ansätze (Ah/Ko) Ah/Ko-kon*** Ah/Ko Ah/Ko+SM4 Ah/Ko+SM5 Ah/Ko+SM6	[g] 720 720 720 720 720 720	[9] 80 80 80 80 80 80	[mL] 209,1 209,1 209,1 209,1 209,1	<i>Lsg.</i> ** [mL] 5,0 5,0 5,0 5,0	[mg/kg]	[mg/kg] 101,5	[mg/kg] 240,1	[mg/kg] 503,6 3022,4 504,1	[mg/kg] 24,8 60,5 	[mg/kg] 251,9 803,9
ansätze (Ah/Ko) Ah/Ko-kon*** Ah/Ko Ah/Ko+SM4 Ah/Ko+SM5 Ah/Ko+SM6 Ah/Ko, s	[g] 720 720 720 720 720 720 720 720	[g] 80 80 80 80 80 80 80	[mL] 209,1 209,1 209,1 209,1 209,1 209,1	<i>Lsg.</i> ** [mL] 5,0 5,0 5,0 5,0 5,0 5,0	[mg/kg] 886,6	[mg/kg] 101,5 	[mg/kg] 240,1	[mg/kg] 503,6 3022,4 504,1 	[mg/kg] 24,8 60,5 	[mg/kg] 251,9 803,9
ansätze (Ah/Ko) Ah/Ko-kon*** Ah/Ko Ah/Ko+SM4 Ah/Ko+SM5 Ah/Ko+SM6 Ah/Ko, s Ah/Ko, s	[g] 720 720 720 720 720 720 720 720 720	[9] 80 80 80 80 80 80 80 80	[mL] 209,1 209,1 209,1 209,1 209,1 209,1 209,1	<i>Lsg.</i> ** [mL] 5,0 5,0 5,0 5,0 5,0 5,0 5,0	[mg/kg] 886,6 886,6	[mg/kg] 101,5 	[mg/kg] 240,1 	[mg/kg] 503,6 3022,4 504,1 496,2	[mg/kg] 24,8 60,5 24,4	[mg/kg] 251,9 803,9 248,2
ansätze (Ah/Ko) Ah/Ko-kon*** Ah/Ko Ah/Ko+SM4 Ah/Ko+SM6 Ah/Ko, s Ah/Ko, s Ah/Ko+SM4, s Ah/Ko+SM5, s	[g] 720 720 720 720 720 720 720 720 720 720	[9] 80 80 80 80 80 80 80 80 80	[mL] 209,1 209,1 209,1 209,1 209,1 209,1 209,1 209,1	<i>Lsg.</i> ** [mL] 5,0 5,0 5,0 5,0 5,0 5,0 5,0 5,0	[mg/kg] 886,6 886,6 886,6	[mg/kg] 101,5 	[mg/kg] 240,1 	[mg/kg] 503,6 3022,4 504,1 496,2 2978,2	[mg/kg] 24,8 60,5 24,4 59,6	[mg/kg] 251,9 803,9 248,2 792,1
ansätze (Ah/Ko) Ah/Ko-kon*** Ah/Ko Ah/Ko+SM4 Ah/Ko+SM5 Ah/Ko+SM6 Ah/Ko, s Ah/Ko+SM4, s Ah/Ko+SM5, s Ah/Ko+SM5, s	[g] 720 720 720 720 720 720 720 720 720 720	[9] 80 80 80 80 80 80 80 80 80 80	[mL] 209,1 209,1 209,1 209,1 209,1 209,1 209,1 209,1 209,1	<i>Lsg.</i> ** [mL] 5,0 5,0 5,0 5,0 5,0 5,0 5,0 5,0 5,0 5,0	[mg/kg] 886,6 886,6 886,6 886,6 886,6	[mg/kg] 101,5 100,1	[mg/kg] 240,1 236,6	[mg/kg] 503,6 3022,4 504,1 496,2 2978,2 496,7	[mg/kg] 24,8 60,5 24,4 59,6 	[mg/kg] 251,9 803,9 248,2 792,1

Zusammensetzung der Versuchsansätze des PAK-Abbaus Tab. 23 (alle Angaben bezogen auf den Ah-Anteil der TM, Kap. 6.4.1)

* = setzt sich zusammen aus der Restfeuchte des Ah- und Kompostmaterials, dem Wasseranteil der Schwermetall-Lösungen sowie dem zugesetzten Wasseranteil ** = Zusammensetzung der PAK-Lösung s. **Tab. 25** des Kap. 10.1.2, S. 157

*** = "kon" = Kontrolle

10.1.2 Standardlösungen

Tab. 24Konzentrationen der in den Abbaustudien in Kap. 6.2 und 6.3 einge-
setzten Mineralölprodukte

Mineralölprodukt	Konzentration Standardlösung [mg/mL]
Schmieröl	40,04
n-Tetradecan (IS)	0,406
Dieselöl	29,84
n-Triacontan (IS)	0,226

Tab. 25	Molekularmassen und Konzentrationen der in den Abbaustudien in Kap.
	6.4 eingesetzten Cycloalkane, Monoaromaten und PAK

Verbindung	Mol-	Konz.	Konz.	Konz.	Konz.
	masse	Dotierlösung	Ah-	Ah/Ko-	Standardlösung
		[mg/mL]	Material	Material	[µg/mL]
			[mg/kg TM]	[mg/kg TM] *	
Propylcyclohexan	126	20,01	137,54	139,31	100,03
Indan	118	20,08	138,02	139,42	100,38
Butylbenzol	134	20,21	138,97	140,37	101,07
Tetralin	132	23,71	163,01	164,66	118,55
Naphthalin	128	20,08	138,07	139,46	100,41
2-Methylnaphthalin	142	19,62	134,87	136,23	98,08
Acenaphthylen	152	20,31	139,62	141,03	101,54
Fluoren	166	19,57	134,55	135,91	97,86
Xanthen	182	20,26	139,28	140,69	101,29
1-Methylfluoren	180	4,79	32,92	33,25	23,94
Phenanthren	178	19,86	136,53	137,91	99,29
Anthracen	178	19,84	136,40	137,78	99,20
2-Methylphenanthren	192	2,24	15,37	15,52	11,18
2-Methylanthracen	192	3,62	24,89	25,14	18,10
Fluoranthen	202	20,82	143,12	144,57	104,09
Benz[a]anthracen	228	3,58	24,61	24,86	17,90
BHT (IS)					99,73

* = bezogen auf den Ah-Anteil der Trockenmasse; BHT = Butylhydroxytoluol

Tab. 26Zusammensetzung der Standards A und B der Oxidationsprodukte und
Molekularmassen der Oxidationsprodukte (s. Kap. 3, S. 18 und Kap. 6)

Verbindung	Molekularmasse	Konzentration	Konzentration
		Standardlösung	Standardlösung
		A [µg/mL]	Β [μg/mL]
3-Methylacetophenon	134	93,36	85,00
2,4-Dimethylacetophenon	148	92,80	121,76
4-Phenylcyclohexanon	174	83,48	
1-Indanol	134	83,20	128,80
1-Indanon	132	93,66	89,06
1-Tetralol	148	82,72	131,58
1-Tetralon	146	87,74	102,78
4-Methyl-1-tetralon	160	74,16	
Cumarin	146		101,58
1-Naphthol	144	102,32	101,06
6-Methylcumarin	160	78,12	108,32
9-Fluorenol	182	103,00	100,32
9-Fluorenon	180	88,10	108,66
9-Xanthenon	196		97,58
1,2-Acenaphthylendion	182	95,38	100,02
1,8-Naphthalsäureanhydrid	198	99,14	108,84
9-Anthracenon	194		100,00
9,10-Anthrachinon	208	91,90	104,14
2-Methylanthrachinon	222		101,12
Benz[a]anthracen-7,12-dion	258		110,96
n-Hexadecan (IS)			141,4
BHT (IS)		100,38	

Tab. 27 Zusammensetzung des Standards C der Oxidationsprodukte und Molekularmassen der Oxidationsprodukte und Methylesterderivate (s. Kap. 3 und 6)

Verbindung	Molekular-	Molekular-	Konzentration
	masse	masse	Standardlösung
		Methylester	C [µg/mL]
Cyclopentancarbonsäure	114	128	116,80
Cyclopentanessigsäure	128	142	153,80
1,2-Cyclopentandicarbonsäure	158	172	115,63
Cyclohexancarbonsäure	128	142	105,18
Cyclohexanessigsäure	142	156	148,48
4-Methylcyclohexancarbonsäure	142	156	125,40
Phenylessigsäure	136	150	106,78
2-Naphthoesäure	172	186	121,98
1-Hydroxy-2-naphthoesäure	188	202	134,53
9-Fluorenon-1-carbonsäure	224	238	107,40
Cyclohexylmethylketon (IS)			110,64

Tab. 28 Schwermetallkonzentrationen in den Kalibrierlösungen (Kap. 4.2.2 und 6.4.1)

Lösung	Pb-Lsg.	Cd-Lsg.	Cr-Lsg.	Cu-Lsg.	Zn-Lsg.
lfd. Nr.	[µg/mL]	[µg/mL]	[µg/mL]	[µg/mL]	[µg/mL]
1	26,27	5,90	158,10	16,12	4,39
2	21,01	3,94	105,40	10,74	3,51
3	15,76	1,97	52,70	5,37	2,63
4	10,51	0,99	26,35	2,69	1,76
5	5,25	0,49	13,18	1,34	0,88
6	2,63	0,25		0,67	0,44
7	1,31			0,34	

Bezeichnung	$Pb(NO_3)_2$	Cu(NO ₃) ₂	$Zn(NO_3)_2$	ZnSO4	$3 CdSO_4$	KCr(SO ₄) ₂
		• 3H ₂ O	•6 <i>H</i> ₂O	• 7 H ₂ O	• 8 H ₂ O	• 12 H ₂ O
SM1	3,675	7,651	51,843			
SM2				7,329	0,114	8,006
SM3				43,882	0,455	25,573
SM4 (Ah)				9,323	0,148	10,192
SM4 (Ah/Ko)				7,366	0,188	8,052
SM5 (Ah)				55,948	0,586	32,609
SM5 (Ah/Ko)				44,206	0,459	25,698
SM6 (Ah)	1,030	1,628	9,660			
SM6 (Ah/Ko)	1,276	1,284	7,627			

Tab. 29Zusammensetzung der Schwermetall-Dotierlösungen (s. Kap. 6)
[Angaben in g/200 mL]

10.1.3 Chemikalien

Tab. 30	Chemikalienverze	eichnis
---------	------------------	---------

Name	Her-	Artikel-	Gefahren-	R-	S-
	steller	Nr.	symbol	Sätze	Sätze
1,2-Acenaphthylendion	Merck	821923	Xi	37/38	
1-Acenaphthenol	Aldrich	A 40-6	Xn		
Acenaphthylen	EGA-	A 80- 5	Т		
	Chemie				
Aceton	Merck	822251	F+	11	9-16-23.2-
					33
Aluminiumoxid 90 aktiv, basisch	Merck	1076			
Anthracen	Merck	820109	Xi	36/37/38	26-36
9,10-Anthrachinon	Merck	800465			
9-Anthracenon	Fluka	10740			
Benz[a]anthracen	Aldrich	B 220-9	Т		
Benz[a]anthracen-7,12-dion	Aldrich	22,221-6	Xi	36/37/38	26-37/39
Bis(trimethylsilyl)trifluoracetamid	Fluka	15238	Х		
(BSTFA) + 1% Trimethylchlorsilan					
(TMCS)					

Name	Her-	Artikel-	Gefahren-	R-	S-
	steller	Nr.	symbol	Sätze	Sätze
Blei(II)nitrat	Fluka	15334	Τ, Ο	61-E20/22-	53-45
				33	
Butylbenzol	Merck	820239			
Butyrophenon (1-Phenylbutanon)	Aldrich	12,433-8			
Cadmiumsulfat-Octahydrat	Fluka	20920	Т	49-E22-	53-45
				E48/23/25	
Calciumchlorid, gekörnt	Merck	102389	Xi	36	22-24
Chrom(III)-Kaliumsulfat-Dodecahydrat	Fluka	60151			
Cumarin	Merck	822316	Xn	22	
Cyclohexancarbonsäure	Merck				
t-1,2-Cyclohexandicarbonsäure	Aldrich	14,751-6	Xn, Xi		
t-1,4-Cyclohexandicarbonsäure	Aldrich	33,123-6			
Cyclohexanessigsäure	Aldrich	C 10,450-7	Xi, Xn	36/37/38	26-37/39
Cyclohexylmethylketon	Merck	818574	Xi	36/38	26-28.1
Cyclopentancarbonsäure	Aldrich	C 11,200-3	Xi		
t-1,2-Cyclopentandicarbonsäure-DL	Aldrich	23,756-6			
Cyclopentanessigsäure	Aldrich	12,549-0	Xi		
Di-tertbutyl-p-Kresol, 2,6- (BHT)	Fluka	34750	Х		
Dichlormethan, reinst	Merck	106049	Xn	20-40	23.2-
					24/25-
					36/37
Diethylether z.A.	Merck	100921	F+	12-19	9-16-29-33
3,4-Dihydroxybenzoesäure	Aldrich	D10,980-0		36/37/38	26-36
2,4-Dimethylacetophenon	Aldrich	D13,820-7			
Dowex-50W, Kationenaustauscher	Sigma	50X8-200	Xi		
4-Ethylacetophenon	Acros	21035-			
		0250			
Fluoranthen	Aldrich	F 80-7		20/21/22-	36-22-45-7
				40	
¹³ C ₃ -Fluoranthen				20/21/22-	36-22-45-7
				40	
Fluoren	Merck	820572			
Fluoren-9-on-1-carbonsäure	Aldrich	30,166-3			
9-Fluorenon	Merck	803977			

