Direktbestimmung von Schwermetallen in Biofilmen und Entwicklung von Bezugsgrößen mit Hilfe der TRFA

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades des Fachbereichs Chemie der Universität Hamburg

vorgelegt von

Birgit Runge

aus Hamburg

Hamburg 2004

1. Gutachter: Prof. Dr. A. Knöchel

2. Gutachter: Prof. Dr. D. Rehder

Tag der letzten mündlichen Prüfung: 25.03.2004

Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von September 1998 bis Januar 2004 am Institut für Anorganische und Angewandte Chemie der Universität Hamburg angefertigt.

Herrn Prof. Dr. A. Knöchel danke ich für die Stellung des Themas und die freundliche Unterstützung der Arbeit.

Den Mitgliedern des Arbeitskreises möchte ich für die angenehme, freundschaftliche Arbeitsatmosphäre und zahlreiche anregende Diskussionen danken. Mein besonderer Dank gilt Herrn Dipl.-Chem. Frank Miller und Herrn Dipl.-Chem. Thomas Kinzel für ihre ständige Hilfsbereitschaft in allen Lebenslagen.

Herrn Prof. Dr. Lech Poprawski und Herrn Jacek Gurwin (Institute of Geological Sciences, Wroclaw University, Poland), Herrn Frank Sonnenburg (Landesumweltamt Brandenburg, Frankfurt/Oder), Herrn Dr. Bert Anders, Herrn Dipl.-Chem. Holger Huwe sowie meinem Vater danke ich für die tatkräftige Unterstützung bei der Durchführung der Probennahmen.

Frau Dipl.-Ing. Simone Griesel, Herrn Dipl.-Ing. Burkhard Erbslöh und Herrn Priv. Doz. Dr. Andreas Prange vom Institut für Küstenforschung am GKSS Forschungszentrum möchte ich für die Unterstützung bei der Durchführung der TRFA-Messungen danken.

Frau Torborg Krugmann und Herrn Dr. Nicolas Bings danke ich für die Durchführung der AAS- bzw. ICP-AES-Messungen. Frau M. Zeise und ihren Mitarbeitern der feinmechanischen Werkstatt danke ich für die Anfertigung der Perspex[®]-Probenträger.

Mein besonderer Dank gilt meinen Eltern, die mein Studium stets mit viel Interesse verfolgten und mich moralisch sowie finanziell unterstützt haben.

Kurzzusammenfassung

Mikroorganismen haben die Eigenschaft, sich an Oberflächen anzulagern und diese durch Produktion von extrazellulären polymeren Substanzen (EPS) mit einem Film zu überziehen. Die Mikroorganismen zusammen mit den EPS werden als Biofilme bezeichnet. Diese sind in der Lage, Metallionen aus dem umgebenden Medium anzureichern. Daher kann die Untersuchung von Biofilmen als umweltanalytisches Monitoring-Verfahren auf Metallionen eingesetzt werden. Üblicherweise werden die Metallgehalte in den Biofilmen nach Isolierung von ihren natürlichen Oberflächen, Trocknung und Säureaufschluss bestimmt und auf die Trockenmasse des Biofilms bezogen. Dieses Verfahren birgt jedoch das Risiko von Elementverlusten oder Kontaminationen und ist recht aufwendig.

Es wurde ein Verfahren entwickelt, bei dem die Biofilme unmittelbar auf den Probenträgern der Totalreflexions-Röntgenfluoreszenzanalyse (TRFA) in Flussläufen gezüchtet und nach Trocknung sowie Zugabe eines internen Standards ohne weitere Bearbeitung direkt mit der TRFA gemessen werden. Zur Quantifizierung der in den Biofilmen akkumulierten Metallmengen wurden neben der Trockenmasse der Biofilme deren Kohlenhydratmengen als Bezugsgrößen verwendet. Hierzu wurde ein Verfahren zur Ablösung der Biofilme von den Probenträgern mittels Ultraschall-Mikrosonde und ihrer anschließenden Hydrolyse durch Salzsäure entwickelt. Die Kohlenhydratbestimmung in den erhaltenen Lösungen erfolgte photometrisch nach Dubois. Weiterhin wurden die ebenfalls durch Direktmessung mit der TRFA bestimmten Schwefel- und Phosphormengen der Biofilme auf ihre Verwendung als Bezugsgrößen zur Quantifizierung der Metallmengen überprüft.

Eine Varianz- sowie eine Korrelationsanalyse ergaben, dass die Schwefel-, Phosphorund Kohlenhydratmengen als Bezugsgrößen für die absoluten Metallmengen in den gemessenen Biofilmen geeignet sind. Die Reproduzierbarkeit lag zwischen 6 und 22 %. Die häufig verwendete Trockenmasse hingegen ist nicht als Bezugsparameter geeignet. Der entscheidende Vorteil des entwickelten Verfahrens liegt bei Verwendung von Schwefel und Phosphor als Bezugsgrößen darin, dass jegliche Aufarbeitung der Biofilme entfällt.

Diese Ergebnisse zeigen, dass Schwefel und Phosphor in den untersuchten Biofilmen praktisch nicht als freie Sulfate bzw. Phosphate vorliegen, sondern hauptsächlich Teil der bioorganischen Matrix sind. Sie sind ebenso wie die Metallionen und die Kohlenhydrate in die Stoffwechselvorgänge eingebunden.

Eine Korrelationsanalyse ergab, dass bei allen untersuchten Elementen mit Ausnahme von Titan und Kupfer eine signifikante Korrelation zwischen den jeweiligen Metallgehalten der Kompartimente Biofilm, Wasser, Schwebstoff sowie mit der Summe der Gehalte in Wasser und Schwebstoff besteht. Es deutet sich damit an, dass man anstelle von Wasser-, Schwebstoff- bzw. Mischproben auch Biofilme für die Kennzeichnung der Belastungssituation von Gewässern heranziehen kann.

Die festgestellten Korrelationen verdeutlichen, dass die Biofilme die Metallionen elementspezifisch aus dem Medium anreichern und verstoffwechseln. Die ermittelten Metallgehalte in den Biofilmen zeigten einen zeitlich abhängigen, sigmoiden Verlauf. Bei allen Elementen war zunächst eine starke Anreichung zu erkennen, die sich dann meistens einem Grenzwert näherte. Die relativen Elementverteilungsmuster der Biofilme eines Probennahmepunktes waren auch nach unterschiedlicher Wachstumsdauer nahezu gleich.

Die Eignung des entwickelten Verfahrens wurde prototypisch an Biofilmen aus Oder und Elbe demonstriert.

Abstract

Microorganisms have the characteristic peculiarity to attach to surfaces, and to cover them with a film of extracellular polymeric substances (EPS). Together with the EPS, they are called biofilms. These are able to adsorb metal ions from the surrounding medium. Therefore, the analysis of biofilms can be used as environmental analytical monitoring procedure for metal ions. Usually, the metal contents in biofilms are determined after isolation from their natural surfaces, drying and acid decomposition, and then related to the dry weight of the biofilms. However, this procedure includes the risk of elemental loss or contamination, and it is also very laborious and timeconsuming.

Thus an analytical procedure for the *in situ* growth of biofilms on the surface of sample holders was developed for the total reflection X-ray fluorescence analysis (TXRF) by hanging them directly into the river. After drying and adding an internal standard, the biofilms can be directly measured by the TXRF spectrometer, without any further treatment. For the quantification of the accumulated metal contents, the dry weight and the carbohydrate contents of the biofilms were used as reference parameters. For this purpose, a procedure has been developed in which the biofilms are removed from the sample holders by an ultrasonic microprobe and afterwards hydrolysed by hydrochloric acid. The carbohydrate contents in the obtained solutions were determined by the photometric method of Dubois. Furthermore, the contents of sulphur and phosphorus of the biofilms, which were also determined by direct measurement with the TXRF spectrometer, were verified for their use as reference parameters for the quantification of metal ions contents.

An analysis of variance as well as an analysis of correlation showed that the contents of sulphur, phosphorus and carbohydrate are suitable as reference parameters for the quantification of the contents of metal ions, which are accumulated in the measured biofilms. The reproducibility varies between 6 and 22 %. Whereas the often used dry weight of biofilms is unsuitable as reference parameter. Using sulphur and phosphorus as reference parameters, the decisive advantage of the developed analytical procedure consists in the omission of any treatment of the biofilms.

The results show that sulphur and phosphorus are mainly part of the bioorganic matrix, and nearly do not exist as free anions in the analysed biofilms. Like the metal ions and the carbohydrates, they are integrated in the metabolic processes.

An analysis of correlation showed a significant correlation between the respective contents of metal ions in the compartments biofilm, water sample, suspended matter as well as sum of water sample and suspended matter, for all analysed elements, except titanium and copper. This indicates that, instead of water samples, suspended matter or rather mixed samples, biofilms can also be used for the characterization of the contamination of aquatic systems.

The observed correlations demonstrated that the biofilms accumulated the metal ions from the medium, specific to the element, and included them into the metabolism. The metal contents determined in the biofilms showed a time-dependent, sigmoid gradient. First, a high accumulation for all elements was detected, which in most cases approached a limit afterwards. The relative patterns of element distribution of biofilms originating from the same sample point were nearly the same, even after different periods of growth.

The suitability of the developed analytical procedure was demonstrated prototypically on biofilms originating from the rivers Odra and Elbe.

Inhaltsverzeichnis

1. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	. 1
2. ALLGEMEINE GRUNDLAGEN	. 4
2.1. Biofilme	
2.1.1 Entstehung von Biofilmen	6
2.1.1.1. Induktionsphase	7
2.1.1.2. Logarithmische Wachstumsphase	8
2.1.1.3. Plateau-Phase	9
2.1.2. Aufbau von Biofilmen	. 10
2.1.2.1. Dicke von Biofilmen	. 10
2.1.2.2. Dichte von Biofilmen	.11
2.1.2.3. Heterogenität von Biofilmen	.11
2.1.3. Zusammensetzung und Eigenschaften von Biofilmen	. 13
2.2. Akkumulation von Metallionen in Mikroorganismen und	
Biofilmen	.15
2.2.1. Zelloberflachen von Mikroorganismen	. 13
2.2.1.1. Zellwände Gram-positiver Bakterien	.10
2.2.1.2. Zeriwande Grani-negativer Bakterien	. 10
2.2.2. Kapselli ullu Schleine	. 10
2.2.5. Weenserwirkungen zwischen Metamonen und Mikroorganismen	. 19
2.2.4. Sorptionsvematicn von Biofinnen	. 25
2.2.4.1. Sorption von Weamonen	26
2.2.4.2.1 Zellwände	26
2 2 4 2 1 1 Wechselwirkungen zwischen Zellwänden Gram-positiver	. 20
Bakterien und Metallionen	. 27
2.2.4.2.1.2. Wechselwirkungen zwischen äußerer Membran Gram-negati	ver
Bakterien und Metallionen.	. 29
2.2.4.2.2. wechselwirkungen zwischen Metallionen und EPS	. 30
2.3. Das Flusssystem der Oder	.32
2.4 Das Flusssystem der Elbe	35
2.5. Instrumentelle Analytik der Elementgehalte in Biofilmen	.38
2.5.1. Röntgenfluoreszenzanalyse	. 39
2.5.1.1. Anregungsquellen	. 39
2.5.1.2. Wechselwirkung von Kontgenstrahlen mit Materie	. 40
2.3.1.3. Prinzip der Kontgeniluoreszenzanalyse mit totaireilektierendem	40
2.5.2 Massangaktrometria mit induktiv sekenneltem Diagno als Jananguella	.42
(ICP MS)	10
2 5 2 1 Aufbau und Funktionsweise der ICP-MS	. тэ Д0
2.5.2.1. Nachweisvermögen und Interferenzen	. - 72 52
	. 54

2.5.	.3. Vergleich von TRFA und ICP-MS	54
2.6.	Statistische Methoden zur Beurteilung analytischer	
	Ergebnisse	.54
2.6.	1. Mittelwerte und Fehlerangaben	55
2.6.	2. Statistische Prüfmethoden	57
2.6.	3. Multiple lineare Korrelationen	60
3.	BESTIMMUNG VON SCHWERMETALLEN IN BIOFILMEN UND ENTWICKLUNG NEUARTIGER BEZUGSGRÖßEN MIT HILFE DER TRFA	62
31	Züchtung der Biofilme	63
J.1.		.05
3.2.	Analytik der Elementgehalte in Biofilmen mit Hilfe der	
••=•	TRFA	65
32	1 Überprüfung von Richtigkeit und Reproduzierbarkeit der TRFA	6 5
3.2	2 Überprüfung der Blindwertbelastung der Perspex [®] -Probenträger	66
3.2.	3. Überprüfung des Winkels der Probenkippung	69
3.2.	4. Bestimmung der Elementgehalte in Biofilmen	70
3.2.	5. Nachweisgrenzen	72
3.3.	Referenzmethoden	.75
3.3.	1. Überprüfung von Richtigkeit und Reproduzierbarkeit der ICP-MS-	••••
	Analysen	77
3.3.	2. Ablösung der Biofilme	80
3.3.	.3. Überprüfung der Blindwertbelastung durch die Ultraschall-Mikrosonde.	81
3.3.	.4. Aufschluss von Standardreferenzmaterial	82
3.3.	.5. Bestimmung der Elementgehalte in Biofilmen nach Ablösung	85
3	3.3.5.1. Messungen	86
3	3.3.5.2. Nachweisgrenzen	90
3.4.	Bestimmung und Vergleich von Absolutmengen in Biofilmen n	nit
	Hille der TKFA	.92
3.5.	Entwicklung von Bezugsparametern	.97
3.5.	1. Trockenmasse als Bezugsparameter	99
3.5.	2. Kohlenhydrat- und Proteinmengen als Bezugsparameter	104
3	5.5.2.1. Bestimmung des Kohlenhydratgehalts nach Dubois	105
3	5.5.2.2. Bestimmung des Kohlenhydratgehalts nach Smith	107
3	5.5.2.3. Bestimmung des Proteingehalts nach Bradford	109
3	5.5.2.4. Bestimmung des Kohlenhydrat- und Proteingehalts in Biofilmen	110
3	2.5.2.5. Hydrolyse der Biofilme	112
	BSA	113
	3.5.2.5.2. Hydrolyse von Biofilm und Proteinbestimmung nach Bradford	117
	3.5.2.5.3. Hydrolyse von Stärke und Standardaddition mit Glucose	122
	3.5.2.5.4. Hydrolyse von Biofilm und Kohlenhydratbestimmung nach	
	Dubois	126

	3.5.2.5.5. Gesamtfazit der Hydrolyse-Untersuchungen	130
3	3.5.2.6. Vergleich der Kohlenhydratbestimmungen nach Dubois und Smith	131
3	3.5.2.7. Kohlenhydratmengen als Bezugsparameter	132
3.5	3. Schwefel- und Phosphormengen als Bezugsparameter	137
3	3.5.3.1. Schwefelmengen als Bezugsparameter	137
3	3.5.3.2. Phosphormengen als Bezugsparameter	143
3.5	.4. Korrelationsanalysen	148
3.5	5.5. Fehlercharakterisierung	163
3.6.	Fazit der methodischen Entwicklungen	167
3.7.	Anwendung des entwickelten Verfahrens auf Biofilme aus Od	er
	und Elbe	169
3.7	1. Bestimmung der Elementgehalte in Biofilmen mit Hilfe der TRFA	169
3	3.7.1.1. Biofilme aus der Oder	170
3	3.7.1.2. Biofilme aus der Elbe	208
3.7	2. Bestimmung der Elementgehalte in Wasser- und Schwebstoffproben	244
3	3.7.2.1. Bestimmung der Elementgehalte in Wasserproben	246
3	3.7.2.2. Bestimmung der Elementgehalte in Schwebstoffproben	253
4.	DISKUSSION DER ERGEBNISSE	60
4.1.	Methodische Entwicklungen zur Bestimmung von	
	Schwermetallen in Biofilmen	260
41	1 Direktanalyse von Biofilmen mit der TRFA	-00 262
4 1	2 Entwicklung von Bezugsparametern	267
4 2	Anwendung des entwickelten Verfahrens auf Riofilme aus Od	er
T • 2 •	und Elho	270
1 2	Ullu Elbe	209
4.2	Diofilme aus der Elbe	212
4.2	2.2. Biolinne aus der Elbe	270
4.2		270
/	4.2.2.1 Situation in der gelägten Dhage und den Schwebsteffen	219
-	4.2.2.1. Situation in der gelösten Flase und den Schwebstonen	2/9 2ff2
2	+.2.5.2. Dezienung der Metaligenalte der gelösten Fliase und der Schwebst	2010 205
1 2	Zu dellell del Diolilille	203
4.2	vergreich der verhatunsse in Oder und Eibe	207
4.3.	Zusammenfassende Bewertung des Analysenverfahrens	288
4.4.	Ausblick	289
5.	EXPERIMENTELLER TEIL	91
5.1.	Laborausrüstung und eingesetzte Chemikalien	291
5.2	Messgeräte	292
5.2.	Cafahranhinwaisa für varwandata Chamikalian	- <i></i> -
5.5.	Genanrenninweise für verwendele Unemikalien	273

5.4.	All	gemeine Arbeitsvorschriften	298
5.4.	1.	Züchtung und Bestimmung der Trockenmasse von Biofilmen	298
5.4.2.		Bestimmung der Elementgehalte in den Biofilmen mit Hilfe der TRFA	. 299
5.4.3.		Ablösung der Biofilme mittels Ultraschallsonde	300
5.4.	4.	Hydrolyse der Biofilm-Lösung	300
5.4.5.		Bestimmung des Kohlenhydratgehalts nach Dubois	300
5.4.	6.	Bestimmung des Kohlenhydratgehalts nach Smith	301
5.4.	7.	Bestimmung des Proteingehalts	302
5.4.	8.	Probennahme und Aufarbeitung der Wasser- und Schwebstoffproben.	302
5.4.9.		Durchführung der Mikrowellendruckaufschlüsse	302
5.4.10. Bestim		Bestimmung der Elementgehalte in den Wasser- und Schwebstoffprob	en
		sowie in dem Standardreferenzmaterial mit Hilfe der TRFA	304
5.4.	11.	Bestimmung der Elementgehalte mit Hilfe der ICP-MS	305
5.4.	12.	Bestimmung von Schwefel und Phosphor mit Hilfe der ICP-AES	306
6.	ZU	SAMMENFASSUNG	307
7.	LI	FERATUR	312
8.	AN	IHANG	329

1. Einleitung und Problemstellung

In der Diskussion über Umweltverschmutzung und Umweltschutz nehmen die toxischen Halb- und Schwermetalle eine Vorrangstellung ein. Als Folge der immer schneller fortschreitenden Entwicklung moderner Technologien, gepaart mit menschlicher Nachlässigkeit, haben sich diese in den letzten 150 Jahren in der Biosphäre in einem ungeahnten Ausmaß verbreitet. Als besonders bedenklich gilt hierbei der Eintrag in die aquatischen Ökosysteme, da Wasser für die meisten Lebewesen – so auch für den Menschen – lebensnotwendig ist. Die Halb- und Schwermetalle gehören somit zu den besonderen Belastungsfaktoren unserer Umwelt, da sie einerseits durch natürliche Prozesse nicht abbaubar sind, andererseits aber in Gewässern, Sedimenten, Fischen und Pflanzen angereichert werden und so in die Nahrungskette gelangen. Zwar benötigen alle Lebewesen zur Aufrechterhaltung ihres Stoffwechsels Metallsalze als Nährstoffe, aber in höheren Konzentrationen wirken die meisten Metallionen toxisch [1, 2].

Der Erhalt der Ressource Wasser gehört zu den herausragenden Aufgaben der Zukunftssicherung [3]. Dies erfordert eine effektive Überwachung der aquatischen Ökosysteme hinsichtlich der Schadstoffbelastungen. Die Praxis der Gewässerüberwachung hat jedoch gezeigt, dass die reine Wasseranalytik nur dann Aufschluss über Ausmaß und Herkunft von Belastungen liefern kann, wenn kontinuierliche Messungen erfolgen. Eine nur gelegentlich durchgeführte Untersuchung lässt keine eindeutige Aussage über die tatsächliche Wasserqualität zu, da sich die Schadstoffkonzentrationen im Wasser aufgrund kurzfristiger Einleitungen sowie der Änderung des Wasserstandes in kürzester Zeit ändern können [4].

Die regelmäßige Überwachung der Wasserqualität in kurzen Abständen ist jedoch sehr aufwendig und kostspielig. Daher ist man in den letzten Jahren dazu übergegangen, Sedimentablagerungen zu untersuchen, da diese die mittlere Belastung über einen längeren Zeitraum wiedergeben. Weit mehr als die Hälfte aller in ein Gewässer eingeleiteten Schwermetalle wird durch Bindung an Schwebstoffe und deren Absinken aus der Wasserphase entfernt und so z.B. im Sediment festgelegt [4]. Sedimente bilden daher eine der beiden wichtigsten Senken für in Gewässer eingeleitete Schadstoffe und geben Auskunft über die langfristige Belastungsentwicklung. Sedimentuntersuchungen sind jedoch immer durch einen recht hohen Arbeitsaufwand charakterisiert, da für vergleichende Untersuchungen zunächst eine bestimmte Feinkornfraktion des Sediments abgetrennt und diese anschließend aufgeschlossen werden muss [5, 6]. Diese Prozedur beinhaltet eine Reihe von Fehlermöglichkeiten, wie z.B. die Kontamination durch verwendete Chemikalien oder auch Elementverluste während der Siebung bzw. des Aufschlusses. Außerdem finden Sedimentationsvorgänge nur in Bereichen mit geringer Strömungsgeschwindigkeit statt, so dass viele Flussabschnitte auf diese Weise gar nicht untersucht werden können.

Die andere wichtige Senke und Verstoffwechslungsquelle für in Gewässer eingeleitete Schadstoffe bilden sogenannte Biofilme. Diese bestehen aus Mikroorganismen, welche sich an Grenzflächen angesiedelt haben. Dort bilden sie mit ihren Exsudaten Hydrogele aus extrazellulären polymeren Substanzen (EPS), auch als "mikrobielle Schleime" bezeichnet, in denen die Zellen immobilisiert sind. Die EPS vermitteln die Anheftung an die Oberfläche und formen den Raum zwischen den Mikroorganismen, so dass diese in ihrer dreidimensionalen Anordnung gehalten werden [7]. Biofilme besitzen zwei sehr wichtige Eigenschaften, die schon seit über einem Jahrhundert in der Abwasserreinigung genutzt werden; sie bauen Schadstoffe ab und reichern Metallionen an [8, 9, 10]. Daher kann die Untersuchung von Biofilmen auch als umweltanalytisches Monitoring-Verfahren eingesetzt werden.

Bei den bisher angewandten Verfahren zur Bestimmung von Metallgehalten in Biofilmen (z.B. der "Sielhaut-Analytik" [11, 12, 13, 14, 15]) werden diese zunächst auf geeigneten Oberflächen in großen Mengen gezüchtet oder von natürlichen Oberflächen entfernt, getrocknet und aufgeschlossen. Anschließend werden die Metallgehalte mit einer geeigneten elementanalytischen Methode bestimmt und auf die eingewogene Trockenmasse des Biofilms bezogen [16]. Dieses Verfahren ist nicht nur recht aufwendig, sondern durch die Isolation und Aufarbeitung des Biofilms häufig auch mit Elementverlusten oder Kontaminationen verbunden. Außerdem werden dabei die organischen Bestandteile des Biofilms zerstört, so dass diese nicht mehr als Bezugsparameter dienen können. Die Verwendung der Trockenmasse als Bezugsparameter ist jedoch problematisch, da Biofilme hygroskopisch sind.

Eine deutlich weniger aufwändige Methode zur Untersuchung der Metallaufnahme von Biofilmen wäre die Direktmessung von Biofilmen mittels Totalreflexions-Röntgenfluoreszenzanalyse, wobei die Biofilme unmittelbar auf den TRFA-Probenträgern gezüchtet werden. Zu diesem Verfahren wurden in unserem Arbeitskreis bisher nur Vorversuche im Labor durchgeführt [17]. Außerdem stehen bislang keine zuverlässigen Bezugsparameter für die Quantifizierung der Metallgehalte in den Biofilmen zur Verfügung.

Ziel dieser Arbeit ist daher die Entwicklung eines Verfahrens zur Züchtung von Biofilmen auf TRFA-Probenträgern in Flussläufen und zu deren Multielementanalyse mittels Totalreflexions-Röntgenfluoreszenzanalyse. Um die Metallgehalte in den Biofilmen quantifizieren zu können, sollen geeignete Bezugsparameter und Methoden zu deren Bestimmung entwickelt werden. Die Eignung des entwickelten Verfahrens ist an Biofilmen aus Oder und Elbe prototypisch zu demonstrieren.

2. Allgemeine Grundlagen

Biofilme entstehen, wenn Mikroorganismen sich an Grenzflächen anlagern und dort wachsen. Sie sind ubiquitär in der aquatischen Umwelt [43]. Biofilme sind die älteste bislang bekannte Form des Lebens auf der Erde. In 3,5 Milliarden Jahre alten Sedimentgesteinen hat man Stromatolithe, welche durch Mineralisierungsprozesse von Mikroorganismen gebildet werden, gefunden [18, 19]. Vor ca. 2,9 Milliarden Jahren haben sich photosynthetische Cyanobakterien gebildet, deren Tätigkeit zur Entwicklung von Sauerstoff in der ursprünglich anaeroben Erdatmosphäre führte [20, 21, 22]. Auch heute noch spielen mikrobielle Matten eine bedeutende Rolle bei der Fixierung von atmosphärischem CO₂ [23]. Biofilme sind in alle wesentlichen geologischen Stoffkreisläufe eingebunden. Sie waren maßgeblich am Aufbau der Erdkruste beteiligt [22]. Die Lagerstätten von Mineralien, Erzen, Kohle, Erdgas und Erdöl gehen ganz oder teilweise auf mikrobielle Tätigkeit zurück [24, 25]. Weiterhin spielen Biofilme eine wesentliche Rolle bei der Verwitterung von Gestein [19, 26, 27].

2.1. Biofilme

Fast alle Mikroorganismen auf der Erde sind an Oberflächen assoziiert – im Boden, in Gewässersedimenten, auf Gesteinsoberflächen und auf Schwebstoffen im Wasser. Nur ein sehr geringer Anteil kommt in vereinzelter, suspendierter Form im Wasser vor [28]. Nahezu alle Grenzflächen in der Umwelt sind mit Biofilmen überzogen. Bisher sind auch keine natürlichen oder technisch hergestellten Oberflächen bekannt, die nicht von Mikroorganismen besiedelt werden können [29]. Dabei beeinflussen die Biofilme sowohl die chemischen und physikalischen Eigenschaften des sie umgebenden Milieus, als auch die der Oberfläche, auf der sie sich gebildet haben [43].

Biofilme existieren selbst unter extrem nährstoffarmen Bedingungen, wie sie z.B. in Reinstwasseranlagen vorliegen [30, 31]. Auch in aquatischen Ökosystemen beträgt die Konzentration an Nährstoffen häufig nur wenige Mikrogramm pro Liter. In solch oligotropher Umgebung gilt das Leben im Biofilm – verglichen mit dem in suspendiertem Zustand – als Überlebensstrategie [7]. Die Besiedelung von Oberflächen in solch nährstoffarmer Umgebung erfolgt dadurch, dass sich zunächst anspruchslose Arten ansiedeln und mit ihren Exsudaten Biofilme bilden. In der EPS-Matrix werden durch Sorption gelöster oder partikulärer Stoffe aus der umgebenden Wasserphase Nährstoffe akkumuliert. Auch Bakterien, denen das vorhandene Nährstoffangebot für ihr Wachstum normalerweise nicht ausreichen würde, finden hier dann eine ökologische Nische [43]. Es entstehen Mikrokonsortien, d.h. wohlorganisierte Mischkolonien verschiedener Spezies, in denen diese synergistisch zusammenleben und die daher in der Lage sind, durch sequentielle Stoffverwertung komplexe Substrate abzubauen [32, 33]. Dadurch werden mikrobielle Reaktionen, die in Suspension nicht ablaufen können, erst ermöglicht bzw. langsam ablaufende Reaktionen beschleunigt [34].

Biofilme sind in der Natur die entscheidenden Zentren der Selbstreinigungsprozesse von Böden, Sedimenten und Gewässern. Da die Mikrokonsortien zu konzertierten Abbauleistungen fähig sind, werden gerade die schwerer abbaubaren Substanzen überwiegend in Biofilmen umgesetzt [43]. Wie oben bereits erwähnt, wird diese Fähigkeit in der Abwasserreinigung ausgenutzt [8, 9, 10].

Die Bandbreite der kommerziellen Anwendungsmöglichkeiten von Biofilmen ist erheblich. So werden Mikroorganismen z.B. auch bei der Aufbereitung von Trinkwasser, der Herstellung von Nahrungsmitteln, der Antibiotikaproduktion, der Katalyse von Teilprozessen in langen Syntheseketten und weiteren technischen Verfahren eingesetzt [22]. Die EPS finden z. B. als Verdickungsmittel oder Klebstoffe Verwendung [35].

Biofilme können sich in der Industrie jedoch auch sehr störend auswirken. So können sie z.B. in Anlagen zur Wasseraufbereitung, an Schiffsrümpfen und in Rohrleitungen zu Biofouling führen. Daraus resultieren unter anderem Verblockungen von Membranen, erhöhte Reibungswiderstände, Druckverluste usw. Unter Umständen greifen Biofilme auch ihre Unterlage an (Biodeterioration); dabei kann es sogar zur mikrobiell induzierten Korrosion von Metalloberflächen kommen (Biokorrosion) [36].

Voraussetzung für die Bildung von Biofilmen ist das Vorhandensein von [43]:

- Grenzflächen
- Mikroorganismen
- Hinreichend Feuchtigkeit
- Nährstoffen

Biofilme können selbst unter extremen Bedingungen noch existieren. So wurden sie z.B. in einem Temperaturbereich von -12 [37] bis 110° C [38] und bei pH-Werten von 0 [37] bis über 13 [39] beobachtet. Sie leben sowohl in bidestilliertem Wasser [30] als auch in Salzseen [37]. Selbst auf radioaktiven Strahlungsquellen [40, 41] und in Desinfektionsmittel-Leitungen [42] konnten Biofilme nachgewiesen werden.

2.1.1. Entstehung von Biofilmen

Bei der Entstehung der heterogenen Biofilme sind drei physikalische Phasen beteiligt [43]:

- Die flüssige Phase (Medium), abhängig von ihrer Temperatur, ihrem pH-Wert, den gelösten organischen und anorganischen Stoffen, der Oberflächenspannung, der Viskosität, den Scherkräften und dem Druck
- Die feste Phase (Substratum), abhängig von ihrer chemischer Zusammensetzung, Hydrophobizität, Oberflächenenergie, Oberflächenladung, Besiedelbarkeit, Rauhigkeit und Porosität
- Die Mikroorganismen, hinsichtlich Spezies, Zellzahl, Ernährungszustand, Hydrophobizität, Oberflächenenergie, Oberflächenladung, EPS und Wachstumsphase

Für die Adhäsion von Mikroorganismen an Oberflächen gibt es keinen einheitlich gültigen Mechanismus, da sich durch gegenseitige Beeinflussung der einzelnen Gegebenheiten ein komplexes Geflecht von Wechselwirkungen ergibt. Zudem ist auch bekannt, dass an hydrophilen und hydrophoben Oberflächen verschiedene Adhäsionsmechanismen desselben Protisten (Organismus) auftreten können [44].

Dennoch lässt sich die Entwicklung eines Biofilmes in drei Phasen einteilen, welche durch eine sigmoide Kurve beschrieben werden können [45]:

- Die Induktionsphase, in der nur geringe Veränderungen in der Akkumulation stattfinden
- Die exponentielle Phase, welche durch eine logarithmische Akkumulation charakterisiert ist
- Die Plateau-Phase, bei der die Akkumulation konstant bleibt und die das Ausmaß der Akkumulation repräsentiert



Abbildung 1 zeigt eine schematische Darstellung der Akkumulation eines Biofilms.

Abbildung 1: Verlauf der Biofilm-Akkumulation [43]. (Der Parameter Δ kennzeichnet die Biofilm-Akkumulation, z.B. Dicke, Zelldichte oder Masse pro Fläche. Die Kurve im Kreis symbolisiert die Primäradhäsion.)