Name	Her-	Artikel-	Gefahren-	R-	S-
	steller	Nr.	symbol	Sätze	Sätze
Flußsäure 40 % z.A.	Merck	100338	T+, C	26/27/28-	7/9-26-
				35	28.1-
					36/37/39-
					45
n-Heptan	Fisons	H/0106/17	F	11	9-16-23-
					29-33
n-Hexadecan	Merck	820633			
n-Hexan	Biomol	50106	F, X	11-20/21-	9-16-23
				40	
Humussäure, Na-Salz	Acros	12086	Xi		
1-Hydroxy-2-naphthoesäure	Merck	820684		36/37/38	26-37/39
2-Hydroxy-3-naphtoesäure	Jansen	12.161.36	Xn	22-	26-36
				36/37/38	
2-Hydroxy-1-naphthaldehyd	Aldrich	H4,535-3		36/37/38	26-37/39
3-Hydroxy-2-	Fluka	55945	Х		
naphthoesäuremethylester					
9-Hydroxyfluoren -1-carbonsäure	Aldrich	30,002-0			
9-Hydroxyfluoren (9-Fluorenol)	Aldrich	H3,120-4			
Indan	EGA-	l -180 -4	F	10	16-3/7
	Chemie				
1-Indanol	Merck	818384			24/25
1-Indanon	Aldrich	I -230-4	Xn		
IsobutyImethylketon (MIBK)	Merck	6146	F	11	9-16-23.2-
					33
Kieselgel, Korngröße 40 µm	Baker	7024-01			
Kupfer(II)nitrat-Trihydrat	Merck	2753	Xn	22	
Methanol z.A.	Merck	106009	F, T	11-23/25	7-16-24-45
Methanol-D4, deuteriert	Merck	106028	F, T	11-23/25	7-16-24-45
1-Methyl-2-tetralon	Aldrich	16,322-8			
1-Methyl-4-tetralon	Aldrich	M8,300-7			
4-Methylacetophenon	Merck	821243	Xn	22	24/25
3-Methylacetophenon	Aldrich	M2,660-7	Xn		
2-Methylacetophenon	Aldrich	M2,659-3	Xn		
2-Methylanthracen	Aldrich	M2,940-1			
2-Methylanthrachinon	Aldrich	10,964-9			
6-Methylcumarin	Aldrich	M 3,620-3			

Name	Her-	Artikel-	Gefahren-	R-	S-
	steller	Nr.	symbol	Sätze	Sätze
7-Methylcumarin	Aldrich	22,032-9			
4-Methylcyclohexancarbonsäure	Aldrich	33,062-0			
t-4-Methylcyclohexancarbonsäure	Aldrich	33,160-0			
1-Methylfluoren	Aldrich	M 4,659-4			
Methylisobutylketon (MIBK)	Merck	6146	F	11	9-16-23.2- 33
2-Methylnaphthalin	Aldrich	M 5,700-6	F; Xn	22	
2-Methylphenanthren	Aldrich	26494-6			
2-Naphthaldehyd	Aldrich	N 20-6	Xn		
Naphthalin	Merck	6200	Xn	45-11- 20/21/22- 36/37/38-	53-16-45- 26- 36/37/39
1 8-Naphthalsäureanhydrid	Aldrich	N 160-7	Xi	45 36/37/38	26-37/39
1-Naphthoesäure	Aldrich	N 190-9	Xi	36/37/38	26-36
2-Naphthoesäure	Aldrich	18.024-6	Xi	36/37/38	26-36
1-Naphthol	Merck	6223	Xn	20/22	24/25
2-Naphthol	Merck	6234	Xn	20/22	24/25
Natrium z.S.	Merck	106260	F, C	14/15-34	5.3-8-43.7- 45
Natriumchlorid z.A.	Merck	106404			
Natriumdithionit	Merck	6507	Xn	7-22-31	7/8-26-28- 43
Natriumhydroxid	Merck	1,06498	С	35	26-37/39- 45
Natriumnitrat	Merck	1,06537	0	8	16-41
Natriumsulfat, wasserfrei	Merck	106645			
Phenanthren	Merck	822122	Xi	38	
¹³ C ₁ -Phenanthren			Xi	38	
1- (S)-(-)-Phenyl-1-butanol	Aldrich	31,732-2			
4-Phenylbuttersäure	Aldrich	P2,100-5			
4-Phenylcyclohexanon	Aldrich	19,623-1			
Phenylessigsäure	Fluka	78490		36/37/38	26-36
Phenylessigsäuremethylester	Aldrich	10,805-7	Xi		
3-Phenylpropionsäure	Aldrich	13,523-2			
Phthalsäure z.A.	Merck	109611	Xi	36/37/38	

Name	Her-	Artikel-	Gefahren-	R-	S-
	steller	Nr.	symbol	Sätze	Sätze
Polyvinylpolypyrrolidon (PVPP)	Sigma	P-6755			
Propylcyclohexan	Aldrich	11,185-6			
Quarz (feinkörnig, geglüht) z.A.	Merck	107536			
Quecksilber(II)chlorid	Baker	1131	T+	26/27/28-	1/2-13-
				33	28,1-45
Salzsäure, 32 %	Merck	100319	С	34-37	26-
					36/37/39-
					45
Schwefelsäure 95-97 %	Merck	731	С	35	2-26-30
n-Tetradecan z.S.	Merck	814767	Xn	65	23.2-24-62
Tetralin	Merck	809733	Xi	36/38	
1-Tetralol	Aldrich	12,240-8			
α -Tetralon	Aldrich	T1,900-3	Xn	22	37/39
Toluol	Merck	8389	F, Xn	47-11-20	16-29-33
n-Triacontan	Aldrich	26,384-2			
2,4,6-Trimethylacetophenon	Aldrich	T7,240-0			
Wasser- ¹⁸ O	Aldrich	32,987-8			
Xanthen	Aldrich	X,20-1	Х	20/21/22-	26-27-
				42/43	36/37/39
9-Xanthenon	Fluka	95502		42/43	36
Zinknitrat-Hexahydrat	Fluka	96482	F, Xn, O	8-22-	
				36/37/38	
Zinksulfat-Heptahydrat	Fluka	96500	Xi	36	24

10.2 Geräte und Meßbedingungen

10.2.1 Gaschromatographie/FID (Kap. 6 und 7)

(Quantifizierung der Mineralölprodukte, PAK und Oxidationsprodukte)

Gerät:	HRGC 5160 - Mega Series (Carlo Erba Instruments/Fisons, Wiesbaden)
Trennsäule:	DB-5, 30 m x 0,32 mm ID, 0,25 µm Filmdicke (J&W Scientific, Folsom, USA)
Vorsäule:	desaktivierte, unbeschichtete Fused-Silica-Kapillare 1 m x 0,32 mm ID (Seekamp, Achim)
Trägergas:	Helium, 2 mL/min
Injektion:	300 °C, Split 1:4, Volumen 1 μL Autosampler LS 20 (LS Labor-Service, Darmstadt)
Detektor:	FID, 320 °C
Temperaturprogramm:	a) Schmieröl (Kap. 6.2): 70 - 300 °C (10 °C/min), 17 min isotherm
	 b) Dieselkraftstoff (Kap. 6.3): 50 °C (5 min), 50 - 300 °C (10 °C/min), 5 min isotherm
	 c) Monoaromaten und PAK (Kap. 6.3): 50 °C (4 min), 50 - 150 °C (3 °C/min), 150 - 300 °C (5 °C/min), 10 min isotherm
	 d) Ketonfraktionen d. Dieselabbaus (Kap. 6.3): 50 °C (8 min), 50 - 165 °C (2 °C/min), 165 - 300 °C (15 °C/min), 10 min isotherm
	e) Ketonfraktionen d. PAK-Abbaus (Kap. 6.4): 50 °C (5 min), 50 - 140 °C (2 °C/min), 140 - 300 °C (10 °C/min), 15 min isotherm
	 f) Säurefraktionen d. Diesel/PAK-Abbaus (Kap. 6.3-4): 50 °C (8 min), 50 - 105 °C (2 °C/min), 105 - 300 °C (5 °C/min), 20 min isotherm
	 g) ¹³C₃-Fluoranthen (Kap. 7.2.2): 60 - 280 °C (10 °C/min), 5 min isotherm
	h) ¹³ C ₁ -Phenanthren (Kap. 7.2.1, 7.2.3, 7.4.1): 100 - 300 °C (10 °C/min)
Auswertung:	 über Peakflächen, Methode des internen Standards a, b, g, h) PC-Auswertesoftware Chromstar Version 4.0 (SCPA GmbH, Stuhr) c-f) Integrator D-2000 (Merck/Hitachi, Darmstadt)

10.2.2 Gaschromatographie/MSD (Kap. 6 und 7)

(Identifizierung der Oxidationsprodukte und ¹³C-PAK-Derivate)

Gerät:	5890 Series II (Hewlett Packard, Palo Alto, USA)
Trennsäule:	DB-5, 30 m x 0,25 mm ID, 0,25 µm Filmdicke (J&W Scientific, Folsom, USA)
Vorsäule:	desaktivierte, unbeschichtete Fused-Silica-Kapillare 1 m x 0,25 mm ID (Seekamp, Achim)
Trägergas:	Helium, 1 mL/min
Injektion:	300 °C, Splitless 1 min, dann Split 1:30, Volumen 1 μ L
Detektor:	HP 5971 MSD, EI 70 eV, 550 - 50 amu, 1,2 Scans/s, Interface 300 °C
Temperaturprogramm:	a) Ketonfraktionen d. Dieselabbaus (Kap. 6.3.1): 50 °C (8 min), 50 - 165 °C (2 °C/min), 165 - 300 °C (15 °C/min), 10 min isotherm
	 b) Ketonfraktionen d. PAK-Abbaus (Kap. 6.4.1): 50 °C (5 min), 50 - 140 °C (2 °C/min), 140 - 300 °C (10 °C/min), 15 min isotherm
	 c) Säurefraktionen d. Diesel-/PAK-Abbaus (Kap. 6.3.1 und 6.4.1): 50 °C (8 min), 50 - 105 °C (2 °C/min), 105 - 300 °C (5 °C/min), 20 min isotherm
	 d) Spaltprodukte d. alkalischen Hydrolyse (Kap. 7.4.1): neutrale Fraktion 80 - 300 °C (10 °C/min) saure Fraktion (silyliert) 60 - 300 °C (3 °C/min), 20 min isotherm
	e) Ketonfraktionen ¹³ C ₃ -Fluoranthen-Abbau (Kap. 7.2.2): 80 °C (5 min), 80 - 140 °C (5 °C/min), 140 - 300 °C (10 °C/min), 5 min isotherm
	 f) Säurefraktion ¹³C₃-Fluoranthen-Abbau (Kap. 7.2.2): 80 - 280 °C (5 °C/min)
	g) Ketonfraktionen ¹³ C ₁ -Phenanthren-Abbau (Kap. 7.2.1 und 7.2.3): 80 °C (4 min), 80 - 300 °C (6 °C/min)
	h) Säurefraktion ¹³ C ₁ -Phenanthren-Abbau (Kap. 7.2.1 und 7.2.3): 80 °C (4 min), 80 - 300 °C (6 °C/min)
Auswertung:	HP G1034B MS ChemStation Identifizierung: a) "Wiley 138" Library (HP, 1992) b) Standardsubstanzen

10.2.3 Atomabsorptionsspektrometrie (Kap. 4.2.2 und 6.4.1)

(Analytik der Schwermetalle)

Gerät:	PU 9100 serie: (Pye Unicam L	PU 9100 series atomic absorption spectrometer (Pye Unicam Ltd - Philips, Cambridge, UK)				
Flamme:	Acetylen/Druck	luft				
Meßparameter:		Pb	Cd	Cr	Cu	Zn
	Spaltbreite [nm]	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
	Wellenlänge [nm]	217,0	228,8	357,9	324,8	213,9
	Lampenstrom [mA]	5	5	8	4	10

10.2.4 ¹³C-CPMAS-NMR-Spektroskopie (Kap. 5.1.2, 5.2.2 und 7.2)

(Strukturanalytik der Huminstoffe und PAK/Huminstoff-Komplexe)

Gerät:	Festkörper-NMR MSL 300 (Bruker, Rheinstetten, BRD)
Feldstärke:	7.05 Tesla
Absorptionsfrequenz:	75,47 MHz (¹³ C), 300 MHz (¹ H)
Rotor:	4 mm o.d., ZrO ₃ (Rototec, Remshalden, BRD)
Rotationsfrequenz:	ca. 5000 Hz
Kontaktzeit:	1 msec
Recycle delay:	4 sec
Meßdauer:	über Nacht (mind. 8 h)
Anzahl der Scans:	je nach Material 5 x 10^3 bis 4 x 10^4
Rechnerische Linienverbreiterung (LB):	50 - 100 Hz
Datenpunkte (real):	1066
SI:	4 K
SW:	23000 Hz
Temperatur:	Raumtemperatur

10.2.5 ¹³C-Hochauflösungs-NMR-Spektroskopie (Kap. 7.2)

(Analytik der Extrakte aus den ¹³C-PAK-Abbauversuchen)

Gerät:	Gemini-200BB (Varian, Darmstadt, BRD)
Feldstärke:	4,69 Tesla
Absorptionsfrequenz:	50,2 MHz (¹³ C), 200 MHz (¹ H)
Recycle delay:	1 sec
Rechnerische Linienverbreiterung (LB):	1,9 Hz
SI:	16 K
SW:	11061 Hz
Digit. Res.:	0,68
Temperatur:	Raumtemperatur

10.2.6 Coulometrie (Kap. 5.2.2)

(Total Carbon-Bestimmung der Huminstoffe)

Gerät:	Ströhlein Coulomat 702 LI (Ströhlein, Kaarst, BRD)
Prinzip:	Durch die Verbrennung (850 °C) der Probe wird der gesamte Kohlenstoff in CO_2 umgewandelt. Das entstandene CO_2 wird mittels IR-Detektor detektiert.
Detektor:	FINOR IFC-Gasanalysator (Maihak, Hamburg, BRD)
Auswertung:	Shimadzu CR3A-Integrator (Shimadzu Europa GmbH, Duisburg, BRD)

10.3 Arbeitsvorschriften

10.3.1 Extraktion

10.3.1.1 Extraktion der Mineralölprodukte, PAK und Oxidationsprodukte

50 g Boden (FG) werden durch Verrühren mit 1 mL 2 mol/L Salzsäure angesäuert, um die Dissoziation der potentiell enthaltenen Säure-Oxidationsprodukte zurückzudrängen und anschließend durch Verreiben mit 50 g Natriumsulfat (wasserfrei) getrocknet. Die Extraktion des vorbereiteten Bodenmaterials erfolgt mittels eines Gemisches aus 35 mL n-Heptan und 180 mL Dichlormethan in der Soxhlet-Apparatur (8 h, 4 Abläufe/h), wobei das Heptan in der Vorlage verbleibt und das Dichlormethan das eigentliche Extraktionsmittel darstellt. Der erhaltene Extrakt wird am Vakuumrotationsverdampfer (40 °C, 600 mbar) auf ca. 35 mL (n-Heptan) eingeengt und der Festphasenextraktion zugeführt.

10.3.1.2 Extraktion der Schwermetalle

- 50 g Bodenmaterial (FG) in einem verschraubbaren 250 mL Zentrifugenglas mit 43,2 mL (für Ah-Versuchsansätze mit 6,8 mL H₂O / 50 g FG) bzw. 39,6 mL (für Ah/Ko-Versuchsansätze mit 10,4 mL H₂O / 50 g FG) einer 0,12 mol/L Natriumnitratlösung versetzen, so daß jeweils eine Suspension mit einem Wasseranteil von 50 mL und einer NaNO₃-Konzentration von ca. 0,1 mol/L vorliegt
- 4 h auf der Schüttelmaschine extrahieren
- 20 min zentrifugieren, Überstand durch einen Faltenfilter filtrieren, Filtrat nach gegebenenfalls notwendiger Verdünnung für die AAS-Messung verwenden (Meßbedingungen s. Kap. 10.2.3, Zusammensetzung der Kalibrierlösungen s. *Tab.* 28, Kap. 10.1.2, S. 159)
10.3.2 Festphasenextraktion (SPE)

10.3.2.1 Material

- 8-mL-Glastrennsäulen (Baker 7328-06, Groß-Gerau)
- PTFE-Fritten, 20 µm (Baker 7329-06, Groß-Gerau)
- Messing-Durchflußhähne (Baker 4514, Groß-Gerau)
- Aluminiumoxid, basisch: 90 aktiv, Korngröße 63-200 µm, mit 4 % Wasser desaktiviert
- Kieselgel: Korngröße 40 μm (Verteilung 30-60 μm), Porendurchmesser 6 nm, aktive Oberfläche 480 m²/g, mit 10 % Wasser desaktiviert

10.3.2.2 Durchführung

In die mit einer PTFE-Fritte versehene Glassäule wird 1,5 g desaktiviertes basisches Aluminiumoxid eingewogen. Nach vorsichtigem Klopfen zur Verdichtung des Pulvers wird eine zweite Fritte eingesetzt. Auf die gleiche Art erfolgt die Einwaage von 2 g desaktiviertem Kieselgel und der Einsatz einer dritten Fritte. Vor Gebrauch wird die Säule mit n-Hexan (ca. 15 mL) bis zum gelartigen, glasigen Zustand equilibriert.

Der eingeengte Probenextrakt (ca. 35 mL) wird unter Verwendung eines mittels Adapter verbundenen 50 mL-Vorratsbehälters vollständig auf die Säule gegeben.

Die Strukturtypentrennung erfolgt mit dem Elutionsverlauf (Durchflußgeschwindigkeit 0,5 - 1,0 mL/min):

2 mL Totvolumen



Von den jeweiligen Meßlösungen (bei Fraktion III aus der oberen Toluolphase) wird 1 µL in den GC (GC-Bedingungen s. Kap. 10.2.1 und 10.2.2) injiziert.

10.3.3 Derivatisierung des Säurestandards mit Schwefelsäure/Methanol

- 1 mL Säurestandard (s. Tab. 27; S. 159)
- + 1 mL 5 % Schwefelsäure in Methanol
- 1 h Standzeit
- + 5 mL gesättigter NaCI-Lösung
- + 0,1 mL Cyclohexylmethylketon (1mg/mL Toluol)
- Extraktion mit 1 mL Toluol
- zentrifugieren und aus oberer Phase zur Analyse entnehmen

10.3.4 Bestimmung der Boden-pH-Werte (gemäß DIN 38.404-C5)

- 10 g Bodenmaterial (FG) in 25 mL einer Calciumchlorid-Lösung (0,01 mol/L) suspendieren
- 1 h Standzeit
- mittels pH-Meter (kalibriert mit Pufferlösungen, pH 4 und pH 7) direkt den pH-Wert des Überstandes messen

10.3.5 Bestimmung der Koloniebildenden Einheiten (KBE)

10 g Bodenmaterial (FG) wird unter Sterilbedingungen entnommen und in 90 mL einer physiologischen NaCl-Lösung suspendiert (10⁻¹-Verdünnung). Je 1 mL dieser Suspension sowie logarithmischer Verdünnungen (10⁻² bis 10⁻⁸) werden in nach dem KOCH`schen Gußplattenverfahren hergestelltem Plate-Count-Agar in Petrischalen inkubiert. Die Auszählung der Kolonien erfolgt nach 2-tägiger Inkubation bei Raumtemperatur.

10.3.6 Isolierung der Bodenhuminstoffe

10.3.6.1 Vorextraktion

Die Vorextraktion dient der Entfernung extrahierbarer Schadstoffe. Gebundene Rückstände verbleiben im Boden.

- Bodenmaterial in Soxhlet-Apparatur nacheinander jeweils f
 ür 8 h mit 200 mL Aceton, Methanol und Dichlormethan extrahieren
- Extrakte für die qualitative und quantitative Bestimmung extrahierbarer Schadstoffe verwenden
- Lösungsmittelreste abdampfen lassen

10.3.6.2 Dithionitbehandlung (Reduktion paramagnetischer Fe³⁺-Ionen)

 20 g trockenes bzw. vorextrahiertes Bodenmaterial in 250 mL-Zentrifugenglas mit 50 mL demineralisiertem Wasser und 5 g Natriumdithionit (entspr. 10%iger Lösung) versetzen, für 15 min auf dem Wasserbad (75 °C) rühren

- nach der Zentrifugation den Überstand verwerfen und den Rückstand 1x mit 100 mL 0,05 mol/L HCI waschen (gelber Schwefelniederschlag)
- nach Zentrifugation den Überstand verwerfen, den Rückstand 2x mit 100 mL
 Wasser waschen und die Überstände jeweils verwerfen

10.3.6.3 Alkalische Extraktion der Huminsäuren und Fulvinsäuren

- bis zu 20 g Bodenmaterial (TM) in 250 mL-Zentrifugenglas (mit Schraubdeckel) einwiegen bzw. aus 10.3.6.2 überführen
- mit 100 mL 0,5 mol/L NaOH versetzen
- die Luft aus der Lösung austreiben, indem Stickstoff mittels einer Pasteurpipette in die Lösung eingeblasen wird und das Glas anschließend zügig verschlossen wird
- das verschlossene Zentrifugenglas mit Alufolie umwickeln (Lichtausschluß) und die Huminstoffe 24 h auf der Schüttelmaschine extrahieren
- nach Zentrifugation den Überstand über einen Faltenfilter in ein neues Zentrifugenglas filtrieren
- Rückstand ein zweites Mal wie zuvor behandeln, jedoch nur 2 h schütteln
- beide Extrakte vereinigen (Huminsäuren, Fulvinsäuren, Nichthuminstoffe), weiter mit 10.3.6.5
- den Rückstand (Humin) gemäß 10.3.6.4 behandeln

10.3.6.4 Gewinnung des Humins

- Rückstand im Zentrifugenglas mit 75 mL 0,1 mol/L HCl und 75 mL MIBK versetzen, kräftig schütteln, kurz absetzen lassen und die MIBK- und wäßrige Phase in einen 500 mL-Scheidetrichter überführen (Suspension zwischen den beiden Phasen enthält das Humin)
- den Vorgang mit 50 mL 0,1 mol/L HCl und 75 mL MIBK wiederholen, den Bodensatz anschließend verwerfen
- wäßrige und MIBK-Phase im Scheidetrichter trennen lassen, anschließend die wäßrige Phase verwerfen

- den Vorgang wiederholen bis die wäßrige Phase farblos bleibt
- MIBK-Phase in einen 250 mL-Rundkolben ablassen, Siedesteinchen hinzugeben und bei 70 °C am Vakuumrotationsverdampfer (von 200 mbar stufenweise bis 90 mbar) zur Trockne einengen
- Rückstand mit 50 mL demineralisiertem Wasser aufschlämmen, weiter mit 10.3.6.8
- bei zu hohem Aschegehalt die Huminprobe in einer Polyethylenflasche mit 200 mL einer HCI/HF-Lösung (0,1 mol/L HCI / 0,3 mol/L HF) behandeln (eventuell mehrmals wiederholen), anschließend mit Wasser waschen bis neutraler pH, weiter mit 10.3.6.8

10.3.6.5 Trennung von Huminsäuren und Fulvinsäuren

- den vereinigten Extrakt aus 10.3.6.3 mit konz. HCl ad pH 1 ansäuern, Huminsäuren über Nacht im Kühlschrank niederschlagen lassen
- nach Zentrifugation den Überstand (enthält Fulvinsäuren und Nichthuminstoffe) in ein geeignetes Gefäß abdekantieren, weiter mit 10.3.6.7
- den Huminsäure-Niederschlag gemäß 10.3.6.6 behandeln

10.3.6.6 Gewinnung der Huminsäuren

- den Niederschlag aus 10.3.6.5 zur Reduzierung des Aschegehaltes mehrmals (i.d.R. 3x) in 0,5 mol/L NaOH auflösen und bei pH 1 fällen (konz. HCI)
- den Niederschlag mit 150 mL Wasser waschen, zentrifugieren und Überstand verwerfen (wiederholen bis neutraler pH)
- Rückstand in 50 mL demineralisiertem Wasser aufschlämmen, weiter mit 10.3.6.8

10.3.6.7 Gewinnung der Fulvinsäuren

- a) Vorbereitung des unlöslichen Polyvinylpolypyrrolidons (PVPP)
 - 50 g PVPP in 1L-Glaszylinder einwiegen und 2 x mit Wasser waschen, Überstand jeweils verwerfen
 - in einer 0,005 mol/L Schwefelsäure-Lösung lagern

- b) Vorbereitung der PVPP-Säule
 - eine geeignete Glassäule mit ca. 17 cm³ PVPP belegen
 - Säule mit 100 mL einer 0,5 mol/L Schwefelsäure-Lösung waschen

c) Vorbereitung und Handhabung der Kationenaustauscher-Säule

- ca. 10 cm³ stark sauren Kationenaustauscher (DOWEX-50W, Sigma, 50X8-200) in einer geeigneten Glassäule mit 100 mL einer 2 mol/L HCI in die H⁺-Form überführen, danach mit 100 mL Wasser neutral waschen
- Fulvinsäurelösung aufgeben, gelb-orange gefärbtes Eluat in einem 100 mL-Rundkolben auffangen, mit ca. 15 mL demineralisierten Wasser nachspülen und auffangen
- Säule mit 100 mL Wasser waschen

d) Reinigung der Fulvinsäurefraktion

- Fulvinsäurefraktion aus 10.3.6.5 auf die PVPP-Säule geben
- Säule mit 60 mL 0,1 mol/L Schwefelsäure-Lösung waschen (Elution der Nichthuminstoffe), verwerfen
- Säule mit 100 mL Wasser neutral waschen
- adsorbierte braungefärbte Fulvinsäuren mit 60 mL 0,1 mol/L NaOH von der Säule eluieren, auffangen
- aufgefangene Lösung über die Kationenaustauscher-Säule geben (siehe c.)
- Fulvinsäureeluat aus c) im Kühlbad einfrieren und gefriertrocknen

10.3.6.8 Dialyse und Gefriertrocknung

- wäßrige Huminstoffsuspension in einen zuvor eingeweichten Dialyseschlauch (Servapor, regenerierte Cellulose, MWCO 12000-14000, ca. 30 mm x 20 cm) überführen, Verschluß mit geeigneten Klammern
- Dialyse f
 ür 24 bis 48 h gegen bidestilliertes Wasser (Austausch 120 mL/h) und einen stark sauren Kationenaustauscher (DOWEX 50W), der sich in einem gesonderten Dialyseschlauch befindet
- Schlauchinhalt vollständig in einen 250 mL-Rundkolben überführen, Probe in einem Kühlbad einfrieren und anschließend gefriertrocknen

10.3.7 Alkalische Hydrolyse der PAK/Huminstoff-Komplexe und Derivatisierung der Spaltprodukte

10.3.7.1 Herstellung der isotopenmarkierten NaOH-Lösung

- 1 mL H₂¹⁸O (ab Hersteller unter Schutzgas eingeschmolzen in einer Glasampulle) im Tiefkühlschrank einfrieren
- elementares Natrium unter n-Hexan in kleine blanke Stückchen schneiden
- 46 mg Natrium abwiegen und stückchenweise zu dem gefrorenen Wasser geben (Konzentration: 2 mol/L)