2.1.1.1. Induktionsphase

Sowohl in natürlichen Gewässern als auch in Abwässern treten eine Vielzahl von organischen Substanzen, wie z.B. Polysaccharide, Lipopolysaccharide, Huminstoffe, Proteine und lipophile Stoffe auf, welche bei Kontakt mit Grenzflächen sofort irreversibel an diese adsorbiert werden. Durch die Bildung dieses sogenannten *conditioning-films* wird die Besiedelung durch Mikroorganismen ermöglicht [46].

Bereits innerhalb kürzester Zeit kann dann eine rapide Grenzflächenbelegung mit Mikroorganismen stattfinden – *die Primäradhäsion* [47, 48]. Diese verläuft vermutlich in zwei Schritten [49], einer zunächst reversiblen Anheftung von Mikroorganismen, welche von diesen vermutlich zur Nahrungsaufnahme genutzt wird [50, 51], und der nach einiger Zeit folgenden irreversiblen Anheftung. Bei letzterer produzieren die Organismen extrazelluläre polymere Substanzen (EPS) und legen den Grundstein für die Bildung von Mikrokolonien [52].

Bei der Adhäsion von Mikroorganismen an Grenzflächen können Wechselwirkungen unterschiedlicher Art auftreten, z.B. hydrophobe, elektrostatische und van der Waalsche

Wechselwirkungen sowie Wasserstoffbrückenbindungen. In manchen Fällen spielen auch spezifische Rezeptoren eine Rolle [53].

Im wesentlichen bestimmt die Beschaffenheit des Substratums, welche Spezies sich darauf ansiedeln. Da in natürlichen und technischen Wässern meistens Mischpopulationen enthalten sind, wird es immer einige Spezies geben, die auf der jeweiligen Grenzfläche wachsen können [47].

Die von den Mikroorganismen produzierten EPS vermitteln die Anheftung an das Substrat. Über sie entsteht der erste Kontakt des Organismus zur Oberfläche.

Die Dauer der Induktionsphase ist nicht konstant, die Zeitspanne kann zwischen Stunden (in hochbelasteten Systemen) und Monaten bis Jahren (in stark oligotrophen Systemen) betragen. Im wesentlichen wird die Induktionsphase von der Art und der Rauhigkeit des Substratums, der Scherkraft des Mediums und der Anwesenheit von konditionierenden Makromolekülen bestimmt [43].

2.1.1.2. Logarithmische Wachstumsphase

Nach der Primäradhäsion vermehren sich die bereits vorhandenen Organismen. Maßgebliche Faktoren für die Akkumulation des Biofilms sind:

- Die Adsorption neu hinzukommender Mikroorganismen
- Das Wachstum bereits anhaftender Zellen

Die neu hinzukommenden Mikroorganismen treffen nun nicht mehr auf das ursprüngliche Substratum, sondern lagern sich auf der Oberfläche des entstandenen Biofilms an. Diese kann gänzlich andere Eigenschaften als die ursprüngliche Grenz-fläche aufweisen. Durch die Bildung der EPS nimmt die Affinität für Partikel aus der flüssigen Phase zu, was zu einer erhöhten Immobilisierung lebloser Komponenten führt [43]. Dadurch wird es anderen Mikroorganismen, die mit dem ursprünglich vorhandenen Nährstoff-Angebot oder auf der ursprünglichen Oberfläche nicht hätten wachsen können, ermöglicht, sich anzulagern und zu vermehren. Neben der "aktiven" Adsorption lebender Mikroorganismen [54] erfolgt jedoch auch eine "passive" Adsorption toter Zellen [47].

Charakteristisch für diese Phase ist in erster Linie das Wachstum des Biofilms, welches hauptsächlich durch Transportprozesse in der Gel-Matrix bestimmt wird [55]. Daher

sind die Nährstoff-Versorgung und die Temperatur hier die entscheidenden Faktoren, von denen die weitere Besiedelung abhängt [45]. Während dieser Wachstumsphase entstehen auch die oben bereits erwähnten Mikrokonsortien (Mischpopulationen), in denen einige Spezies häufig in der Lage sind, von anderen Arten bereits verarbeitete Nährstoffe weiter zu verwerten [32] [33].

2.1.1.3. Plateau-Phase

Biofilme erreichen keine unbegrenzte Dicke, sondern es stellt sich ein dynamisches Gleichgewicht zwischen Neubildung und Ablösung von Teilen des Biofilms ein [43]. Dieser Zustand, der auch als "aktive Dicke" bezeichnet wird, ist in den meisten aquatischen Systemen nach wenigen Wochen erreicht [56]. Zuwachs- und Ablösungsprozesse lassen sich durch folgende Beziehung ausdrücken [43]:

$$\Delta m_{\text{Wachstum}} + \Delta m_{\text{Adhäsion}} = \Delta m_{\text{Ablösung}} \qquad (m = \text{Masse})$$

Für die Höhe des Plateaus ist die Adhäsion neu hinzukommender Mikroorganismen gegenüber dem Wachstum bereits vorhandener Zellen von untergeordneter Bedeutung [57]. Somit wird das Gleichgewicht im wesentlichen vom Wachstum der Mikroorganismen (aufgrund der Zufuhr von Nährstoffen durch das Medium) und der Scherkraft des Mediums bestimmt [43]. Durch letzteres kann es zum Abschälen ganzer Biofilm-Stücke, dem "sloughing off" kommen. Dieser Effekt ist einerseits von der mechanischen Stabilität des Biofilms, welche z.B. durch das Absterben von Zellen in bestimmten Bereichen verringert werden kann, und andererseits von der Stärke der Scherkräfte des Mediums abhängig. Sind diese stärker als die Festigkeit der Matrix oder dem Halt auf der Unterlage, so erfolgt eine Ablösung von Teilen des Biofilms. Je stärker das Wachstum eines Biofilmes, desto geringer ist normalerweise seine physikalische Widerstandskraft und desto häufiger tritt das "sloughing off" auf [43]. Eine Destabilisierung des Biofilms kann auch durch die Erhöhung der Ca²⁺-Konzentration im Medium erfolgen, da die Festigkeit eines Biofilms unter anderem auf ionischen Wechselwirkungen zwischen geladenen Polysacchariden beruht, welche durch die Komplexierung von Ca^{2+} unterbrochen wird [58, 59].

2.1.2. Aufbau von Biofilmen

In Gewässern befindliche Biofilme können grob in vier Bereiche eingeteilt werden [60]:

- Aufwuchsfläche (Substratum)
- Basisbiofilm (steht im Kontakt zur Aufwuchsfläche)
- Oberflächenzone (steht in Wechselwirkung zum flüssigen Medium)
- Grenzschicht des flüssigen Mediums

Dieses ist schematisch in Abbildung 2 dargestellt.



Abbildung 2: Bereiche eines Biofilm-Systems [43]

2.1.2.1. Dicke von Biofilmen

Die Dicke von Biofilmen ist im wesentlichen vom umgebenden Milieu abhängig. Sie kann – je nach Umgebungsbedingungen – zwischen wenigen Mikrometern (in Systemen mit starken Schwerkräften) und mehreren Zentimetern (in Bereichen mit geringer Fließbewegung) betragen. Die Dicke von Biofilmen in natürlichen Fließgewässern beträgt häufig zwischen 50 und 150 μ m [28]. Die Entstehung von Biofilmen wird durch das Vorhandensein von starken Scherkräften nicht verhindert, sondern diese führen zur Bildung festerer, dünnerer Biofilme [61].

2.1.2.2. Dichte von Biofilmen

Die Definition für die Dichte von Biofilmen ergibt sich aus der Masse an Trockensubstanz pro Flächeneinheit und Biofilmdicke. Ausgehend von der Aufwuchsfläche zur Oberfläche hin nimmt die Dichte eines Biofilms ab. Ursache hierfür sind die in der Tiefe stattfindenden Mineralisierungsprozesse, welche letztlich zur Gesteinsbildung führen [61].

Durch Partikel, die an der Biofilmoberfläche von der EPS-Matrix immobilisiert werden, können sowohl die Dichte als auch die Dicke des Biofilms erheblich zunehmen. Weiterhin ist eine Zunahme der Dichte durch höhere Nährstoffzufuhr und die Einwirkung stärkerer Scherkräfte möglich [61]. In Tabelle 1 ist die Dichteverteilung verschiedener Bereiche eines Biofilms von ca. 730 µm Dicke dargestellt.

Tabelle 1: Beispiel für die Variation der Biofilmdichte (in Masse Trockensubstanz pro Flächeneinheit und Biofilmdicke) mit der Entfernung von der Oberfläche [61].

Bereich des	Segment-Dicke	Entfernung von	Dichte (bezogen
Biofilms		der Oberfläche	auf Masse TS)
Oberflächenfilm	400 µm	0-400 μm	37 kg/m ³
Zwischenbereich	130 µm	400-600 μm	98 kg/m ³
Basis-Biofilm	130 µm	600-730 μm	102 kg/m ³

2.1.2.3. Heterogenität von Biofilmen

Biofilme sind sowohl räumlich als auch zeitlich heterogene Systeme. Die *räumliche Heterogenität* tritt in vertikaler und horizontaler Richtung auf. So können Biofilme z.B. in aeroben Systemen an ihrer Basis anaerobe Bereiche aufweisen. Durch das Wachstum und den Stoffwechsel aerober Mikroorganismen an der Oberfläche eines Biofilms wird Sauerstoff verbraucht. Dadurch nimmt die Sauerstoffkonzentration in tieferen Schichten des Biofilms so stark ab, dass an seiner Grundfläche anaerobe Verhältnisse entstehen, welche dann anaeroben Mikroorganismen einen Lebensraum bieten [62].

Solche Konzentrationsgradienten treten nicht nur bei Sauerstoff, sondern auch bei Substraten, Stoffwechselprodukten, gelösten Salzen und Bioziden auf. Auch pH-Wert und Temperatur können sich innerhalb eines Biofilms ändern. Diese Gradienten sind verantwortlich für das Vorhandensein unterschiedlicher Habitate, in denen Bereiche verschiedener Stoffwechselaktivitäten entstehen [33]. In Abbildung 3 ist schematisch der vertikale Aufbau eines entwickelten Biofilms dargestellt.



Abbildung 3: Vertikale Aufteilung in einem Biofilm [43]

Biofilme in fließenden Gewässern weisen durch den sukzessiven Entzug von Nährstoffen aus dem Medium eine horizontale Heterogenität auf [33]. Diese ist schematisch in Abbildung 4 dargestellt.



Abbildung 4: Horizontale Aufteilung eines Biofilms in einem durchflossenen System [43]

Biofilme zeichnen sich auch durch *zeitliche Heterogenität* aus. Durch veränderte Milieubedingungen und Veränderungen im Biofilm kommt es zu einer Besiedlungssukzession verschiedener Mikroorganismen. Eine Primärbesiedlung durch Bakterien hat meistens später auch eine Ansiedelung von Pilzen, Algen (nur bei Lichtzutritt), Einzellern und höheren Organismen wie Larven und Würmern mit entsprechenden Konsequenzen für Struktur und Zusammensetzung zur Folge [51].

2.1.3. Zusammensetzung und Eigenschaften von Biofilmen

Biofilme setzen sich grundsätzlich aus den folgenden vier Komponenten zusammen [43]:

- Mikroorganismen
- Extrazelluläre polymere Substanzen (EPS)
- Eingelagertes partikuläres Material
- Gelöste Stoffe

Sie bestehen zu 50 bis 95 % aus Wasser, welches somit den größten Anteil des Biofilms ausmacht. Die organische Masse des Biofilms besteht zu 60 bis 90 % aus EPS (bezogen auf die Trockenmasse) [61] und nur zu einem geringen Anteil aus lebenden Mikroorganismen [7, 63]. Dennoch ist die Anzahl der Zellen in einem Biofilm deutlich höher als in suspendiertem Zustand. Biofilme können bis zu 10¹² Zellen/mL mit einer Gesamtzelloberfläche von etwa 3 m²/mL enthalten [51]. Die Mikrobiozönose kann aus Bakterien, Algen (nur bei Lichtzutritt), Pilzen, Viren, Bakteriophagen, Protozoen, Ciliaten, Rädertierchen und Nematoden bestehen [11, 43].

Ein Biofilm kann als Gel aus organischen Polymeren betrachtet werden, in das lebende Mikroorganismen immobilisiert sind [43]. Dieses Gel wird von den extrazellulären polymeren Substanzen (EPS) gebildet, deren Hauptbestandteil Polysaccharide sind [64]. Es können aber auch deutliche Anteile an Proteinen, Glycoproteinen, Lipoproteinen, Lipiden, Phospholipiden, Glycolipiden, Nucleinsäuren und Uronsäuren enthalten sein [65]. Definitionsgemäß sind extrazelluläre Polymere solche Substanzen, die von den Mikroorganismen entfernt werden können, ohne die Zellen zu zerstören, und ohne welche die Mikroorganismen weiterhin lebensfähig sind [66]. Die EPS treten nicht nur als gelartige Matrix, sondern auch als Fasernetzwerke auf, welche den Biofilmen eine besondere Stabilität verleihen. Die Struktur von Biofilmen kann Poren, Kanäle und Zonen hoher Dichte einschließen [67]. Durch ihre "Klebrigkeit" verleihen die EPS dem Biofilmgel die Eigenschaften eines Sorbens, wodurch die Adhäsion von Partikeln ermöglicht wird [43]. Weiterhin enthält die EPS-Matrix geladene Gruppen, wie z.B. die Carboxylgruppen der Uronsäuren, welche ihre physikalischen Eigenschaften beeinflussen und z.B. befähigt sind, Metallionen zu immobilisieren und somit eventuell weniger toxisch zu machen [68]. Aufgrund ihrer Hydrophilie binden die EPS Wasser und schützen den Biofilm so vor dem Austrocknen [43]. Meist liegen die Molekulargewichte der EPS im Bereich mehrerer Millionen Dalton [61].

Die wichtigsten Eigenschaften von Biofilmen sind in der folgenden Auflistung noch einmal zusammengefasst [43]:

- Nähe zum Substratum (Aufwuchsfläche)
- Lange Kontaktzeiten der Zellen zueinander
- Räumlich fixierte Mikrokonsortien verschiedener Spezies
- Räumliche Heterogenität (vertikal und horizontal): Gradienten von pH-Wert, Sauerstoffkonzentration, Substratkonzentration, Stoffwechselproduktkonzentration, Konzentration gelöster Salze, Temperatur
- Hohe Zelldichte gegenüber suspendierter Population
- Zeitliche Dynamik (Sukzession verschiedener Mikroorganismen entsprechend veränderten Milieubedingungen und Veränderungen im Biofilm)
- Metabolische Aktivität hauptsächlich durch Transportprozesse limitiert (im Unterschied zu planktonischen Zellen)
- Weitere Unterschiede zur planktonischen Population in Zellgröße, Spezieszusammensetzung, Substrataufnahme, Atmung, Produktbildung
- Anreicherung von Nährstoffen in der Gel-Matrix
- Anpassungs- und Regenerationsfähigkeit
- Schutz gegen Biozide, Schocks in pH-Wert und Salzkonzentration
- Durch Wasserbindungsvermögen der EPS: Schutz vor Austrocknen
- Oberflächeneigenschaften
 - meistens rauer als die Unterlage
 - weiche, viscoelastische Oberfläche, die kinetische Energie absorbiert

- "Klebrigkeit" durch EPS-Matrix
- Maskierung der Oberflächeneigenschaften der Unterlage
- Erzeugung hydrophiler Oberflächen

2.2. Akkumulation von Metallionen in Mikroorganismen und Biofilmen

Mikroorganismen benötigen zur Aufrechterhaltung ihres Stoffwechsels Metallsalze als Nährstoffe. In höheren Konzentrationen wirken die meisten Metallionen jedoch toxisch. Die Akkumulation von Metallionen an der Zelloberfläche von Mikroorganismen sowie in der EPS-Matrix hat daher zwei Ursachen. Einerseits werden sie als Nährstoffe angereichert, so dass ihr Transport ins Zellinnere erleichtert wird, andererseits erfolgt eine Immobilisierung zur Detoxifizierung der Metallionen.

2.2.1. Zelloberflächen von Mikroorganismen

Die Zellwände von Bakterien bestehen aus Murein, einem Peptidoglykan, welches aus unverzweigten, heteropolymeren Ketten von N-Acetylglucosamin und N-Acetylmuraminsäure in alternierender Reihenfolge besteht. Durch peptidische Verknüpfungen von Mono- und Di-Aminosäuren mit den Lactylgruppen der Muraminsäureglieder entstehen Tetrapeptidseitenketten. Da die Di-Aminosäuren mit beiden Aminogruppen Peptidbindungen knüpfen können, sind sie somit in der Lage, zwei heteropolymere Ketten miteinander zu verbinden, wodurch es zu einer intramolekularen Vernetzung kommt. Hierdurch entsteht der sogenannte Murein-Sacculus, ein sackförmiges Riesenmolekül, welches das Stützskelett der Zellwand bildet. In der Zellwand wie auch auf ihrer Oberfläche befinden sich noch eine Reihe anderer Substanzen [22].

Prinzipiell treten zwei verschiedene Strukturen von Zellwänden auf. Gram-positive und Gram-negative Bakterien unterscheiden sich sowohl im Aufbau des Stützskeletts als auch im Anteil der an der Zellwand befindlichen Substanzen.

2.2.1.1. Zellwände Gram-positiver Bakterien

Die Trockenmasse der Zellwand von Gram-positiven Bakterien besteht zu 30 bis 70 % aus Murein. Eine zusätzliche Vernetzung des Mureins entsteht durch die Anwesenheit von Interpeptidketten, welche die Tetrapeptidseitenketten miteinander verbinden. Der Proteinanteil in Zellwänden Gram-positiver Bakterien ist gering, Polysaccharide sind bei Vorhandensein kovalent gebunden. Charakteristisch für Gram-positive Bakterien sind die über das Phosphat amidartig an das Murein gebundenen Teichonsäuren (Ketten von 8-50 Glycerin- oder Ribitmolekülen, die über Phosphodiesterbrücken miteinander verbunden sind) und Teichuronsäuren (auf Uronsäuren basierende Polymere) [22].

Die in der Zellwand Gram-positiver Bakterien enthaltenen Carboxylgruppen des Peptidoglykans und der Teichuronsäuren sowie die Phosphorylgruppen der Teichonsäuren sind negativ geladen, so dass sie als potentielle Bindungsstellen für Metallionen fungieren können [69].

2.2.1.2. Zellwände Gram-negativer Bakterien

Die Zellwände Gram-negativer Bakterien sind chemisch und strukturell komplexer als die Gram-positiver Bakterien. Die Trockenmasse der Zellwand von Gram-negativen Bakterien besteht zu weniger als 10 % aus Murein und bis zu 80 % aus Lipoproteinen, Lipopolysacchariden und anderen Lipiden, welche in großen Mengen auf der Außenseite des Mureingerüstes kovalent gebunden sind. Das Mureinnetz ist einschichtig und enthält keine Interpeptidbrücken. Das Vorhandensein von Teichonund Teichuronsäuren ist bisher nicht erwiesen [22].

Gram-negative Zellwände bestehen somit aus einer äußeren Membran, welche der dünnen Schicht des Mureinnetzes aufgelagert ist. Die äußere Membran besteht aus Proteinen, Phospholipiden und Lipopolysacchariden. Die hydrophilen Enden der Lipoproteine sind kovalent mit der Mureinschicht verbunden. Sie weisen mit dem lipophilen Ende nach außen und sind damit über hydrophobe Wechselwirkungen in einer lipophilen Doppelschicht aus Phospholipiden und den hydrophoben Enden von Lipopolysacchariden verankert. Die hydrophilen Enden der Lipopolysaccharide weisen nach außen [22].

Die Lipiddoppelschicht ist in ihrer ganzen Dicke von Transmembranproteinen (sogenannten Porinen) durchdrungen, welche mit den Lipoproteinen und Lipopolysacchariden fest verbunden sind. Sie bilden schmale, hydrophile Kanäle, durch welche nur hydrophile, niedermolekulare Substanzen wandern können [69]. Abbildung 5 zeigt eine schematische Darstellung des Aufbaus von Zellwänden Gram-negativer Bakterien.



Abbildung 5: Modell des Zellwandaufbaus Gram-negativer Bakterien (CM = Cytoplasmamembran, PR = periplasmatischer Raum, M = Murein, $\ddot{A}M =$ äußere Membran) [22]

Etliche Untersuchungen haben ergeben, dass die Mureinschicht vieler Gram-negativer Bakterien erst dann für das Murein auflösende Enzym Lysozym zugänglich ist, wenn zuvor eine Entfernung der Ca²⁺-Ionen mittels EDTA erfolgte. Durch die Komplexierung der Ca²⁺-Ionen wird ein Teil der Lipopolysaccharide freigesetzt. Dies deutet darauf hin, dass zur Erhaltung der Stabilität der Lipopolysaccharidschicht Ca²⁺ notwendig ist [22]. Durch die Anordnung der Lipopolysaccharide in der äußeren Membran von Gramnegativen Bakterien, bei der die polaren Gruppen nach außen weisen, stehen auf der Oberfläche der Zellwand reaktive Phosphorylgruppen zur Verfügung, welche Metallionen binden können. Die Peptidoglykanschicht der Gram-negativen Bakterien hat die gleichen Bindungsstellen für Metallionen wie die der gram-positiven Bakterien, jedoch ist die Anzahl wesentlich geringer. Außerdem ist sie durch die äußere Membran vom umgebenden Milieu abgeschirmt [69].

2.2.2. Kapseln und Schleime

Auf den Zellwänden vieler Bakterien befinden sich zusätzlich mehr oder weniger dicke, stark wasserhaltige Schichten (sogenannte Kapseln), die normalerweise aus Polysacchariden mit einer sich wiederholenden Sequenz von zwei bis sechs Zuckereinheiten (hauptsächlich Glucose, Aminozucker, Rhamnose, Uronsäuren und organische Säuren wie Brenztraubensäure und Essigsäure) bestehen und an die äußere Membran gebunden sind [70]. Einige Bakterien produzieren Kapseln, die sich aus zwei chemisch verschiedenen Polysacchariden zusammensetzen [71, 72]; auch Proteinkomponenten (in erster Linie Polyglutaminsäure), DNA und RNA können enthalten sein [73, 74, 75]. Zellgebundene Exopolymere können sich 0,1 bis 10 µm von der Zelloberfläche in die umliegende Umgebung erstrecken, wobei sie eine Pufferzone zwischen der Oberfläche der Zelle und der äußeren Umgebung erzeugen [76, 77]. Diese lassen sich von der Zelloberfläche entfernen. Werden die Kapselsubstanzen in die Umgebung der Zelle abgegeben, so spricht man von Schleimen [22]. Alle extrazellulären bakteriellen Polymere, einschließlich Kapseln und Schleimen, wurden zur sogenannten Glycocalyx zusammengefasst [78].

Chemische Charakterisierungen der Kapsel- und Schleim-Polysaccharid-Einheiten von Bakterien, welche aus einer Vielzahl natürlicher Habitate isoliert wurden, zeigen, dass sie Uronsäuren und andere substituierte Zucker enthalten, welche saure funktionelle Gruppen besitzen. Die Dichte von sauren Resten in der Polymerkette kann in unterschiedlichen Spezies variieren. Einige Bakterien produzieren Kapselpolymere, die nur Neutralzucker-Einheiten enthalten, während andere Bakterien Kapseln und Schleime absondern, die ausschließlich aus Uronsäuren zusammengesetzt sind. Die Kapseln der meisten untersuchten Bakterien enthalten 5 bis 25 % Uronsäuren [79]. Ketalgebundene Pyruvat-Zucker steuern ebenfalls saure funktionelle Gruppen zu den Kapsel- und Schleim-Polysacchariden bei [80, 81, 82].

2.2.3. Wechselwirkungen zwischen Metallionen und Mikroorganismen

Mikroorganismen interagieren mit Metallionen in verschiedenartiger Weise. Viele sind essentiell für Mikroorganismen, während andere toxisch sind.

Für eine Reihe metabolischer Aktivitäten und struktureller Arrangements benötigen Mikroorganismen Metallionen. Die Verfügbarkeit eines bestimmten Metalls während der Evolution der Mikroorganismen ist eine notwendige Voraussetzung für die Entwicklung eines essentiellen Metabolismus, welcher auf diesem bestimmten Metallion basiert. In der Regel sind es daher die häufiger vorkommenden Elemente, welche von Mikroorganismen verwendet werden, und weniger die seltenen Schwermetallionen. Diese sind normalerweise eher toxisch [69]. In Tabelle 2 sind einige Metalle und ihre Funktionen in biochemischen Stoffwechselprozessen dargestellt [2, 83, 84].

Element	Bestandteil von
Eisen	Cytochrome
	Catalase/Peroxidase
	Sulfitreduktase
	Hydrogenase
	Ribonucleotidreduktase
	Superoxiddismutase
Zink	Carboanhydrase
	Carboxypeptidase
	Alkalische Phosphatase
	Superoxiddismutase
Kupfer	Cytochrom-c-Oxidase
	Methylamin-Oxidase
	Phenylalanin-Hydroxylase
	Tyrosinase
	Superoxiddismutase
Cobalt	Vitamin B ₁₂
	Ribonucleotidreduktase
	Glyceroldehydrase
	Transcarboxylase
Mangan	Pseudocatalase
	Superoxiddismutase
Molybdän	Nitrogenase
	Aldehydoxidase
	Xanthinoxidase
	Sulfitoxidase
	Nitratreduktase
	Formatdehydrogenase
	CO-Dehydrogenase
Vanadium	Nitrogenase
	Bromoperoxidase
Nickel	Hydrogenase
	CO-Dehydrogenase
	Urease
Magnesium	Chlorophyll a

Tabelle 2: Metalle und ihre Funktionen in Mikroorganismen

Die Bindungsstärke von Metallionen an biologischen Molekülen steht in Zusammenhang mit der natürlichen Häufigkeit dieses Metalls in der Erdkruste. Normalerweise gilt: je seltener das Metall, desto größer ist die Bindungskonstante. Die Stärke der Bindung ist im Prinzip ein Vorteil für den Organismus, da z.B. bestimmte, einzigartige Metalloenzyme seltene Metalle als Cofaktoren für ihre Wirksamkeit benötigen. Es ist jedoch durchaus möglich, dass auch die Toxizität von Schwermetallen eine Folge obiger Beziehung ist. Denn toxische Schwermetalle haben normalerweise geringe natürliche Häufigkeiten und binden daher oft irreversibel an essentielle biologische Komponenten, wie z.B. Enzyme, wodurch sie diese inaktivieren [69]. Viele für Mikroorganismen essentielle Metallionen sind nach der HSAB-Theorie von Pearson [85] harte Säuren oder Grenzionen (z.B. Ionen der Alkali- und Erdalkalimetalle, der leichteren Übergangsmetalle in höheren Oxidationsstufen sowie H⁺). Diese sind klein, stark elektronegativ und wenig polarisierbar, daher tendieren sie zur Bildung von Ionenbindungen. Im Gegensatz dazu sind die nicht für biologische Funktionen notwendigen und oft toxischen Metallionen meist weiche Säuren (z.B. Ionen der schwereren Übergangsmetalle sowie Ionen in niedrigen Oxidationsstufen). Diese sind größer, weniger elektronegativ und stärker polarisierbar, daher gehen sie eher Bindungen kovalenter Natur ein und bilden beim Verdrängen essentieller Ionen in Zellen stabilere Komplexe mit zellularen Komponenten als harte Säuren. Dadurch stören sie die normalen physiologischen Funktionen der Zelle und verursachen toxische Effekte. Die Substitution einer harten Säure durch eine andere in einem Ligand hat nicht so schwerwiegende Folgen auf die Zellfunktionen wie der Ersatz einer harten Säure durch eine weiche oder ein Grenzion [86].

Die Mechanismen der Toxizität von Metallionen können in drei Kategorien eingeteilt werden [86]:

- Blockierung essentieller, funktioneller Gruppen von biologischen Molekülen
- Verdrängung eines essentiellen Metallions in Biomolekülen
- Modifikation der aktiven Konformation von Biomolekülen

Schwermetallionen beeinflussen Mikroorganismen durch Einwirkung auf ihr Wachstum, ihre Morphologie und ihre biochemischen Aktivitäten. In Tabelle 3 sind einige Metalle und ihre Auswirkungen auf Mikroorganismen dargestellt.

Element	Auswirkungen
Nickel	Hemmung des Wachstums
	Morphologische Veränderungen der Zellen
	Verringerung der RNA- und Proteinsynthese
	Hemmung der Gärung
	Verringerung bzw. Hemmung der Photosynthese
	Hemmung der Stickstofffixierung
	Verringerung der Synthese non ATP
	Hemmung von DNA-Replikation
	Hemmung von DNA-Transkription
	Hemmung von DNA-Translation
	Hemmung von Enzymen des Citratzyklus
	Verursachung von DNA-Läsionen
	Substitution von Mg ²⁺ in den Phosphatgruppen von DNA und
	Nucleotiden
Cadmium	Hemmung des Wachstums
	Morphologische Veränderungen der Zellen
	Verringerung der RNA- und Proteinsynthese
	Verringerung bzw. Hemmung der Photosynthese
	Hemmung der Stickstofffixierung
	Enzym-Inhibition
Kupfer	Hemmung des Wachstums
	Morphologische Veränderungen der Zellen
	Verringerung der RNA- und Proteinsynthese
	Hemmung der Atmung
	Verringerung bzw. Hemmung der Photosynthese
Quecksilber	Hemmung des Wachstums
	Morphologische Veränderungen der Zellen
	Verringerung der RNA- und Proteinsynthese
	Hemmung der Atmung
	Verringerung bzw. Hemmung der Photosynthese
	Enzym-Inhibition
	Störung der Funktion der Nukleinsäuren
Zink	Hemmung des Wachstums
	Morphologische Veränderungen der Zellen
	Verringerung der RNA- und Proteinsynthese
	Verringerung bzw. Hemmung der Photosynthese
Blei	Hemmung des Wachstums
	Morphologische Veränderungen der Zellen
	Verringerung bzw. Hemmung der Photosynthese
	Enzym-Inhibition
Chrom	Verursachung von DNA-Läsionen
Uran	Hemmung der Gärung

Tabelle 3: Auswirkungen von Schwermetallen auf Mikroorganismen [86]

Gegen eine Vielzahl von toxischen Schwermetallen sind Mikroorganismen resistent. Etlicher ihrer Metallionen werden durch Transportsysteme aktiv in die Zelle transportiert. Doch statt hier den Tod der Zelle zu bewirken, werden sie entweder chemisch neutralisiert oder schnell wieder aus der Zelle ausgeschleust. Die Basis für diese aktive Schwermetallresistenz ist die Expression von Faktoren, welche durch spezielle Plasmide codiert sind. Eine andere Form von Resistenz ist passiv und kommt durch die chemische Komplexierung von Schwermetallionen an der bakteriellen Oberfläche zustande [69].

Mikroorganismen haben mehrere Mechanismen entwickelt, um die Toxizität von Metallionen in ihrer Umwelt zu reduzieren:

- Biomethylierung: Methylierung toxischer Metalle (wie z.B. Hg, Pb, Tl, Cr) und Metalloide (wie z.B. As, Se) [87, 88, 89]
- Verflüchtung (z.B. bei der Umwandlung von Hg²⁺ zu flüchtigem Hg⁰ durch Quecksilber-Reduktase) [90, 91]
- Intrazellulare Fallen: Starke Bindung toxischer Metallionen (z.B. an metallbindende Proteine) [88, 92, 93]
- Fällung toxischer Metallionen an der Zelloberfläche (z.B. als Sulfide) [88]
- Bindung toxischer Metallionen an der Zellwand, wodurch der Eintritt in das Cytoplasma reduziert wird [94, 95, 96]
- Pumpen, welche die toxischen Metallionen (z.B. im Austausch gegen H⁺) wieder aus der Zelle ausschleusen [88, 97]

2.2.4. Sorptionsverhalten von Biofilmen

Biofilme können Substanzen aktiv und passiv binden.

Durch die Ausscheidung bindender, chelatisierender oder ausfällender Zellprodukte als Reaktion auf die Anwesenheit von gelösten Substanzen, tritt aktive Bindung auf. Diese Mechanismen werden zur Detoxifikation (z.B. von Schwermetallen) eingesetzt [98]. Außerdem ermöglichen aktive Transportsysteme die Aufnahme von z.B. Metallionen ins Cytoplasma. Methylierung und Demethylierung sind ebenso wie Oxidation und Reduktion aktive Prozesse, um die sorbierten Substanzen zu verändern, und tragen zu der gesamten Sorptionskapazität von Biofilmen bei [99]. Metallbindung durch bakterielle Oberflächen wird zum großen Teil als ein passives Phänomen betrachtet, mit dem Prozess der elektrostatischen Wechselwirkung zwischen kationischen Metallen und anionischen Gruppen auf der Zelloberfläche. Folglich ist es nicht notwendig, dass die Organismen am Leben sind, sondern nur dass ihre Oberflächen intakt bleiben [100]. Passive Bindungsmechanismen treten durch Ionenaustausch (hauptsächlich der EPS und der Zellwand) oder durch Fällung und/oder Komplexierung durch Biofilm-Komponenten auf, welche bereits anwesend sind und nicht erst als Reaktion auf die gebundenen Substanzen gebildet werden. Passive Bindung kann durch tote Biomasse ebenso gut wie durch lebende erfolgen [99].