10.3.7.2 Alkalische Hydrolyse (Spaltung von Esterbindungen)

- Huminsäure im Vakuumtrockenschrank (40 °C, 70 mbar, 48 h) trocknen
- 40 mg der getrockneten Huminsäure in eine 2 mL-Glasampulle einwiegen
- 0,5 mL der Na¹⁸OH-Lösung hinzufügen, vorsichtig mit Stickstoff begasen und Glasampulle zuschmelzen
- Huminsäure für 18 h bei 80 °C im Trockenschrank hydrolysieren

10.3.7.3 Extraktion und Derivatisierung der Spaltprodukte

- Hydrolysat in ein Zentrifugenglas überführen und die neutralen Spaltprodukte 3 x mit Diethylether extrahieren
- vereinigte Etherphasen über wasserfreiem Natriumsulfat trocknen und auf ca.
 0,5 mL im Stickstoffstrom einengen ⇒ Fraktion 1 (neutral)
- Rückstand mit 2 mol/L HCl auf pH 2 einstellen und die sauren Spaltprodukte 3 x mit frischem Diethylether extrahieren, wobei die Mischung jeweils zentrifugiert und die Etherphase abgezogen wird
- vereinigte Etherphasen über wasserfreiem Natriumsulfat trocknen und das Lösungsmittel im Stickstoffstrom vollständig entfernen
- mit 100 µL BSTFA/TMCS (99:1, v:v) versetzen und im verschlossenen Vial f
 ür 1h bei 70 °C derivatisieren ⇒ Fraktion 2 (sauer)
- 1 µL der jeweiligen Fraktion mittels GC/MSD vermessen (GC-Bedingungen s. Kap. 10.2.2)

10.4 Daten zu den Methodenparametern

Gruppe	Verbindung	WFR	Gruppe	Verbindung	WFR
		[%]			[%]
Mineralöle	Schmieröl	99,7	Ketone	3-Methylacetophenon	89,3
	Dieselöl	97,3		2,4-Dimethylacetophenon	88,6
				4-Phenylcyclohexanon	83,6
Cycloalkan	Propylcyclohexan	78,9		1-Indanon	92,4
				1-Tetralon	95,3
Aromaten	Butylbenzol	85,1		4-Methyl-1-tetralon	96,4
	Indan	87,9		Cumarin	95,2
	Tetralin	86,6		6-Methylcumarin	92,6
				9-Fluorenon	91,8
PAK	Naphthalin	90,9		1,2-Acenaphthylendion	74,3
	2-Methylnaphthalin	92,6		1,8-Naphthalsäureanhydrid	27,1
	Acenaphthylen	94,7		9-Xanthenon	98,4
	Fluoren	98,6		9-Anthracenon	84,5
	1-Methylfluoren	93,9		9,10-Anthrachinon	94,7
	Xanthen	95,0		2-Methyl-9,10-anthrachinon	98,7
	Anthracen	91,8		7,12-Benz[a]anthracendion	71,4
	2-Methylanthracen	89,8			
	Phenanthren	92,1	<u>Säuren*</u>	Cyclopentancarbonsäure	71,0
	2-Methylphenanthren	92,3		Cyclopentanessigsäure	81,8
	Fluoranthen	87,2		1,2-Cyclopentandicarbonsäure	18,1
	Benz[a]anthracen	91,3		Cyclohexancarbonsäure	81,6
				Cyclohexanessigsäure	82,4
Alkohole	1-Indanol	93,0		4-Methylcyclohexancarbonsäure	83,2
	1-Tetralol	94,7		1,4-Cyclohexandicarbonsäure	27,9
	1-Naphthol	19,3		Phenylessigsäure	75,0
	9-Fluorenol	76,6		2-Naphthoesäure	45,5
				1-Hydroxy-2-naphthoesäure	77,8
				9-Fluorenon-1-carbonsäure	70,3

Tab. 31Wiederfindungsraten (WFR) der verwendeten Substanzen (Kap. 4.1)
(Gesamtmethode, Ah/Ko-Material, n=2)

* = s. Folgeseite

* Anmerkung:

Die angegebenen Wiederfindungsraten für die Säureverbindungen beziehen sich auf die entsprechenden Methylesterderivate. Da die verwendeten Säureverbindungen kommerziell nicht sämtlich als Methylesterderivate erhältlich sind, mußten auch die Inhaltsstoffe der Standardlösung zunächst verestert werden. Dementsprechend konnte nicht überprüft werden, ob die Derivatisierungsreaktionen in der Standardlösung und auf der Festphase jeweils vollständig bzw. im gleichen Ausmaß verlaufen. Dieser Aspekt ist bei der Bewertung der ermittelten Wiederfindungsraten zu berücksichtigen. Folglich erschien eine Quantifizierung von derartigen Oxidationsprodukten im Verlauf der Abbaustudien (Kap. 6) als nicht sinnvoll. Tab. 32 Verteilung der eingesetzten bzw. identifizierten Oxidationsprodukte auf die SPE-Fraktionen und die relativen Retentionszeiten bei der gaschromatographischen Trennung (SPE-Parameter s. Kap. 10.3.2, GC-Bedingungen * = s. Kap. 10.2.1e und 10.2.2b, ** = s. Kap. 10.2.1f und 10.2.2c)

Oxidationsprodukt	Relative Retentionszeit*	SPE-Fraktion
1-Indanol	0,54	
1-Phenylbutanon	0,57	
1-Phenylbutanol	0,57	11
1-Indanon	0,60	
1-Tetralol	0,70	11
1-Tetralon	0,72	I
Cumarin	0,80	I
(3- oder 4-)Methylcumarin	0,88	I
2-Naphthaldehyd	0,88	
Naphthol	0,89	(I)
6-Methylcumarin	0,95	
Hexadecan (IS)	1,00	
1-Acenaphthenol	1,03	
9-Fluorenol	1,07	
9-Fluorenon	1,07	
1-Methylfluorenon	1,10	
9-Xanthenon	1,11	I, I I
1-Methylfluorenol	1,11	I I, (I)
1,2-Acenaphthylendion	1,12	I I, (I)
1H, 3H-Naphtho(1,8-cd)-pyran-1-on	1,13	I, I I
9-Anthracenon	1,14	I, I I
9,10-Anthrachinon	1,15	I, I I
1,8-Naphthalsäureanhydrid	1,16	
(1- o. 2- o. 3- o. 4-)Hydroxy-9-xanthenon	1,17	
2-Methylanthrachinon	1,18	I, I I
Benz(a)anthracen-7,12-dion	1,27	I

Oxidationsprodukt	Relative Retentionszeit**	SPE-Fraktion
Cyclohexylmethylketon (IS)	1,00	
Phenylessigsäure-Methylester	1,58	111
Naphthol	2,63	111
1-Hydroxy-2-naphthaldehyd	2,76	111
2-Naphthoesäure-Methylester	2,82	111
1-Hydroxy-2-naphthoesäure-Methylester	2,96	111
2-Hydroxy-3-naphthoesäure-Methylester	3,00	111
1,8-Naphthalsäureanhydrid	3,34	111
9-Fluorenon-1-carbonsäure-Methylester	3,45	

10.5 Einzelergebnisse der Abbaustudien

Tab. 33 Konzentrationsverlauf von Schmieröl in einfach und mischkontaminiertem Ah/Kompost-Material, Angabe in %, bez. auf den Gehalt nach eintägiger Versuchsdauer (n=2, s. Kap. 6.2.2, GC-Bedingungen s. Kap. 10.2.1)

Versuchs-			Unte	rsuchungs	stage		
ansatz	1	7	28	42	70	91	112
Ah/Ko	100,00	84,52	84,23	77,35	81,98	72,73	71,29
Ah/Ko+SM1	100,00	96,54	102,75	99,82	94,99	97,23	97,05
Ah/Ko, s	100,00	100,56	101,00	101,22	100,78	102,03	104,45
Ah/Ko+SM1, s	100,00	100,98	101,92	103,73	105,01	106,52	105,12

SM1 = Pb+Cu+Zn, in Konzentrationen entsprechend dem C-Wert der Holland-Liste von 1988 (s. *Tab. 29*, S. 160)

Tab. 34 Konzentrationsverlauf von Dieselöl in einfach und mischkontaminiertem Ah/Kompost-Material, Angabe in %, bez. auf den Gehalt nach eintägiger Versuchsdauer (n=2, s. Kap. 6.3.2, GC-Bedingungen s. Kap. 10.2.1)

Versuchs-			Unte	ersuchungs	stage		
ansatz	1	7	21	35	63	98	133
Ah/Ko	100,00	82,25	78,22	78,28	73,55	68,10	66,00
Ah/Ko+SM2	100,00	90,03	84,69	84,47	79,11	74,93	69,63
Ah/Ko+SM3	100,00	91,98	88,43	90,47	86,98	83,89	74,51
Ah/Ko, s	100,00	94,57	87,77	88,47	87,56	88,42	88,57
Ah/Ko+SM2, s	100,00	95,43	90,91	87,16	85,87	87,48	83,15
Ah/Ko+SM3, s	100,00	91,32	86,84	88,89	89,48	86,57	83,44

SM2, SM3 = Kombination von Cd, Cr und Zn in unterschiedlicher Konzentrationen (s. *Tab.* 29, S. 160)

Ovidationanradukt	m/z dar Hauntfragmanta (118 statist 19/1)
Oxidationsprodukt	III/2 der Hauptiragmente (Haufigkeit [%])
4-methylacetophenon	134, 119 (100), 91, 00 148, 133 (100), 105, 77
z,+-Dimethylacetophonon	140, 133(100), 103, 77
Thineurylacelophenon	102, 147 (100), 119, 91 149, 122 (100), 105
	140, 133 (100), 103 150, 131, 117, 107 (100), 70
	150, 131, 117, 107 (100), 79
	148, 120, 105 (100), 77
	134, 133 (100), 115, 105, 91, 77
	132, 104 (100), 78
C2-1-Indanon	160, 145 (100), 131, 115
	148, 147, 130 (100), 120, 115, 105, 91
1-I etralon	146, 131, 118 (100), 90
Methyl-1-tetralon	160, 145, 131, 118 (100), 90
Cumarin	146, 118 (100), 90, 89
6-Methylcumarin	160 (100), 132, 131, 103, 77
2-Naphthaldehyd	156, 155, 127 (100),101
1-Hydroxy-2-naphthaldehyd	172, 144, 126, 115 (100)
Naphthol	144 (100), 115, 89
9-Fluorenol	182, 181 (100), 165, 152, 139, 126
9-Fluorenon	180 (100), 152, 126, 76
1-Methylfluorenol	196, 181 (100), 165, 152
1-Methylfluorenon	194 (100), 165, 139
9-Xanthenon	196 (100), 168, 139
?-Hydroxy-9-xanthenon	212 (100), 184, 155, 128
1-Acenaphthenol	170, 169 (100), 152, 141, 127, 115
1,2-Acenaphthylendion	182, 154, 126 (100)
1,8-Naphthalsäureanhydrid	198, 154 (100), 126
1H, 3H-Naphtho(1,8-cd)-pyran-1-on	184, 155 (100), 127
9-Anthracenon	194 (100), 165, 139, 82
9,10-Anthrachinon	208 (100), 180, 152, 126, 76
2-Methylanthrachinon	222 (100), 207, 194, 165
Benz(a)anthracen-7,12-dion	258 (100), 230, 202, 101
Phenylessigsäure-Methylester	150, 119, 105, 91 (100)
C1-Phenylessigsäuremethylester	164, 133, 105 (100), 77
C2-Phenylessigsäuremethylester	178, 163, 119 (100), 91
C1-Phenylpropionsäuremethylester	178, 146, 118, 105 (100), 91
C1-Phenylbutansäuremethylester	192, 161, 143, 118 (100), 105, 74
Cvclopentancarbonsäuremethylester	128, 100, 97, 87 (100), 69
C1-Cvclopentancarbonsäuremethylester	142, 127 (100), 111, 101, 87
Cyclopentanessigsäuremethylester	142, 111, 99, 83, 74 (100)
Cyclohexancarbonsäuremethylester	142, 127, 111, 101, 87 (100) 83, 74
Methylcvclohexancarbonsäuremethylester	156, 141, 124, 97 (100), 87, 81
	156 125 97 74 (100)
2-Nanhthoesäure-Methylester	186, 155 (100) 127, 101
1-Hydroxy-2-nanhthoesäure-Methylester	202 170 (100) 142 114
2-Hydroxy-2-naphthoesaure-Methylester	202, 170 (100), 142, 114
2-i iyuloxy-o-hapillioesaule-ivieliiyiesiei 9-Eluoropop-1-carboncăura Mathulactar	202, 170 (100), 142, 114 238 207 (100), 190, 151
อาการการแกการการสุดการสุดการการการการการการการการการการการการการก	230, 207 (100), 100, 101

Tab. 35 Fragmentionen identifizierter Oxidationsprodukte (s. Kap. 6.3.2 u. 6.4.2)

Tab. 36Konzentrationsverlauf von Propylcyclohexan und Indan in einfach und
mischkontaminierten, biologisch aktiven und sterilen Ah- und Ah/Ko-
Materialien (Mittelwerte aus n=2, s. Kap. 6.4.2)

Versuchs-	F	Propylcyclohexan [mg/kg TM]							Indan [mg/kg TM]				
ansatz		Un	tersuch	nungsta	age				Untersuchungstage				
	1	7	28	49	70	91		1	7	28	49	70	91
Ah, s	21,5	14,3	7,4	6,1	2,9	2,0		33,2	21,8	8,3	4,0	0	0
Ah+SM4, s	22,7	14,3	6,6	3,2	2,0	0		32,3	21,4	7,1	2,7	0	0
Ah+SM5, s	16,8	13,7	9,9	7,6	4,1	3,7		26,6	24,3	12,4	4,9	1,2	0
Ah+SM6, s	7,7	7,3	3,3	2,0	2,0	1,5		17,3	15,5	4,1	2,3	0	0
Ah/Ko, s	53,6	45,3	47,7	52,3	44,3	38,9		74,0	64,8	65,2	62,2	49,1	39,4
Ah/Ko+SM4, s	60,5	58,4	56,8	45,6	46,3	46,0		78,0	68,9	68,6	60,0	52,8	44,2
Ah/Ko+SM5, s	50,7	46,2	44,0	52,0	49,2	49,1		64,8	64,7	60,4	63,0	54,4	51,5
Ah/Ko+SM6, s	25,6	22,8	20,3	20,7	20,5	19,5		51,9	51,6	46,2	43,2	45,0	34,2
					1		1		1				
Ah	8,3	3,6	1,2	0	0	0		20,6	14,7	2,1	0	0	0
Ah+SM4	9,5	5,1	2,2	0	0	0		20,7	12,9	1,9	0	0	0
Ah+SM5	14,6	6,0	1,9	0	0	0		29,2	15,4	2,1	0	0	0
Ah+SM6	12,8	5,0	2,4	0	0	0		21,9	13,6	3,4	0	0	0
Ah/Ko	13,9	12,0	6,4	2,7	2,0	0		30,8	27,3	2,1	0	0	0
Ah/Ko+SM4	11,5	10,1	5,5	3,6	1,8	1,8		30,9	23,8	12,7	3,8	0	0
Ah/Ko+SM5	12,4	9,5	4,3	3,2	1,5	0		31,9	27,1	9,6	4,2	0	0
Ah/Ko+SM6	10,4	9,0	6,1	3,8	2,4	1,6		30,7	20,5	10,8	3,0	0	0

s = steril; SM4, SM5, SM6 = 3er-Kombination aus Cd, Cr, Pb, Cu und Zn in unterschiedlichen Konzentrationen (s. *Tab. 29*, S. 160)

Tab. 37 Konzentrationsverlauf von Butylbenzol und Tetralin in einfach und mischkontaminierten, biologisch aktiven und sterilen Ah- und Ah/Ko-Materialien (n=2, s. Kap. 6.4.2)

Versuchs-		Butyl	penzol	[mg/k	g TM]			Tetralin [mg/kg TM]					
ansatz		Unt	ersuch	nungsi	tage				Uı	ntersucl	hungsta	ge	
	1	7	28	49	70	91		1	7	28	49	70	91
Ah, s	40,6	33,3	14,7	9,0	3,8	1,2		61,1	61,0	42,8	34,1	15,0	7,3
Ah+SM4, s	38,2	32,7	13,5	5,8	2,6	2,0		62,8	62,7	41,0	30,4	14,7	8,3
Ah+SM5, s	32,8	31,0	17,5	11,1	3,7	1,6		65,7	60,1	40,6	31,1	12,3	5,8
Ah+SM6, s	24,9	23,1	8,4	4,9	3,2	0		56,4	52,9	32,8	23,9	12,8	3,8
Ah/Ko, s	81,3	72,9	78,6	80,0	57,2	57,5		102,7	100,2	101,9	102,7	85,6	60,8
Ah/Ko+SM4, s	81,1	77,2	79,5	75,8	71,5	66,2		114,0	106,1	105,1	98,8	90,0	81,0
Ah/Ko+SM5, s	78,2	73,7	70,6	74,6	73,7	72,8		103,9	101,6	94,6	97,9	92,3	91,5
Ah/Ko+SM6, s	62,5	61,6	62,5	61,9	62,5	54,2		93,2	89,8	91,5	92,0	89,7	80,4
A 1	00.4	045	1.0	4.0	•	•		07.0		07.0	0.5	4 7	0.0
Ah	30,1	24,5	4,3	1,8	0	0		67,8	55,5	27,9	8,5	4,7	2,8
Ah+SM4	31,2	20,6	4,3	0	0	0		60,5	50,6	25,6	5,3	1,4	1,7
Ah+SM5	34,0	20,0	4,5	0	0	0		64,7	47,0	27,9	5,9	1,6	0
Ah+SM6	31,9	21,6	6,6	6,2	1,4	0		60,9	53,1	29,7	9,2	2,8	2,1
Ah/Ko	36,5	34,0	9,2	3,5	2	0		67,4	64,4	8,4	2,3	1,6	0
Ah/Ko+SM4	38,4	30,6	18,4	6,5	1,6	0		70,0	62,8	50,0	14,6	0	0
Ah/Ko+SM5	40,3	33,3	13,7	8,2	2,8	1,6		72,5	71,1	47,0	35,4	21,2	6,6
Ah/Ko+SM6	36,1	27,0	17,6	5,5	0	0		66,9	58,8	46,7	25,4	5,4	0

Tab. 38 Konzentrationsverlauf von Naphthalin und 2-Methylnaphthalin in einfach und mischkontaminierten, biologisch aktiven und sterilen Ah- und Ah/Ko-Materialien (n=2, s. Kap. 6.4.2)

Versuchs-		Napht	halin [ı	mg/kg	TM]		2-Methylnaphthalin [mg/kg TM]					
ansatz		Unte	rsuchı	ungsta	ge			Ur	ntersuch	nungsta	ge	
	1	7	28	49	70	91	1	7	28	49	70	91
Ah, s	68,3	68,3	60,2	53,9	31,8	19,8	87,3	85,7	87,3	81,1	69,1	48,0
Ah+SM4, s	70,2	69,0	59,0	52,5	32,4	29,8	95,6	93,4	85,8	77,2	74,2	70,5
Ah+SM5, s	84,1	77,4	63,2	50,2	26,5	17,1	86,9	85,5	86,9	70,6	59,8	54,1
Ah+SM6, s	62,1	61,1	49,2	40,3	31,1	15,1	82,9	81,1	82,7	80,2	67,1	60,7
Ah/Ko, s	100,6	95,2	96,4	95,8	83,3	67,4	102,0	100,4	101,1	101,6	90,8	80,5
Ah/Ko+SM4, s	100,5	100,1	96,4	93,5	89,6	75,6	108,2	101,6	107,6	105,5	107,9	100,3
Ah/Ko+SM5, s	97,1	95,7	91,9	97,0	90,6	86,0	107,6	100,6	103,1	107,3	102,2	100,9
Ah/Ko+SM6, s	92,1	91,0	87,8	92,1	87,9	80,7	102,0	89,6	98,4	101,3	101,9	98,8
A.1	05.7	<u> </u>		<u> </u>	40 5	7.0		<u> </u>	70.4	50.0	00.0	00.0
Ah	65,7	62,5	41,7	22,5	13,5	7,3	93,3	88,3	79,1	53,8	39,3	33,6
Ah+SM4	68,2	59,7	47,7	24,4	11,4	5,3	89,8	87,8	79,5	69,8	53,3	43,6
Ah+SM5	71,7	62,5	51,1	25,6	12,1	5,5	85,9	82,4	82,1	69,9	50,7	42,3
Ah+SM6	64,0	62,8	49,8	28,6	13,1	9,5	92,3	91,9	90,0	71,1	56,5	47,0
Ah/Ko	71,5	69,3	6,4	1,9	0	0	72,7	68,0	11,0	2,4	2,1	1,6
Ah/Ko+SM4	71,8	71,8	67,7	7	0	0	87,8	87,1	84,3	12,3	3,4	0
Ah/Ko+SM5	73,6	73,6	65,7	57,8	41,6	24,3	87,2	87,1	87,0	85,0	71,5	56,4
Ah/Ko+SM6	68,3	66,6	64,6	43,3	3,8	0	84,2	82,5	80,3	45,4	33,1	19,9

s = steril; SM4, SM5, SM6 = 3er-Kombination aus Cd, Cr, Pb, Cu und Zn in unterschiedlichen Konzentrationen (s. *Tab. 29*; S. 160)

Tab. 39 Konzentrationsverlauf von Acenaphthylen und Fluoren in einfach und mischkontaminierten, biologisch aktiven und sterilen Ah- und Ah/Ko-Materialien (n=2, s. Kap. 6.4.2)

Versuchs-	A	cenaph	nthyler	n [mg/k	(g TM		Fluoren [mg/kg TM]						
ansatz		Unte	rsuchi	ungsta	ge			Ur	ntersuch	nungsta	ge		
	1	7	28	49	70	91	1	7	28	49	70	91	
Ah, s	22,3	22,2	19,8	21,8	20,2	17,8	114,3	109,9	113,8	111,9	107,5	94,5	
Ah+SM4, s	29,3	28,9	26,3	25,2	24,3	22,1	120,0	119,0	118,3	107,4	107,2	107,4	
Ah+SM5, s	21,3	20,9	19,4	18,5	16,9	14,9	107,7	105,7	107,3	105,5	107,1	107,6	
Ah+SM6, s	7,0	6,8	6,7	6,4	6,6	6,0	115,6	113,8	112,0	113,6	110,4	109,0	
Ah/Ko, s	101,9	100,0	98,7	97,9	86,1	83,1	125,6	124,4	119,9	121,7	121,2	114,9	
Ah/Ko+SM4, s	101,9	100,6	95,2	97,1	99,9	95,4	129,3	126,0	120,2	128,3	127,4	129,2	
Ah/Ko+SM5, s	95,2	94,4	93,2	91,8	89,0	84,9	124,4	121,5	126,5	125,6	116,0	114,1	
Ah/Ko+SM6, s	76,0	72,7	72,8	72,7	72,3	67,1	123,8	123,2	122,5	124,6	122,4	121,6	
A I.	00.0	01.0	50.4	50.0	50.0	40.5	101 5	447.0	445.0	07.0	04.0	77.0	
An	69,2	64,3	59,4	58,8	52,9	48,5	121,5	117,0	115,3	87,0	81,2	77,0	
Ah+SM4	71,1	66,5	60,4	55,8	50,8	44,3	118,3	118,0	116,0	116,5	112,8	110,3	
Ah+SM5	76,8	65,1	64,8	55,6	47,6	42,0	111,8	107,1	110,0	110,1	106,4	100,0	
Ah+SM6	72,3	69,3	71,0	62,0	52,4	52,5	116,3	115,8	115,7	116,2	111,5	97,9	
Ah/Ko	67,0	64,3	11,6	6,1	3,4	0	104,2	102,4	34,5	13,1	3,9	0	
Ah/Ko+SM4	92,1	90,5	89,8	15,7	2,3	0	106,1	104,0	105,7	36,2	10,3	3,7	
Ah/Ko+SM5	86,6	85,6	84,4	79,9	75,6	70,6	111,4	111,3	110,8	108,7	102,4	100,4	
Ah/Ko+SM6	83,3	83,2	82,8	47,0	41,2	30,3	111,7	110,8	108,9	79,4	56,6	14,5	

Tab. 40 Konzentrationsverlauf von Xanthen und 1-Methylfluoren in einfach und mischkontaminierten, biologisch aktiven und sterilen Ah- und Ah/Ko-Materialien (n=2, s. Kap. 6.4.2)

Versuchs-		Xant	hen [mg	g/kg Tl	M]				1-Methylfluoren [mg/kg TM]				
ansatz		Unte	ersuchu	ingsta	ge			Untersuchungstage					
	1	7	28	49	70	91		1	7	28	49	70	91
Ah, s	100,0	82,0	57,5	47,7	30,3	24,3		29,1	26,2	28,9	27,0	26,4	23,7
Ah+SM4, s	106,2	88,3	55,9	39,7	25,6	23,4		30,9	30,5	29,9	24,6	24,7	25,3
Ah+SM5, s	90,25	71,1	59,5	28,5	24,2	22,4		25,1	25,3	23,0	22,6	23,3	23,6
Ah+SM6, s	90,4	71,2	53,3	43,7	38,3	31,8		27,5	27,5	26,9	26,6	26,8	26,1
Ah/Ko, s	120,7	113,8	106,6	87,6	65,1	67,0		31,8	32,0	30,4	29,9	29,4	30,5
Ah/Ko+SM4, s	117,9	114,9	95,1	84,3	71,1	70,2		31,5	29,3	28,8	30,4	31,3	31,7
Ah/Ko+SM5, s	113,2	107,1	89,3	76,8	61,0	53,4		31,1	31,0	26,3	26,8	26,7	26,3
Ah/Ko+SM6, s	90,9	85,9	84,3	77,2	58,2	51,7		30,1	30,0	30,1	30,2	30,3	30,6
			-	-	1		1	-	1	1	1	1	
Ah	110,3	79,4	42,9	29,1	20,7	16,8		31,1	29,9	28,8	27,3	27,4	24,4
Ah+SM4	111,7	72,9	33,7	20,5	14,5	12,2		29,8	30,2	28,4	27,6	27,5	24,9
Ah+SM5	105,7	64,4	29,2	16,7	11,3	10,7		28,2	25,8	25,3	26,1	25,9	23,0
Ah+SM6	114,5	82,0	44,3	27,7	18,4	16,0		30,7	28,4	28,0	29,1	27,6	24,8
Ah/Ko	88,8	49,8	14,3	5,7	1,9	1,0		26,5	27,6	18,5	11,9	5,8	0
Ah/Ko+SM4	104,8	56,2	12,6	6,7	3,0	1,4		28,3	27,2	26,0	21,3	16,4	10,1
Ah/Ko+SM5	99,1	48,9	12,7	8,5	7,1	5,4		28,6	28,7	26,9	27,4	25,6	17,1
Ah/Ko+SM6	102,6	62,6	16,8	11,1	7,2	4,6		28,1	26,7	27,0	25,5	19,7	13,0

s = steril; SM4, SM5, SM6 = 3er-Kombination aus Cd, Cr, Pb, Cu und Zn in unterschiedlichen Konzentrationen (s. *Tab. 29*, S. 160)