2.2.4.1. Sorption von Metallionen

Für die Anreicherung von Metallionen in Biofilmen existieren vier verschiedene Mechanismen:

- Fällung
- Adsorption
- Ionenaustausch
- Komplexierung

Fällung erfolgt beispielsweise, wenn lebende Bakterien Substanzen produzieren und ausscheiden, die mit den in der Lösung enthaltenen Metallionen chemisch reagieren und dabei unlösliche Metallverbindungen erzeugen (z.B. die Produktion von H₂S durch sulfatreduzierende Bakterien und die folgende Bildung unlöslicher Metallsulfide) [101]. Metallionen können auch durch HPO₄²⁻ (welches durch Phosphatasen an der bakteriellen Oberfläche entsteht) aus der Lösung ausgefällt werden [102, 103, 104]. Die wichtigsten Fällungsprodukte der Metallionen sind Hydroxide, Sulfide, Carbonate, Sulfate, Oxidhydrate und Phosphate. Für viele Metallionen gewinnt die Fällung als vorherrschender Prozess bei der Metallanreicherung in Biofilmen erst bei pH-Werten oberhalb von 6 an Bedeutung, da diese unter sauren Bedingungen adsorptiv gebunden werden [12].

Neben der Fällung ist die Adsorption der wichtigste Mechanismus zur Anreicherung von Metallionen in Biofilmen. Potentielle Bindungsstellen sind die anionischen Liganden der Zellwände und die funktionellen Gruppen der extrazellulären polymeren Substanzen [13].

Sowohl Fällung als auch Adsorption sind abhängig vom pH-Wert der Umgebung. Dieser wirkt sich auf die chemische Speziation der Metallionen aus, welche einen Einfluss auf deren Mobilität und Fähigkeit, an Zelloberflächen zu binden hat. Metalle (M^{2+}) bilden vielfach hydroxylierte Spezies, wenn der pH-Wert der Lösung ansteigt [105, 106, 107]:

$$M^{2+} \xrightarrow{[OH^-]} MOH^+ \xrightarrow{[OH^-]} M(OH)_2 \xrightarrow{[OH^-]} M(OH)_3 \xrightarrow{[OH^-]} M(OH)_4^{2-}$$

Der pH-Wert, bei dem sich diese hydroxylierten Spezies bilden, variiert für jedes Metall. Die Speziationsform wirkt sich auf die Adsorption an einer geladenen Oberfläche aus. Die Adsorption von Metallionen an Oberflächen ist dann möglicherweise nicht mehr in erster Linie von der Konzentration der freien Metallionen abhängig, sondern von der Konzentration der Hydroxo-, Sulfato-, Carbonato- und anderer Komplexspezies des Metalls [108].

Wenn der pH-Wert des Mediums sinkt und die Konzentration an H⁺ steigt, kann H⁺ mit Metall-Kationen um ionische Stellen auf der Oberfläche von Zellen und in den EPS konkurrieren. Die Ladung dieser ionischen Gruppen wird ebenfalls durch den pH-Wert beeinflusst, was sich auch auf die Affinität der Zelloberfläche bzw. der EPS für Metallionen auswirkt [86]. Bei niedrigen pH-Werten sind die Bindungspositionen mit Protonen belegt, so dass die Verfügbarkeit von negativ geladenen Stellen stark reduziert ist und somit weniger Metall-Kationen adsorbiert werden können. Bei höheren pH-Werten sind diese Bindungspositionen deprotoniert, so dass die Adsorption von Metallionen durch die Zunahme der Anzahl an freien ionischen Gruppen erhöht ist [109]. Hier tritt jedoch die Fällung in Konkurrenz zur Adsorption.

Weiterhin tragen Stickstoff- und Sauerstoff-Liganden in der Zellwand sowie in den EPS zur Komplexierung von Metallionen bei [110].

2.2.4.2. Sorptionsstellen in Biofilmen

Biofilme sind, wie oben bereits beschrieben, sehr heterogen aufgebaut. In den Biofilmen lassen sich, wie Abbildung 6 zeigt, vier verschiedene Sorptionsbereiche für Ionen, unpolare Substanzen und Partikel unterscheiden:

- Zellwände
- EPS
- Membranen
- Cytoplasma



Abbildung 6: Unterschiedliche Sektionen in einem Biofilm, einschließlich eines Gramnegativen (links) und eines Gram-positiven (rechts) Organismus (Cy = Cytoplasma, CM = Cytoplasmamembran, M = Murein, OM = äußere Membran, LPS = Lipopolysaccharide, C = Kapsel, TA = Teichonsäure, EPS = extrazellulare polymere Substanzen) [111].

2.2.4.2.1. Zellwände

Aufgrund ihrer anionischen Natur sind Zelloberflächen von Bakterien fähig, mit Metallionen in ihrer Umgebung zu interagieren und diese zu binden. Die Metallionen werden zunächst passiv durch physikochemische Prozesse (wie z.B. elektrochemische Anziehung) an Zelloberflächen gebunden. Anschließend werden sie normalerweise durch ein energieabhängiges Transportsystem in der Zelle akkumuliert. Die Unfähigkeit des bakteriellen Zelltransportsystems, zwischen metabolisch essentiellen und nichtmetabolischen Metallionen derselben Ladung zu unterscheiden, kann zu intrazellularer Akkumulation toxischer Metalle führen [112].

Untersuchungen an bakteriellen Oberflächen, welche gesättigten Lösungen unterworfen waren, haben gezeigt, dass wesentlich mehr Metallionen gebunden werden können, als die stöchiometrischen Werte, welche auf der Anzahl der verfügbaren reaktiven Gruppen in der Zellwand basieren, erwarten lassen [94, 113, 114]. Elektronenmikroskopische Untersuchungen zeigen eindeutig, dass Metallablagerungen in und auf der Zellwand vorkommen. Hierfür wurde ein zweistufiger Mechanismus entwickelt [94]: Im ersten Schritt interagieren die Metallionen in stöchiometrischer Weise mit den zugänglichen reaktiven Gruppen der Zellwand. Dadurch entstehen rundherum Keimbildungsstellen, an denen dann im zweiten Schritt weitere Metallionenablagerungen stattfinden [86]. In situ-Untersuchungen von Bakterien und ihren Biofilmen in Böden und Sedimenten zeigen oft, dass die Zellen in einer mineralisierten Hülle (z.B. aus kristallinen Metallphosphaten, Metallsulfiden und polymeren, organischen Metallkomplexen) eingeschlossen sind [115, 116, 117].

2.2.4.2.1.1. Wechselwirkungen zwischen Zellwänden Gram-positiver Bakterien und Metallionen

Die Zellwände Gram-positiver Bakterien sind hydrophil und insgesamt negativ geladen [118, 119, 120, 121]. Neben den zahlreicheren negativen Ladungen, welche Carboxylgruppen (vom Peptidoglykan bzw. von Teichuronsäuren) und Phosphorylgruppen (von den Teichonsäuren) beinhalten, enthalten sie auch einige positive Ladungen, welche ausschließlich aus Ammoniumgruppen bestehen (vom D-Alanin der Teichonsäuren, vom Aminozucker Glykan und von den Di-Aminosäuren der Tetrapeptidseitenketten des Peptidoglykans). Die Ladungen in Zellwänden Gram-positiver Bakterien sind jedoch nicht symmetrisch verteilt, sondern es sind mehr elektronegative Stellen auf der äußeren Oberfläche als auf der inneren. Diese Ladungen vermitteln die Wechselwirkungen zwischen Zellwänden und Metallionen [122].
Viele Cytoplasma-Enzyme benötigen für ihre Protein-Funktionen oder Enzym-Aktivitäten ein- oder zweiwertige Kationen. Diese müssen zunächst die Zellwand passieren, um ihre Plätze nahe der Membran oder im Cytoplasma zu erreichen. Die anfängliche Wechselwirkung des Metallions mit der Zellwand und die folgende Wanderung des Ions zu der Membran lässt vermuten, dass die Zellwand eine Art Ionenaustauscher ist [134, 135, 123, 124, 125, 126, 127]. Für die Bindung von Metallionen an die Zellwand ist dies der hauptsächlich stattfindende Mechanismus. Einige Bakterien besitzen gewisse Oberflächen-Anordnungen außen auf der Peptidoglykanschicht, welche ebenfalls die Fähigkeit haben, Metallionen zu komplexieren [128].

Für Gram-positive Bakterien existieren mehrere Varianten der Regulierung von Wechselwirkungen zwischen Zellwänden und Metall-Kationen.

Untersuchungen an chemisch modifizierten Zellwänden haben ergeben, dass mit zunehmendem Verhältnis von Ammonium- zu Carboxyl- oder Phosphorylgruppen das Ausmaß der Komplexbildung mit Kationen sinkt [129, 130]. Es ist daher möglich, dass die Zelle durch Regulierung der Anzahl von Ammoniumgruppen ihre Metallbindungsfähigkeit variieren kann. Eine geringe Veränderung im Grad der Stickstoff-Substitution kann eine wesentlich größere Änderung in der Fähigkeit zur Metallbindung an die Zellwand zur Folge haben [122].

Wenn der pH-Wert der Zellwand eines Bakteriums niedrig und die Zelloberfläche somit protoniert ist, bereitet es der Zelle einige Schwierigkeiten, an Kationen zu gelangen. Ein Kation wäre kaum fähig, durch eine relativ dicke positiv geladene Zellwand zu diffundieren. Einige Bakterien haben möglicherweise Mittel, um diese Barriere zu umgehen. Es könnten z.B. zweiwertige Kationen als Chelate von Carbonsäuren oder als Komplexe mit Peptiden in die Zelle gelangen. Durch die Komplexierung würde das Kation neutralisiert und daher in der Lage, durch die Zellwand zu diffundieren [131].

Gram-positive Bakterien regieren auf Veränderungen in ihrem Wachstumsmedium mit einer bemerkenswerten Wandlungsfähigkeit.

Wenn Gram-positive Bakterien in Medien mit sehr geringem Mg^{2+} -Gehalt wachsen, führt das in ihren Zellwänden zu einem Ansteigen des Gehalts an zellwandgebundenen Teichonsäuren [132, 133]. Diese Zellwände haben eine erhöhte Kapazität, Mg^{2+} zu binden [134]. Die höheren Gehalte an in die Zellwand eingebauten Teichonsäuren scheinen eine evolutionäre Anpassung an geringere Mg²⁺-Gehalte in der Umwelt zu sein.

Die meisten Gram-positiven Bakterien synthetisieren beim Wachsen in phosphatarmer Umgebung eine peptidoglykangebundene Teichuronsäure, welche eine hohe negative Oberflächenladung trägt und eine annähernd gleich hohe Komplexbildungskonstante für Mg²⁺ besitzt wie Teichonsäuren. Die Bindung von Metallionen scheint eng an hohe Verhältnisse von negativen zu positiven Ladungen gekoppelt zu sein [135].

Eine andere Möglichkeit für die Veränderung der Anzahl an Ladungen in der Zellwand ist die zunehmende Vernetzung der Tetrapeptid-Seitenketten über die Di-Aminosäuren. Dabei gehen sowohl eine positive als auch eine negative Ladung verloren [122].

2.2.4.2.1.2. Wechselwirkungen zwischen äußerer Membran Gram-negativer Bakterien und Metallionen

Die hydrophilen, polaren Kopfgruppen der Lipide, welche anionische Phosphoryl- und Carboxylgruppen enthalten, weisen in die äußere Umgebung und bestimmen effektiv die Reaktivität der Zelloberfläche [136, 137]. Daher steht die äußere Membran wirksam mit Metall-Kationen in wässriger Lösung in Wechselwirkung [114, 138, 139].

Die äußere Membran ist fähig, in großem Umfang Metallionen zu binden [114, 130, 131, 140]. Diese werden im allgemeinen als wichtige, zusätzliche Komponenten angesehen, deren Aufgabe es ist, die molekulare Architektur der äußeren Membran zu stabilisieren. Vermutlich verringern die durch die äußere Membran gebundenen Metallionen die Ladungsabstoßung zwischen stark anionischen Molekülen, verbrücken benachbarte Moleküle von Lipopolysacchariden und/oder Proteinen und helfen, die äußere Membran an das darunter liegende Netz des Peptidoglykan zu verankern [136, 141, 142, 143]. Die strukturelle Kontinuität und somit auch die unterscheidenden Molekularsieb-Eigenschaften der äußeren Membran hängen von der Anwesenheit gebundener Metallionen ab [109].

In natürlicher Umwelt kann die äußere Membran toxische Schwermetallionen immobilisieren und damit deren Eindringen an empfindliche innere Stellen verhindern [144]. Alternativ dazu kann die Fähigkeit der äußeren Membran, Metallionen zu binden, zu einer Konzentration der für metabolische Prozesse der Zelle essentiellen Metall-Kationen aus verdünnten Lösungen führen [136].

Die Bindung von Metallionen durch die äußere Membran Gram-negativer Bakterien wird im allgemeinen als elektrostatisches Phänomen angesehen, welches durch Wechselwirkungen zwischen dem löslichen Metall-Kation und festen anionischen Gruppen auf der hydrophilen Oberfläche der Membran vermittelt wird [136, 142]. Die Phosphorylgruppen der Lipopolysaccharide und Phospholipide sind die wichtigsten reaktiven, elektronegativen Stellen für Wechselwirkungen mit Metallionen in der äußeren Membran [145].

Einwertige Kationen werden normalerweise von den Phosphorylgruppen der Phospholipide gebunden, mehrwertige von den Phosphoryl- oder Carboxylgruppen der Lipopolysaccharide [146].

Die durch Gram-negative Zellwände gebundenen Mengen an Metallionen sind üblicherweise geringer als die von Gram-positiven Zellwänden gebundenen. Die Ursache hierfür wird in der bei Gram-negativen Bakterien wesentlich dünneren Peptidoglykanschicht und der Abwesenheit von Teichonsäuren vermutet [86].

2.2.4.2.2. Wechselwirkungen zwischen Metallionen und EPS

Viele unterschiedliche Arten von Bakterien sondern eine Kapsel oder Schleimschicht als ihre äußerste Hülle ab. Diese hat viele verschiedene Funktionen, unter anderem dient sie als Puffer zwischen der Umgebung und der Zelle. So verhindern sie z.B., dass einige Substanzen aus der Umwelt, wie Antibiotika und Biozide, die Oberfläche der Zelle erreichen, während sie gleichzeitig Nährstoffe aus der umliegenden Umgebung für den späteren Transport in die Zelle anreichern [68].

Von den zahlreichen gelösten Substanzen, die in aquatischen Systemen vorkommen, sind Metallionen einzigartig darin, dass ihr Status innerhalb eines sehr engen Konzentrationsbereiches von einer essentiellen, wachstumsfördernden Funktion in eine toxische wechseln kann. Mikroorganismen müssen daher eine strenge Kontrolle über die Menge an Metallionen ausüben, mit der sie in Umgebungen stark schwankender Konzentrationen an gelösten Metallionen in Kontakt kommen [68].

Einer der beiden Hauptmechanismen für Metallionen-Akkumulationen durch Bakterien beinhaltet die unspezifische Bindung an Zelloberflächen, Kapseln und extrazellularen Schleimschichten [147]. Kapseln besitzen Merkmale, die vermuten lassen, dass sie als wirksame Modulatoren von Metallionen-Konzentrationen an der Zelloberfläche agieren, indem sie diese aus der Lösung einfangen, wenn deren Konzentrationen gering sind, und als undurchdringliche Barrieren dienen, wenn sie in toxischen Gehalten in der umliegenden Umgebung vorkommen [68].

Zahlreiche Untersuchungen haben ergeben, dass Kapselpolymere bakterielle Zellen vor toxischen Effekten von Metallen schützen [148]. Bakterien, die Exopolysaccharide produzieren, tolerieren höhere Metallkonzentrationen als solche, die nur wenige oder keine Kapseln und Schleime hervorbringen. Die Toleranz ist vermutlich ein Ergebnis der Verringerung der Konzentration an freien Metallionen an der Zelloberfläche, also im Prinzip eine Folge der Metallionen-Komplexierung durch die exopolymeren Moleküle [68].

Da Kapseln anionische Gruppen wie Carboxylgruppen und gelegentlich Phosphat- und Sulfat-Gruppen enthalten können, besitzen die EPS ein Anionen-Austausch-Potential. Die Aminogruppen von Aminozuckern und deren Säuren haben eine begrenzte Kationen-Austausch-Kapazität [149, 150, 151]. Die EPS können sowohl als chelatisierende Agenzien als auch als metallbindende EPS fungieren. Sie immobilisieren Metallionen passiv; sie können lösliche Metallionen binden und unlösliche Metallverbindungen adsorbieren [111].

Die wirksamsten funktionellen Gruppen in sauren Kapsel- und Schleimpolymeren sind die Carboxyl-Reste. Diese bilden bevorzugt Ionenbindungen zu Kationen mit großen Ionenradien aus [68]. Schwache funktionelle Gruppen sind in sauren und neutralen Polysacchariden ebenfalls enthalten, in zwar in Form von Hydroxylgruppen [152]. Die Bindung von Metallionen durch ungeladene Polysaccharide ist eine Folge der Koordination zwischen dem Metall-Kation und der Hydroxylgruppe [153]. Die Affinität von ungeladenen Polysacchariden nimmt normalerweise mit zunehmendem Ionenradius des Metalls ab. Die generelle Metall-Molekül-Wechselwirkung ist eine Säure-Base-Reaktion [68]:

 $M^{n+} + LH \rightarrow M^{n+} - L^{-1} + H^{+}$

Somit konkurrieren Protonen und Metall-Kationen um die Metall-Bindungsstellen, wodurch die Bindungskapazität stark vom pH-Wert abhängt.

Neben dem Einfluss, den Wechselwirkungen zwischen Exopolymeren und Metallionen auf das Überleben der Zellen haben, hat die Bindung von Metallionen durch bakterielles Kapselmaterial auch Auswirkungen auf ökologische und geomechanische Prozesse [68].

2.3. Das Flusssystem der Oder

Die 854,3 km lange Oder gehört zu den sechs größten Flusssystemen Europas und zählt nachweislich zu den Haupteinträgern von Schadstoffen in die Ostsee. Ihr Gesamteinzugsgebiet umfasst 118.861 km². Davon liegen 106.821 km² (89,9 %) in Polen, 6.453 km² (5,4 %) in Tschechien und 5.587 km² (4,7 %) in Deutschland. In diesem Gebiet leben 15,4 Millionen Einwohner. Die Oder entspringt in einer Höhe von 634 m über dem Meeresspiegel am Hang des Fidler-Bergs in den tschechischen Ostsudeten. Die Länge der Oder auf polnischem Gebiet beträgt 741,9 km; auf einer Länge von 178,8 km bildet sie die gemeinsame Staatsgrenze von Deutschland und Polen. Ab Kedzierzyn Kozle ist die Oder schiffbar. Den Binnenwassertransport auf der Oder nehmen vorwiegend die mitteleuropäischen Länder in Anspruch, die keinen direkten Zugang zur Ostsee haben. Im internationalen Transport spielt die Oder jedoch nur eine untergeordnete Rolle [3, 154].

Der durchschnittliche Jahresabfluss der Oder in die Ostsee beträgt 587 m³/s (18,5 Mrd. m^3/a). Das Einzugsgebiet des 808 km langen Hauptnebenflusses Warthe nimmt mit 54.529 km² 46 % des gesamten Odereinzugsgebietes ein. Die Warthe mündet auf polnischer Seite bei Kostrzyn in die Oder [3].

Die Oder lässt sich geomorphologisch betrachtet in drei Abschnitte unterteilen [154]:

- Den Oberlauf (von den Quellen bis Wroclaw)
- Den Mittellauf (von Wroclaw bis zur Mündung der Warthe)
- Den Unterlauf (von der M
 ündung der Warthe bis zur M
 ündung in das Stettiner Haff)

Die im Rahmen dieser Arbeit gezüchteten Biofilme stammen von sechs ausgesuchten Probennahmepunkten aus dem Mittel- und Unterlauf der Oder:

- Wroclaw
- Bystrzyca (Nebenfluss der Oder)
- Brzeg Dolny
- Frankfurt/Oder I und II
- Schwedt

Bei dem Probennahmepunkt Bystrzyca handelt es sich um einen Nebenfluss, welcher kurz hinter Wroclaw in die Oder mündet. Die Probennahmepunkte Frankfurt/Oder I und Frankfurt/Oder II lagen ober- und unterhalb eines Klärwerks. Abbildung 7 beschreibt die geographische Lage der Probennahmepunkte.



Abbildung 7: Probennahmepunkte der Oder

2.4. Das Flusssystem der Elbe

Die Elbe ist mit einer Länge von 1.091 km von der Quelle im Riesengebirge bis zur Mündung in die Nordsee und einem Gesamteinzugsgebiet von 148.268 km² eines der größten Flussgebiete Mitteleuropas. Vom gesamten Einzugsgebiet liegen 96.932 km² (65,4 %) in Deutschland, 50.176 km² (33,8 %) in Tschechien und 0,8 % in Österreich und Polen. In diesem Gebiet leben rund 25 Millionen Einwohner. Die Länge der Elbe auf tschechischem Gebiet beträgt 364 km und auf deutschem Gebiet 727 km, davon liegen an der gemeinsamen Staatsgrenze 3,4 km. Für beide Staaten stellt die Elbe einen bedeutenden Binnenschifffahrtsweg dar [155].

An der deutsch/tschechischen Grenze beträgt der Abfluss im Mittel 314 m³/s (9,9 Mrd. $m^3/a)$, bei der Mündung in die Nordsee liegt der mittlere Abfluss bei 877 m^3/s (27,7 Mrd. $m^3/a)$. Die Einzugsgebiete der drei Hauptnebenflüsse Moldau (28.090 km²), Havel (24.096 km²) und Saale (24.079 km²) ergeben 51,4 % des Gesamteinzugsgebiets [155].

Die Elbe zählt zu den am stärksten verunreinigten Flüssen Europas. Die Schadstoffbelastung begann in den 30er Jahren und erreichte in den 80er Jahren ihren Höhepunkt. Durch die Einleitung weitgehend unbehandelter Abwässer, insbesondere aus den Industriezweigen Zellstoff und Papier, Chemie und Pharmazeutik sowie Metallverarbeitung, wurden der Elbe biochemisch schwer abbaubare organische Verbindungen und Schwermetalle in toxischen Größenordnungen zugeführt. Aus industriellen Tierhaltungen und über diffuse Quellen von übermäßig gedüngten landwirtschaftlichen Flächen wurde die Nährstoffbelastung entscheidend erhöht [4].

Die Elbe lässt sich hydrologisch betrachtet in drei Abschnitte unterteilen [156]:

- Den staugeregelten Oberlauf (von der Quelle bis zum Übergang ins Norddeutsche Flachland bei km 96,0)
- Den freifließenden Mittellauf (vom Schloss Hirschstein bei km 96,0 bis zum Wehr Geesthacht bei km 585,9)
- Den durch die Tide beeinflussten Unterlauf (vom Wehr Geesthacht bei km 585,9 bis zur Seegrenze bei km 727,7)

Die im Rahmen dieser Arbeit gezüchteten Biofilme stammen von vier ausgesuchten Probennahmepunkten aus dem Mittellauf der Elbe:

- Klein Lüben (km 446)
- Wittenberge (km 460)
- Viehle (km 541)
- Tespe (km 580)

Der Probennahmepunkt Wittenberge lag direkt unterhalb der Stadt sowie der Mülldeponie Wittenberge. Abbildung 8 beschreibt die geographische Lage der Probennahmepunkte.



Abbildung 8: Probennahmepunkte der Elbe

2.5. Instrumentelle Analytik der Elementgehalte in Biofilmen

Bei den bisher angewandten Verfahren zur Bestimmung von Metallgehalten in Biofilmen werden diese zunächst auf geeigneten Oberflächen in großen Mengen gezüchtet oder von natürlichen Oberflächen entfernt, getrocknet und aufgeschlossen. Anschließend werden die Metallgehalte mit einer geeigneten elementanalytischen Methode bestimmt und auf die eingewogene Trockenmasse des Biofilms bezogen [16]. Dieses Verfahren ist nicht nur aufwendig, sondern durch die Isolation und Aufarbeitung des Biofilms häufig auch mit Elementverlusten oder Kontaminationen verbunden. Außerdem werden dabei organische Bestandteile des Biofilms zerstört, so dass diese nicht mehr als Bezugsparameter dienen können.

Die Elementanalytik in biologischen Materialien stellt aufgrund der großen Konzentrationsunterschiede zwischen den einzelnen Elementen, die sich bei den Hauptkomponenten im Prozentbereich und bei den nur in Spuren vorhandenen Elementen im ng/g Bereich bewegen, hinsichtlich der methodischen Erfordernisse eine anspruchsvolle Problemstellung dar.

Aufgrund des kontinuierlich steigenden Bedarfs an verlässlichen Daten besteht die Notwendigkeit, in einer großen Menge an Proben möglichst viele Elemente in einem Analysengang mit großer Nachweisstärke zu bestimmen. Hierfür stehen im Prinzip folgende Analysenmethoden zur Verfügung:

- Totalreflexions-Röntgenfluoreszenzanalyse (TRFA)
- Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-MS)
- Atomemissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-AES)
- Neutronenaktivierungsanalyse (NAA)
- Atomabsorptionsspektrometrie (AAS)

Letztere ist allerdings nur eine Einzelelementmethode.

Die TRFA ist als Multielementmethode mit den geringen, von ihr benötigten Probenmengen gut zur Direktmessung von Proben ohne Isolierung und Aufarbeitung des Probenmaterials geeignet. Sie eignet sich besonders gut zur direkten Bestimmung der Elementgehalte in Biofilmen, was Vorversuche aus dem Arbeitskreis bereits bestätigt haben [17]. Die Analysenmethoden der TRFA und ICP-MS werden im folgenden kurz beschrieben.

2.5.1. Röntgenfluoreszenzanalyse

Basis der Röntgenfluoreszenzanalyse ist die Anregung von Atomen einer Probe durch energiereiche, primäre Röntgenstrahlung und die dadurch induzierte Emission von sekundärer Röntgenstrahlung (Röntgenfluoreszenzstrahlung), die für die einzelnen Atome bzw. Elemente der Probe gemäß dem Moseley'schen Gesetz charakteristisch ist [157].

2.5.1.1. Anregungsquellen

Die am häufigsten bei analytischen Arbeiten verwendeten Quellen für Röntgenstrahlen sind die Röntgenröhren. Diese bestehen aus einer Hochvakuumröhre, in der sich eine Glühkathode und eine Metallanode befinden. Aus der Glühkathode werden Elektronen emittiert, die durch eine Gleichspannung beschleunigt werden und auf die Anode treffen. Dort werden sie im elektrischen Feld der Atomkerne des Anodenmaterials schrittweise abgebremst (inelastische Rutherford-Streuung) und geben ihre Energie in verschieden großen Portionen als Röntgenquanten ab, wodurch ein kontinuierliches Bremsspektrum entsteht. Außerdem bewirken die Elektronen eine innere Ionisation der Atome des Anodenmaterials. Bei der Wiederauffüllung der freigewordenen Plätze durch Elektronen aus höheren Schalen werden der Energiedifferenz zwischen diesen Schalen entsprechende, charakteristische Fluoreszenzquanten ausgesandt. Dadurch entsteht ein dem Bremsspektrum überlagertes, für das Anodenmaterial charakteristisches Linienspektrum. Die Intensität der Linien überragt die des Bremsspektrums um zwei bis drei Größenordnungen. Die erzeugten Röntgenstrahlen können die Röhre durch seitlich angeordnete, wenig absorbierende Fenster (z.B. aus Beryllium) verlassen. Als Anodenmaterialien werden meist Wolfram, Molybdän, Rhodium, Kupfer und Chrom verwendet. Um den Anteil der störenden Bremsstrahlung, die einen Großteil des Untergrundes ausmacht, möglichst gering zu halten, wird die Röntgenröhre mit der vierbis fünffachen Anregungsspannung betrieben. Da weniger als 1% der aufgewendeten Leistung in Strahlung umgewandelt wird, wird der Rest als Wärme frei und muss durch Kühlung des Geräts abgeführt werden [157, 158, 159].

Als weitere Anregungsquellen für die Röntgenfluoreszenzanalyse können *Radioisotope* und die *Synchrotronstrahlung* genutzt werden. Zur Erzeugung der Synchrotronstrahlung werden geladene Teilchen, wie z.B. Elektronen oder Positronen relativistischer Geschwindigkeit, durch starke Magnetfelder auf gekrümmte Bahnen abgelenkt, wobei ein Teil der Energie als Synchrotronstrahlung in tangentialer Richtung abgestrahlt wird. Synchrotronstrahlung besitzt als Anregungsquelle viele Vorteile, wie z.B. die sehr hohe Intensität, das weiße Spektrum und den hohen Polarisationsgrad. Die Anwendung erfordert jedoch Speicherringe von Beschleunigern, wie z.B. DORIS oder PETRA [160, 161].

Zur Anregung der Röntgenfluoreszenzstrahlung können daneben auch energiereiche Teilchen (z.B. Elektronen, Protonen und Alphateilchen) verwendet werden. Man spricht dann von *Particle Induced X-Ray Emission Spectroscopy, PIXE* [162]. Die Energie der anregenden Primärstrahlung muss dabei mindestens so groß wie die Bindungsenergie der abzulösenden Elektronen sein.

2.5.1.2. Wechselwirkung von Röntgenstrahlen mit Materie

Die Absorption von Röntgenstrahlung erfolgt exponentiell gemäß dem Lambert-Beerschen Gesetz [158]:

$$\mathbf{I} = \mathbf{I}_0 \cdot \mathbf{e}^{-\mu \cdot \mathbf{d}} \tag{1}$$

 $I_0 = \text{Intensität der einfallenden Strahlung} \qquad \mu = \text{Absorptionskoeffizient} (\mu_{Photo} + \mu_{elast} + \mu_{inelast})$ $I = \text{Intensität der austretenden Strahlung} \qquad d = \text{Schichtdicke}$

Beim Durchgang von Röntgenstrahlung durch Materie können drei voneinander unabhängige Effekte auftreten [158]:

- Photoeffekt
- Elastische Streuung (Rayleigh-Streuung)
- Inelastische Streuung (Compton-Effekt)

Für die Röntgenfluoreszenzanalyse ist der *Photoeffekt* der entscheidende Absorptionsvorgang. Dabei gibt das Röntgenquant seine gesamte Energie in einem Stoß

an ein kernnahes Hüllenelektron ab, welches dadurch aus dem Atom herausgelöst wird. Ist die Energie des Photons größer als zur Ablösung des Elektrons notwendig ist, wird der Überschuss an Energie dem abgelösten Elektron in Form von kinetischer Energie übertragen. Die durch diese Tiefenionisation entstandenen Atomzustände mit unvollständigen inneren Orbitalen befinden sich dann in einem angeregten, höherenergetischen Zustand. Werden die entstandenen Leerstellen durch Elektronen aus äußeren Orbitalen wieder aufgefüllt, wird ein der Energiedifferenz zwischen den beiden Orbitalen entsprechendes Röntgenquant (Fluoreszenzquant) emittiert. Dadurch erscheinen diskrete Intensitätsmaxima (Peaks) im Röntgenspektrum. Der Photoeffekt ist somit die Voraussetzung für die Messung der Fluoreszenz und liefert das zu detektierende, elementspezifische Signal [158].