Tab. 41 Konzentrationsverlauf von Phenanthren und 2-Methylphenanthren in einfach und mischkontaminierten, biologisch aktiven und sterilen Ahund Ah/Ko-Materialien (n=2, s. Kap. 6.4.2)

Versuchs-		Phen	anthrer	n [mg/kg	g TM]			2-Me	mg/kg	TM]			
ansatz		2-Methylphenanthren [mg/kg TM Untersuchungstage 91 1 7 28 49 70 97 100,2 10,6 10,3 10,4 10,5 9,3 9, 100,5 13,2 13,1 11 9,7 9,7 9,3 102,0 11,7 11,1 9,5 8,5 8,9 8,3 105,0 12,6 12,5 11,6 11,5 11,3 10 109,2 12,8 11,8 11,9 10,9 10 123,2 11,8 11,7 11,5 11,4 10,2 10 100,2 10,5 10 8,3 8,3 7,2 7,3 101,2 11,3 11 10,9 11 10,9 9,4											
	1	7	28	49	70	91		1	7	28	49	70	91
Ah, s	116,9	115,6	113,0	109,0	111,8	100,2		10,6	10,3	10,4	10,5	9,3	9,1
Ah+SM4, s	135,0	135,6	122,2	101,1	101,4	100,5		13,2	13,1	11	9,7	9,7	9,5
Ah+SM5, s	116,7	117,6	102,7	102,2	100,7	102,0		11,7	11,1	9,5	8,5	8,9	8,8
Ah+SM6, s	106,8	107,3	108,5	111,4	107,7	105,0		12,6	12,5	11,6	11,5	11,3	10,4
Ah/Ko, s	124,5	125,3	115,0	121,6	109,1	109,2		12,8	11,8	11,8	11,9	10,9	10,3
Ah/Ko+SM4, s	126,1	125,7	124,0	122,9	124,2	123,2		11,8	11,7	11,5	11,4	10,2	10,6
Ah/Ko+SM5, s	119,2	121,5	115,5	115,0	92,2	100,2		10,5	10	8,3	8,3	7,2	7,5
Ah/Ko+SM6, s	119,1	115,7	116,1	115,4	116,4	101,2		11,3	11	10,9	11	10,9	9,6
A I.	400 7	440 7	400.0	70.4	00.0	50.0	1	40.0	44 5	0.0	0.0	0.0	0.0
Ah	128,7	118,7	109,8	72,1	68,2	59,8		13,8	11,5	9,8	9,6	8,8	6,9
Ah+SM4	131,8	122,4	117,2	116,0	121,0	92,3		13	10,5	10	10,8	10,4	6,7
Ah+SM5	121,7	109,2	107,8	109,8	110,6	88,8		10,4	10,2	9,8	9,8	9,6	6,2
Ah+SM6	132,6	121,5	116,7	130,6	128,9	103,8		14	11,7	11,1	11	10,7	8,3
Ah/Ko	105,3	103,6	28,7	12,9	5,1	0		10,7	10,2	3,1	0	0	0
Ah/Ko+SM4	109,5	111,0	109,4	37,3	7,5	2,8		10,9	10,5	10,2	5,4	0	0
Ah/Ko+SM5	122,7	121,0	113,3	112,4	121,0	89,0		12,9	11,7	11,1	10,3	10,3	5,1
Ah/Ko+SM6	110,3	112,0	112,1	82,0	61,9	15,8		12,3	12,1	12,2	9,5	6,7	2,8

Tab. 42 Konzentrationsverlauf von Anthracen und 2-Methylanthracen in einfach und mischkontaminierten, biologisch aktiven und sterilen Ah- und Ah/Ko-Materialien (n=2, s. Kap. 6.4.2)

Versuchs-		Ant	hracen	[mg/kg	TM]			2-N	/lethyla	anthra	cen [m	ig/kg T	[M]
ansatz		Ur	ntersucl	hungsta	ge				Unt	ersucl	hungst	age	
	1	7	28	49	70	91		1	7	28	49	70	91
Ah, s	126,0	124,3	119,4	109,6	104,7	97,5		20,0	19,7	17,6	17,0	15,6	11,9
Ah+SM4, s	129,4	127,5	126,6	126,9	127,6	107,8		19,6	16,5	17,7	17,4	16,2	15,1
Ah+SM5, s	125,5	125,8	117,2	113,5	116,3	117,5		19,3	17,1	15,7	14,3	14,3	12,4
Ah+SM6, s	114,6	111,4	116,2	107,0	109,2	103,4		17,4	17,0	15,9	15,8	15,6	15,0
Ah/Ko, s	130,9	132,7	132,1	124,4	129,2	107,9		23,7	24,1	22,4	21,5	20,5	16,9
Ah/Ko+SM4, s	131,0	135,5	125,4	126,8	123,3	115,1		24,1	24,1	22,9	22,4	21,9	17,4
Ah/Ko+SM5, s	128,3	127,7	118,7	113,0	121,0	102,5		20,1	20,0	17,2	16,8	16,4	17,8
Ah/Ko+SM6, s	120,2	119,4	119,7	114,3	113,5	106,0		16,9	16,2	16,2	16,2	14,5	15,1
							1						
Ah	131,9	126,5	126,6	114,4	114,1	97,7		19,7	17,8	15,9	15,5	14,4	13,4
Ah+SM4	133,6	132,3	116,5	117,1	118,5	105,2		19,7	18,1	15,4	14,9	13,0	11,6
Ah+SM5	135,6	125,8	116,0	117,6	118,0	109,5		19,2	17,4	15,3	13,9	12,4	12,8
Ah+SM6	135,0	134,5	116,5	130,2	120,0	101,9		19,2	18,3	15,9	15,4	11,6	11,5
Ah/Ko	106,4	107,6	61,6	21,7	7,2	3,1		17,5	17,4	15,3	11,9	5,6	2,0
Ah/Ko+SM4	118,3	115,1	113,2	79,8	46,5	27,8		22,3	21,6	19,9	18,7	16,6	15,3
Ah/Ko+SM5	115,8	118,1	113,7	118,7	117,2	93,4		20,5	20,2	19,4	20,2	20,1	15,5
Ah/Ko+SM6	118,8	117,3	117,2	111,2	89,9	58,9		21,0	20,2	20,4	20,3	19,2	16,6

s = steril; SM4, SM5, SM6 = 3er-Kombination aus Cd, Cr, Pb, Cu und Zn in unterschiedlichen Konzentrationen (s. *Tab. 29*, S. 160)

Tab. 43 Konzentrationsverlauf von Fluoranthen und Benz[a]anthracen in einfach und mischkontaminierten, biologisch aktiven und sterilen Ah- und Ah/Ko-Materialien (n=2, s. Kap. 6.4.2)

Versuchs-		Fluo	ranthen	[mg/kg	TM]		Be	nz[a]a	nthrac	cen [m	g/kg T	[M]
ansatz		Ur	ntersucl	hungsta	ge			Unt	ersuch	hungst	tage	
	1	7	28	49	70	91	1	7	28	49	70	91
Ah, s	98,7	97,0	95,3	94,6	80,1	63,5	21,4	20,9	20,5	20,0	20,4	18,9
Ah+SM4, s	98,3	99,3	101,1	93,4	83,5	68,8	21,3	22,3	20,3	21,4	19,9	20,8
Ah+SM5, s	81,7	82,8	85,8	78,8	79,4	57,1	19,5	17,9	19,2	20,1	19,7	18,8
Ah+SM6, s	90,7	90,7	83,3	84,9	87,1	83,1	20,7	19,2	20,3	19,1	19,6	19,6
Ah/Ko, s	108,9	110,9	104,2	101,3	92,1	65,3	21,9	20,5	22,8	20,8	20,8	18,3
Ah/Ko+SM4, s	109,7	104,8	97,3	100,9	100,3	65,6	22,4	20,1	22,1	21,9	20,5	20,5
Ah/Ko+SM5, s	101,7	100,5	98,6	94,8	83,2	87,6	21,8	21,0	19,6	22,4	20,6	19,6
Ah/Ko+SM6, s	99,3	91,1	86,1	86,5	88,9	59,2	22,1	22,0	21,5	20,7	19,0	20,1
٨ь	10E E	100.0	105.0	105.0	116.6	110.2	22.2	22.2	22.0	22.6	10.7	20.6
An	125,5	123,3	125,2	125,2	116,6	119,3	22,2	22,2	22,9	22,6	19,7	20,6
Ah+SM4	120,2	118,7	116,6	125,9	118,8	117,8	22,7	21,7	21,6	20,4	21,3	19,6
Ah+SM5	106,1	103,9	108,6	115,0	103,7	106,3	20,4	18,3	19,1	18,4	20,3	17,7
Ah+SM6	130,1	122,3	125,3	131,2	131,3	117,2	21,6	20,2	21,4	21,4	22,0	19,2
Ah/Ko	114,8	108,6	114,7	103,7	64,5	21,1	20,4	19,5	21,3	20,7	18,2	10,3
Ah/Ko+SM4	116,8	114,4	115,3	116,5	109,4	90,0	22,3	19,9	21,3	20,1	20,9	19,8
Ah/Ko+SM5	119,8	115,3	113,6	120,3	115,9	90,5	21,4	20,3	19,6	19,7	21,8	15,2
Ah/Ko+SM6	122,3	113,9	120,7	121,8	121,2	94,2	20,2	18,6	20,6	20,2	19,8	18,8

Tab. 44 Nachweis und Konzentrationsverlauf von 1-Indanol und 1-Indanon in einfach und mischkontaminierten, biologisch aktiven und sterilen Ahund Ah/Ko-Materialien (n=2, s. Kap. 6.4.2)

Versuchs-		1-In	danol [mg/kg	TM]				1-Ind	danon	[mg/kg	TM]	
ansatz		Un	tersuch	hungsta	age				Un	tersuch	nungsta	age	
	1	7	28	49	70	91		1	7	28	49	70	91
Ah, s		0,30	0,23	+	+	+		+	+	0,91	0,81	0,80	1,00
Ah+SM4, s	+	+	+	+	+	+		+	+	0,81	0,75	0,80	0,72
Ah+SM5, s	+	+	+	+	+			+	+	0,73	0,76	1,28	0,93
Ah+SM6, s	+	0,38	1,86	+				+	+	0,55	0,70	0,58	0,65
Ah/Ko, s	+	+	0,82	2,23	+	+		+	+	0,83	0,95	0,95	1,09
Ah/Ko+SM4, s	+	+	0,47	2,05	+	+		+	0,96	0,75	0,79	0,93	1,18
Ah/Ko+SM5, s	+	+	0,37	2,12	+	+		+	+	0,73	1,00	0,99	0,93
Ah/Ko+SM6, s	+	+	+	+	+			+	+	0,93	0,86	0,79	0,83
	-	-		1			1		-				
Ah								+	1,41	1,69	1,60	0,83	0,69
Ah+SM4	+							+	2,89	1,64	1,40	1,39	0,64
Ah+SM5	+	+						+	3,30	1,76	1,35	1,75	0,12
Ah+SM6	+							+	1,61	1,45	0,88	1,33	1,16
Ah/Ko								+	0,73	0,12			
Ah/Ko+SM4	+							+	0,77	0,10			
Ah/Ko+SM5	+							+	0,60	0,08			
Ah/Ko+SM6	+							+	0,31	0,07			

s = steril; + = nachweisbar, aber nicht quantifizierbar; SM4, SM5, SM6 = 3er-Kombination aus Cd, Cr, Pb, Cu und Zn in unterschiedlichen Konzentrationen (s. *Tab. 29*, S. 160)

Tab. 45 Nachweis und Konzentrationsverlauf von 1-Tetralol und 1-Tetralon in einfach und mischkontaminierten, biologisch aktiven und sterilen Ahund Ah/Ko-Materialien (n=2, s. Kap. 6.4.2)

Versuchs-		1-Te	etralol [mg/kg	TM]				1-Te	tralon	[mg/kg	TM]	
ansatz		Un	tersuch	hungsta	age				Un	tersuch	hungsta	age	
	1	7	28	49	70	91		1	7	28	49	70	91
Ah, s		+	0,20	0,23	0,18	0,22		+	+	0,85	1,21	1,20	1,70
Ah+SM4, s		+	0,19	0,17	0,13	0,21		+	+	0,99	1,12	1,26	1,35
Ah+SM5, s		+	0,16	0,23	0,17	0,13		+	+	1,05	1,34	2,05	1,66
Ah+SM6, s		+	0,16	0,15	0,13			+	+	0,88	1,13	0,98	1,17
Ah/Ko, s		+	0,23	0,30	0,16	0,26			+	0,61	0,58	0,59	0,82
Ah/Ko+SM4, s		+	0,17	0,27	0,20	0,33		+	+	0,42	0,47	0,55	0,76
Ah/Ko+SM5, s		+	0,17	0,29	0,22	0,22		+	+	0,51	0,50	0,66	0,70
Ah/Ko+SM6, s		+	0,17	0,18	0,19			+	+	0,44	0,58	0,57	0,82
۸h			0.00	0.14	0.04	0.00	1		4.70	1 70	2.04	2.00	0.44
An			0,08	0,11	0,04	0,09		+	1,76	1,79	2,01	2,90	3,11
Ah+SM4	+	0,32	0,15	0,10	0,06	1,15		+	1,45	1,78	1,91	2,18	2,00
Ah+SM5	+	0,22	0,12	0,13	0,11	0,51		+	1,73	2,19	2,21	2,90	1,79
Ah+SM6	+	0,06	0,10	0,10	0,10	0,11		+	0,92	1,54	1,67	2,06	1,78
Ah/Ko	+							+	1,04	0,55	0,11		
Ah/Ko+SM4	+							+	1,04	1,36	1,77	0,19	
Ah/Ko+SM5	+	0,30	0,04					+	0,88	0,94	0,99	1,25	0,94
Ah/Ko+SM6	+							+	0,78	1,19	5,03	0,54	0,14