Die Energie der Fluoreszenzstrahlung ist von der Art des Strahlungsübergangs und der Ordnungszahl des Atoms abhängig. Diesen Zusammenhang beschreibt das Moseley'sche Gesetz [163] :

$$\Delta E = \mathbf{h} \cdot \mathbf{v} = \mathbf{h} \cdot \mathbf{R} \cdot \mathbf{c} \cdot \left(\frac{\mathbf{M}}{\mathbf{M} + \mathbf{m}_{e}}\right) \cdot Z \cdot \left(\frac{1}{\mathbf{n}_{1}^{2}} - \frac{1}{\mathbf{n}_{2}^{2}}\right)$$
(2)

h = Planck'sches Wirkungsquantum	$m_e = Elektronenmasse$
v = Frequenz der Strahlung	Z = Ordnungszahl
R = Rydbergkonstante	n_1 , n_2 = Hauptquantenzahlen ($n_1 \le n_2$)
M = Kernmasse	

Hieraus folgt als Grundlage für das Messprinzip, dass die Wellenlängen der Fluoreszenzstrahlung charakteristisch für das jeweilige Element und weitgehend unabhängig von dessen jeweiligem chemischen Bindungszustand sind. Entsprechend den Energieverhältnissen des Orbitalaufbaus der Elektronenhülle können die möglichen Elektronenübergänge zu Serien zusammengefasst werden. Je nachdem, auf welchem Niveau sich die gefüllte Leerstelle befindet, bezeichnet man die entstehenden Spektrallinien als K-, L- oder M-Linien. Die stärkste Linie innerhalb einer Serie wird als α -Linie bezeichnet, die nächst schwächere als β -Linie usw. [157][158].

Da die Verteilung der relativen Intensitäten der einzelnen Elektronenübergänge zueinander von der Ordnungszahl der Elemente abhängig ist, werden bei quantitativen Elementbestimmungen interne bzw. externe Standards eingesetzt.

In Konkurrenz zur Aussendung eines Fluoreszenzquants steht der *Auger-Effekt*. Dabei wird anstelle eines Röntgenquants ein kernfernes Elektron (Auger-Elektron) emittiert. Der Übergang beim Auffüllen der primären Leerstelle erfolgt nun strahlungslos. Die dabei freiwerdende Energie wird – statt als Röntgenquant aufzutreten – auf das emittierte Auger-Elektron übertragen. Dieser Vorgang kann sich auf höheren Orbitalen wiederholen, so dass Folgen von mehreren Auger-Elektronen aus einer Elektronenhülle austreten können. Die Wahrscheinlichkeit für die Emission eines Röntgenquants wird als Fluoreszenzausbeute bezeichnet. Sie steigt mit zunehmender Ordnungszahl des angeregten Atoms an [157][158].

Neben der photoelektrischen Absorption können die Röntgenquanten an Elektronen der Atomhülle gestreut werden. Die *elastische Streuung* (Rayleigh-Streuung) kommt dadurch zustande, dass die Röntgenquanten an mitschwingenden Elektronen gestreut werden. Dabei verlieren die Röntgenquanten keine Energie, sondern ändern nur ihre Richtung. Die Intensität dieser Streustrahlung steigt mit dem Quadrat der Ordnungszahl des Elements. Bei der *inelastischen Streuung* (Compton-Streuung) hingegen gibt das Röntgenquant beim Stoß mit einem Hüllenelektron einen Teil seiner Energie an dieses ab. Da die verbleibende Energie des Röntgenquants nach dem Stoß geringer ist, erfährt die Strahlung eine Verschiebung zu niedrigeren Frequenzen bzw. zu höheren Wellenlängen. Der Absorptionskoeffizient $\mu_{inelast}$ nimmt mit steigender Photonenenergie stetig ab und ist proportional zur Ordnungszahl.

Die Rayleigh-Streuung nimmt analog dem Photoeffekt zu höheren Energien stark ab. Der Compton-Effekt tritt dagegen erst bei höheren Energien auf. Beide Streuprozesse sind Ursache für den störenden Untergrund bei der Röntgenfluoreszenzanalyse und heben damit die Nachweisgrenze an [157][158][160].

2.5.1.3. Prinzip der Röntgenfluoreszenzanalyse mit totalreflektierendem Probenträger (TRFA, TXRF)

Die Totalreflexions-Röntgenfluoreszenzanalyse (TRFA) ist ein Spezialfall der energiedispersiven Röntgenfluoreszenzanalyse. Bei ihr werden infolge des streifenden Einfalls der anregenden Strahlung und einer speziellen Probenpräparation eine Reduktion des Untergrunds und damit bessere Nachweisgrenzen erreicht. Besonders hervorzuheben ist die Tatsache, dass es sich bei der TRFA um eine zerstörungsfreie Methode handelt und das Probenmaterial nach der Messung noch für andere Untersuchungen zur Verfügung steht.

Das Prinzip der TRFA wurde 1971 erstmals von Yoneda und Horiuchi [164] angewendet. Sie stellten fest, dass der spektrale Untergrund vom Probenträger erheblich reduziert wird, wenn die Primärstrahlung an diesem Träger totalreflektiert wird.

Totalreflexion tritt dann auf, wenn Röntgenstrahlen aus Luft oder Vakuum unter einem sehr flachen Winkel auf ein optisch dünneres Medium mit sehr glatter und ebener Oberfläche treffen. Da der Brechungsindex von Röntgenstrahlen etwas kleiner ist als eins, ist für sie jedes Medium optisch dünner als das Vakuum. Der Grenzwinkel der Totalreflexion lässt sich nach dem Snellius'schen Gesetz berechnen [157]:

$$\Phi_T = \sqrt{2} \cdot \delta \tag{3}$$

 Φ_T = Grenzwinkel der Totalreflexion δ = Dekrement (Abweichung des Brechungsindex von 1)

Unterhalb des Grenzwinkels der Totalreflexion steigt der Reflexionsgrad auf 100 % an, während die Eindringtiefe in die Oberfläche gleichzeitig stark abfällt [157]. Oberhalb des Grenzwinkels tritt keine Reflexion auf und die Primärstrahlung dringt in den Reflektor ein.

Als Reflektor für die Totalreflexion dient der Probenträger, welcher im allgemeinen aus Quarzglas besteht. Silicium, Germanium, Glaskohlenstoff oder Plexiglas können jedoch ebenfalls verwendet werden [165, 166]. Wichtig hierbei ist, dass das Material sehr rein ist und die Oberflächen optische Qualität haben. Für Mo-K_{α}-Strahlung, die meistens als Primärstrahlung dient, beträgt der Grenzwinkel der Totalreflexion an Quarzglas $\Phi_{\rm T} = 5,9$ und an Plexiglas $\Phi_{\rm T} = 4,5$ Bogenminuten [157].

Der Grenzwinkel der Totalreflexion hängt nicht nur von den Materialeigenschaften des Reflektors, sondern auch von der Energie der Röntgenstrahlung ab. Um für Photonen bis zu 60 keV eine Totalreflexion zu erreichen, werden Grenzwinkel von 1 bis 2 Bogenminuten benötigt, was nur schwer zu realisieren ist. Daher eliminiert man den höherenergetischen Anteil des Primärstrahls mit Tiefpassfiltern (10 bis 100 µm dünne Metall-Folien bzw. Reflektoren, die auf Totalreflexion beruhen) und arbeitet dann bei Grenzwinkeln von 4 bis 10 Bogenminuten [157].

Bei den Reflektoren wird die Strahlung totalreflektiert, sofern die Photonenenergie kleiner ist, als es dem Grenzwinkel nach Gleichung (3) entspricht. Höherenergetische Strahlung dringt in das Reflektormaterial ein und wird dort absorbiert. Bei Anregung mit einer Mo-Röhre wird das Tiefpassfilter gewöhnlich auf 20 keV eingestellt, bei Verwendung einer W-Röhre auf etwa 45 keV. Neuere Geräte verwenden anstelle eines Tiefpassfilters einen Multilayer [157].

Da bei Totalreflexion nur wenig Primärstrahlung in den Probenträger eindringt, wird dieser nur geringfügig angeregt. Dadurch werden sowohl die Rayleigh- als auch die Compton-Streuung der Primärstrahlung minimiert. Die Rayleigh-Streuung wird auch dadurch reduziert, dass die Probe nur in sehr dünner, amorpher Schicht auf den Träger aufgebracht wird. Ein weiterer Vorteil ergibt sich aus der Verdopplung der Fluoreszenzintensität, da die Probe sowohl durch den einfallenden als auch durch den reflektierten Primärstrahl zur Fluoreszenz angeregt wird. Daher resultiert ein niedriger spektraler Untergrund und ein besseres Signal/Untergrund-Verhältnis [165].

Die entstehende Sekundärstrahlung wird direkt oberhalb der Probe (ca. 1 mm Abstand) unter einem Winkel von 90° von einem Si(Li)-Detektor erfasst und in einem Vielkanalanalysator registriert [157]. Abbildung 9 zeigt den schematischen Aufbau der TRFA.



Abbildung 9: Prinzip der Totalreflexions-Röntgenfluoreszenzanalyse [157]

Bei der energiedispersiven Detektion mit dem Si(Li)-Detektor treten jedoch drei Störeffekte auf [157]:

- Bildung von Summenpeaks: Diese entstehen, wenn zwei Photonen etwa gleichzeitig eintreffen, so dass der Detektor nur ein Photon anzeigt, dieses aber mit der Summe der Einzelenergien.
- Bildung von Escape-Peaks: Diese entstehen, wenn die eintretenden Photonen das Silicium zu charakteristischer Strahlung anregen. Dabei verlieren die Photonen einen Teil ihrer Energie und werden daher auf der energieärmeren Seite des Element-Peaks um 1,74 keV versetzt angezeigt.
- Totzeit des Detektors: Diese entsteht durch den schrittweisen Ausgleich des Ladungsabfalls während des Eintreffens der Photonen. Diese Totzeit, während der der Detektor keine weiteren Photonen detektieren kann, beträgt wenige µs und wird bei der Messung durch automatische Messzeitverlängerung ausgeglichen.

Die Kalibrierung der Energieachse der TRFA erfolgt in regelmäßigen Intervallen während der Analysen durch Messen einer Standardsubstanz (FLS-Standard), wie z.B. einer Selen-Standardlösung, auf deren Spektrum mit Fluoreszenzlinien bekannter Energie im Verlauf der Auswertung zurückgegriffen wird. Mit Hilfe der bekannten Energie des Kalibrierungselements und des im Vielkanalanalysator belegten Kanals wird eine Energiekalibrierung der Kanalzahlen durchgeführt.

Die Quantifizierung erfolgt üblicherweise durch Zugabe eines Standardelements in definierter Menge zu der Probe, auf welches dann als interner Standard bezogen wird. Da verschiedene Elemente unterschiedliche Fluoreszenzempfindlichkeiten besitzen, können die ermittelten Peakflächen nicht direkt miteinander verglichen werden. Daher wird bei der Gerätekalibrierung für jedes Element unter identischen Messbedingungen mittels einer Einzelelementstandardlösung ein Profilspektrum aufgenommen. Aus diesen Spektren werden über die Peakflächen bei bekannter Konzentration der einzelnen Elemente die Fluoreszenzempfindlichkeitsfaktoren relativ zu einem Standardelement berechnet. Diese Faktoren setzen die gemessene Zählrate oder Peakfläche eines beliebigen Elements in Relation zu der eines in der gleichen Lösung enthaltenen Bezugselements. Der Wert für das Bezugselement wird dabei definitionsgemäß gleich 1 gesetzt. Aus den ermittelten Peakflächen der jeweiligen Elemente einer Probe können

daher mit Hilfe dieser Fluoreszenzempfindlichkeitsfaktoren die absoluten Elementkonzentrationen berechnet werden. Dies ist möglich, da bei einer sehr dünnen Probenschicht keine Matrixeffekte auftreten und folglich lineare Kalibrierfunktionen resultieren. Hierfür gilt die folgende Gleichung [157]:

$$\mathbf{c}_{a} = \left(\frac{\mathbf{N}_{a}}{\mathbf{N}_{i}}\right) \cdot \left(\frac{\mathbf{S}_{i}}{\mathbf{S}_{a}}\right) \cdot \mathbf{c}_{i}$$
(4)

c = Konzentrationa = AnalysenelementN = Intensitäti = internes StandardelementS = relative Empfindlichkeit

Die relativen Empfindlichkeiten der TRFA für den Nachweis durch K- und L-Linien nach Anregung mittels einer Mo- und einer W-Röntgenröhre sind in Abhängigkeit von der Ordnungszahl in Abbildung 10 dargestellt. In bestimmten Bereichen verhalten sich die Empfindlichkeiten der einzelnen Elemente linear zueinander.



Abbildung 10: Relative Empfindlichkeiten der TRFA für den Nachweis durch K- und L-Linien nach Mo- bzw. W-Anregung [157].

Um alle Elemente mit einer Ordnungszahl ≥ 11 bestimmen zu können, werden zwei verschiedene Röntgenröhren (z.B. eine Mo- und eine W-Röhre) nacheinander eingesetzt. Die Mo-Röhre eignet sich besonders für den Nachweis der Elemente mit

Ordnungszahlen zwischen 25 und 40 sowie oberhalb von 60, die W-Röhre für Elemente mit Ordnungszahlen kleiner 25 sowie zwischen 40 und 65 [157]. Dabei muss jedoch berücksichtigt werden, dass die Intensitäten bei der W-Anregung nur einem Fünftel der Intensitäten bei der Mo-Anregung entsprechen, so dass die Messzeit bei der W-Anregung fünfmal so lang ist wie bei der Mo-Anregung.

Das Nachweisvermögen der TRFA lässt sich auf zwei verschiedene Arten ermitteln. Die Berechnung der Nachweisgrenze nach Giauque [199] erfolgt nach Gleichung 5.

$$NG = \frac{m}{p} \cdot 3 \cdot \sqrt{\frac{b}{t}}$$
(5)

NG: Nachweisgrenze [pg]	b: Untergrundzählrate [counts]
m: Masse der Probe [pg]	t: Messzeit [s]
p: Peakfläche [counts]	

Die Berechnung der Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze nach DIN 32645 [198] erfolgt nach Gleichung 6 bis 8.

$$NG = \frac{s_{y}}{m} \cdot t_{1} \cdot \sqrt{\frac{1}{\hat{n}} + \frac{1}{n} + \frac{\bar{x}^{2}}{\sum (x_{i} - \bar{x})^{2}}}$$
(6)

$$EG = 2 \cdot NG \tag{7}$$

$$BG = k \cdot \frac{s_y}{m} \cdot t_2 \cdot \sqrt{\frac{1}{\hat{n}} + \frac{1}{n} + \frac{(k \cdot NG - \bar{x})^2}{\sum (x_i - \bar{x})^2}}$$
(8)

$$s_{y} = \sqrt{\frac{\sum [y_{i} - (m \cdot x_{i} + b)]^{2}}{n - 2}}$$
(9)

- NG: Nachweisgrenze n: Anzahl der Kalibrierlösungen
- EG: Erfassungsgrenze \hat{n} : Anzahl der Parallelmessungen
- BG: Bestimmungsgrenze y_i: Signalwert

 x_i : Konzentrationswert \overline{x} : Mittelwert des Arbeitsbereichesm: Steigung der Geradenb: Ordinatenabschnitt t_1 : t-Wert (einseitige Fragestellung, f = n - 2, P = 95 %) t_2 : t-Wert (zweiseitige Fragestellung, f = n - 2, P = 95 %)k: Faktor, empfohlen 3 (entspricht 33,33 % Fehlerunsicherheit) s_y : Reststandardabweichung (nach Gleichung 9)

Abbildung 11 zeigt die absoluten Nachweisgrenzen der TRFA in Abhängigkeit von der Ordnungszahl bei Auftragung von wässrigen Lösungen und Mo- bzw. W-Anregung.



Abbildung 11: Absolute Nachweisgrenzen in pg für die TRFA von Rückständen wässriger Lösungen (a = Anregung durch W-Bremsstrahlung, b = Anregung durch Mo-K-Strahlung) [157].

Die Nachweisgrenzen der TRFA liegen für die meisten Elemente unter 1 μ g/L bzw. 50 pg absolut bei Auftragung von Lösungen. Allerdings überwiegt bei Elementen mit einer Ordnungszahl \leq 20 der Auger-Effekt, so dass die Fluoreszenzausbeute für diese Elemente sehr gering ist (siehe Abbildung 10), was eine Verschlechterung der Nachweisgrenzen zur Folge hat. Des weiteren treten wegen der relativ geringen spektralen Auflösung bei etlichen Elementen Linienüberlappungen auf [157].

2.5.2. Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma als Ionenquelle (ICP-MS)

Die ICP-Massenspektrometrie ist heute als eine der leistungsfähigsten analytischen Techniken für die Multielementbestimmung von Elementspuren anzusehen. Bei dieser Methode wird aus der zu analysierenden Probe mit Hilfe eines Zerstäubers ein Aerosol erzeugt. Dieses wird einem induktiv gekoppelten Hochfrequenzplasma (ICP) zugeführt, welches die Probensubstanz ionisiert. Die erzeugten Ionen werden mit Hilfe einer Apertur aus dem Plasma extrahiert und in einen Zwischenraum gebracht, in dem ein Druck von wenigen Millibar herrscht. Durch eine zweite Apertur gelangen die Ionen in das Hochvakuum eines Massenspektrometers, wo sie unter Verwendung elektrischer und magnetischer Felder aufgrund ihres Masse-Ladungs-Verhältnisses getrennt und detektiert werden [167].

2.5.2.1. Aufbau und Funktionsweise der ICP-MS

Für die ICP-MS stehen eine Reihe verschiedenartiger Probenzuführungssysteme zur Verfügung [168]. Am weitesten verbreitet ist der konventionelle *pneumatische Zerstäuber*, welchen es in verschiedenen technischen Ausführungen gibt. Beispiele sind der aus Glas gefertigte Meinhard-Zerstäuber, der Knierohrzerstäuber, der Babington-Zerstäuber und der Fritte-Zerstäuber. Diesen Zerstäubern ist immer eine peristaltische Pumpe vorgeschaltet, um dem Zerstäuber eine konstante Probenmenge pro Zeiteinheit zuzuführen. Es wird bei Förderraten von 1 – 2 mL/min und einem Aerosolgasstrom von 0,5 bis 1,5 L/min gearbeitet [169, 170]. Neben der kontinuierlichen pneumatischen Zerstäubung von wässrigen Proben können auch eine Reihe anderer Probenzuführungstechniken, wie der *Ultraschallzerstäuber* [171, 172, 173], das *FIAS (Flow Injection Analysis System)* [174, 175, 176, 177, 178, 179], die *ETV (elektrothermale Verdampfung* [180], die *Laserverdampfung* [181, 182, 183, 184, 185] und die *direkte Feststoff-einführung* [186, 187] eingesetzt werden.

Die Plasma-Flamme ist die Basis der Ionenerzeugung. Ein Hochfrequenzgenerator (1-100 MHz) induziert in einer Spule ein Magnetfeld, welches Elektronen auf eine Kreisbahn beschleunigt. Diese beschleunigten Elektronen stoßen mit den Atomen des in einem Quarzrohrsystem fließenden Plasmagases (gewöhnlich Argon) zusammen, wodurch dieses angeregt und ionisiert wird [167]:

 $Ar + e^{-} \rightarrow Ar^{+} + 2 e^{-}$ $Ar + e^{-} \rightarrow Ar^{m} + e^{-}$

Ar^m ist ein metastabiles Argonatom (Energie: 11,7 eV) mit einer langen Lebensdauer.

Diesen Prozessen zufolge entsteht ein heißes Plasma, in dem eine Elektronentemperatur oberhalb 5000 K [188] und eine kinetische Temperatur der Gasatome von mindestens 4000 K [189] herrschen.

Nach der Zerstäubung der Probe wird das erzeugte Aerosol mit Hilfe eines Trägergasstromes zentral durch das induktiv gekoppelte Hochfrequenzplasma (ICP) hindurchgeführt, so dass das anwesende Probenmaterial mit hoher Effizienz getrocknet, dissoziiert, atomisiert, angeregt und ionisiert wird [167].

Anregung und Ionisierung werden durch Zusammenstöße zwischen Analytatomen und hochenergetischen Elektronen, Argonionen oder Argonmetastabilen (Penning-Effekt) verursacht. Folgende Prozesse spielen eine Rolle [167]:

 $M + e^{-} \rightarrow M^{+} + 2e^{-}$ $M + Ar^{+} \rightarrow M^{+} + Ar$ $M + Ar^{m} \rightarrow M^{+} + Ar + e^{-}$ $M + \text{Energie} \rightarrow M^{*}_{\text{Rhydberg}} \rightarrow M^{+} + e^{-}$

Neben dem ICP wurden auch *Gleichstromplasmen* und *Mikrowellenplasmen* entwickelt, welche ebenfalls zur Anregung nasser Aerosole – wie sie bei pneumatischen Zerstäubern gebildet werden – oder von trockenen Aerosolen und Dämpfen eingesetzt werden können [190].

Die unter Atmosphärendruck im Plasma gebildeten Ionen werden dann über ein Interface in das unter Hochvakuum ($< 10^{-5}$ mbar) stehende Massenspektrometer extrahiert. Dieses Interface besteht aus zwei hintereinander angeordneten, konusförmigen Lochblenden mit einem Lochdurchmesser von 0,3 bis 1 mm, die meist

aus Nickel oder Platin gefertigt sind (Sampler und Skimmer). Der Druck im Zwischenraum wird durch eine Diffusionspumpe und eine Ölrotationspumpe auf wenige Millibar verringert. Der durch den Sampler durchgelassene Plasmastrahl expandiert in dem Zwischenraum. Aus ihm wird mit Hilfe des Skimmers ein Teil abgesondert und ins Massenspektrometer geleitet. Das Vakuum im Massenspektrometer wird mit Hilfe einer Kryopumpe aufrecht erhalten [167].

Als Massenspektrometer werden vorwiegend Quadrupolfilter mit einer Auflösung von 1-3 Dalton eingesetzt. Hinter dem Skimmer befinden sich mehrere Ionenlinsen und eine Blende zum Abfangen der UV-Strahlung und der neutralen Teilchen ("Beam-stop"). Durch Änderung der an den Linsen angelegten Spannungen kann zum einen die Transmission des Spektrometers und zum anderen die Massenauflösung für ein Ion, das mit einer bestimmten Energie in das Spektrometer gelangt, optimiert werden [167].

Ein Quadrupolfilter besteht aus vier äquidistant und parallel angeordneten Stäben (\emptyset 10-12 mm), an die ein Gleichspannungsfeld und zusätzlich ein Hochfrequenzfeld (Frequenz: bis zu 1 MHz) angelegt werden. Über die Spannung an den Ionenlinsen, an der Blende und eventuell auch an dem Gehäuse des Quadrupols können die Auflösung und die Transmission sowie deren Abhängigkeit von der Masse optimiert werden. Ändert man das Quadrupolfeld, verändert sich die Transmission des Spektrometers für eine bestimmte Ionenart. So kann eine bestimmte Masse manuell eingestellt und ein bestimmter Massenbereich rechnergesteuert abgefahren werden [167]. Als Massenspektrometer können auch Sektorfeldgeräte mit einer Auflösung < 0,1 Dalton bzw. Flugzeitspektrometer eingesetzt werden, diese sind jedoch sehr viel teurer [169].

In Abbildung 12 ist der schematische Aufbau eines Massenspektromers dargestellt.



Abbildung 12: Schematischer Aufbau eines ICP-Quadrupol-Massenspektrometers [167]

2.5.2.2. Nachweisvermögen und Interferenzen

Die Nachweisgrenzen der ICP-MS lassen sich nach DIN 32645 (Gleichung 6, Kapitel 2.5.1.3.) berechnen und liegen für die meisten Elemente zwischen 0,01 und 0,1 μ g/L bei Einzelelementoptimierung. Bei Verwendung von Multielementstandardlösungen sind die Nachweisgrenzen entsprechend höher [167].

Im Zwischenraum zwischen Sampler und Skimmer bewegen sich die Teilchen im Plasmastrahl mit hoher Geschwindigkeit, daher kommt es zu Zusammenstößen und Reaktionen dieser hochenergetischen Ionen, Atome, Radikale und Moleküle. Diese führen zur Bildung sogenannter Klusterionen, welche aufgrund der niedrigen Auflösung von Quadrupolmassenspektrometern im Massenbereich unterhalb von 80 Dalton spektrale Interferenzen verursachen. Diese schränken das Nachweisvermögen für die leichteren Elemente ein. Weiterhin können im Zwischenraum Glimmentladungen auftreten, wodurch der Anteil an doppelt geladenen Ionen zunehmen kann [167].

Die Bildung von Klusterionen hat verschiedene Ursachen [167]:

• Lösungsmittel und die darin enthaltenen Säuren: H^+ , OH^+ , H_2O^+ , H_3O^+ , NO_2^+ , CI^+ , CIO^+ , CIN^+ , SO_2^+ , SO_3H^+ , ...

- Gase aus der umgebenden Atmosphäre:
 O₂⁺, CO⁺, CO₂⁺, N₂⁺, NH⁺, NO⁺, ...
- Reaktionsprodukte mit Argon:
 ArO⁺, ArH⁺, ArOH⁺, ArOH₂⁺, ArCl⁺, ArNH⁺, Ar₂⁺, ...
- Reaktionsprodukte mit Analytatomen:
 MO⁺, MCl⁺, MN⁺, MOH⁺, MOH₂⁺, ...

Tabelle 4 zeigt einige Beispiele solcher Interferenzen mit Klusterionen [169, 191, 192, 193, 194].

Masse	Element	Störende Klusterionen
31	Р	¹⁵ N ¹⁶ O
32	S	¹⁶ O ¹⁶ O
34	S	$^{16}O^{18}O, ^{16}O^{17}O^{1}H$
44	Ca	$^{28}\text{Si}^{16}\text{O}, ^{12}\text{C}^{16}\text{O}^{16}\text{O}$
51	V	³⁵ Cl ¹⁶ O, ³⁷ Cl ¹⁴ N
52	Cr	40 Ar ¹² C, 36 Ar ¹⁶ O, 36 S ¹⁶ O, 35 Cl ¹⁶ O ¹ H
53	Cr	$^{40}\text{Ar}^{12}\text{C}^{1}\text{H}, ^{37}\text{Cl}^{16}\text{O}$
54	Fe bzw. Cr	$^{40}\text{Ar}^{14}\text{N}, ^{37}\text{Cl}^{16}\text{O}^{1}\text{H}$
55	Mn	$^{40}\text{Ar}^{14}\text{N}^{1}\text{H}, ^{40}\text{Ar}^{15}\text{N}$
56	Fe	⁴⁰ Ar ¹⁶ O, ⁴⁰ Ca ¹⁶ O
57	Fe	$^{40}\text{Ar}^{16}\text{O}^{1}\text{H}$
58	Ni bzw. Fe	⁴² Ca ¹⁶ O, ⁴⁰ Ca ¹⁸ O, ⁴⁰ Ar ¹⁸ O
59	Co	$^{43}Ca^{16}O, ^{42}Ca^{16}O^{1}H$
60	Ni	⁴⁴ Ca ¹⁶ O, ⁴³ Ca ¹⁶ O ¹ H
63	Cu	$^{40}\mathrm{Ar}^{23}\mathrm{Na}$
64	Zn bzw. Ni	³² S ³² S, ³² S ¹⁶ O ¹⁶ O, ⁴⁰ Ar ¹² C ¹² C, ⁴⁸ Ti ¹⁶ O
65	Cu	${}^{32}\mathrm{S}^{16}\mathrm{O}^{16}\mathrm{O}^{1}\overline{\mathrm{H}}, {}^{33}\mathrm{S}^{16}\mathrm{O}^{16}\mathrm{O}, {}^{32}\mathrm{S}^{33}\mathrm{S}$
66	Zn	$^{32}S^{34}S, ^{34}S^{\overline{16}O^{16}O}$
67	Zn	³⁵ Cl ¹⁶ O ¹⁶ O
68	Zn	40 Ar ¹⁴ N ¹⁴ N, 32 S ³⁶ S, 36 S ¹⁶ O ¹⁶ O
69	Ga	³⁷ Cl ¹⁶ O ¹⁶ O
71	Ga	³⁶ Ar ³⁵ Cl
75	As	⁴⁰ Ar ³⁵ Cl, ³⁸ Ar ³⁷ Cl, ⁵⁹ Co ¹⁶ O

Tabelle 4: Spektrale Interferenzen bei ICP-MS-Messungen

Im niedrigeren Massenbereich findet man neben den einfach geladenen Ionen der leichteren Elemente auch doppelt geladene Ionen der schwereren Elemente. Diese treten besonders für Elemente mit relativ niedrigem Ionisierungspotential auf [167].

2.5.3. Vergleich von TRFA und ICP-MS

Verglichen mit den Nachweisgrenzen der TRFA, welche für die meisten Elemente unter 1 μ g/L liegen, ist die ICP-MS um den Faktor 10 bis 100 nachweisstärker. Ihre Nachweisgrenzen liegen für die meisten Elemente zwischen 0,01 und 0,1 μ g/L. Dabei hat die ICP-MS jedoch einen wesentlich höheren Probenverbrauch, so dass ihre absoluten Nachweisgrenzen zwischen 0,1 und 1 ng liegen, während die TRFA absolute Nachweisgrenzen von 50 pg erreicht.

Der für diese Arbeit entscheidende Vorteil der TRFA liegt neben dem geringen Probenverbrauch jedoch vor allem in der Möglichkeit der Direktmessung von auf dem Probenträger gezüchteten Proben, so dass deren Isolierung und Aufarbeitung vermieden wird. Dies ließe sich bei der ICP-MS nur durch zusätzliches Vorschalten einer anderen Probenzuführungstechnik erreichen.

2.6. Statistische Methoden zur Beurteilung analytischer Ergebnisse

Analysenergebnisse können grundsätzlich mit zwei Arten von Fehlern behaftet sein, mit Zufallsfehlern und mit systematischen Fehlern [195].

- *Zufallsfehler* sind ungerichtet. Die Werte einer Analysenserie streuen trotz konstant gehaltener Versuchsbedingungen regellos um den wahren Wert. Zufallsfehler sind bei allen Messungen unvermeidlich, sie machen ein Analysenergebnis unsicher.
- Systematische Fehler beeinflussen alle Messwerte in stets gleichem Sinne nach einer Richtung. Dabei liegt der wahre Wert außerhalb des Schwankungsbereichs. Systematische Fehler machen ein Analysenergebnis somit falsch.

Zu den Aufgaben des Analytikers gehört es daher, systematische Fehler auf experimentellem Wege zu suchen und dauerhaft zu eliminieren, sowie den auftretenden Zufallsfehler mit Hilfe statistischer Methoden zu beschreiben.

2.6.1. Mittelwerte und Fehlerangaben

Bei sehr häufiger Wiederholung einer Analyse (Anzahl der Messungen $n \rightarrow \infty$) liefert die Darstellung der Messwerte x_i in Abhängigkeit von ihrer Häufigkeit in vielen Fällen eine Gauß- bzw. Normalverteilung. Das Kurvenmaximum ergibt sich aus dem arithmetischen Mittel \overline{x} aller Messwerte [196] :

$$\overline{\mathbf{x}} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^{n} \mathbf{x}_{i}$$
(10)

Bei einer genügend großen Anzahl von Messungen stellt dieses eine gute Näherung für den wahren Mittelwert μ dar. Die einzelnen Messwerte einer Häufigkeitsverteilung streuen mehr oder weniger stark um den Mittelwert. Als Maß für die Abweichung des Mittelwerts vom wahren Wert wird daher bei Vorliegen einer Gaußverteilung der Messwerte die Standardabweichung s angegeben. Sie entspricht dem Abstand der beiden Wendepunkte (Halbwertsbreite) der zugrundeliegenden Verteilung [196]:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n} (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$
(11)

In dem Intervall $\bar{x} \pm s$ liegen 68,3 % aller Messwerte. Das Quadrat der Standardabweichung (s²) wird als Varianz bezeichnet [196].

Die Gaußverteilung gilt jedoch nur für den Fall einer sehr großen Zahl von Messwerten. Da in der analytischen Praxis üblicherweise nur sehr wenige Messwerte zur Verfügung stehen ($n \le 6$), wird die Häufigkeitsverteilung einer kleinen Stichprobe genauer durch die t-Verteilung angegeben. Die Häufigkeitsmaxima von Gauß- und t-Verteilung liegen bei dem gleichen Abszissenwert. Im Gegensatz zur Normalverteilung sind jedoch bei der t-Verteilung Höhe und Breite der Verteilungskurve abhängig vom Freiheitsgrad f. Dieser entspricht der Anzahl der Kontrollmessungen, die das aus einer Messung bereits gewonnene Ergebnis bestätigen; also f = n - 1. Der Kurvenverlauf der t-Verteilung ist daher umso flacher, je kleiner der Stichprobenumfang ist, wobei die Halbwertsbreite gleich bleibt. Für $f \rightarrow \infty$ geht die t-Verteilung in die Normalverteilung über [196]. Als exakteres Maß für die Streuung kleiner Stichproben wird daher das Vertrauensintervall $\Delta \overline{x}$ des Mittelwertes \overline{x} angegeben, das die Integralgrenzen der t-Verteilung bei gegebenem Stichprobenumfang n und einer statistischen Sicherheit P einbezieht [196]:

$$\Delta \bar{\mathbf{x}} = \frac{\mathbf{t}(\mathbf{P}, f) \cdot \mathbf{s}}{\sqrt{\mathbf{n}}} \tag{12}$$

Das Vertrauensintervall gibt an, mit welcher Wahrscheinlichkeit P Fehler der berechneten Größe Δx zu erwarten sind. Es ist größer als die Standardabweichung s bei der Gaußverteilung, da die t-Verteilung breiter verläuft.

P stellt die Wahrscheinlichkeit dafür dar, dass ein Messwert im Bereich der angegebenen Integrationsgrenzen liegt. Die Wahl von P ist eine Angelegenheit der gegenseitigen Übereinkunft. Im allgemeinen wird in der Analytik P = 0,95 verwendet [196].

Die benötigten Werte für t(P,f) können Tabellenwerken [196, 197, 198] entnommen werden.

Der Gesamtfehler eines Analysenverfahrens setzt sich meist aus mehreren Teilfehlern zusammen und lässt sich nach den Gesetzen der Fehlerfortpflanzung ermitteln. Bei der Bildung von Summen oder Differenzen addieren sich die zugehörigen Varianzen der Absolutfehler, bei der Bildung von Produkten oder Quotienten die der Relativfehler [196]:

Mathematische VerknüpfungGesamtfehler
$$y = x_1 + x_2$$
 $y = x_1 - x_2$ $\sigma_y = \sqrt{s_{x_1}^2 + s_{x_2}^2}$ (13) $y = x_1 \cdot x_2$ $y = x_1/x_2$ $\sigma_y = y \cdot \sqrt{\left(\frac{s_{x_1}}{x_1}\right)^2 + \left(\frac{s_{x_2}}{x_2}\right)^2}$ (14)

Der resultierende Fehler σ ist größer als die jeweiligen Einzelfehler.

2.6.2. Statistische Prüfmethoden

Sollen zwei Messreihen zusammengefasst werden, so wird zunächst mittels F- und t-Test überprüft, ob die Varianzen und die Mittelwerte statistisch ununterscheidbar sind. Bei mehr als zwei Messreihen erfolgt die Überprüfung mittels Bartlett-Test und einfacher Varianzanalyse.

Vergleich zweier Standardabweichungen mit dem F-Test

Mit Hilfe des Varianzen-F-Tests wird überprüft, ob sich zwei aus unabhängigen Datenreihen erhaltene Schätzwerte von Standardabweichungen signifikant voneinander unterscheiden. Zum Vergleich der beiden Standardabweichungen s_1 und s_2 mit den Freiheitsgraden f_1 und f_2 bildet man das Verhältnis ihrer Varianzen [198]:

$$F = \frac{s_1^2}{s_2^2} \qquad (\text{mit } s_1^2 > s_2^2) \tag{15}$$

Sind die beiden Standardabweichungen durch die gleiche Varianz der Grundgesamtheit vorgegeben, so folgt der Quotient ihrer Varianzen einer F-Verteilung. Den Wert F stellt man einem theoretisch abgeleiteten und tabellierten Prüfwert F(P, f_1 , f_2) gegenüber. Liegt der Unterschied zwischen s₁ und s₂ im Rahmen der möglichen Zufallsschwankungen, so ergibt sich F < F(P, f_1 , f_2). Überschreitet der Wert F jedoch den Prüfwert F(P, f_1 , f_2), so besteht zwischen den Varianzen s₁² und s₂² (und somit auch zwischen den Standardabweichungen s₁ und s₂) ein signifikanter Unterschied, und der t-Test darf nicht angewendet werden [198].

Vergleich mehrerer Standardabweichungen mit dem Bartlett-Test

Sollen mehr als zwei Messreihen miteinander verglichen werden, so ist der F-Test ungeeignet und es muss der Bartlett-Test angewendet werden. Hierzu wird der Wert χ^2 nach folgender Gleichung berechnet [196]:

$$\chi^{2} = 2,303 \cdot \left(f_{g} \lg s^{2} - \sum f_{j} \lg s_{j}^{2} \right)$$
(16)

 $f_{\rm g}$: Zahl aller Freiheitsgrade

f_j: Zahl der Freiheitsgrade der j-ten Messreihe

s_j: Standardabweichung der j-ten Messreihe

m: Anzahl der Messreihen

$$s = \sqrt{\frac{\sum s_j^2}{m}}$$
(17)

Den berechneten Wert χ^2 stellt man dem tabellierten Prüfwert $\chi^2(P, f)$ mit f = m - 1 gegenüber. Die Bewertung erfolgt analog zum Varianzen-F-Test.

Vergleich zweier Mittelwerte mit dem t-Test

Mit Hilfe des Mittelwert-t-Tests wird überprüft, ob sich zwei aus unabhängigen Messreihen erhaltene Mittelwerte $\overline{x_1}$ und $\overline{x_2}$ mit n_1 und n_2 Werten signifikant voneinander unterscheiden. Ergibt der F-Test keinen signifikanten Unterschied zwischen den Standardabweichungen s_1 und s_2 , so können die beiden Mittelwerte $\overline{x_1}$ und $\overline{x_2}$ zusätzlich mit Hilfe des t-Tests miteinander verglichen werden. Hierzu berechnet man den Wert t nach folgender Gleichung [198]:

$$t = \frac{\left|\overline{x_1} - \overline{x_2}\right|}{s} \cdot \sqrt{\frac{n_1 \cdot n_2}{n_1 + n_2}}$$
(18)

mit

$$s = \sqrt{\frac{s_1^2 (n_1 - 1) + s_2^2 (n_2 - 1)}{n_1 + n_2 - 2}}$$
(19)

Den berechneten Wert t stellt man dem tabellierten Prüfwert t(P, f) mit $f = n_1 + n_2 - 2$ gegenüber. Ist der Unterschied zwischen \overline{x}_1 und \overline{x}_2 auf zufällige Schwankungen zurückzuführen, so ergibt sich t < t(P, f), und die beiden Mittelwerte können zusammengefasst werden. Überschreitet der Wert t jedoch den Prüfwert t(P, f), so besteht zwischen den beiden Mittelwerten \overline{x}_1 und \overline{x}_2 ein signifikanter Unterschied [198].

Ist zu überprüfen, ob zwischen einem ermittelten Mittelwert von Analysenergebnissen und einem vorgegebenen Sollwert x_{soll} ein signifikanter Unterschied besteht, so wird der Prüfwert τ nach folgender Gleichung berechnet [198]:

$$\tau = \frac{\left|\bar{x} - x_{soll}\right|}{s} \sqrt{n} \tag{20}$$

Den berechneten Wert τ stellt man dem tabellierten Prüfwert t(P, f) mit f = n - 1 gegenüber. Ist der errechnete Prüfwert τ kleiner als t(P, f), so besteht zwischen dem experimentell ermittelten Mittelwerten und dem Sollwert kein signifikanter Unterschied [198].

Einfache Varianzanalyse

Sollen mehr als zwei Messreihen miteinander verglichen werden, so ist der t-Test ungeeignet und es muss die einfache Varianzanalyse angewendet werden. Zur Überprüfung der Hypothese, ob die Mittelwerte der voneinander unabhängigen Messreihen einer gemeinsamen Grundgesamtheit angehören, wird die Gesamtstreuung der Messwerte in einen Anteil der Streuung innerhalb der Messreihen s_W (Wiederholstandardabweichung) und einen Anteil der Streuung zwischen den Messreihen s_V (Vergleichsstandardabweichung) aufgespalten. Voraussetzung ist wie beim t-Test die Varianzhomogenität, die sich mit Hilfe des Bartlett-Tests überprüfen lässt. Die benötigten Varianzen der Wiederhol- und der Vergleichsstandardabweichung werden nach folgendem Schema berechnet [196]:

Streuursache	Varianz	
Streuung zwischen den m Gruppen	$s_V^2 = \frac{\sum n_i \cdot \left(\overline{x_i} - \overline{x}\right)^2}{m - 1}$	(21)
Streuung innerhalb der Gruppen	$s_W^2 = \frac{\sum s_i^2}{m}$	(22)

n_i: Zahl der Parallelbestimmungen

 $\overline{x_i}$: Mittelwert der i-ten Messreihe

x: Mittelwert aller Messwerte

m: Anzahl der Messreihen

s_i: Standardabweichung der i-ten Gruppe

Die Wiederhol- und die Vergleichsstandardabweichung werden anschließend mittels Varianzen-F-Test miteinander verglichen:

$$F = \frac{s_V^2}{s_W^2} \tag{23}$$

Den berechneten Wert F stellt man dem tabellierten Prüfwert F(P, f_1 , f_2) mit $f_1 = m - 1$ und $f_2 = n - m$ gegenüber. Ergibt der Vergleich, dass F < F(P, f_1 , f_2), so gehören die Messreihen einer Grundgesamtheit mit einem gemeinsamen Mittelwert an. Die Messreihen können dann zu einer zusammengefasst werden [196].

2.6.3. Multiple lineare Korrelationen

Die multiple lineare Korrelationsanalyse ist ein multivariates, statistisches Verfahren, mit dem die Abhängigkeit mehrerer zufälliger Variablen untersucht wird. Zur zahlenmäßigen Charakterisierung des Zusammenhangs dient der Korrelationskoeffizient r [196].

$$r = \frac{\sum \left[(x_i - \overline{x}) \cdot (y_i - \overline{y}) \right]}{\sqrt{\sum (x_i - \overline{x})^2} \cdot \sum (y_i - \overline{y})^2}$$
(24)

Der Korrelationskoeffizient nimmt Werte zwischen +1 und –1 an. Werte von r, die dem Betrag nach nahe an 1 liegen, deuten eine hohe Korrelation an. Bei r = 0 besteht keine Korrelation. Der Korrelationskoeffizient wird stets auf seine Abweichung von Null geprüft, wobei die Signifikanz einer Korrelation von der Anzahl n der Beobachtungen und dem betrachteten Signifikanzniveau abhängt. Dazu wird der Betrag des berechneten Korrelationskoeffizienten einem tabellierten Prüfwert r(P, *f*) mit *f* = n – 2 gegenübergestellt. Eine Korrelation gilt als erwiesen, wenn $|\mathbf{r}| > r(\mathbf{P}, f)$ [196].

3. Bestimmung von Schwermetallen in Biofilmen und Entwicklung neuartiger Bezugsgrößen mit Hilfe der TRFA

Herkömmliche Untersuchungsmethoden hinsichtlich der Metallaufnahme von Biofilmen beinhalten deren Isolation und Aufarbeitung, welche häufig mit Elementverlusten oder Kontaminationen verbunden sind. Außerdem werden dabei die organischen Bestandteile des Biofilms zerstört, so dass diese nicht mehr als Bezugsparameter für die ermittelten Elementgehalte dienen können. Die allgemein übliche Verwendung der Trockenmasse als Bezugsparameter ist jedoch problematisch, da Biofilme hygroskopisch sind.

Ziel dieser Arbeit ist die Entwicklung eines Verfahrens zur direkten Analyse von Biofilmen mit Hilfe der Totalreflexions-Röntgenfluoreszenzanalyse einschließlich der Züchtung der Biofilme in Flussläufen. Da bislang keine zuverlässigen Bezugsparameter für die Quantifizierung der Metallgehalte zur Verfügung stehen, sollen im Rahmen der Verfahrensentwicklung geeignete Parameter und Methoden zu deren Bestimmung gefunden werden. Das Konzept des geplanten Analysenverfahrens ist in Abbildung 13 dargestellt.



Abbildung 13: Strategie des Analysenverfahrens

3.1. Züchtung der Biofilme

Ein zentrales Problem bei der Analyse von Biofilmen ist der Transfer des Probenguts von der Wachstumsunterlage in die Analysengerätschaft. Bei Einsatz der TRFA als Schwermetallbestimmungsmethode bietet es sich daher an, die Biofilme direkt auf den Probenträgern zu züchten. Dabei muss aber ihr Wachstum auf den Bereich des Probenträgers begrenzt werden, der bei der Messung vom TRFA-Detektor erfasst wird. Dies ließ sich durch Abdecken des Probenträgers mit einer Folie realisieren, welche den vom Detektor zu erfassenden Bereich freilässt. Die Folie durfte sich einerseits während der Züchtung des Biofilms nicht ablösen und musste andererseits anschließend rückstandsfrei zu entfernen sein. Als vorteilhaft erwiesen sich Perspex[®]-Probenträger, welche aus Plexiglas bestehen und beidseitig mit einer Polyethylen-Schutzfolie überzogen sind. Diese Folie haftet elektrostatisch an der Perspex[®]-Platte und kann daher problemlos entfernt werden. Während der mikrobiellen Belegung wurde sie durch die Strömung nicht abgelöst. Ein weiterer Vorteil der Perspex[®]-Probenträger besteht darin. dass sie mitsamt der Schutzfolie durch UV-Strahlung keimfrei gemacht werden können. Aus einer handelsüblichen Perspex[®]-Platte wurden Probenträger mit einem Durchmesser von 30 mm und einer Dicke von 3 mm hergestellt. In diese Probenträger wurde anschließend am Rand ein Loch von 1,5 mm Durchmesser gebohrt. Zur Züchtung der Biofilme wurde auf einer Seite der Perspex[®]-Probenträger in der Mitte mittels eines Korkbohrers ein Loch von 8 mm Durchmesser in die Schutzfolie gestanzt. Anschließend wurden die Probenträger so auf einer Polypropylen-Schnur aufgefädelt, dass sie in der Mitte nicht zusammenstießen, und durch UV-Strahlung sterilisiert.

Die Züchtung der Biofilme erfolgte von Juni bis Oktober 2000 an sechs ausgewählten Standorten in der Oder bzw. von Juni bis Oktober 2001 an vier ausgewählten Standorten in der Elbe. Hierzu wurden die auf der Polypropylen-Schnur aufgefädelten Perspex[®]-Probenträger in beschwerte PE-Kästen direkt in die Oder bzw. die Elbe gehängt und jeweils sechs Probenträger mit Biofilmbewuchs in regelmäßigen Zeitabständen (zunächst nach zwei, anschließend dreimal nach jeweils fünf Wochen) entnommen, am Rand mit einem fusselfreien Tuch abgewischt und eingefroren. Abbildung 14 und 15 zeigen die Anordnung der Probenträger im PE-Kasten.


Abbildung 14: Anordnung der TRFA-Probenträger im PE-Kasten



Abbildung 15: PE-Kasten mit TRFA-Probenträgern

Nach Entnahme der letzten Probenträger wurden alle Biofilme gemeinsam getrocknet, gewogen und nach Zugabe eines internen Standards mit der TRFA gemessen.

Die Züchtung der Biofilme unmittelbar auf den TRFA-Probenträgern konnte erfolgreich durchgeführt werden. Die Schutzfolie der Perspex[®]-Probenträger löste sich in der Strömung des Flusses nicht ab und begrenzte das mikrobielle Wachstum auf den bei der Messung vom Detektor erfassten Bereich. Nach der Trocknung der Biofilme ließ sich die Folie problemlos von den Probenträgern entfernen.

3.2. Analytik der Elementgehalte in Biofilmen mit Hilfe der TRFA

Die anschließende Bestimmung der Elementakkumulation in den direkt auf den TRFA-Probenträgern gezüchteten Biofilmen mit Hilfe der Totalreflexions-Röntgenfluoreszenzanalyse erwies sich als analytisches Neuland und erforderte diverse analytische Basischarakterisierungen und Neuentwicklungen.

3.2.1. Überprüfung von Richtigkeit und Reproduzierbarkeit der TRFA

Um sicherzustellen, dass die TRFA richtige und reproduzierbare Ergebnisse liefert, wurde zunächst das Standardreferenzwasser NIST 1640 des National Institute of Standards and Technology ohne weitere Probenaufbereitung mit der TRFA gemessen. Vor der Messung wurde ein Teil davon abgenommen und mit einer Galliumnitrat-Standardlösung versetzt.

Tabelle 5 zeigt die Ergebnisse der Analyse sowie die des t-Sollwerttests, der zum Vergleich mit den zertifizierten Konzentrationen durchgeführt wurde.

Tabelle 5: Vergleich der TRFA-Analysenergebnisse mit den zertifizierten Werten des Standardreferenzwassers NIST 1640. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95 und n = 4 dar).

Element	Konzentra	t-Sollwerttest	
	TRFA	Zertifizierte Daten	τ*
Al	49,31± 2,73	$52,00 \pm 1,50$	3,13
K	922 ± 90	994 ± 27	2,52
Ca	7316 ± 280	$7045\pm$ 89	3,08
V	$13,36\pm 0,68$	$12,99 \pm 0,37$	1,73
Cr	39,6± 1,2	$38,6\pm 1,6$	2,65
Mn	121,9± 3,0	121,5± 1,1	0,37
Fe	$35,46\pm 5,05$	$34,30 \pm 1,60$	0,73
Со	21,79± 1,69	$20,28 \pm 0,31$	2,82
Ni	$28,23 \pm 1,40$	$27,40 \pm 0,80$	1,89
Cu	86,81± 2,84	85,20± 1,20	1,81
Zn	54,38± 1,55	$53,20 \pm 1,10$	2,42
As	$30,21 \pm 3,64$	26,67± 0,41	3,09
Rb	2,17± 0,17	$2,00 \pm 0,02$	3,04
Sr	$128,9\pm 4,7$	$124,2\pm 0,7$	3,18
Ba	$150,8\pm 4,4$	$148,0\pm 2,2$	2,00
Pb	$30,52 \pm 3,67$	$27,89 \pm 0,14$	2,28

* Prüfgröße τ zu vergleichen mit t(f=3; P=0,95) = 3,182

Es zeigt sich, dass die ermittelten Werte der Prüfgröße τ kleiner sind als der in Tabellen [196, 197, 198] angegebene Prüfwert. Demnach lieferte die TRFA Ergebnisse, die mit den zertifizierten Gehalten auf dem vorausgesetzten statistischen Niveau von 95 % übereinstimmten. Die Schwankungsbreiten betrugen zwischen 2 und 14 %, das heißt die Reproduzierbarkeit war ebenfalls gut.

3.2.2. Überprüfung der Blindwertbelastung der Perspex[®]-Probenträger

Um sicherzustellen, dass die Perspex[®]-Probenträger nicht zu stark mit den zu untersuchenden Elementen belastet sind, wurden mehrere leere Probenträger mit einer Galliumnitrat-Standardlösung versehen und mit der TRFA gemessen. In Abbildung 16 ist ein typisches Spektrum eines leeren Probenträgers dargestellt.



Abbildung 16: TRFA-Spektrum eines leeren Perspex[®]-Probenträgers

Die Perspex[®]-Probenträger sind kaum mit den zu untersuchenden Elementen belastet. Eine Auswertung mehrerer Probenträger ist in Tabelle 6 dargestellt.

Da bei der Präparation der Perspex[®]-Probenträger ein aus Messing bestehender Korkbohrer verwendet wurde, um ein Loch in die Schutzfolie zu stanzen, bestand die Möglichkeit der Kontamination des Probenträgers mit den im Korkbohrer enthaltenen Metallen. Daher wurden mehrere so behandelte Perspex[®]-Probenträger mit einer Galliumnitrat-Standardlösung versehen und mit der TRFA gemessen. Eine Auswertung mehrerer Probenträger ist in Tabelle 6 dargestellt.

Tabelle 6: Blindwertbelastung und Metall-Kontamination durch Präparation der Perspex[®]-Probenträger. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95 und n = 8 dar).

Element	Blindwert	Metall-Kontamination nach
	[ng absolut]	Präparation [ng absolut]
Al	< NG (4,21)	< NG (4,21)
Si	< NG (3,10)	< NG (3,10)
Р	< NG (26,6)	< NG (26,6)
S	$2,68 \pm 0,20$	$5,92 \pm 1,15$
K	$0,82 \pm 0,22$	$3,93 \pm 0,72$
Ca	$0,76 \pm 0,13$	$3,83 \pm 0,59$
Ti	< NG (0,28)	$1,46 \pm 0,55$
V	< NG (0,23)	< NG (0,23)
Cr	$0,13 \pm 0,01$	$0,58 \pm 0,06$
Mn	< NG (0,04)	$0,64 \pm 0,16$
Fe	$0,53 \pm 0,08$	$3,01 \pm 0,62$
Со	< NG (0,05)	< NG (0,05)
Ni	$0,37 \pm 0,09$	$0,70 \pm 0,21$
Cu	< NG (0,04)	$2,02 \pm 0,77$
Zn	$1,10 \pm 0,22$	$2,79 \pm 0,84$
As	< NG (0,09)	< NG (0,09)
Rb	< NG (0,03)	< NG (0,03)
Sr	< NG (0,10)	< NG (0,10)
Y	< NG (0,05)	< NG (0,05)
Ba	< NG (0,04)	< NG (0,04)
W	< NG (0,06)	< NG (0,06)
Hg	< NG (0,06)	< NG (0,06)
Tl	< NG (0,03)	< NG (0,03)
Pb	< NG (0,10)	$0,58 \pm 0,07$
Bi	< NG (0,06)	< NG (0,06)
Th	< NG (0,07)	< NG (0,07)
U	< NG (0,09)	< NG (0,09)

Die gemessenen Werte zeigen, dass die Perspex[®]-Probenträger geringe Mengen an Schwefel, Kalium, Calcium, Chrom, Eisen, Nickel und Zink enthalten. Dies deckt sich mit den in der Literatur beschriebenen Erkenntnissen [166]. Weiterhin zeigte sich, dass die Probenträger durch den Abrieb beim Ausstanzen der Schutzfolie mittels Korkbohrer geringfügig mit Kupfer, Titan, Mangan und Blei kontaminiert wurden. Außerdem erhöhten sich nach dieser Präparation die Werte für Schwefel, Kalium, Calcium, Chrom, Eisen, Nickel und Zink etwas. Diese Belastung der Probenträger ist für die in dieser Arbeit durchgeführten Untersuchungen jedoch nicht von Bedeutung, da sich bei der Untersuchung der Biofilme herausstellte, dass die Elementakkumulationen deutlich höher waren als die Blindwertbelastungen der Perspex[®]-Platten (siehe Kapitel 3.7). Daher wurden sie vernachlässigt.

3.2.3. Überprüfung des Winkels der Probenkippung

Wie in Kapitel 2 bereits erwähnt, ist der Grenzwinkel der Totalreflexion vom Material des Probenträgers abhängig. Für Mo-K $_{\alpha}$ -Strahlung beträgt er an Plexiglas 4,5 und an Quarzglas 5,9 Bogenminuten. Daher wurde zunächst der Winkel der Probenkippung optimiert. Ein mit Biofilm belegter Perspex[®]-Probenträger wurde sowohl bei einer Probenkippung von 1 mrad, als auch bei einer Probenkippung von 1,37 mrad gemessen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 7 dargestellt.

Tabelle 7: Elementakkumulationen im Biofilm, gemessen bei unterschiedlichen Probenkippungen. (Die angegebenen Schwankungsbreiten sind die Zählratenfehler der Einzelmessungen für P = 0,68).

Element	Masse(Element) _{absolut} [ng]		
	Probenkippung	Probenkippung	
	1 mrad	1,37 mrad	
Al	$14579,890 \pm 231,432$	$14522,664 \pm 230,806$	
Si	$47233,995 \pm 458,560$	$47274,559 \pm 458,169$	
Р	$301,508 \pm 21,112$	$321,\!645\pm29,\!440$	
S	$520,694 \pm 9,797$	$508,373 \pm 9,921$	
Κ	$3213,005 \pm 30,610$	$3208,662 \pm 30,497$	
Ca	$1411,635 \pm 13,714$	$1409,726 \pm 13,665$	
Ti	$830,902 \pm 8,224$	$829,778 \pm 8,195$	
V	$21,218 \pm 1,081$	$21,189 \pm 1,079$	
Cr	$25,262 \pm 0,634$	$25,227 \pm 0,633$	
Mn	$231,427 \pm 2,370$	$231,113 \pm 2,362$	
Fe	$7968,467 \pm 74,222$	$7957,707 \pm 73,939$	
Со	$13,984 \pm 1,003$	$13,972 \pm 1,002$	
Ni	$11,528 \pm 0,270$	$11,515 \pm 0,270$	
Cu	$6,204 \pm 0,177$	$6,190 \pm 0,176$	
Zn	$117,370 \pm 1,177$	$117,153 \pm 1,171$	
As	$3,687 \pm 0,254$	$3,646 \pm 0,252$	
Rb	$24,957 \pm 0,333$	$24,939 \pm 0,333$	
Sr	$25,589 \pm 0,308$	$25,558 \pm 0,307$	
Y	$9,214 \pm 0,237$	$9,202 \pm 0,237$	
Ba	$156,094 \pm 4,884$	$155,884 \pm 4,877$	
W	$2,453 \pm 0,461$	$2,569 \pm 0,442$	
Hg	< NG (0,23)	< NG (0,23)	
T1	< NG (0,13)	< NG (0,13)	
Pb	$11,532 \pm 0,417$	$11,564 \pm 0,415$	
Bi	$0,597 \pm 0,154$	0,611±0,153	
Th	$1,890 \pm 0,349$	$1,912 \pm 0,348$	
U	$1,301 \pm 0,407$	$1,301 \pm 0,404$	

Die gemessenen Werte sind, unabhängig vom Winkel der Probenkippung, annähernd gleich. Daher wurde im folgenden mit einer Probenkippung von 1 mrad gemessen.

3.2.4. Bestimmung der Elementgehalte in Biofilmen

Vor der Messung wurden die auf den Probenträgern befindlichen Biofilme 48 Stunden bei 60 °C im Trockenschrank getrocknet. Nach beiderseitigem Entfernen der Schutzfolien vom Probenträger wurden sie zur Bestimmung der Trockenmasse durch Differenzwägung auf der Mikrowaage gewogen. Anschließend wurde eine genau definierte Menge einer Galliumnitrat-Standardlösung auf die Mitte des Biofilms gegeben, im Ölpumpenvakuum eingeengt und der Biofilm gemessen. Abbildung 17 zeigt ein Fließschema des eingesetzten Verfahrens.



Abbildung 17: Fließschema des Verfahrens zur Direktbestimmung von Elementgehalten in Biofilmen mittels TRFA

Cadmium wurde mittels W-Anregung, alle anderen Elemente mittels Mo-Anregung bestimmt. Abbildung 18 und 19 zeigen je ein typisches TRFA-Spektrum eines Biofilms, aufgenommen mit Mo- bzw. W-Anregung. Als Standardelement wurde jeweils Gallium verwendet.



Abbildung 18: TRFA-Spektrum eines Biofilms, aufgenommen mit Mo-Anregung



Abbildung 19: TRFA-Spektrum eines Biofilms, aufgenommen mit W-Anregung

Das mittels Mo-Anregung aufgenommene TRFA-Spektrum eines Biofilms zeigt ein sehr gutes Signal/Untergrund-Verhältnis, die einzelnen Peaks sind klar abgrenzbar. Selbst im unteren Energiebereich, in welchem die Elemente mit niedriger Ordnungszahl und daher geringer Fluoreszenzausbeute liegen, lassen sich die Peaks von Aluminium (1,5 keV), Silicium (1,7 keV), Phosphor (2,0 keV) und Schwefel (2,3 keV) klar voneinander und vom spektralen Untergrund unterscheiden. Dies eröffnet eventuell die Möglichkeit, die Elemente Schwefel und Phosphor während der TRFA-Messung mittels Mo-Anregung mit zu erfassen und anschließend als Bezugsparameter für die Metallakkumulation in den Biofilmen zu verwenden. Im höheren Energiebereich wird die Anwendungsmöglichkeit durch die Mo-Strahlung begrenzt, so dass nur Elemente mit einer Ordnungszahl \leq 40 bestimmt werden können.

Im Gegensatz dazu zeigt das mittels W-Anregung aufgenommene TRFA-Spektrum eines Biofilms zwischen 0 und 6 keV einen deutlich höheren spektralen Untergrund, welcher durch die niederenergetische W-Strahlung entsteht, so dass die Bestimmung von Elementen mit einer Ordnungszahl ≤ 20 kaum möglich ist. Im höheren Energiebereich können jedoch Elemente bis zu einer Ordnungszahl von 65 bestimmt werden, so dass bei Anwesenheit von Cadmium auch dieses mit erfasst werden kann. Abbildung 19 zeigt jedoch, dass der Cadmium-Peak in dem dargestellten Biofilm nur sehr klein und daher nicht auswertbar ist.

3.2.5. Nachweisgrenzen

Die nach Giauque [199] und DIN 32645 [198] mittels Multielementstandardlösungen experimentell ermittelten physikalischen Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen (Nachweisvermögen) der TRFA sowie diejenigen für das TRFA-Verfahren für Biofilme sind in Tabelle 8 und 9 dargestellt.

Tabelle 8: Physikalische Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen der TRFAnach Giauque [199] und DIN 32645 [198]

Element	Nachweisgrenzen	Nachweisgrenzen	Erfassungsgrenzen	Bestimmungsgrenzen
	nach Giauque	nach DIN 32645	nach DIN 32645	nach DIN 32645
	[ng]	[ng]	[ng]	[ng]
Al	4,18	4,21	8,42	18,5
Si	3,16	3,10	6,21	11,6
Р	27,4	26,6	53,1	75,3
S	11,2	10,7	21,4	38,0
K	0,34	0,31	0,62	1,08
Ca	0,18	0,21	0,41	0,73
Ti	0,25	0,28	0,55	0,96
V	0,19	0,23	0,46	0,85
Cr	0,09	0,08	0,15	0,27
Mn	0,03	0,04	0,09	0,17
Fe	0,06	0,06	0,11	0,21
Co	0,04	0,05	0,10	0,18
Ni	0,04	0,05	0,09	0,18
Cu	0,04	0,04	0,08	0,15
Zn	0,04	0,05	0,10	0,18
As	0,08	0,09	0,17	0,31
Rb	0,04	0,03	0,07	0,12
Sr	0,08	0,10	0,21	0,39
Y	0,06	0,05	0,09	0,18
Cd	0,11	0,13	0,26	0,46
Ba	0,06	0,04	0,09	0,16
W	0,05	0,06	0,12	0,21
Hg	0,07	0,06	0,11	0,20
T1	0,04	0,03	0,06	0,12
Pb	0,09	0,10	0,20	0,38
Bi	0,07	0,06	0,12	0,22
Th	0,08	0,07	0,13	0,25
U	0,12	0,09	0,18	0,32

Tabelle 9: Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen des TRFA-Verfahrens fürBiofilme nach Giauque [199] und DIN 32645 [198]

Element	Nachweisgrenzen	Nachweisgrenzen	Erfassungsgrenzen	Bestimmungsgrenzen
	nach Giauque	nach DIN 32645	nach DIN 32645	nach DIN 32645
	[ng]	[ng]	[ng]	[ng]
Al	18,2	17,5	35,1	77,3
Si	12,3	12,9	25,9	48,5
Р	104	111	221	314
S	41,3	44,6	89,3	159
K	0,93	0,99	1,98	3,45
Ca	0,92	0,86	1,73	3,02
Ti	1,04	0,95	1,89	3,30
V	0,64	0,68	1,35	2,41
Cr	0,34	0,36	0,71	1,30
Mn	0,11	0,13	0,27	0,50
Fe	0,27	0,24	0,48	0,89
Co	0,13	0,14	0,28	0,51
Ni	0,20	0,17	0,34	0,64
Cu	0,16	0,17	0,33	0,62
Zn	0,18	0,21	0,41	0,76
As	0,38	0,33	0,67	1,20
Rb	0,12	0,14	0,28	0,52
Sr	0,26	0,23	0,47	0,87
Y	0,18	0,20	0,39	0,73
Cd	0,46	0,45	0,91	1,65
Ba	0,21	0,18	0,36	0,67
W	0,27	0,24	0,48	0,88
Hg	0,25	0,23	0,46	0,84
T1	0,11	0,13	0,26	0,49
Pb	0,36	0,33	0,67	1,17
Bi	0,22	0,25	0,49	0,91
Th	0,25	0,28	0,56	1,03
U	0,35	0,31	0,62	1,11

Die Nachweisgrenzen eines Analysenverfahrens hängen in entscheidendem Maße von der Probenzusammensetzung ab. Hohe Matrixanteile in der Probe neben sehr niedrigen Schwermetallkonzentrationen führen zu einer Verschlechterung der Nachweisgrenzen. Daher sind die rein physikalischen Nachweisgrenzen des Analysenprinzips in der Regel geringer als die des eingesetzten Gesamtverfahrens, welche die durch die Probennahme und Probenvorbereitung verursachten Einschränkungen mit erfassen. Die Nachweisgrenzen des TRFA-Verfahrens für die Analyse von Biofilmen lagen in Abhängigkeit vom jeweiligen Element zwischen 0,11 und 111 ng absolut pro Biofilm. Die nach Giauque [199] und DIN 32645 [198] bestimmten Nachweisgrenzen der TRFA unterschieden sich je nach Element um bis zu 20 %, das heißt, es besteht eine gute Übereinstimmung zwischen beiden Bestimmungsmethoden.