Tab. 46 Nachweis und Konzentrationsverlauf von Cumarin und 6-Methylcumarin in einfach und mischkontaminierten, biologisch aktiven und sterilen Ahund Ah/Ko-Materialien (n=2, s. Kap. 6.4.2)

Versuchs-		Cu	marin [mg/kg ⁻	TM]			6	6-Methy	ylcuma	rin [mg	/kg TM]
ansatz		Un	tersucl	hungsta	age				Un	tersucl	hungsta	age	
	1	7	28	49	70	91		1	7	28	49	70	91
Ah, s													
Ah+SM4, s													
Ah+SM5, s													
Ah+SM6, s													
Ah/Ko, s						+							
Ah/Ko+SM4, s													
Ah/Ko+SM5, s													
Ah/Ko+SM6, s													
۸h		1		0.16			1			1		0.16	0.17
				0,16							+	0,16	0,17
All+SIVI4													
ALLENG													
All+Sivio Ab/Ko													
Ah/Ko+SM4													
Ah/Ko+SM6											+	+	0,14

s = steril; + = nachweisbar, aber nicht quantifizierbar; SM4, SM5, SM6 = 3er-Kombination aus Cd, Cr, Pb, Cu und Zn in unterschiedlichen Konzentrationen (s. *Tab. 29*, S. 160)

Tab. 47 Nachweis und Konzentrationsverlauf von (3- o. 4-)-Methylcumarin und 1-Naphthol in einfach und mischkontaminierten, biologisch aktiven und sterilen Ah- und Ah/Ko-Materialien (n=2, s. Kap. 6.4.2)

Versuchs-		(3- 0	. 4-)-Me	ethylcu	marin				1-Na	phthol	[mg/kg	TM]	
ansatz		Un	tersuch	hungsta	age				Un	tersucl	hungsta	age	
	1	7	28	49	70	91		1	7	28	49	70	91
Ah, s											0,24	0,27	0,41
Ah+SM4, s											0,19	0,22	0,34
Ah+SM5, s											0,23	0,27	
Ah+SM6, s										0,37	0,25	0,29	
Ah/Ko, s											0,37	0,16	0,30
Ah/Ko+SM4, s											0,22	0,29	0,33
Ah/Ko+SM5, s												0,26	0,21
Ah/Ko+SM6, s									+	0,23	0,25	0,22	
Δh			+	-		+	1 1				+	Ŧ	0.50
Ah+SM4			т	т		т					т	т	0,50
Ah+SM5													
Ah+SM6													
Ah/Ko													
Ah/Ko+SM4													
Ah/Ko+SM5													
Ah/Ko+SM6													

Tab. 48 Nachweis und Konzentrationsverlauf von 9-Fluorenol und 9-Fluorenon in einfach und mischkontaminierten, biologisch aktiven und sterilen Ahund Ah/Ko-Materialien (n=2, s. Kap. 6.4.2)

Versuchs-		9-Flu	uorenol	[mg/kg	g TM]				9-Flu	loreno	n [mg/k	g TM]	
ansatz		Un	tersuch	nungsta	age				Ur	ntersuc	hungst	age	
	1	7	28	49	70	91		1	7	28	49	70	91
Ah, s		+	0,11	0,23	0,18	0,89		+	+	0,27	0,92	1,01	1,33
Ah+SM4, s		0,14	0,12	0,22	0,27	0,91		+	+	0,51	1,11	1,10	0,71
Ah+SM5, s	+	0,08	0,12	0,27	0,39	0,80			+	0,55	1,03	1,13	0,95
Ah+SM6, s	+	0,14	0,16	0,16	0,28	0,23		+	+	0,67	0,76	1,14	1,20
Ah/Ko, s			0,05	0,34	0,11	0,94			+	0,14	0,26	0,48	0,29
Ah/Ko+SM4, s				0,35	0,18	0,95			+	0,38	0,42	0,39	0,40
Ah/Ko+SM5, s		0,11	0,19	0,28	0,13	0,62			+	0,32	0,32	0,46	0,45
Ah/Ko+SM6, s	+	+	0,15	0,20	0,23	0,82		+	+	+	0,32	0,49	1,16
							1						
Ah	+	0,17	0,21	5,26	4,59	0,29		+	+	0,97	0,96	7,15	8,36
Ah+SM4	+	0,24	0,16	0,31	0,33	+		+	1,26	0,97	2,18	2,83	1,93
Ah+SM5	+	0,08	0,11	0,33	0,36	0,28		+	1,34	1,47	3,01	3,54	1,96
Ah+SM6	+	+	0,16	+	0,33			+	+	1,16	1,78	2,75	1,80
Ah/Ko	+	+	0,19	+				+	+	4,25	0,62	0,29	0,12
Ah/Ko+SM4	+	+	0,07	0,29	0,10			+	1,26	1,90	14,51	2,19	+
Ah/Ko+SM5	+	+	0,05	0,06	0,06			+	0,1	2,04	3,18	5,52	3,98
Ah/Ko+SM6	+	+	0,08	0,71	0,17			+	+	1,91	16,68	11,51	0,80

s = steril; + = nachweisbar, aber nicht quantifizierbar; SM4, SM5, SM6 = 3er-Kombination aus Cd, Cr, Pb, Cu und Zn in unterschiedlichen Konzentrationen (s. *Tab. 29*, S. 160)

Tab. 49 Nachweis und Konzentrationsverlauf von 9-Xanthenon und Hydroxy-9xanthenon in einfach und mischkontaminierten, biologisch aktiven und sterilen Ah- und Ah/Ko-Materialien (n=2, s. Kap. 6.4.2)

Versuchs-		9-Xa	nthenor	n [mg/kg	g TM]					Hydr	oxy-9	-xanth	enon	
ansatz		Ur	ntersuci	hungsta	ige					Unt	ersucl	hungsi	tage	
	1	7	28	49	70	91			1	7	28	49	70	91
Ah, s	+	19,37	14,34	36,42	26,99	54,83								
Ah+SM4, s	+	25,71	25,01	34,76	24,97	23,18								
Ah+SM5, s	+	20,69	20,35	28,24	50,09	26,22								
Ah+SM6, s	+	18,82	21,62	29,84	28,14	34,05								
Ah/Ko, s	+	5,74	11,97	15,33	16,65	15,31								
Ah/Ko+SM4, s	+	8,10	11,74	15,64	18,32	22,07								
Ah/Ko+SM5, s	+	7,04	14,12	11,95	14,64	18,01								
Ah/Ko+SM6, s	+	9,16	11,10	15,58	15,31	12,37								
۸h	-	32.27	38.01	16.84	25.04	20.48	1	Γ						
	- T	20.22	20.52	40,04	54 02	60.22								
	+ +	29,22	40.63	60.43	38.06	34 74		-				+ +		
Ah+SM6	+	13 56	34 41	34 92	44 23	34 76					+	•		
Ah/Ko	+	42.47	13.84	5.43	1.85	0.61					+	+	+	
Ah/Ko+SM4	+	26,04	32,54	20,67	4,71	1,03	1					+	+	+
Ah/Ko+SM5	+	22,18	33,52	29,73	21,61	10,38	1							
Ah/Ko+SM6	+	23,38	41,37	31,82	17,65	1,74	1							

Tab. 50 Nachweis und Konzentrationsverlauf von 1,2-Acenaphthylendion und 1-Acenaphthenol in einfach und mischkontaminierten, biologisch aktiven und sterilen Ah- und Ah/Ko-Materialien (n=2, s. Kap. 6.4.2)

Versuchs-	1,2-	Acena	phthyle	endion [mg/kg	TM]			1-	Acena	phther	ol	
ansatz		Un	tersuc	hungsta	ige				Un	tersuch	nungsta	age	
	1	7	28	49	70	91		1	7	28	49	70	91
Ah, s				0,13	0,27	0,63					+	+	
Ah+SM4, s				0,15	0,30	0,19			+	+	+	+	+
Ah+SM5, s					0,37	0,21		+	+	+	+	+	+
Ah+SM6, s				0,22	0,28	0,16			+			+	
Ah/Ko, s											+		
Ah/Ko+SM4, s					0,32	0,39					+	+	+
Ah/Ko+SM5, s					0,33						+	+	+
Ah/Ko+SM6, s				0,18	0,34							+	
		1					1						
Ah			0,8	5,02	4,32	3,62							
Ah+SM4			0,50	+	+			+	+	+			
Ah+SM5			0,20	+	+			+	+	+	+	+	
Ah+SM6			0,22	+	+			+		+		+	
Ah/Ko		2,23	4,66	0,23	0,29	+			+				
Ah/Ko+SM4		0,15	0,23	21,29	0,26	+		+					
Ah/Ko+SM5			0,24	0,20	0,16			+					
Ah/Ko+SM6			0,25	14,17	0,49	0,23		+					

s = steril; + = nachweisbar, aber nicht quantifizierbar; SM4, SM5, SM6 = 3er-Kombination aus Cd, Cr, Pb, Cu und Zn in unterschiedlichen Konzentrationen (s. *Tab. 29,* S. 160)

Tab. 51Nachweis u. Konzentrationsverlauf von 1,8-Naphthalsäureanhydrid und
1H, 3H-Naphtho(1,8-cd)-pyran-1-on in einfach und mischkontaminierten,
biologisch aktiven u. sterilen Ah- u. Ah/Ko-Materialien (n=2, s. Kap. 6.4.2)

Versuchs-	1,8-	Naphth	nalsäur	eanh. [mg/kg	TM]		1H,	3H-Na	ohtho(1	,8-cd)-	pyran-	1-on
ansatz		Un	tersuch	nungsta	age				Un	tersuch	nungsta	age	
	1	7	28	49	70	91		1	7	28	49	70	91
Ah, s				+	0,07	0,35					+		
Ah+SM4, s				+	0,07	0,28			+				+
Ah+SM5, s		+	+	+	0,08	0,23			+	+			
Ah+SM6, s				+	+			+		+			+
Ah/Ko, s			0,09										
Ah/Ko+SM4, s						0,45							
Ah/Ko+SM5, s													
Ah/Ko+SM6, s								+					
							1						
Ah	+	0,28	0,36	0,44	0,38	+		+	+				
Ah+SM4	+	0,43	0,35	0,28	0,10	+		+	+	+	+	+	
Ah+SM5	+	0,29	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+
Ah+SM6	+	0,29	0,10	+	+	+		+	+	+	+	+	+
Ah/Ko	+	0,44	0,38	0,36	0,12			+	+				
Ah/Ko+SM4		+	0,12	2,42	+	+			+	+			
Ah/Ko+SM5	+	+	0,08	+	+	+		+				+	
Ah/Ko+SM6	+	+	+	1,11	0,24	0,05							

Tab. 52 Nachweis und Konzentrationsverlauf von 9-Anthracenon und 9,10-Anthrachinon in einfach und mischkontaminierten, biologisch aktiven und sterilen Ah- und Ah/Ko-Materialien (n=2, s. Kap. 6.4.2)

Versuchs-		9-Anth	raceno	n [mg/	kg TM]			9,	10-Ant	hrachi	non [m	g/kg TI	V]
ansatz		Un	tersuch	hungsta	age				Un	tersuch	hungsta	age	
	1	7	28	49	70	91		1	7	28	49	70	91
Ah, s				2,00	+			+	+	0,90	2,44	1,95	3,84
Ah+SM4, s		+		2,25				+	+	2,18	2,44	1,74	1,26
Ah+SM5, s		+		1,34	+			+	+	1,96	2,59	5,81	1,78
Ah+SM6, s	+	+	+	3,54				+	+	2,11	2,14	2,61	3,34
Ah/Ko, s				1,65				+	+	+	+	+	0,49
Ah/Ko+SM4, s				2,27				+	+	1,40	0,79	1,07	0,99
Ah/Ko+SM5, s		+	+	2,57				+	+	0,46	0,79	0,81	1,12
Ah/Ko+SM6, s				3,17				+	+	+	0,93	0,91	0,33
	1	1	1	1	1		1						
Ah	+	+	5,56	4,68				+	+	2,04	1,82	1,25	1,46
Ah+SM4	+	+	3,21	3,00				+	+	2,68	2,98	3,96	4,51
Ah+SM5	+	+	0,60	4,47	+			+	+	3,15	3,54	2,47	3,03
Ah+SM6	+	+	0,50	+	+			+	+	2,72	2,47	3,34	2,17
Ah/Ko	+	+	3,00	5,80				+	+	1,25	0,51	0,23	0,07
Ah/Ko+SM4	+		0,67	5,10	2,37			+	+	1,40	1,82	1,27	0,54
Ah/Ko+SM5	+		0,51	0,61	0,63			+	+	2,15	1,72	1,24	1,31
Ah/Ko+SM6	+		0,79	0,90	0,98			+	+	2,25	1,68	1,39	0,66

s = steril; + = nachweisbar, aber nicht quantifizierbar; SM4, SM5, SM6 = 3er-Kombination aus Cd, Cr, Pb, Cu und Zn in unterschiedlichen Konzentrationen (s. *Tab. 29*, S. 160)