3.3. Referenzmethoden

Als Referenzmethode für die Direktmessung der Biofilme mittels TRFA wurde nach Isolierung und Aufschluss der Biofilme die ICP-Massenspektrometrie eingesetzt. Als weitere Referenzmethoden kamen die ICP-AES für die Bestimmung der Gehalte an Schwefel und Phosphor sowie die AAS zur Bestimmung der Konzentrationen an Chrom zum Einsatz. Abbildung 20 zeigt ein Fließschema des eingesetzten Verbundverfahrens.



Abbildung 20: Teil des Verbundverfahrens für die Validierung der direkten Biofilmanalysen

3.3.1. Überprüfung von Richtigkeit und Reproduzierbarkeit der ICP-MS-Analysen

Um die Richtigkeit und Reproduzierbarkeit der durchzuführenden Analysen sicherzustellen, wurde das Standardreferenzwasser NIST 1640 des National Institute of Standards and Technology um den Faktor zehn verdünnt, mit einer Rhodiumchlorid-Standardlösung versetzt und mit der ICP-MS gemessen. Bei der Auswertung wurden aufgrund der in Kapitel 2.5.2.2 erwähnten Interferenzen einige Korrekturen nach [200] vorgenommen. Diese sind in Tabelle 10 dargestellt.

Element	Masse	Korrektur
Ti	47	-0,089645 * Ca 44
V	51	-0,001 * Cl 35
Fe	54	-0,028226 * Cr 52
Fe	57	-0,05 * Ca 43
Ni	58	-0,003053 * Fe 56
Со	59	-0,002 * Ca 43
Ni	60	-0,01 * Ca 43
Zn	68	-0,035313 * Ni 60
As	75	-3,127 * Masse 77 + 1,033 * Masse 78
As	75	-3,127 * Masse 77 + 2,54 * Se 82
U	235	U 235 + U 238

Tabelle 10: Korrekturen von Störungen bei den ICP-MS-Messungen [200]

Tabelle 11 zeigt die Ergebnisse der Analyse sowie die des t-Sollwerttests, der zum Vergleich mit den zertifizierten Konzentrationen durchgeführt wurde.

Tabelle 11: Vergleich der ICP-MS-Analysenergebnisse mit den zertifizierten Werten des Standardreferenzwassers NIST 1640. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95 und n = 4 dar).

Element	Konzentra	t-Sollwerttest	
	ICP-MS	Zertifizierte Daten	τ*
Al	52,19± 3,18	$52,00 \pm 1,50$	0,19
K	950 ± 47	994 ± 27	2,98
Ca	7223 ± 211	$7045\pm$ 89	2,69
V	12,69± 1,81	$12,99 \pm 0,37$	0,53
Cr	$52,3\pm 11,9$	$38,6\pm 1,6$	3,68
Mn	119,4± 2,5	121,5± 1,1	2,72
Fe	$33,07 \pm 2,73$	$34,30 \pm 1,60$	1,43
Со	$20,75 \pm 0,78$	$20,28 \pm 0,31$	1,91
Ni	26,07± 3,03	$27,40 \pm 0,80$	1,39
Cu	83,68± 2,97	85,20± 1,20	1,63
Zn	$55,30 \pm 3,00$	$53,20 \pm 1,10$	2,22
As	$26,49 \pm 6,19$	$26,67 \pm 0,41$	0,09
Rb	$2,07 \pm 0,09$	$2,00 \pm 0,02$	2,39
Sr	$127,7\pm 5,8$	$124,2\pm 0,7$	1,94
Ba	147,1± 3,5	$148,0\pm 2,2$	0,81
Pb	27,88± 1,23	$27,89 \pm 0,14$	0,04

* Prüfgröße τ zu vergleichen mit t(f=3; P=0,95) = 3,182

Die ermittelten Werte der Prüfgröße τ sind kleiner als der in Tabellen [196, 197, 198] angegebene Prüfwert. Demnach lieferte die ICP-MS Ergebnisse, die mit den zertifizierten Gehalten auf dem vorausgesetzten statistischen Niveau von 95 % übereinstimmten. Eine Ausnahme bildete die Bestimmung von Chrom mittels ICP-MS. Hier konnte jedoch die AAS eingesetzt werden, wie Tabelle 12 zeigt. Die Schwankungsbreiten betrugen zwischen 2 und 14 %, das heißt die Reproduzierbarkeit war ebenfalls gut.

Tabelle 12: Vergleich der AAS-Analysenergebnisse mit den zertifizierten Werten des Standardreferenzwassers NIST 1640. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95 und n = 4 dar).

Element	Konzentration [µg/L]		t-Sollwerttest
	AAS	Zertifizierte Daten	τ*
Cr	$38,4\pm$ 0,7	$38,6\pm$ 1,6	0,69

* Prüfgröße τ zu vergleichen mit t(f=3; P=0,95) = 3,182

Weiterhin wurde ein Vergleich der Analysenmethoden TRFA und ICP-MS bzw. AAS mittels F- und t-Test durchgeführt. Die Ergebnisse zeigen Tabelle 13 und 14.

Tabelle 13: Vergleich der Ergebnisse von TRFA und ICP-MS für das Standardreferenzwasser NIST 1640 anhand von F- und t-Test. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95 und n = 4 dar).

Element	Konzentration [µg/L]		Prüfg	rößen
	TRFA	ICP-MS	F-Test ¹⁾	t-Test ²⁾
Al	49,31± 2,73	52,19± 3,18	0,74	2,18
K	922,3± 90,5	950,3± 46,6	3,76	0,87
Ca	$7316\pm$ 280	7223 ± 211	1,76	0,84
V	$13,36\pm 0,68$	$12,69 \pm 1,81$	7,13	1,10
Cr	$39,59 \pm 1,19$	$52,33 \pm 11,88$	99,87	3,39
Mn	$121,9\pm 3,0$	$119,4\pm\ 2,5$	0,69	2,03
Fe	$35,46\pm 5,05$	33,07± 2,73	3,42	1,32
Со	21,79± 1,69	$20,75 \pm 0,78$	4,68	1,76
Ni	$28,23 \pm 1,40$	26,07± 3,03	4,72	2,06
Cu	86,81± 2,84	83,68± 2,97	1,10	2,43
Zn	54,38± 1,55	$55,30 \pm 3,00$	3,72	0,86
As	$30,21\pm 3,64$	$26,49 \pm 6,19$	0,35	1,65
Rb	2,166± 0,174	$2,068 \pm 0,091$	3,67	1,59
Sr	$128,9\pm 4,7$	$127,7\pm 5,8$	1,52	0,49
Ba	$150,8\pm 4,4$	$147,1\pm 3,5$	1,60	2,07
Pb	$30,52\pm 3,67$	27,88± 1,23	8,88	2,17

1) Prüfgröße zu vergleichen mit $F(f_1=3; f_2=3; P=0,95) = 9,28$

2) Prüfgröße zu vergleichen mit t(f=6; P=0.95) = 2.447

Tabelle 14: Vergleich der Ergebnisse für Chrom von TRFA und AAS für das Standardreferenzwasser NIST 1640 anhand von F- und t-Test. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95 und n = 4 dar).

Element	Konzentration [µg/L]		Prüfg	rößen
	TRFA	AAS	F-Test ¹⁾	t-Test ²⁾
Cr	$39,59 \pm 1,19$	38,36± 1,11	1,16	2,41

1) Prüfgröße zu vergleichen mit $F(f_1=3; f_2=3; P=0.95) = 9.28$

2) Prüfgröße zu vergleichen mit t(f=6; P=0.95) = 2.447

Ein Vergleich der Methoden zeigt, dass die ermittelten Werte der Prüfgrößen F und t kleiner sind als die in Tabellen [196, 197, 198] angegebenen Werte. Somit traten mit 95 prozentiger Aussagesicherheit keine signifikanten Unterschiede zwischen den Ergebnissen der verschiedenen Methoden auf. Eine Ausnahme bildete auch hier die Bestimmung von Chrom mittels ICP-MS. Hier konnte jedoch, wie oben bereits erwähnt, ein Einsatz der AAS erfolgen, wie Tabelle 14 zeigt.

3.3.2. Ablösung der Biofilme

Zum Ablösen der Biofilme wurde ein für die Dithiocarbamatmethode [201] vorgesehenes Teflon-Probengestell verwendet. In diese Vorrichtung werden zentrisch um eine Teflonschraube sechs TRFA-Probenträger zwischen zwei Teflon-Scheiben eingespannt. Zwischen Deckel und Probenträger wird je ein PE-Schlauchstück befestigt. Danach wird die Schraube gedreht, bis die Probenträger fest eingespannt sind. Das PE-Schlauchstück umschließt den Biofilm, welcher durch ein Loch im Teflon-Oberteil erreicht werden kann. Dieser Aufbau ist schematisch in Abbildung 21 dargestellt.



Abbildung 21: Teflon-Probengestell zum Ablösen der Biofilme von den Probenträgern mittels Ultraschallsonde.

Die Ablösung der Biofilme von den Probenträgern erfolgte mittels einer Ultraschall-Mikrosonde. Die 6 mm-Kegelspitze der Ultraschallsonde passt genau in die Öffnungen des Teflon-Oberteils und bedeckt fast die gesamte Oberfläche des Biofilms. Durch die Öffnungen wurden mehrmals je 400 μL Nanopur-Wasser auf die Biofilme gegeben und mit der Ultraschallsonde beschallt. Nach jedem Arbeitsgang wurden die Lösungen abpipettiert und gesammelt. Durch dreimalige Wiederholung dieses Vorgangs wurden die Biofilme quantitativ abgelöst.

3.3.3. Überprüfung der Blindwertbelastung durch die Ultraschall-Mikrosonde

Da die Kegelspitze der Ultraschallsonde aus Titan gefertigt war, bestand die Möglichkeit der Kontamination der Probenlösung mit Titan und anderen in der Kegelspitze enthaltenen Metallen. Daher wurden sechs gereinigte Perspex[®]-Probenträger in das Teflon-Probengestell eingespannt und durch die Öffnungen des Teflon-Oberteils dreimal je 400 µL Nanopur-Wasser auf die Perspex[®]-Probenträger gegeben und mit der Ultraschallsonde beschallt. Nach jedem Arbeitsgang wurden die Lösungen abpipettiert und gesammelt. Die auf diese Weise hergestellten Lösungen wurden verdünnt, sowohl mit einer Galliumnitrat- als auch einer Rhodiumchlorid-Standardlösung versetzt, mit Salpetersäure (suprapur, 65%) angesäuert und mittels ICP-MS gemessen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 15 dargestellt, zusammen mit den Minima und Maxima der Elementakkumulationen in den untersuchten Biofilmen.

Tabelle 15: Blindwertbelastung durch die Ultraschall-Mikrosonde sowie Minima und Maxima der Elementakkumulationen in den untersuchten Biofilmen. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95 und n = 6 dar).

Element	Masse(Element) _{absolut} [ng]		
	pro Ablösung mittels	Minima und Maxima	
	Ultraschallsonde	in den Biofilmen	
Al	$128,8 \pm 35,3$	652,7 – 24317	
Ti	1215 ± 209	10,38 - 2674	
V	$67,88 \pm 16,28$	1,465 – 111,5	
Fe	33,16 ± 7,92	476,2 - 39204	
Ni	$2,736 \pm 0,611$	1,549 - 146,7	
Cu	5,516 ± 1,523	2,630 - 140,0	
Zn	33,24 ± 6,35	27,58 - 1977	
Pb	$13,12 \pm 4,97$	2,691 – 191,1	

Durch das Ablösen mittels Ultraschallsonde gelangten größere Mengen an Aluminium, Titan, Vanadium, Eisen, Zink und Blei sowie geringe Mengen an Nickel und Kupfer in die Lösung. Bei einem Vergleich dieser Werte mit den Elementakkumulationen in den Biofilmen zeigt sich, dass diese außer für Titan und Vanadium bei den meisten Biofilmen deutlich größer sind als die aus der Kegelspitze stammenden Kontaminationen. Diese können daher vernachlässigt werden, während sie bei den Elementen Titan und Vanadium in der gleichen Größenordnung wie in den meisten Biofilmen liegen und daher berücksichtigt werden müssen.

3.3.4. Aufschluss von Standardreferenzmaterial

Um die Metallgehalte der gezüchteten Biofilme quantitativ mittels ICP-MS bestimmen zu können, mussten die Biofilme nach der Ablösung von den Probenträgern aufgeschlossen werden. Dieses erfolgte durch einen Mikrowellen-Druckaufschluss.

Um die Vollständigkeit des Aufschlusses sowie die Richtigkeit und Reproduzierbarkeit der durchzuführenden Analysen sicherzustellen, wurde das aus Plankton bestehende Standardreferenzmaterial CRM 414 des Community Bureau of Reference mit der TRFA und der ICP-MS untersucht.

Von dem Standardreferenzmaterial CRM 414 wurde eine bestimmte Masse eingewogen und in einem Gemisch aus Salpetersäure (suprapur, 65%), Wasserstoffperoxid-Lösung (suprapur, 30%) und Flusssäure (suprapur, 40%) im Mikrowellenofen (Programm siehe Kapitel 5.4.8.) aufgeschlossen. Nach dem Aufschluss wurde die Lösung mit Wasser quantitativ in ein PE-Gefäß überführt, auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt und mit einer Galliumnitrat-Standardlösung versetzt.

Diese Lösungen wurden mit Hilfe der TRFA unverdünnt gemessen. Für die ICP-MS-Messungen wurden sie um den Faktor zehn verdünnt und mit einer Rhodiumchlorid-Standardlösung versetzt.

Tabelle 16 und 17 zeigen die Ergebnisse der Analysen sowie die des t-Sollwerttests, der zum Vergleich mit den zertifizierten Konzentrationen durchgeführt wurde.

Tabelle 16: Vergleich der TRFA-Analysenergebnisse mit den zertifizierten Werten des Standardreferenzmaterials CRM 414. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95 und n = 4 dar).

Element	Gehalt	t [µg/g]	t-Sollwerttest
	TRFA	Zertifizierte Daten	τ*
Al	1838 ± 93	1800 ± 30	1,32
Р	12820 ± 739	12300 ± 600	2,24
S	6558 ± 295	6800 ± 200	2,61
K	7875 ± 579	7550 ± 170	1,78
Ca	68029 ± 5836	65000 ± 2000	1,65
Ti	$42,9\pm 7,5$	48,0± 5,0	2,19
V	9,42± 1,50	8,10± 0,18	2,80
Cr	$25,0\pm 1,7$	$23,8\pm 1,2$	2,24
Mn	295 ± 18	299± 12	0,79
Fe	1866 ± 45	1850 ± 190	1,16
Co	$1,54 \pm 0,26$	$1,43 \pm 0,06$	1,41
Ni	19,4± 2,4	$18,8\pm 0,8$	0,73
Cu	$31,4\pm 2,6$	$29,5 \pm 1,3$	2,36
Zn	116± 5	112 ± 3	2,52
As	$6,22 \pm 0,64$	$6,82 \pm 0,28$	2,99
Rb	$11,7\pm 0,8$	11,6± 0,2	0,29
Sr	267 ± 16	261 ± 25	1,19
Ba	31,7± 1,3	31,0± 2,0	2,80
T1	$0,045 \pm 0,005$	$0,047 \pm 0,002$	1,33
Pb	4,27± 0,51	$3,97 \pm 0,19$	1,86
U	$0,32 \pm 0,06$	$0,30 \pm 0,06$	1,00

* Prüfgröße τ zu vergleichen mit t(f=3; P=0,95) = 3,182

Tabelle 17: Vergleich der ICP-MS-Analysenergebnisse mit den zertifizierten Werten des Standardreferenzmaterials CRM 414. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95 und n = 4 dar).

Element	Gehalt	t-Sollwerttest	
	ICP-MS	Zertifizierte Daten	τ*
Al	1940 ± 140	1800 ± 30	3,17
K	7510 ± 230	7550 ± 170	0,55
Ca	66986 ± 2167	65000 ± 2000	2,91
Ti	$45,5\pm 3,0$	$48,0\pm 5,0$	2,71
V	$8,66 \pm 0,76$	8,10± 0,18	2,33
Cr	$23,7\pm 0,6$	23,8± 1,2	0,70
Mn	299 ± 10	299± 12	0,03
Fe	1823 ± 146	1850 ± 190	0,58
Со	$1,50\pm 0,15$	$1,43 \pm 0,06$	1,52
Ni	18,9± 0,9	$18,8\pm 0,8$	0,50
Cu	29,9± 0,9	29,5± 1,3	1,32
Zn	112 ± 3	112 ± 3	0,50
As	$6,76 \pm 0,50$	$6,82 \pm 0,28$	0,37
Rb	$11,4\pm 0,3$	11,6± 0,2	2,34
Sr	271 ± 12	261± 25	2,67
Ba	$30,5\pm 1,1$	$31,0\pm\ 2,0$	1,64
T1	$0,043 \pm 0,005$	$0,047 \pm 0,002$	2,67
Pb	$3,93 \pm 0,18$	$3,97 \pm 0,19$	0,66
U	$0,27\pm 0,06$	$0,30 \pm 0,06$	1,62

* Prüfgröße τ zu vergleichen mit t(f=3; P=0,95) = 3,182

Für beide Analysenverfahren zeigt sich, dass die ermittelten Werte der Prüfgröße τ kleiner sind als der in Tabellen [196, 197, 198] angegebene Prüfwert. Demnach lieferten sowohl die TRFA als auch die ICP-MS Ergebnisse, die mit den zertifizierten Gehalten auf dem vorausgesetzten statistischen Niveau von 95 % übereinstimmten. Die Schwankungsbreiten betrugen bei der TRFA zwischen 2 und 16 % und bei der ICP-MS zwischen 3 und 11 %, das heißt die Reproduzierbarkeit war ebenfalls gut.

Weiterhin wurde ein Vergleich der Analysenverfahren mittels F- und t-Test durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 18 dargestellt.

Tabelle 18: Vergleich der Ergebnisse von TRFA und ICP-MS für das Standardreferenzmaterial CRM 414 anhand von F- und t-Test. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95 und n = 4 dar).

Element	Gehalt	Prüfg	Prüfgrößen		
	TRFA	ICP-MS	F-Test ¹⁾	t-Test ²⁾	
Al	1838 ± 93	1940 ± 140	2,29	1,92	
K	7875 ± 579	7510 ± 230	6,34	1,86	
Ca	68029 ± 5836	66986 ± 2167	7,25	0,53	
Ti	$42,9\pm7,5$	$45,5\pm 3,0$	6,28	1,03	
V	9,42± 1,50	8,66± 0,76	3,90	1,44	
Cr	$25,0\pm 1,7$	$23,7\pm 0,6$	8,04	2,34	
Mn	295 ± 18	299 ± 10	3,30	0,71	
Fe	1866 ± 45	1823 ± 146	1,99	0,76	
Со	$1,54 \pm 0,26$	$1,50\pm 0,15$	3,09	0,48	
Ni	$19,4\pm\ 2,4$	$18,9\pm 0,9$	7,64	0,51	
Cu	$31,4\pm\ 2,6$	$29,9\pm 0,9$	8,57	1,80	
Zn	116 ± 5	112 ± 3	2,29	1,83	
As	$6,22 \pm 0,64$	$6,76 \pm 0,50$	1,66	2,14	
Rb	$11,7\pm 0,8$	$11,4\pm 0,3$	8,28	1,04	
Sr	267 ± 16	271 ± 12	2,02	0,56	
Ba	$31,7\pm 1,3$	$30,5\pm 1,1$	1,55	2,26	
T1	$0,045 \pm 0,005$	$0,043 \pm 0,005$	1,00	0,94	
Pb	4,27± 0,51	$3,93 \pm 0,18$	7,75	1,97	
U	$0,32\pm 0,06$	$0,27\pm 0,06$	1,17	1,84	

1) Prüfgröße zu vergleichen mit $F(f_1=3; f_2=3; P=0,95) = 9,28$

2) Prüfgröße zu vergleichen mit t(f=6; P=0,95) = 2,447

Ein Vergleich der beiden Verfahren zeigt, dass die ermittelten Werte der Prüfgrößen F und t kleiner sind als die in Tabellen [196, 197, 198] angegebenen Werte. Es traten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Ergebnissen der verschiedenen Verfahren auf, so dass diese mit 95 prozentiger Aussagesicherheit vergleichbare Ergebnisse lieferten.

3.3.5. Bestimmung der Elementgehalte in Biofilmen nach Ablösung

Nach Ablösung der Biofilme von den TRFA-Probenträgern mittels Ultraschallmikrosonde wurden die gewonnenen Lösungen aufgeschlossen.

Für die Bestimmung der Metallgehalte mittels ICP-MS wurden die Probenlösungen mit Salpetersäure (suprapur, 65%), Wasserstoffperoxid-Lösung (suprapur, 30%) und

Flusssäure (suprapur, 40%) versetzt und einem Mikrowellenaufschluss (Programm siehe Kapitel 5.4.8.) unterzogen. Die aufgeschlossenen Probenlösungen wurden quantitativ in ICP-MS-Röhrchen überführt, mit einer Rhodiumchlorid-Standardlösung versetzt, mit Nanopur-Wasser auf 10 mL aufgefüllt und gemessen.

Für die Bestimmung der Phosphor- und Schwefelgehalte mittels ICP-AES wurden die Probenlösungen mit Salzsäure (suprapur, 30 %) und Flusssäure (suprapur, 40 %) versetzt und einem Mikrowellenaufschluss (Programm siehe Kapitel 5.4.8.) unterzogen. Die aufgeschlossenen Probenlösungen wurden quantitativ in ICP-MS-Röhrchen überführt, mit Nanopur-Wasser auf 5 mL aufgefüllt und gemessen.

3.3.5.1. Messungen

Tabelle 19 bis 22 zeigen die Ergebnisse dieser Analysen im Vergleich mit denen der direkten TRFA-Messungen anhand von F- und t-Test.

Tabelle 19: Vergleich der mittels TRFA und ICP-MS bzw. AAS bestimmten Absolutmengen eines Oder-Biofilms anhand von F- und t-Test. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95 und n = 4 dar).

Element	Masse(Elem	Prüfg	Prüfgrößen		
	TRFA	ICP-MS	F-Test ¹⁾	t-Test ²⁾	
Al	18079 ± 603	17051 ± 298	4,10	2,16	
Si	58448 ± 1294	nicht bestimmbar			
K	4426 ± 96	4273 ± 49	2,67	2,35	
Ca	3563 ± 77	$3620\pm\ 298$	1,21	1,00	
Ti	1091 ± 24	5211± 89	13,2	89,27	
V	$30,67 \pm 2,83$	257,3± 1,8	2,48	135,07	
Cr	$39,60 \pm 1,79$	$35,37\pm 1,43^{(3)}$	1,57	1,94	
Mn	607,2± 13,4	687,7± 9,5	2,00	2,13	
Fe	11513 ± 247	11606 ± 313	1,61	0,47	
Со	< NG (0,51)	< NG (6,65)			
Ni	$17,73 \pm 0,72$	15,31± 1,97	7,42	2,30	
Cu	$9,794 \pm 0,467$	$10,26 \pm 0,17$	7,55	1,88	
Zn	194,4± 4,3	$205,6\pm\ 2,5$	1,37	2,43	
As	$11,21 \pm 0,81$	$11,40 \pm 0,52$	2,40	0,40	
Rb	$34,38 \pm 0,99$	$34,12\pm 0,25$	3,25	0,45	
Sr	48,98± 1,19	51,81± 0,86	1,92	2,35	
Y	< NG (0,73)	< NG (2,25)			
Ba	277,5± 13,6	297,7± 4,1	9,12	2,40	
W	< NG (0,88)	< NG (3,40)			
Hg	< NG (0,84)	< NG (1,20)			
Tl	< NG (0,49)	< NG (1,10)			
Pb	21,19± 1,28	$21,59 \pm 0,07$	3,36	0,55	
Bi	< NG (0,91)	< NG (1,25)			
Th	< NG (1,03)	< NG (1,55)			
U	< NG (1,11)	$\overline{1,301\pm 0,043}$			

1) Prüfgröße zu vergleichen mit $F(f_1=3; f_2=3; P=0.95) = 9.28$

2) Prüfgröße zu vergleichen mit t(f=6; P=0,95) = 2,447

3) Wert wurde mittels AAS bestimmt

Element	Masse(Elem	ent) _{absolut} [ng]	Prüfg	Prüfgrößen		
	TRFA	ICP-MS	F-Test ¹⁾	t-Test ²⁾		
Al	16197± 511	16459 ± 356	2,06	0,84		
Si	62370 ± 1342	nicht bestimmbar				
K	4864 ± 104	5040 ± 29	7,10	2,27		
Ca	57843 ± 1223	54129 ± 748	2,67	2,39		
Ti	1514 ± 33	6075 ± 144	19,5	61,78		
V	$59,25 \pm 2,78$	$205,9\pm 3,3$	1,41	67,98		
Cr	$71,59 \pm 2,23$	$77,90 \pm 1,49^{3}$	2,24	1,72		
Mn	3101 ± 66	3155 ± 59	1,24	1,23		
Fe	24719 ± 522	23831 ± 207	6,37	0,40		
Со	< NG (0,51)	< NG (6,65)				
Ni	$40,09 \pm 1,13$	$41,03 \pm 1,22$	1,16	1,13		
Cu	$72,45 \pm 1,69$	$71,50 \pm 0,76$	4,94	1,03		
Zn	906,8± 19,3	883,6± 9,5	4,13	2,16		
As	$28,43 \pm 1,27$	$28,35 \pm 2,33$	3,38	0,06		
Rb	77,79± 1,81	82,29± 1,73	1,10	1,99		
Sr	$314,1\pm 6,7$	297,2± 5,9	1,29	1,55		
Y	< NG (0,73)	< NG (2,25)				
Ba	287,4± 13,0	$273,5\pm 6,3$	4,22	1,93		
W	< NG (0,88)	< NG (3,40)				
Hg	< NG (0,84)	< NG (1,20)				
Tl	< NG (0,49)	< NG (1,10)				
Pb	$115,8\pm 3,0$	$115,0\pm 1,6$	3,57	0,48		
Bi	$2,044 \pm 0,579$	$2,012 \pm 0,080$	1,90	0,65		
Th	< NG (1,03)	< NG (1,55)				
U	<ng (1,11)<="" td=""><td>$1,411 \pm 0,073$</td><td></td><td></td></ng>	$1,411 \pm 0,073$				

Tabelle 20: Vergleich der mittels TRFA und ICP-MS bzw. AAS bestimmten Absolutmengen eines Elbe-Biofilms anhand von F- und t-Test. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95 und n = 4 dar).

1) Prüfgröße zu vergleichen mit $F(f_1=3; f_2=3; P=0.95) = 9.28$

2) Prüfgröße zu vergleichen mit t(f=6; P=0,95) = 2,447

3) Wert wurde mittels AAS bestimmt

Tabelle 21: Vergleich der mittels TRFA und ICP-AES bestimmten Absolutmengen an Schwefel und Phosphor eines Oder-Biofilms anhand von F- und t-Test. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95 und n = 4 dar).

Element	Masse(Eleme	Prüfgrößen		
	TRFA	ICP-AES	F-Test ¹⁾	t-Test ²⁾
Р	1378 ± 80	1436 ± 71	1,26	1,09
S	1271 ± 45	1299 ± 54	1,43	0,79

1) Prüfgröße zu vergleichen mit $F(f_1=3; f_2=3; P=0.95) = 9.28$

2) Prüfgröße zu vergleichen mit t(f=6; P=0.95) = 2.447

Tabelle 22: Vergleich der mittels TRFA und ICP-AES bestimmten Absolutmengen an Schwefel und Phosphor eines Elbe-Biofilms anhand von F- und t-Test. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95 und n = 4 dar).

Element	Masse(Eleme	Prüfgrößen		
	TRFA	ICP-AES	F-Test ¹⁾	t-Test ²⁾
Р	1666 ± 71	1619 ± 82	1,33	0,86
S	1144 ± 35	1102 ± 61	3,04	1,20

1) Prüfgröße zu vergleichen mit $F(f_1=3; f_2=3; P=0,95) = 9,28$

2) Prüfgröße zu vergleichen mit t(f=6; P=0.95) = 2.447

Die mittels TRFA und ICP-MS (bzw. AAS) sowie ICP-AES bestimmten Werte weisen für die meisten Elemente mit 95 prozentiger Aussagesicherheit keine signifikanten Unterschiede auf. Eine Ausnahme bilden Titan und Vanadium. Hier wurden bei beiden Biofilmen mittels ICP-MS deutlich höhere Werte ermittelt als mit der TRFA. Die Ursache dafür liegt in der oben bereits beschriebenen Kontamination der Proben bei der Ablösung der Biofilme mittels Ultraschallsonde.

3.3.5.2. Nachweisgrenzen

Die nach DIN 32645 [198] mittels Multielementstandardlösungen experimentell ermittelten physikalischen Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen der ICP-MS sowie diejenigen für das ICP-MS-Verfahren zur Analyse der Biofilme sind in Tabelle 23 und 24 dargestellt.

Tabelle 23: Physikalische Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen der ICP-MS nach DIN 32645 [198]

Element	Nachweisgrenzen	Erfassungsgrenzen	Bestimmungsgrenzen
	[µg/L]	[µg/L]	[µg/L]
Al	0,23	0,46	0,89
K	43,3	86,6	166
Ca	74,9	150	288
Ti	0,21	0,42	0,81
V	0,16	0,32	0,63
Cr	0,29	0,58	1,12
Mn	0,24	0,48	0,95
Fe	3,02	6,04	11,6
Со	0,15	0,30	0,57
Ni	0,23	0,46	0,89
Cu	0,18	0,36	0,70
Zn	1,23	2,46	4,77
As	1,49	2,98	5,81
Rb	0,11	0,22	0,42
Sr	0,25	0,50	0,95
Y	0,13	0,26	0,50
Cd	0,05	0,10	0,19
Ba	0,34	0,68	1,30
W	0,07	0,14	0,27
Hg	0,08	0,16	0,31
Tl	0,02	0,04	0,09
Pb	0,31	0,62	1,20
Bi	0,05	0,10	0,22
Th	0,02	0,04	0,08
U	0,01	0,02	0,04

Element	Nachweisgrenzen	Erfassungsgrenzen	Bestimmungsgrenzen
	[µg/L]	[µg/L]	[µg/L]
Al	0,61	1,23	2,37
K	102	204	391
Ca	139	278	526
Ti	0,70	1,40	2,69
V	0,64	1,28	2,52
Cr	1,49	2,98	5,65
Mn	0,67	1,34	2,64
Fe	9,54	19,1	36,5
Со	1,33	2,66	5,04
Ni	0,51	1,02	1,97
Cu	0,45	0,89	1,73
Zn	4,05	8,10	15,7
As	4,43	8,86	17,3
Rb	0,23	0,46	0,88
Sr	1,28	2,55	4,85
Y	0,45	0,91	1,73
Cd	0,31	0,62	1,20
Ba	0,97	1,94	3,70
W	0,68	1,36	2,61
Hg	0,24	0,48	0,92
Tl	0,22	0,45	0,97
Pb	1,04	2,09	4,04
Bi	0,25	0,49	1,06
Th	0,31	0,62	1,19
U	0,03	0,07	0,15

Tabelle 24: Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen des ICP-MS-Verfahrenszur Analyse von Biofilmen nach DIN 32645 [198]

Die nach Einzelelementoptimierung bestimmten physikalischen Nachweisgrenzen der ICP-AES nach [202] sowie die nach DIN 32645 [198] mittels Multielementstandardlösungen experimentell ermittelten Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen für das ICP-AES-Verfahren zur Analyse von Biofilmen sind in Tabelle 25 dargestellt.