Tab. 53 Nachweis und Konzentrationsverlauf von 2-Methylanthrachinon und Benz[a]anthracen-7,12-dion in einfach und mischkontaminierten, biologisch aktiven und sterilen Ah- und Ah/Ko-Materialien (n=2, s. Kap. 6.4.2)

Versuchs-	2-N	/lethyla	nthrack	ninon [I	mg/kg ⁻	TM]		E	B[a]An-	7,12-di	on [mg	/kg TI/]
ansatz		Un	tersuch	nungsta	age				Un	tersuch	nungsta	age	
	1	7	28	49	70	91		1	7	28	49	70	91
Ah, s	+	+	0,53	1,81	1,63	3,39				0,20	0,26	0,56	1,07
Ah+SM4, s	+	1,36	1,50	1,91	1,06	0,87				0,85	0,82	0,45	0,14
Ah+SM5, s	+	0,77	1,04	2,05	4,15	1,14				0,28	0,43	0,63	0,28
Ah+SM6, s	+	1,10	1,33	1,51	1,82	2,48				1,10	0,80	0,77	1,08
Ah/Ko, s		+	0,44	0,51	0,57	0,32			0,53	0,36	1,07	0,55	0,34
Ah/Ko+SM4, s		+	1,19	0,77	0,69	0,79				0,26	0,40	0,62	0,64
Ah/Ko+SM5, s		+	1,32	0,66	0,40	0,78				0,25	0,51	0,17	
Ah/Ko+SM6, s	+	+	+	+	0,37	+				0,52	0,69	0,21	
۸h		2.25	1 40	1 00	0.02	4 70	1				1 1 0	0.22	0.26
	+	2,35	1,40	1,60	0,92	4,70			4.55	0.04	1,10	0,33	0,30
An+SM4	+	1,98	2,34	2,72	3,57	2,02			1,55	0,64	0,57	1,01	+
Ah+SM5	+	1,78	2,86	2,80	1,99	0,59		+	2,06	0,80	0,49	0,34	+
Ah+SM6	+	1,14	2,13	2,02	2,93	1,79		+	1,19	1,15	1,05	1,01	0,50
Ah/Ko	+	+	0,77	2,65	0,34	+				1,45	1,32	1,63	0,22
Ah/Ko+SM4	+	0,33	1,20	4,19	0,85	0,10		+	1,78	1,23	1,21	1,27	+
Ah/Ko+SM5	+	0,48	0,69	0,81	0,99	1,37		+	1,51	1,55	0,86	0,74	0,23
Ah/Ko+SM6	+	0,38	0,49	0,72	0,96	1,43		+	1,67	2,07	0,87	0,57	0,56

Tab. 54 Nachweis von 1-Phenylbutanol und 1-Phenylbutanon in einfach und mischkontaminierten, biologisch aktiven und sterilen Ah- und Ah/Ko-Materialien (n=2, s. Kap. 6.4.2)

Versuchs-		1	-Pheny	/lbutan	ol			1-Phenylbutanon						
ansatz	Untersuchungstage							Untersuchungstage						
	1	7	28	49	70	91		1	7	28	49	70	91	
Ah, s			+	+	+			+	+	+	+	+	+	
Ah+SM4, s		+	+	+				+	+	+	+	+	+	
Ah+SM5, s	+	+	+	+	+			+	+	+	+	+	+	
Ah+SM6, s	+	+	+	+	+			+	+	+	+	+		
Ah/Ko, s	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	
Ah/Ko+SM4, s	+	+	+	+	+			+	+	+	+	+	+	
Ah/Ko+SM5, s	+	+	+	+	+			+	+	+	+	+	+	
Ah/Ko+SM6, s	+	+	+	+	+			+	+	+	+			
۸.L					1		1							
An Alix ON44	+	+	+					+	+	+	+	+	+	
An+SM4	+	+	+	+	+			+	+	+	+	+	+	
Ah+SM5	+	+	+					+	+	+	+	+	+	
Ah+SM6	+	+	+	+				+	+	+	+	+	+	
Ah/Ko								+	+					
Ah/Ko+SM4	+							+	+					
Ah/Ko+SM5	+	+						+	+					
Ah/Ko+SM6	+							+	+					

s = steril; + = nachweisbar, aber nicht quantifizierbar; SM4, SM5, SM6 = 3er-Kombination aus Cd, Cr, Pb, Cu und Zn in unterschiedlichen Konzentrationen (s. *Tab. 29*, S. 160)

Tab. 55 Nachweis von 1-Methyl-9-fluorenol und 1-Methyl-9-fluorenon in einfach und mischkontaminierten, biologisch aktiven und sterilen Ah- und Ah/Ko-Materialien (n=2, s. Kap. 6.4.2)

Versuchs-		1-N	lethyl-9	9-fluore	enol			1-Methyl-9-fluorenon						
ansatz		Un	tersuch	nungsta	age			Untersuchungstag						
	1	7	28	49	70	91		1	7	28	49	70	91	
Ah, s		+	+	+	+	+			+	+	+	+	+	
Ah+SM4, s		+	+	+	+	+				+	+	+	+	
Ah+SM5, s		+	+	+	+	+					+	+	+	
Ah+SM6, s		+	+	+	+	+					+			
Ah/Ko, s		+												
Ah/Ko+SM4, s				+	+	+							+	
Ah/Ko+SM5, s		+	+	+	+	+							+	
Ah/Ko+SM6, s		+	+	+	+	+								
۸b							1							
		+	+	+	+	+		+	+	+	+	+	+	
An+SIVI4	+	+	+	+	+	+	-		+	+	+	-	+	
An+SM5	+	+	+	+	+	+		+			+	+		
Ah+SM6	+	+	+	+	+	+		+		+	+	+	+	
Ah/Ko		+	+	+					+	+	+			
Ah/Ko+SM4			+	+	+	+				+	+		+	
Ah/Ko+SM5		+	+	+	+	+				+	+	+	+	
Ah/Ko+SM6		+	+	+	+	+			+			+	+	

Tab. 56 Nachweis von 2-Naphthaldehyd und 1-Hydroxy-2-naphthaldehyd in einfach und mischkontaminierten, biologisch aktiven und sterilen Ahund Ah/Ko-Materialien (n=2, s. Kap. 6.4.2)

Versuchs-		2-	Naphtl	naldeh	yd				1-Hydro	oxy-2-r	naphtha	aldehyd	ł
ansatz	Untersuchungstage							Untersuchungstage					
	1	7	28	49	70	91		1	7	28	49	70	91
Ah, s			+	+	+	+							
Ah+SM4, s		+	+	+	+	+							
Ah+SM5, s		+	+	+	+	+							
Ah+SM6, s				+									
Ah/Ko, s													
Ah/Ko+SM4, s													
Ah/Ko+SM5, s													
Ah/Ko+SM6, s													
A 1							1						
Ah	+	+											
Ah+SM4		+	+	+		+							
Ah+SM5				+	+								
Ah+SM6			+										
Ah/Ko													
Ah/Ko+SM4													
Ah/Ko+SM5													
Ah/Ko+SM6											+		

s = steril; + = nachweisbar, aber nicht quantifizierbar; SM4, SM5, SM6 = 3er-Kombination aus Cd, Cr, Pb, Cu und Zn in unterschiedlichen Konzentrationen (s. *Tab. 29*, S. 160)

Tab. 57 Nachweis von 2-Naphthoesäure und 1-Hydroxy-2-naphthoesäure in einfach und mischkontaminierten, biologisch aktiven und sterilen Ahund Ah/Ko-Materialien (n=2, s. Kap. 6.4.2)

Versuchs-		2-	Naphth	noesäu	re				1-Hydro	oxy-2-r	aphtho	besäure	9
ansatz	Untersuchungstage								Un	tersucl	hungsta	age	
	1	7	28	49	70	91		1	7	28	49	70	91
Ah, s													
Ah+SM4, s													
Ah+SM5, s													
Ah+SM6, s													
Ah/Ko, s													
Ah/Ko+SM4, s													
Ah/Ko+SM5, s													
Ah/Ko+SM6, s													
٨ь		1					1		1	1			
An Ab (ON44											+	+	+
An+SM4			+										
Ah+SM5													
Ah+SM6													
Ah/Ko											+		
Ah/Ko+SM4			+										
Ah/Ko+SM5													
Ah/Ko+SM6													

Tab. 58 Nachweis von 2-Hydroxy-3-naphthoesäure und 9-Fluorenon-1-carbonsäure in einfach und mischkontaminierten, biologisch aktiven und sterilen Ah- und Ah/Ko-Materialien (n=2, s. Kap. 6.4.2)

Versuchs-		2-Hydro	oxy-3-n	aphtho	besäure	9			9-Fluor	enon-	1-carbo	nsäure)
ansatz	Untersuchungstage							Untersuchungstage					
	1	7	28	49	70	91		1	7	28	49	70	91
Ah, s													
Ah+SM4, s													
Ah+SM5, s													
Ah+SM6, s													
Ah/Ko, s													
Ah/Ko+SM4, s													
Ah/Ko+SM5, s													
Ah/Ko+SM6, s													
							1						
Ah													
Ah+SM4													
Ah+SM5													
Ah+SM6													
Ah/Ko													
Ah/Ko+SM4													+
Ah/Ko+SM5													
Ah/Ko+SM6						+							+

10.6 Chromatogramme



Abb. **33** GC-FID-Chromatogramm der Schmierölfraktion aus dem Ah/Ko-Ansatz am 1. Tag (Tetradecan = IS) (s. Kap. 6.2)



Abb. **34** GC-FID-Chromatogramm einer Dieselölfraktion des Ah/Ko-Ansatzes am 1. Tag (Triacontan = IS) (s. Kap. 6.3)



Abb. 35 GC-FID-Chromatogramme von PAK-Fraktionen aus einfach und mischkontaminierten Ah/Ko-Ansätzen des 1. (a) und 91. Tages (b-e) im Vergleich (BHT = IS, Retentionszeit ca. 25 min) (s. Kap. 6.4)



Abb.36 GC-MSD-Chromatogramm der Fraktion I aus dem einfach kontaminierten Ah/Ko-Ansatz am 7. Tag; 1 = 1-Phenylbutanon, 2 = 1-Indanon, 3 = 1-Tetralon, 4 = 9-Fluorenon, 5 = 1-Methyl-9-fluorenon, 6 = 9-Xanthenon, 7 = 9,10-Anthrachinon, 8 = 2-Methylanthrachinon, IS = Hexadecan (s. Kap. 6.4)



Abb.37 GC-MSD-Chromatogramm der Fraktion II aus dem einfach kontaminierten Ah/Ko-Ansatz am 28. Tag; 1 = 9-Fluorenol, 2 = 1,2-Acenaphthylendion, 3 = 1,8-Naphthalsäureanhydrid, 4/5 = Hydroxy-9-Xanthenon, IS = Hexadecan (s. Kap. 6.4)

10.7 Einzelergebnisse der Esterspaltung



Abb. 38 Nachgewiesene Strukturvarianten von TMS-Derivaten der 1-Hydroxy-2naphthoesäure (HNS) unter Angabe der ¹³C- (•) und ¹⁸O-Markierung (*, estergebunden) sowie der zu erwartenden NMR-Signale (s. Kap. 7.4.2)



Abb. 39 Nachgewiesene Strukturvarianten von TMS-Derivaten der Phthalsäure (PHS) unter Angabe der ¹³C- (•) und ¹⁸O-Markierung (*, estergebunden); a: ohne ¹³C-Markierung (aus Dotierung oder natürlicher Quelle), b: mit ¹³C-Markierung (aus Dotierung, zu erwartendes NMR-Signal bei ca. 125 ppm) (s. Kap. 7.4.2)



 Abb. 40 Nachgewiesene Strukturvarianten von TMS-Derivaten der 3,4-Dihydroxybenzoesäure (DHB) unter Angabe der ¹³C- (•) und ¹⁸O-Markierung (*, estergebunden); a: ohne ¹³C-Markierung (aus Dotierung oder natürlicher Quelle), b: mit ¹³C-Markierung (aus Dotierung, zu erwartendes NMR-Signal bei ca. 125 ppm) (s. Kap. 7.4.2)

Lebenslauf

Zur Person	
Name:	Thomas Käcker
Geburtsdatum und -ort:	15.09.1966 in Eutin
Familienstand:	verheiratet, ein Kind
Schulausbildung	
08/1973 - 06/1986	Grundschule und Gymnasium in Schleswig, Abschluß Abitur
Wehrdienst	
10/1986 - 09/1988	Zeitsoldat bei der Bundesluftwaffe in Pinneberg und Rendsburg
Studium und Praktika	
10/1988 - 10/1993	Studium der Lebensmittelchemie, Universität Hamburg
	Abschluß: Erstes Staatsexamen und Diplom in
Lebensmittelchemie	
11/1993 - 04/1994	Praktikum
	IQS-Institut für Qualitätssicherung GmbH, Hamburg
05/1994 - 10/1994	Praktikum
	Chemische und Lebensmitteluntersuchungsanstalt, Hamburg
	Abschluß: Zweites Staatsexamen in Lebensmittelchemie
01/1995 - 06/1998	Promotionsarbeit "Bildung und Verbleib von PAK-Abbauprodukten
	in einfach- und mischkontaminierten Bodenmaterialien" im Rahmen
	des Sonderforschungsbereiches 188 "Reinigung kontaminierter
	Böden" am Institut für Biochemie und Lebensmittelchemie,
	Universität Hamburg

Beruflicher Werdegang

01/1995 - 06/1998	Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Biochemie und
	Lebensmittelchemie, Universität Hamburg
07/1998 - 12/1998	Leitung des Chemischen Untersuchungsamtes der Universität
	Hamburg
seit 06/1999	Tätigkeit in der Qualitätskontrolle und Produktentwicklung bei
	Lohmann Animal Health GmbH & Co. KG, Cuxhaven