Tabelle 25: Physikalische Nachweisgrenzen der ICP-AES nach [202] sowie Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenzen des ICP-AES-Verfahrens zur Analyse von Biofilmen nach DIN 32645 [198]

Element	Nachweisgrenzen	Nachweisgrenzen	Erfassungsgrenzen	Bestimmungsgrenzen
	nach [203]	nach DIN 32645	nach DIN 32645	nach DIN 32645
	[µg/L]	[µg/L]	[µg/L]	[µg/L]
Р	0,9	12,4	24,8	48,4
S	1,9	13,7	27,4	49,3

Auch bei der ICP-MS und der ICP-AES sind die rein physikalischen Nachweisgrenzen des Analysenprinzips geringer als die des eingesetzten Gesamtverfahrens, welche die durch die Probennahme und Probenvorbereitung verursachten Einschränkungen mit erfassen. Die Nachweisgrenzen des ICP-MS-Verfahrens für die Analyse von Biofilmen lagen in Abhängigkeit vom jeweiligen Element zwischen 0,03 und 139 μ g/L Aufschlusslösung, die des ICP-AES-Verfahrens zwischen 12,4 und 13,7 μ g/L Aufschlusslösung.

3.4. Bestimmung und Vergleich von Absolutmengen in Biofilmen mit Hilfe der TRFA

Zur Bestimmung der akkumulierten Metallmengen in Biofilmen wurden, wie in Kapitel 3.1. bereits beschrieben, jeweils sechs Probenträger mit Biofilmbewuchs in regelmäßigen Zeitabständen aus den Flüssen entnommen. Nach den entsprechenden Vorbereitungen wurden die auf den Probenträgern befindlichen Biofilme mit der TRFA gemessen. Die erhaltenen Werte wurden mittels einfacher Varianzanalyse verglichen. Die Ergebnisse dreier Probennahmepunkte sind in Tabelle 26 bis 28 dargestellt.

Tabelle 26: Absolutmengen in sechs auf TRFA-Probenträgern unter gleichen Bedingungen gezogenen Biofilmen vom Probennahmepunkt Wroclaw, die zum gleichen Zeitpunkt aus der Oder entnommen wurden. (Die angegebenen Schwankungsbreiten sind die Zählratenfehler der Einzelmessungen für P = 0,68.)

Element	Masse(Element) _{absolut} [ng]					Bartlett-Test ¹⁾	Varianz-	
			Bio	film				analyse ²⁾
	1	2	3	4	5	6	χ^2	F
Al	11215	9299	4063	11309	5655	10526	4,90	235
	±231	±217	±81	±237	±118	±256		
Si	36334	31868	13396	39327	17116	38706	8,94	768
	±459	±430	±111	±524	±172	±546		
K	3213	3181	1070	3358	1449	3326	9,93	1445
	±31	±32	±7	±34	±11	±36		
Ca	2541	2519	990,4	2545	1022	2616	9,10	1349
	±25	±26	±6,2	±26	± 8	±28		
Ti	830,9	954,0	285,6	909,5	385,7	908,5	9,70	1419
	±8,2	±10,0	±1,9	±9,5	±3,1	±10,0		
V	21,22	26,85	6,799	22,80	10,34	23,28	5,90	449
	±0,42	±0,48	±0,136	±0,41	±0,21	±0,47		
Cr	27,79	30,78	9,909	24,04	12,13	27,52	6,47	299
	±0,53	±0,71	±0,198	±0,52	±0,24	±0,63		
Mn	3194	4628	1410	3365	1598	4091	9,34	1430
	±33	±49	±10	±36	±14	±46		
Fe	7968	9603	2696	8284	3698	8358	10,9	1619
	±74	±95	±15	±82	±26	±87		
Со	11,65	10,00	4,194	11,72	4,608	13,53	6,18	316
	±0,28	±0,22	±0,096	±0,23	±0,101	±0,31		
Ni	14,99	17,81	4,844	15,81	6,544	16,16	5,32	515
	±0,27	±0,30	±0,095	±0,28	±0,135	±0,30		
Cu	10,55	9,541	4,585	10,25	4,780	14,10	4,68	537
	±0,18	±0,192	$\pm 0,082$	±0,12	$\pm 0,094$	±0,23		
Zn	223,0	215,4	82,57	267,7	97,70	295,8	10,2	1580
	±2,2	±2,2	±0,58	±2,8	±0,82	±3,3		
As	9,586	7,624	3,791	10,50	5,187	12,42	6,11	314
	$\pm 0,181$	±0,168	±0,076	±0,21	±0,104	±0,29		
Rb	24,96	28,54	8,072	26,46	11,24	25,91	6,44	812
	±0,33	±0,39	±0,107	±0,36	±0,16	±0,38		
Sr	40,94	43,88	14,06	42,88	17,41	50,07	7,17	1094
	±0,49	±0,52	±0,15	±0,54	±0,22	±0,63		
Y	7,678	6,291	2,341	7,650	4,074	8,932	4,76	345
	±0,153	±0,137	±0,052	±0,153	$\pm 0,089$	±0,179		
Ba	281,0	337,7	103,1	332,2	110,9	325,0	5,86	521
	±4,9	±5,8	±1,8	±6,3	±2,6	±6,0		
W	4,369	3,386	1,320	3,530	1,730	4,061	5,19	328
	$\pm 0,087$	$\pm 0,074$	±0,029	±0,071	$\pm 0,038$	±0,091		
Pb	19,60	18,67	7,710	20,43	10,37	22,81	4,47	239
	±0,42	±0,51	±0,176	±0,44	±0,24	±0,50		

Element	Masse(Element) _{absolut} [ng]						Bartlett-Test ¹⁾	Varianz-
			Bio	film		analyse ²⁾		
	1	2	3	4	5	6	χ^2	F
Bi	1,134	0,898	0,434	1,104	0,477	1,197	4,45	286
	±0,023	±0,020	±0,010	±0,022	±0,011	$\pm 0,028$		
Th	4,347	4,632	1,490	3,984	1,730	4,889	6,05	358
	±0,087	±0,102	±0,032	±0,083	±0,038	±0,103		
U	1,301	1,503	0,367	1,161	0,602	1,412	6,15	369
	±0,026	±0,033	$\pm 0,009$	±0,023	±0,013	±0,031		

Tabelle 26: Fortsetzung

1) Prüfgröße zu vergleichen mit χ^2 (f=5, P=0,95) = 11,1

2) Prüfgröße zu vergleichen mit $F(f_1=5, f_2=1, P=0.95) = 230$

Tabelle 27: Absolutmengen in sechs auf TRFA-Probenträgern unter gleichen Bedingungen gezogenen Biofilmen vom Probennahmepunkt Schwedt, die zum gleichen Zeitpunkt aus der Oder entnommen wurden. (Die angegebenen Schwankungsbreiten sind die Zählratenfehler der Einzelmessungen für P = 0,68.)

Element	Masse(Element) _{absolut} [ng]						Bartlett-Test ¹⁾	Varianz-
	Biofilm							analyse ²⁾
	1	2	3	4	5	6	χ^2	F
Al	7995	9367	13646	10385	12063	16170	2,60	272
	±153	±189	±276	±207	±284	±345		
Si	37575	39831	65391	49066	53239	66781	7,96	329
	±339	±421	±1201	±524	±721	±1211		
K	1606	2015	3568	2228	2838	3955	10,9	422
	±15	±21	±65	±24	±38	±71		
Ca	11486	10047	21413	12987	17364	19059	11,6	416
	±83	±85	±346	±112	±190	±339		
Ti	461,5	582,3	1103	642,8	768,0	1206	11,6	468
	±4,4	±6,4	±21	±7,2	±10,7	±22		
V	13,80	17,02	34,67	19,81	25,42	41,56	4,49	477
	±0,29	±0,31	±0,62	±0,36	±0,46	±0,75		
Cr	16,81	20,30	36,15	24,74	29,08	48,90	5,35	379
	±0,33	±0,35	±0,69	±0,47	±0,55	±0,98		
Mn	1787	2507	2992	1947	2789	4484	11,0	472
	±16	±25	±54	±20	±37	± 80		
Fe	7134	8931	17159	9397	12748	21494	14,2	632
	±61	±90	±309	±97	±167	±382		
Со	4,871	5,532	8,215	4,571	5,796	8,352	3,19	262
	±0,082	±0,102	±0,177	±0,095	±0,115	±0,175		
Ni	10,74	13,75	24,54	13,15	18,53	31,13	4,59	328
	±0,23	±0,29	±0,52	±0,30	±0,45	±0,65		
Cu	11,88	16,21	27,38	14,03	16,62	28,15	4,95	336
	±0,20	±0,28	±0,53	±0,26	±0,31	±0,55		

Element		Mas	se(Elem	ent) _{absolut}	Bartlett-Test ¹⁾	Varianz-		
			Bio	film		analyse ²⁾		
	1	2	3	4	5	6	χ^2	F
Zn	172,1	215,4	400,6	207,8	298,7	525,3	14,3	652
	±1,6	±2,3	±7,3	±2,2	±4,0	±9,4		
As	6,846	9,456	15,90	8,482	12,45	20,40	5,19	385
	±0,129	±0,184	±0,32	±0,177	±0,24	±0,41		
Rb	14,14	17,53	36,55	18,24	25,63	44,10	8,11	493
	±0,23	±0,30	±0,73	±0,31	±0,48	±0,85		
Sr	41,20	42,31	73,33	48,62	69,24	84,37	8,48	331
	±0,41	±0,49	±1,37	±0,57	±0,99	±1,55		
Y	6,016	5,682	12,90	6,655	7,472	12,36	5,64	360
	±0,081	±0,115	±0,26	±0,125	±0,141	±0,23		
Ва	141,6	147,0	332,3	164,1	220,5	376,9	6,59	416
	±2,8	±2,7	±6,6	±3,1	±4,1	±7,9		
W	3,763	4,778	8,802	4,638	5,958	8,420	4,40	296
	±0,067	±0,091	±0,184	$\pm 0,082$	±0,113	±0,152		
Pb	20,45	25,90	50,33	27,30	36,08	65,68	5,40	355
	±0,50	±0,63	±1,00	±0,65	±0,76	±1,55		
Bi	0,575	0,654	1,246	0,592	0,696	1,115	3,95	284
	±0,011	±0,013	±0,026	±0,012	±0,014	±0,022		
Th	2,182	2,656	4,476	3,148	3,662	6,669	5,86	459
	±0,036	±0,045	±0,085	±0,059	±0,069	±0,124		
U	< NG	1,124	2,652	1,468	1,886	< NG	2,72	303
	(0,35)	±0,022	±0,055	±0,029	±0,037	(0,35)		

Tabelle 27: Fortsetzung

1) Prüfgröße zu vergleichen mit χ^2 (f=5, P=0,95) = 11,1

2) Prüfgröße zu vergleichen mit $F(f_1=5, f_2=1, P=0,95) = 230$

Tabelle 28: Absolutmengen in sechs auf TRFA-Probenträgern unter gleichen Bedingungen gezogenen Biofilmen vom Probennahmepunkt Wittenberge, die zum gleichen Zeitpunkt aus der Elbe entnommen wurden. (Die angegebenen Schwankungsbreiten sind die Zählratenfehler der Einzelmessungen für P = 0,68.)

Element		Mas	sse(Elem	ent) _{absolut}	Bartlett-Test ¹⁾	Varianz-		
			Bio	film		analyse ²⁾		
	1	2	3	4	5	6	χ^2	F
Al	11802	8746	10931	14374	14433	17110	1,89	272
	±203	±147	±199	±267	±209	± 305		
Si	38152	31719	37338	47228	47409	54778	4,96	238
	±445	±304	±438	±639	±490	± 970		
K	2043	1558	1720	2663	2793	3846	7,79	509
	±26	±16	±22	±39	±31	±67		
Ca	6853	5133	6137	9653	8793	13795	10,4	624
	±77	±47	±70	±127	±89	±239		

Element		Mas	se(Elem	ent) _{absolut}	Bartlett-Test ¹⁾	Varianz-		
	Biofilm						analyse ²⁾	
	1	2	3	4	5	6	χ^2	F
Ti	556,9	417,7	389,8	713,1	648,2	789,6	5,70	335
	±6,8	±4,3	±5,0	±10,0	$\pm 8,8$	±14,0		
V	19,31	13,93	19,02	29,93	30,78	41,14	4,95	483
	±0,30	±0,21	±0,36	±0,54	±0,46	±0,70		
Cr	9,150	10,89	9,392	17,99	14,11	18,94	3,28	304
	±0,177	±0,19	±0,159	±0,33	±0,23	±0,34		
Mn	11715	7630	11468	13517	10438	12657	4,39	259
	±114	±60	±113	±154	±91	±191		
Fe	8552	6243	9320	14259	12449	17374	8,56	559
	±106	±63	±116	±206	±137	±301		
Со	12,49	8,420	14,17	14,46	18,52	20,50	4,45	284
	±0,18	±0,134	±0,24	±0,20	±0,30	±0,40		
Ni	20,99	13,73	17,84	24,53	24,08	32,91	3,47	234
	±0,39	±0,26	±0,37	±0,51	±0,39	±0,70		
Cu	22,74	19,34	23,45	31,06	29,81	42,14	3,09	279
	±0,38	±0,28	±0,47	±0,56	±0,42	±0,72		
Zn	508,2	303,7	407,0	561,6	518,0	652,0	5,35	291
	±6,3	±3,1	±5,1	±8,2	±5,8	±11,4		
As	15,79	14,44	18,69	25,21	24,51	26,28	2,49	278
	±0,27	±0,26	±0,32	±0,40	±0,53	±0,46		
Rb	18,68	14,29	15,52	26,01	22,64	29,05	3,97	238
	±0,31	±0,22	±0,29	±0,46	±0,41	±0,62		
Sr	47,17	33,46	45,90	71,66	65,58	95,33	9,07	557
	±0,59	±0,37	±0,58	$\pm 1,01$	±0,71	±1,73		
Y	4,594	4,365	6,053	10,01	7,610	11,83	5,99	473
	$\pm 0,084$	$\pm 0,074$	$\pm 0,097$	±0,17	±0,111	±0,23		
Ba	196,0	140,7	195,2	287,1	226,3	316,7	4,86	296
	±2,4	±2,1	±3,0	±4,6	±3,1	±6,0		
W	7,673	5,920	5,453	8,689	7,861	11,48	3,25	252
	±0,131	±0,106	$\pm 0,084$	±0,102	±0,152	±0,21		
Hg	1,716	1,797	2,568	3,084	2,588	3,459	3,46	249
	±0,027	±0,028	±0,036	±0,055	±0,042	±0,062		
Tl	3,807	2,742	3,518	3,410	3,807	5,119	2,26	269
	±0,057	±0,042	±0,043	±0,058	±0,063	$\pm 0,087$		
Pb	26,94	20,45	29,38	46,44	37,98	62,59	5,50	507
	±0,38	±0,38	±0,52	±0,72	±0,68	±1,12		
Bi	0,579	0,519	0,644	0,914	0,831	1,225	3,01	302
	±0,011	±0,010	±0,012	±0,016	±0,015	±0,023		
Th	6,624	5,779	6,672	10,32	7,863	9,308	2,56	293
	±0,094	±0,087	±0,103	±0,17	±0,112	±0,167		
U	1,258	0,991	0,946	1,562	1,366	2,119	3,63	313
	±0,021	±0,017	±0,016	±0,028	±0,019	±0,038		

Tabelle 28: Fortsetzung

1) Prüfgröße zu vergleichen mit χ^2 (f=5, P=0,95) = 11,1

2) Prüfgröße zu vergleichen mit $F(f_1=5, f_2=1, P=0.95) = 230$

Die Varianzanalyse ergibt, dass die ermittelten Werte der Prüfgröße F alle größer sind als der in Tabellen [196] angegebene Schwellenwert. Somit existiert mit 95 prozentiger Sicherheit zwischen den ermittelten Werten ein statistisch signifikanter Unterschied. Die sechs Messreihen eines Probennahmepunktes dürfen daher nicht zusammengefasst werden.

Dies ist nicht überraschend, da sich auf den einzelnen Probenträgern unterschiedliche Mengen von Biofilmen befinden und sich somit auch die akkumulierten Metallmengen stark unterscheiden.

Es werden also Bezugsparameter benötigt, welche die Menge eines Biofilms repräsentieren und somit zur Quantifizierung der akkumulierten Metallmengen dienen können.

3.5. Entwicklung von Bezugsparametern

Um die Metallakkumulation von mikrobiellen Biofilmen quantifizieren zu können, müssen für diese geeignete Parameter gefunden werden, auf welche die Metallmengen bezogen werden können. Es existieren verschiedene Ansätze, die allerdings aufgrund der Verwendung unterschiedlicher Bezugsgrößen nur recht begrenzt vergleichbare Daten liefern [203].

Mögliche Bezugsparameter sind Masse [204, 205], Dicke [206, 207], Dichte [208], Zellzahl [209, 210] und Volumen [205] von Biofilmen sowie einzelne Komponenten der Zellen oder der EPS-Matrix (z.B. Polysaccharide [211, 212], Proteine [213, 214], Peptidoglykan [215], Lipopolysaccharide [216], Lipide [215, 217], TOC [218]). Die Bestimmung der erstgenannten fünf Parameter ist jedoch häufig sehr zeitaufwändig, von geringer Präzision und mit hohen Kosten verbunden. Daher sind spezifische Biofilmoder Zellkomponenten besser zur Kennzeichnung der Menge von Biofilmen geeignet. Bei den meisten Methoden zur Bestimmung der oben genannten Parameter muss der Biofilm jedoch von seiner Unterlage entfernt werden, was mit Veränderungen im Biofilm sowie Verlusten oder Kontaminationen verbunden ist.

Auch die Anteile an Schwefel und Phosphor, welche in der organischen Matrix aus Kohlenhydraten, Proteinen, Nukleotiden und Phospholipiden enthalten sind, sind gegebenenfalls als Bezugsparameter geeignet. In dieser Arbeit wurde zunächst überprüft, ob die Trockenmasse, die Kohlenhydratmenge und die Proteinmenge als Bezugsgrößen für die akkumulierten Metallmengen geeignet sind. Da zur Bestimmung dieser Parameter eine Isolierung der Biofilme von ihrer Unterlage notwendig ist, wurden anschließend die Schwefel- und Phosphormengen auf ihre Eignung als Bezugsgrößen überprüft. Abbildung 22 zeigt ein Fließschema des Ablaufs.



Abbildung 22: Fließschema für den Ablauf des Verbundverfahrens

Beim Bezug der absoluten Metallmengen auf Parameter, welche die Masse oder Teile der Masse des Biofilms repräsentieren, ergibt sich, physikalisch gesehen, als resultierende Einheit für den relativen Gehalt die Dimension 1. Da sich die Massen im Zähler und Nenner jedoch um den Faktor 10³ bis 10⁶ unterscheiden, erhält man sehr kleine Zahlen. Um dieses zu vermeiden, wurde als Einheit für den relativen Gehalt früher die Angabe »parts per million (ppm)« verwendet, welche heute jedoch nicht mehr zulässig ist. Daher wird im folgenden als Einheit die Bezeichnung [μ g/g] bzw. [mg/g] verwendet.

Relativer Gehalt =
$$\frac{Absolutmenge Metall}{Absolutmenge Bezugsparameter}$$
 $\left[\frac{\mu g}{g} \equiv ppm\right]$

3.5.1. Trockenmasse als Bezugsparameter

Da man davon ausgehen kann, dass die Trockenmasse ein Maß für die Menge eines Biofilms darstellt, bietet sie sich als Bezugsparameter für die Quantifizierung der akkumulierten Metallgehalte in den Biofilmen an [204, 205]. Bei bisherigen Untersuchungen zeigte sich jedoch, dass ihre Bestimmung aufgrund der hygroskopischen Natur der Biofilme, welche nach der Trocknung wieder Feuchtigkeit adsorbieren, mit einem mehr oder weniger großen Fehler behaftet ist [219].

Die Bestimmung der Trockenmasse erfolgte durch Differenzwägung vor und nach Ablösen der getrockneten Biofilme von den Probenträgern mittels Ultraschallsonde. Die Trockenmassen der in Kapitel 3.4. bereits aufgeführten Biofilme dreier Probennahmepunkte sind in Tabelle 29 dargestellt.

Tabelle 29: Trockenmassen von je sechs unterschiedlichen Biofilmen der Probennahmepunkte Wroclaw (WR), Schwedt (SW) und Wittenberge (WI). Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95 und n=4 dar.

	Trockenmasse [mg]										
	Biofilm										
	1 2 3 4 5 6										
WR	$6,096 \pm 0,005$	$3,986 \pm 0,003$	$5,902 \pm 0,005$	8,127 ± 0,006	$5,746 \pm 0,004$	$5,947 \pm 0,005$					
SW	9,382 ± 0,006	$8,950 \pm 0,007$	$9,505 \pm 0,005$	$9,275 \pm 0,006$	$9,226 \pm 0,007$	$9,730 \pm 0,005$					
WI	$5,777 \pm 0,003$	$6,819 \pm 0,005$	$6,517 \pm 0,003$	$6,939 \pm 0,005$	$6,654 \pm 0,004$	$6,535 \pm 0,004$					

Die gemessenen absoluten Metallmengen wurden auf die Trockenmassen bezogen und die hierbei erhaltenen Werte mittels einfacher Varianzanalyse verglichen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 30 bis 32 dargestellt.
Tabelle 30: Relative Gehalte in sechs unterschiedlichen Biofilmen vom Probennahmepunkt Wroclaw, die zum gleichen Zeitpunkt aus der Oder entnommen wurden. Als Bezugsgröße wurde die Trockenmasse der Biofilme verwendet. (Die angegebenen Schwankungsbreiten wurden durch Fehlerfortpflanzung aus den Zählratenfehlern der Einzelmessungen und den Vertrauensintervallen der Trockenmassen berechnet).

Element	Masse(Element)/Trockenmasse [µg/g]				/g]	Bartlett-Test ¹⁾	Varianz-	
			Bio	film				analyse ²⁾
	1	2	3	4	5	6	χ^2	F
Al	1840	2333	688,4	1392	984,1	1770	6,38	282
	±38	±55	±13,8	±29	±20,6	±43		
Si	5960	7995	2270	4839	2979	6508	9,84	910
	±75	±108	±19	±65	±30	±92		
K	527,1	797,9	181,4	413,2	252,2	559,2	11,8	2017
	±5,0	±8,1	±1,1	±4,2	±1,9	±6,0		
Ca	416,8	632,0	167,8	313,2	177,8	440,0	11,2	1978
	±4,1	±6,5	±1,1	±3,2	±1,4	±4,7		
Ti	136,3	239,3	48,38	111,9	67,13	152,8	12,4	2197
	±1,4	±2,5	±0,33	±1,2	±0,54	±1,7		
V	3,481	6,736	1,152	2,805	1,799	3,914	9,07	771
	$\pm 0,070$	±0,121	±0,023	±0,051	$\pm 0,036$	$\pm 0,078$		
Cr	4,558	7,723	1,679	2,958	2,110	4,627	10,7	509
	$\pm 0,088$	±0,179	$\pm 0,034$	±0,064	±0,042	±0,106		
Mn	523,9	1161	238,9	414,0	278,0	687,9	13,6	2623
	±5,4	±12	±1,7	±4,5	±2,4	±7,7		
Fe	1307	2409	456,7	1019	643,6	1405	14,4	2697
	±12	±24	±2,6	±10	±4,5	±15		
Co	1,912	2,509	0,711	1,442	0,802	2,275	7,35	368
	±0,046	$\pm 0,055$	±0,016	±0,028	$\pm 0,018$	$\pm 0,052$		
Ni	2,458	4,468	0,821	1,945	1,139	2,717	7,86	854
	±0,044	±0,074	±0,016	±0,034	$\pm 0,024$	±0,051		
Cu	1,730	2,394	0,777	1,262	0,832	2,371	8,04	587
	±0,029	±0,048	±0,014	±0,015	±0,016	±0,039		
Zn	36,58	54,03	13,99	32,93	17,00	49,74	10,8	1798
	±0,37	±0,56	±0,10	±0,35	±0,14	±0,55		
As	1,573	1,913	0,642	1,292	0,903	2,088	6,62	309
	$\pm 0,030$	±0,042	±0,013	±0,026	$\pm 0,018$	±0,049		
Rb	4,094	7,161	1,368	3,256	1,956	4,357	9,15	1300
	$\pm 0,055$	±0,097	$\pm 0,018$	$\pm 0,045$	±0,027	$\pm 0,065$		
Sr	6,716	11,01	2,382	5,276	3,030	8,419	9,00	1569
	$\pm 0,081$	±0,13	$\pm 0,026$	$\pm 0,067$	$\pm 0,038$	±0,106		
Y	1,260	1,578	0,397	0,941	0,709	1,502	5,97	382
	±0,025	$\pm 0,034$	$\pm 0,009$	±0,019	$\pm 0,015$	$\pm 0,030$		
Ba	46,09	84,71	17,46	40,88	19,29	54,66	7,83	796
	±0,80	±1,46	±0,31	±0,77	±0,45	±1,01		
W	0,717	0,849	0,224	0,434	0,301	0,683	6,98	408
	±0,014	±0,019	$\pm 0,005$	±0,009	$\pm 0,007$	±0,015		
Pb	3,216	4,684	1,306	2,514	1,805	3,835	7,61	286
	$\pm 0,068$	±0,128	$\pm 0,030$	$\pm 0,054$	$\pm 0,042$	$\pm 0,084$		

Element	Μ	asse(Ele	ment)/T	rockenm	/g]	Bartlett-Test ¹⁾	Varianz-	
			Bio	film		analyse ²⁾		
	1	2	3	4	5	6	χ^2	F
Bi	0,186	0,225	0,073	0,136	0,083	0,201	5,59	320
	±0,004	±0,005	±0,002	±0,003	±0,002	±0,005		
Th	0,713	1,162	0,253	0,490	0,301	0,822	9,37	535
	±0,014	±0,026	±0,005	±0,010	$\pm 0,007$	±0,017		
U	0,213	0,377	0,062	0,143	0,105	0,237	10,3	589
	$\pm 0,004$	$\pm 0,008$	±0,002	±0,003	±0,002	±0,005		

Tabelle 30: Fortsetzung

2) Prüfgröße zu vergleichen mit $F(f_1=5, f_2=1, P=0,95) = 230$

Tabelle 31: Relative Gehalte in sechs unterschiedlichen Biofilmen vom Probennahmepunkt Schwedt, die zum gleichen Zeitpunkt aus der Oder entnommen wurden. Als Bezugsgröße wurde die Trockenmasse der Biofilme verwendet. (Die angegebenen Schwankungsbreiten wurden durch Fehlerfortpflanzung aus den Zählratenfehlern der Einzelmessungen und den Vertrauensintervallen der Trockenmassen berechnet).

Element	Μ	asse(Ele	ment)/T	rockenm	/g]	Bartlett-Test ¹⁾	Varianz-	
			Bio	film				analyse ²⁾
	1	2	3	4	5	6	χ^2	F
Al	852,2	1047	1436	1120	1307	1662	2,30	239
	±16,3	±21	±29	±22	±31	±35		
Si	4005	4450	6880	5290	5771	6863	7,33	295
	±36	±47	±126	±57	±78	±124		
K	171,2	225,2	375,4	240,2	307,7	406,5	10,2	378
	±1,6	±2,4	±6,9	±2,6	±4,2	±7,3		
Ca	1224	1123	2253	1400	1882	1959	10,9	377
	±9	±10	±36	±12	±21	±35		
Ti	49,19	65,06	116,1	69,30	83,24	123,9	10,8	422
	±0,47	±0,72	±2,2	±0,77	±1,16	±2,3		
V	1,471	1,901	3,647	2,136	2,755	4,271	3,96	429
	±0,031	±0,035	±0,066	±0,038	$\pm 0,050$	±0,077		
Cr	1,792	2,268	3,804	2,667	3,152	5,026	4,76	337
	±0,035	±0,039	±0,072	±0,051	±0,060	±0,101		
Mn	190,5	280,1	314,8	209,9	302,3	460,8	10,2	423
	±1,7	±2,9	±5,7	±2,2	±4,0	±8,2		
Fe	760,4	997,9	1805	1013	1382	2209	13,4	576
	±6,6	±10,1	±33	±10	±18	±39		
Co	0,519	0,618	0,864	0,493	0,628	0,858	2,81	239
	±0,009	±0,011	±0,019	±0,010	±0,012	±0,018		
Ni	1,145	1,536	2,582	1,417	2,009	3,199	4,12	292
	±0,024	±0,033	±0,054	±0,032	±0,049	±0,067		
Cu	1,266	1,812	2,881	1,513	1,801	2,893	4,45	300
	±0,021	±0,031	±0,056	±0,028	±0,034	±0,057		

Element	Μ	asse(Ele	ment)/T	rockenm	/g]	Bartlett-Test ¹⁾	Varianz-	
			Bio	film				analyse ²⁾
	1	2	3	4	5	6	χ^2	F
Zn	18,35	24,07	42,14	22,40	32,38	53,99	13,4	595
	±0,17	±0,25	±0,77	±0,24	±0,44	±0,97		
As	0,730	1,057	1,673	0,915	1,350	2,096	4,67	346
	±0,014	±0,021	±0,033	±0,019	±0,026	±0,042		
Rb	1,507	1,958	3,846	1,966	2,778	4,533	7,46	449
	±0,024	±0,033	±0,077	±0,033	±0,052	$\pm 0,088$		
Sr	4,391	4,728	7,715	5,242	7,505	8,671	7,84	294
	±0,044	$\pm 0,055$	±0,144	±0,061	±0,107	±0,160		
Y	0,641	0,635	1,357	0,718	0,810	1,270	5,15	320
	$\pm 0,009$	±0,013	±0,027	±0,013	±0,015	±0,024		
Ba	15,10	16,43	34,96	17,69	23,90	38,74	5,93	377
	±0,29	±0,30	±0,69	±0,33	±0,44	±0,82		
W	0,401	0,534	0,926	0,500	0,646	0,865	4,02	264
	$\pm 0,007$	±0,010	±0,019	±0,009	±0,012	±0,016		
Pb	2,180	2,894	5,295	2,944	3,911	6,750	4,79	321
	±0,053	±0,071	±0,105	$\pm 0,070$	$\pm 0,082$	±0,159		
Bi	0,061	0,073	0,131	0,064	0,075	0,115	3,54	253
	±0,001	$\pm 0,001$	±0,003	±0,001	$\pm 0,002$	$\pm 0,002$		
Th	0,233	0,297	0,471	0,339	0,397	0,685	5,26	408
	±0,004	$\pm 0,005$	±0,009	±0,006	±0,007	±0,013		
U		0,126	0,279	0,158	0,204		2,42	271
		±0,002	±0,006	±0,003	$\pm 0,004$			

Tabelle 31: Fortsetzung

2) Prüfgröße zu vergleichen mit $F(f_1=5, f_2=1, P=0.95) = 230$

Tabelle 32: Relative Gehalte in sechs unterschiedlichen Biofilmen vom Probennahmepunkt Wittenberge, die zum gleichen Zeitpunkt aus der Elbe entnommen wurden. Als Bezugsgröße wurde die Trockenmasse der Biofilme verwendet. (Die angegebenen Schwankungsbreiten wurden durch Fehlerfortpflanzung aus den Zählratenfehlern der Einzelmessungen und den Vertrauensintervallen der Trockenmassen berechnet).

Element	Μ	asse(Ele	ment)/T	rockenm	/g]	Bartlett-Test ¹⁾	Varianz-	
			Bio	film			analyse ²⁾	
	1	2	3	4	5	6	χ^2	F
Al	2043	1283	1677	2071	2169	2618	1,88	270
	±35	±22	±31	±39	±31	±47		
Si	6604	4652	5729	6806	7125	8382	4,86	299
	±77	±45	±67	±92	±74	±148		
K	353,7	228,5	264,0	383,8	419,8	588,5	7,66	495
	±4,5	±2,4	±3,4	±5,7	±4,7	±10,3		
Ca	1186	753	942	1391	1322	2111	10,3	604
	±13	±7	±11	±18	±13	±37		

Element	Masse(Element)/Trockenmasse [µg/g]				g]	Bartlett-Test ¹⁾	Varianz-	
			Bio	film				analyse ²⁾
	1	2	3	4	5	6	χ^2	F
Ti	96,40	61,25	59,81	102,8	97,41	120,8	5,56	328
	±1,17	±0,63	±0,76	±1,4	±1,33	±2,1		
V	3,343	2,043	2,918	4,313	4,625	6,296	4,66	460
	±0,053	±0,031	±0,055	$\pm 0,078$	$\pm 0,069$	±0,107		
Cr	1,584	1,597	1,441	2,592	2,120	2,899	2,85	259
	±0,031	±0,027	±0,024	±0,047	±0,034	$\pm 0,052$		
Mn	2028	1119	1760	1948	1569	1937	4,42	301
	±20	± 9	±17	±22	±14	±29		
Fe	1480	915	1430	2055	1871	2659	8,26	519
	±18	± 9	±18	±30	±21	±46		
Со	2,161	1,235	2,175	2,084	2,784	3,137	4,40	279
	±0,030	±0,020	±0,037	±0,029	$\pm 0,044$	±0,061		
Ni	3,634	2,013	2,737	3,535	3,619	5,036	3,48	238
	$\pm 0,068$	±0,038	±0,056	$\pm 0,074$	±0,059	±0,108		
Cu	3,937	2,837	3,598	4,476	4,480	6,448	2,98	264
	±0,066	±0,041	±0,072	$\pm 0,080$	±0,063	±0,111		
Zn	87,97	44,53	62,45	80,93	77,84	99,77	5,42	318
	±1,10	±0,46	±0,79	±1,18	±0,87	±1,74		
As	2,734	2,118	2,868	3,632	3,684	4,021	2,20	250
	±0,047	±0,038	±0,049	±0,058	$\pm 0,080$	$\pm 0,070$		
Rb	3,234	2,096	2,381	3,748	3,402	4,445	3,82	295
	$\pm 0,054$	±0,033	±0,045	±0,066	±0,061	±0,095		
Sr	8,164	4,906	7,044	10,33	9,856	14,59	8,88	529
	±0,103	±0,054	±0,090	±0,15	±0,107	±0,27		
Y	0,795	0,640	0,929	1,443	1,144	1,810	5,61	432
	±0,015	±0,011	±0,015	±0,025	±0,017	±0,035		
Ba	33,92	20,63	29,95	41,38	34,00	48,47	4,52	277
	±0,41	±0,31	±0,47	±0,66	±0,47	±0,92		
W	1,328	0,868	0,837	1,252	1,181	1,756	3,52	258
	±0,023	±0,016	±0,013	±0,015	±0,023	$\pm 0,032$		
Hg	0,297	0,264	0,394	0,444	0,389	0,529	3,01	235
	$\pm 0,005$	$\pm 0,004$	$\pm 0,006$	$\pm 0,008$	$\pm 0,006$	$\pm 0,009$		
Tl	0,659	0,402	0,540	0,491	0,572	0,783	2,44	236
	±0,010	$\pm 0,006$	$\pm 0,007$	$\pm 0,008$	$\pm 0,009$	±0,013		
Pb	4,664	2,999	4,509	6,692	5,708	9,578	5,17	482
	$\pm 0,065$	$\pm 0,055$	$\pm 0,079$	±0,104	±0,102	±0,172		
Bi	0,100	0,076	0,099	0,132	0,125	0,187	2,84	281
	±0,002	±0,001	±0,002	±0,002	±0,002	±0,004		
Th	1,147	0,847	1,024	1,488	1,182	1,424	2,20	258
	±0,016	±0,013	±0,016	±0,024	±0,017	±0,026		
U	0,218	0,145	0,145	0,225	0,205	0,324	3,60	311
	±0,004	±0,002	±0,002	±0,004	±0,003	±0,006		

Tabelle 32: Fortsetzung

2) Prüfgröße zu vergleichen mit $F(f_1=5, f_2=1, P=0,95) = 230$

Bei Verwendung der Trockenmasse als Bezugsparameter ergibt die Varianzanalyse, dass die ermittelten Werte der Prüfgröße F alle größer sind als der in Tabellen [196] angegebene Schwellenwert. Somit existiert mit 95 prozentiger Sicherheit zwischen den ermittelten Werten ein statistisch signifikanter Unterschied. Die sechs Messreihen eines Probennahmepunktes dürfen nicht zusammengefasst werden, da sie keiner gemeinsamen Grundgesamtheit angehören.

Dies bedeutet, dass der häufig vorgenommene Bezug von absoluten Metallmengen in Biofilmen auf die Trockenmasse zu nicht vergleichbaren, falschen Ergebnissen führt und von daher nicht zulässig ist.

3.5.2. Kohlenhydrat- und Proteinmengen als Bezugsparameter

Sowohl die Zelloberflächen von Mikroorganismen als auch die EPS-Matrix von Biofilmen bestehen zum großen Teil aus Kohlenhydraten und Proteinen. Es bietet sich daher an zu prüfen, ob diese beiden Größen als Bezugsparameter für die Quantifizierung der akkumulierten Metallgehalte in den Biofilmen geeignet sind [211-214]. Bisherige Untersuchungen hinsichtlich der Kohlenhydratgehalte in Biofilmen, bestimmt mit der am häufigsten angewandten Methode nach Dubois et al. [220], ergaben meist zu hohe Werte im Vergleich zur HPLC [211]. Trotzdem wurde überprüft, ob sich die Kohlenhydratgehalte als Bezugsgröße eignen.

Zur Bestimmung des Kohlenhydrat- bzw. Proteingehalts wurden folgende Methoden ausgewählt:

- Bestimmung des Kohlenhydratgehalts nach Dubois et al. [220]
- Bestimmung aller reduzierender Substanzen nach Smith et al. [221]
- Bestimmung des Proteingehalts nach Bradford [222]

Die Methoden wurden zunächst anhand von Standardlösungen auf Richtigkeit der Aussagen geprüft. Weiterhin wurden für die Bestimmungen nach Dubois und Smith hauptsächliche Fehlerquellen studiert und beseitigt.

3.5.2.1. Bestimmung des Kohlenhydratgehalts nach Dubois

Bei der Bestimmung des Kohlenhydratgehalts in den Biofilmen nach Dubois et al. [220] wurde die wässrige Probe mit einer 10 prozentigen Phenol-Lösung und konzentrierter Schwefelsäure versetzt, um die Polysaccharide zu hydrolysieren. Mit Hilfe der freiwerdenden Solvatationswärme bilden die in der Probe enthaltenen Hexosen dann Hydroxymethylfuraldehyde (HMF). Die auftretende Farbreaktion wurde photometrisch bei einem Extinktionsmaximum von 490 nm verfolgt. Die Wellenlängenabhängigkeit der Extinktion und die zeitliche Stabilität des Farbkomplexes (jeweils mit in Wasser gelösten, hydrolysierten Biofilmen bestimmt) sind in Abbildung 23 und 24 dargestellt.



Abbildung 23: Wellenlängenabhängigkeit der Kohlenhydratbestimmung nach Dubois et al. [220]



Abbildung 24: Zeitliche Stabilität des Farbkomplexes bei der Kohlenhydratbestimmung nach Dubois et al. [220]

Das Maximum der Extinktion liegt bei 490 nm, der Farbkomplex ist über einen Zeitraum von mindestens 60 Minuten stabil. Die Kalibriergerade wurde mit einer in Wasser angesetzten Verdünnungsreihe aus D(+)-Glucose aufgenommen. Sie verläuft innerhalb des Anwendungsbereiches linear, wie Abbildung 25 zeigt.

Die nach DIN 32645 [198] experimentell ermittelte Nachweisgrenze beträgt 0,4 µg/mL.



Abbildung 25: Kalibriergerade der Kohlenhydratbestimmung nach Dubois et al. [220] mit D(+)-Glucose. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=4 dar).

3.5.2.2. Bestimmung des Kohlenhydratgehalts nach Smith

Bei der Bestimmung des Kohlenhydratgehalts nach Smith et al. [221] werden alle in der Lösung enthaltenen reduzierenden Substanzen, also z.B. auch Proteine, erfasst. Soll diese Methode zur Bestimmung des Kohlenhydratgehalts verwendet werden, muss zunächst sichergestellt werden, dass keine Proteine in der Lösung enthalten sind. Bei Abwesenheit von Proteinen kann diese Methode jedoch als Referenzmethode für die Kohlenhydratbestimmung nach Dubois et al. [220] verwendet werden.

Die wässrige Biofilm-Probe wurde mit einer alkalischen Lösung, welche Kupfer-(II)ionen und das Dinatriumsalz der 2,2'-Bicinchoninsäure enthält, versetzt. Die freien Aldehydgruppen der Kohlenhydrate reduzieren das Cu(II) zu Cu(I), welches mit dem Dinatriumsalz der 2,2'-Bicinchoninsäure einen violetten Komplex bildet. Die Farbreaktion wurde photometrisch bei einem Extinktionsmaximum von 562 nm verfolgt. Die Wellenlängenabhängigkeit der Extinktion und die zeitliche Stabilität des Farbkomplexes (jeweils mit in Wasser gelösten, hydrolysierten Biofilmen bestimmt) sind in Abbildung 26 und 27 dargestellt.



Abbildung 26: Wellenlängenabhängigkeit der Kohlenhydratbestimmung nach Smith et al. [221]



Abbildung 27: Zeitliche Stabilität des Farbkomplexes bei der Kohlenhydratbestimmung nach Smith et al. [221]

Das Maximum der Extinktion liegt bei 562 nm, der Farbkomplex ist über einen Zeitraum von mindestens 60 Minuten stabil. Die Kalibriergerade wurde mit einer in Wasser angesetzten Verdünnungsreihe aus D(+)-Glucose aufgenommen. Sie ist in Abbildung 28 dargestellt.

Die nach DIN 32645 [198] experimentell ermittelte Nachweisgrenze beträgt 0,2 µg/mL.



Abbildung 28: Kalibriergerade der Kohlenhydratbestimmung nach Smith et al. [221] mit D(+)-Glucose. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=4 dar).

Die Kalibriergerade verläuft innerhalb des Anwendungsbereiches linear. Diese Methode kann also als Referenzmethode für die Kohlenhydratbestimmung nach Dubois et al. [220] eingesetzt werden.

3.5.2.3. Bestimmung des Proteingehalts nach Bradford

Zur Bestimmung des Proteingehalts in den Biofilmen nach Bradford [222] wurde die wässrige Probe mit einer Lösung des Farbstoffes Coomassie Brilliant Blue versetzt und die Bildung des blauen Coomassie-Protein-Farbstoff-Komplexes photometrisch bei einem Extinktionsmaximum von 595 nm verfolgt. Die Extinktion der Blaufärbung ist dabei funktional mit der Proteinmenge in der Probenlösung verknüpft. Die Kalibriergerade wurde mit einer in Wasser angesetzten Verdünnungsreihe aus Rinderserumalbumin aufgenommen. Sie ist in Abbildung 29 dargestellt.

Die nach DIN 32645 [198] experimentell ermittelte Nachweisgrenze beträgt 1 µg/mL.



Abbildung 29: Kalibriergerade der Proteinbestimmung nach Bradford [222] mit Rinderserumalbumin. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=4 dar).

Die Kalibriergerade verläuft innerhalb des Anwendungsbereiches linear. Diese Methode kann also zur Bestimmung der Proteingehalte in Biofilmen eingesetzt werden.

3.5.2.4. Bestimmung des Kohlenhydrat- und Proteingehalts in Biofilmen

Eine bestimmte Menge Biofilm wurde mittels Ultraschallsonde in Wasser suspendiert und unterschiedliche Volumina dieser Probenlösung sowohl einer Kohlenhydratbestimmung nach Dubois et al. [220], als auch einer Proteinbestimmung nach Bradford [222] unterzogen. Die Ergebnisse wurden korreliert und in den Abbildungen 30 und 31 dargestellt.



Abbildung 30: Korrelationsgerade zwischen Volumen verwendeter Probenlösung und Kohlenhydratkonzentration, bestimmt nach Dubois et al. [220]. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=4 dar).



Abbildung 31: Korrelationsgerade zwischen Volumen verwendeter Probenlösung und Proteinkonzentration, bestimmt nach Bradford [222]. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=4 dar).

Die Tatsache, dass beide Korrelationsgeraden nicht durch den Ursprung des Koordinatensystems verlaufen, deutet auf einen systematischen Fehler hin. Ursache hierfür könnte eine Selbstabsorption der Biofilm-Suspensionen bei den photometrischen Bestimmungen sein. Es musste daher eine Methode entwickelt werden, mit der die Kohlenhydrate und Proteine vollständig gelöst werden können.

3.5.2.5. Hydrolyse der Biofilme

Prinzipiell lassen sich Kohlenhydrate und Proteine mittels HPLC auftrennen und bestimmen [223]. Dieses Verfahren ist jedoch recht aufwändig und teuer. Außerdem werden dafür große Mengen an Probenmaterial benötigt, die in diesem Fall nicht zur Verfügung stehen.

Eine weitere Möglichkeit zur Abtrennung der Proteine von den Kohlenhydraten ist ihre Ausfällung mit starken Säuren (z.B. Trichloressigsäure, Trifluoressigsäure, Perchlorsäure) bzw. Protease [211, 224] und anschließende Zentrifugation. Bei Behandlung mit starken Säuren erfolgt jedoch nur eine ca. 90 prozentige Ausfällung der Proteine. Außerdem werden dabei ca. 30 Prozent der vorhandenen Kohlenhydrate mitgefällt, so dass das Protein-Pellet mehrfach aufwändig gewaschen oder umgefällt werden muss, um keinen Minderbefund der Kohlenhydrate zu erhalten. Bei Behandlung mit Protease erfolgt zwar eine 95 prozentige Ausfällung der Proteine ohne Mitfällung von Kohlenhydraten, die Prozedur ist jedoch ebenso aufwändig, da die Isolierung der denaturierten Proteine sowie der Protease erst nach zusätzlicher Behandlung mit einem Gemisch aus Chloroform und Amylalkohol erfolgen kann [211]. Aufgrund des hohen Arbeits- und Zeitaufwands beider Verfahren sind diese für Routineuntersuchungen ungeeignet.

Eine dritte Möglichkeit zur Lösung des Problems liegt in der Hydrolyse des Probenmaterials. Nach Waffenschmidt und Jaenicke [225] sowie nach Brooks et al. [226] kann eine Homogenisierung der Biofilm-Suspensionen durch Hydrolyse mit Salzsäure in der Hitze erfolgen. Hierbei werden die Proteine zerstört, so dass diese nicht mehr als Bezugsparameter zur Verfügung stehen. Diese Tatsache musste jedoch in Kauf genommen werden, um wenigstens die Kohlenhydratgehalte der Biofilme bestimmen zu können.

3.5.2.5.1. Hydrolyse von Rinderserumalbumin und Standardaddition mit BSA

Um festzustellen, unter welchen Bedingungen die Proteine vollständig hydrolysiert werden, so dass sie keine Störung der photometrischen Kohlenhydratbestimmung mehr verursachen können, wurden zunächst wässrige Lösungen aus Rinderserumalbumin (BSA) mit Salzsäure der Konzentrationen 1 bis 10 mol/L versetzt und 2, 4 sowie 6 Stunden auf 100°C erhitzt. Nach Abkühlung und Neutralisation mit Natronlauge erfolgte eine Proteinbestimmung nach Bradford [222]. Die Ergebnisse sind in Abbildung 32 dargestellt.



Abbildung 32: Proteinkonzentrationen nach Hydrolyse der BSA-Lösungen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=4 dar).

Der erfasste Proteingehalt nimmt mit zunehmender Säurekonzentration ab. Ab einer Säurekonzentration von 3 mol/L liegt die Proteinkonzentration, unabhängig von der Hydrolysedauer, unterhalb der Bestimmungsgrenze von 5 μ g/mL.

Um festzustellen, ab welcher Säurekonzentration keine Störung der photometrischen Kohlenhydratbestimmung mehr zu erwarten ist, wurde anschließend für eine Hydrolysedauer von 2 Stunden und eine Säurekonzentration von 1 bis 3 mol/L eine Standardaddition mit BSA-Lösung durchgeführt. Die Ausgleichsgeraden der Standardaddition sind in Abbildung 33 dargestellt.



Abbildung 33: Ausgleichsgeraden der Standardaddition mit BSA-Lösung. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0.95 und n=4 dar).

Die Ausgleichsgeraden der Standardaddition mit BSA-Lösung verlaufen erst ab einer Säurekonzentration von 2 mol/L nahezu durch den Ursprung des Koordinatensystems. Hier sind die Abweichungen von Null kleiner als die Standardabweichungen der Einzelwerte voneinander. Für eine Säurekonzentration von 1 mol/L gilt dies noch nicht, d.h. diese Konzentration reicht nicht aus, um das Rinderserumalbumin vollständig zu hydrolysieren. Die Wiederfindungsraten der Standardaddition sind in Tabelle 33 dargestellt.

Tabelle 33: Wiederfindungsraten nach Standardaddition mit BSA-Lösung. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0.95 und n = 4 dar).

Konz. (HCl)	Sollkonz. (BSA)	Ermittelte Konz. (BSA)	Wiederfindungsrate
[mol/L]	[µg/mL]	[µg/mL]	[%]
1	26,2	$36,2 \pm 0,9$	$138,1 \pm 3,5$
1	52,4	$62,8\pm0,9$	119,9 ± 1,6
1	78,6	$77,2 \pm 1,2$	$98,2 \pm 1,5$
2	26,2	$22,5 \pm 1,1$	85,9 ± 4,3
2	52,4	$47,7 \pm 1,8$	91,0 ± 3,4
2	78,6	$68,7 \pm 2,1$	$87,4 \pm 2,7$
3	26,2	$26,5 \pm 2,0$	$101,0 \pm 7,6$
3	52,4	$50,8 \pm 1,7$	97,0 ± 3,3
3	78,6	75,4 ± 1,5	95,9 ± 1,9

Die Wiederfindungsraten der Standardaddition betragen bei einer Säurekonzentration von 1 mol/L zwischen 98 und 138 %, bei einer Säurekonzentration von 2 bis 3 mol/L zwischen 86 und 101 %. Auch hier zeigt sich, dass eine Säurekonzentration von 1 mol/L für eine vollständige Hydrolyse des Rinderserumalbumins nicht ausreichend ist, da die Werte der Standardaddition zu hoch sind.

3.5.2.5.2. Hydrolyse von Biofilm und Proteinbestimmung nach Bradford

Um zu überprüfen, ob die für Rinderserumalbumin ermittelten Hydrolysebedingungen auch auf die Hydrolyse der Proteine in Biofilmen anwendbar sind, wurde anschließend eine bestimmte Menge Biofilm mittels Ultraschallsonde in Wasser suspendiert, jeweils ein Teil davon mit Salzsäure der Konzentrationen 1 bis 10 mol/L versetzt und 2, 4 bzw. 6 Stunden auf 100°C erhitzt. Nach Abkühlung und Neutralisation mit Natronlauge erfolgte die Proteinbestimmung nach Bradford [222]. Die Ergebnisse sind in Abbildung 34 dargestellt.



Abbildung 34: Proteinkonzentrationen nach Hydrolyse der Biofilm-Lösungen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=4 dar).

Der erfasste Proteingehalt der Biofilm-Lösungen nimmt mit zunehmender Säurekonzentration zunächst stark ab. Ab einer Säurekonzentration von 4 bis 5 mol/L ändert sich der Proteingehalt, unabhängig von der Hydrolysedauer, nur noch geringfügig. Dies bedeutet, dass eine Erhöhung der Säurekonzentration über 5 mol/L nicht sinnvoll ist, da dies kaum noch eine Verringerung der Proteinkonzentration bewirkt.

Um festzustellen, ab welcher Säurekonzentration keine Störung der photometrischen Kohlenhydratbestimmung mehr zu erwarten ist, wurde anschließend für eine Hydrolysedauer von 2 Stunden und eine Säurekonzentration von 1 bis 3 mol/L eine Standardaddition mit BSA-Lösung durchgeführt. Die Ausgleichsgeraden der Standardaddition sind in Abbildung 35 dargestellt.



Abbildung 35: Ausgleichsgeraden der Standardaddition mit BSA-Lösung. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0.95 und n=4 dar).

Die Ausgleichsgeraden der Standardaddition mit BSA-Lösung verlaufen erst ab einer Säurekonzentration von 2 mol/L nahezu durch den Ursprung des Koordinatensystems. Hier sind die Abweichungen von Null kleiner als die Standardabweichungen der Einzelwerte voneinander. Für eine Säurekonzentration von 1 mol/L gilt dies noch nicht, d.h. diese Konzentration reicht nicht aus, um die in den Biofilmen enthaltenen Proteine vollständig zu hydrolysieren. Die Wiederfindungsraten der Standardaddition sind in Tabelle 34 dargestellt.

Tabelle 34: Wiederfindungsraten nach Standardaddition mit BSA-Lösung. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0.95 und n = 4 dar).

Konz. (HCl)	Sollkonz. (BSA)	Ermittelte Konz. (BSA)	Wiederfindungsrate
[mol/L]	[µg/mL]	[µg/mL]	[%]
1	26,2	$34,4 \pm 2,1$	$131,4 \pm 8,0$
1	52,4	$60,9 \pm 3,2$	$116,3 \pm 6,0$
1	78,6	85,9 ± 4,9	$109,3 \pm 6,2$
2	26,2	$25,5 \pm 1,6$	$97,2 \pm 6,1$
2	52,4	$52,0 \pm 2,5$	$99,2 \pm 4,9$
2	78,6	$77,2 \pm 3,2$	$98,2 \pm 4,0$
3	26,2	$26,4 \pm 1,5$	$100,8 \pm 5,8$
3	52,4	50,9 ± 3,5	97,1 ± 6,6
3	78,6	$74,4 \pm 3,9$	$94,7 \pm 5,0$

Die Wiederfindungsraten der Standardaddition betragen bei einer Säurekonzentration von 1 mol/L zwischen 109 und 131 %, bei einer Säurekonzentration von 2 bis 3 mol/L zwischen 95 und 101 %. Auch hier zeigt sich, dass eine Säurekonzentration von 1 mol/L für eine vollständige Hydrolyse der in den Biofilmen enthaltenen Proteine nicht ausreichend ist, da die Werte der Standardaddition zu hoch sind.

<u>Fazit:</u> Die Hydrolyse von Rinderserumalbumin sowie Biofilmen mit anschließender Standardaddition von BSA haben gezeigt, dass die Ausgleichsgeraden der Standardaddition jeweils erst ab einer Säurekonzentration von 2 mol/L nahezu durch den Ursprung des Koordinatensystems verlaufen und eine Konzentration von 1 mol/L folglich noch nicht ausreicht, um das Rinderserumalbumin bzw. die in den Biofilmen enthaltenen Proteine vollständig zu hydrolysieren. Somit sollte für die Hydrolyse von Biofilmen mindestens 2 molare Salzsäure verwendet werden, da erst dann gewährleistet ist, dass durch die Proteine keine Störung der photometrischen Kohlenhydratbestimmung mehr zu erwarten ist. Die Hydrolyse von Biofilmen hat auch gezeigt, dass eine Erhöhung der Säurekonzentration über 5 mol/L kaum noch eine Verringerung des Proteingehaltes bewirkt und daher nicht sinnvoll ist.

Weiterhin hat sich herausgestellt, dass eine Hydrolysedauer von 2 Stunden ausreichend ist, da eine Erhöhung der Hydrolysedauer bezüglich des Proteingehaltes kaum eine Verringerung bewirkt.

3.5.2.5.3. Hydrolyse von Stärke und Standardaddition mit Glucose

Um die Hydrolysebedingungen hinsichtlich der Kohlenhydrate zu bestimmen, wurden zunächst wässrige Lösungen aus Stärke mit Salzsäure der Konzentrationen 1 bis 10 mol/L versetzt und 2 Stunden auf 100°C erhitzt. Nach Abkühlung erfolgte eine Kohlenhydratbestimmung nach Dubois et al. [220]. Die Ergebnisse sind in Abbildung 36 dargestellt. Der erfasste Kohlenhydratgehalt nimmt mit zunehmender Säure-konzentration zunächst schwach und ab einer Säurekonzentration von 5 mol/L stark ab.



Abbildung 36: Kohlenhydratkonzentrationen nach Hydrolyse der Stärkelösungen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=4 dar).

Die Wiederfindungsraten sind in Tabelle 35 dargestellt. Sie betragen bei einer Säurekonzentration von 1 bis 5 mol/L zwischen 95 und 118 %, sinken jedoch ab einer Säurekonzentration von 6 mol/L auf 76 bis 55 %. Eine Hydrolyse bei Säurekonzentrationen über 5 mol/L ist somit nicht ratsam.

Tabelle 35: Wiederfindungsraten nach Hydrolyse von Stärkelösungen. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0.95 und n = 4 dar).

Konz. (HCl)	Sollkonz. (Stärke)	Ermittelte Kohlenhydrat-	Wiederfindungsrate
[mol/L]	[µg/mL]	Konzentration [µg/mL]	[%]
1	17,3	$20,3 \pm 0,5$	$117,7 \pm 2,6$
2	17,3	$17,1 \pm 0,6$	99,1 ± 3,5
3	17,3	$17,1 \pm 0,9$	$98,9 \pm 5,3$
4	17,3	$16,3 \pm 0,7$	$94,5 \pm 3,9$
5	17,3	$17,6 \pm 0,6$	$102,1 \pm 3,7$
6	17,3	$13,2 \pm 0,8$	$76,3 \pm 4,5$
7	17,3	$12,7 \pm 0,5$	$73,6 \pm 2,6$
8	17,3	$10,9 \pm 0,5$	$62,9 \pm 2,8$
9	17,3	$10,1 \pm 0,3$	$58,4 \pm 1,9$
10	17,3	$9,4 \pm 0,5$	54,5 ± 2,6

Anschließend wurde eine Standardaddition mit Glucose-Lösung durchgeführt. Die in Abbildung 37 dargestellten Ausgleichsgeraden für Säurekonzentrationen von 1 bis 3 mol/L verlaufen nahezu durch den Ursprung des Koordinatensystems. Die Abweichungen von Null sind kleiner als die Standardabweichungen der Einzelwerte voneinander.



Abbildung 37: Ausgleichsgeraden der Standardaddition mit Glucose-Lösung. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=4 dar).

Die Wiederfindungsraten der Standardaddition mit Glucose sind in Tabelle 36 dargestellt.

Tabelle 36: Wiederfindungsraten nach Standardaddition von Glucose-Lösung zu hydrolysierten Stärkelösungen. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95 und n = 4 dar).

Konz. (HCl) [mol/L]	Sollkonz. (KH [*])	Ermittelte Konz. (KH [*])	Wiederfindungsrate
1	34,0	28.8 ± 1.5	84.7 ± 4.5
1	50,7	$49,0 \pm 0,8$	$96,7 \pm 1,7$
1	67,5	$61,5 \pm 6,2$	91,2 ± 9,2
2	34,0	$32,9 \pm 2,0$	$96,8 \pm 5,9$
2	50,7	$45,2 \pm 1,1$	$89,2 \pm 2,2$
2	67,5	$62,3 \pm 1,0$	92,4 ± 1,5
3	34,0	35,7 ± 3,4	$105,1 \pm 10,1$
3	50,7	43,0 ± 2,5	84,9 ± 5,0
3	67,5	$61,8 \pm 2,4$	$91,7 \pm 3,5$
4	34,0	37,6 ± 3,8	$110,8 \pm 11,3$
4	50,7	45,8 ± 1,7	$90,3 \pm 3,3$
4	67,5	59,9 ± 0,5	$88,8\pm0,7$
5	34,0	$38,0 \pm 1,7$	$111,7 \pm 5,1$
5	50,7	$39,0 \pm 2,5$	$77,0 \pm 4,8$
5	67,5	57,6 ± 0,6	$85,4 \pm 0,9$
6	34,0	$34,3 \pm 1,8$	$101,0 \pm 5,4$
6	50,7	37,6 ± 2,6	74,1 ± 5,2
6	67,5	$60,2 \pm 2,5$	89,2 ± 3,7
7	34,0	$34,8 \pm 2,5$	$102,4 \pm 7,4$
7	50,7	38,1 ± 1,6	75,1 ± 3,2
7	67,5	56,0 ± 0,7	83,0 ± 1,0
8	34,0	31,1 ± 1,0	$91,7 \pm 3,0$
8	50,7	37,8 ± 1,5	$74,6 \pm 2,9$
8	67,5	51,8 ± 3,4	$76,8 \pm 5,1$
9	34,0	29,4 ± 0,5	$86,6 \pm 1,4$
9	50,7	$43,9 \pm 1,4$	$86,6 \pm 2,8$
9	67,5	61,0 ± 4,4	$90,4 \pm 6,6$
10	34,0	$32,8 \pm 3,4$	$96,4 \pm 9,9$
10	50,7	$36,3 \pm 2,8$	71,6 ± 5,4
10	67.5	534 + 54	792 + 80

^{*} KH: Kohlenhydrat

Die Wiederfindungsraten betragen bei einer Säurekonzentration von 1 bis 4 mol/L zwischen 85 und 111 %, sinken dann jedoch teilweise bis auf 72 %. Auch hier zeigt sich, dass eine Hydrolyse bei Säurekonzentrationen über 5 mol/L nicht ratsam ist.

3.5.2.5.4. Hydrolyse von Biofilm und Kohlenhydratbestimmung nach Dubois

Um zu überprüfen, ob die für Stärke ermittelten Hydrolysebedingungen auch auf die Hydrolyse der Kohlenhydrate in Biofilmen anwendbar sind, wurde eine bestimmte Menge Biofilm mittels Ultraschallsonde in Wasser suspendiert. Es wurde jeweils ein Teil dieser Biofilm-Lösungen mit Salzsäure der Konzentrationen 1 bis 10 mol/L versetzt und 2, 4 sowie 6 Stunden auf 100°C erhitzt. Nach Abkühlung erfolgte eine Kohlenhydratbestimmung nach Dubois et al. [220]. Die gemessenen Kohlenhydrat-konzentrationen sind in Abbildung 38 dargestellt.



Abbildung 38: Kohlenhydrat-Konzentrationen nach Hydrolyse der Biofilm-Lösungen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=4 dar).

Der erfasste Kohlenhydratgehalt der zwei Stunden hydrolysierten Biofilm-Lösungen nimmt mit zunehmender Säurekonzentration zunächst schwach und ab einer Säurekonzentration von 5 mol/L stark ab. Bei einer Hydrolysedauer von 4 bzw. 6 Stunden ist eine kontinuierliche Abnahme des Kohlenhydratgehalts erkennbar. Dies bedeutet, dass eine Erhöhung der Säurekonzentration über 5 mol/L nicht sinnvoll ist, da dann eine Störung der photometrischen Kohlenhydratbestimmung auftritt.

Daher wurden anschließend unterschiedliche Volumina der mittels 1, 2 und 3 molarer Salzsäure hydrolysierten Probenlösungen einer Kohlenhydratbestimmung nach Dubois et al. [220] unterzogen. Die Korrelationsgeraden sind zusammen mit der Korrelationsgeraden der nicht hydrolysierten Probenlösung in Abbildung 39 dargestellt.



Abbildung 39: Korrelationsgerade zwischen Volumen verwendeter Probenlösung und Kohlenhydratkonzentration, bestimmt nach Dubois et al. [220]. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=4 dar).

Im Gegensatz zur Korrelationsgeraden der nicht hydrolysierten Probenlösung verlaufen jene der hydrolysierten Lösungen, unabhängig von der Hydrolysedauer, nahezu durch den Ursprung des Koordinatensystems. Daher kann davon ausgegangen werden, dass der durch die Proteine verursachte systematische Fehler der photometrischen Kohlenhydratbestimmung durch die Hydrolyse der Biofilme beseitigt wurde.

<u>Fazit</u>: Die Hydrolyse von Stärke mit anschließender Standardaddition von Glucose hat gezeigt, dass die Wiederfindungsraten der Kohlenhydratgehalte bei einer Säurekonzentration über 4 mol/L beträchtlich abnehmen. Auch bei der Hydrolyse von Biofilmen zeigte sich oberhalb einer Säurekonzentration von 5 mol/L eine starke Abnahme des Kohlenhydratgehalts. Somit sollte für die Hydrolyse von Biofilmen maximal 4 molare Salzsäure verwendet werden, da oberhalb dieser Konzentration eine Störung der photometrischen Kohlenhydratbestimmung auftritt.

Weiterhin hat sich auch hier herausgestellt, dass eine Hydrolysedauer von 2 Stunden ausreichend ist, da die Korrelationsgeraden bereits ab dieser Zeit nahezu durch den Ursprung des Koordinatensystems verlaufen. Eine Erhöhung der Hydrolysedauer bewirkt diesbezüglich kaum eine Veränderung.

3.5.2.5.5. Gesamtfazit der Hydrolyse-Untersuchungen

Aus allen diesen Untersuchungen ergibt sich, dass für die Hydrolyse von Biofilmen mindestens 2 molare und maximal 4 molare Salzsäure verwendet werden sollte. Bei einer geringeren Säurekonzentration erfolgt keine vollständige Hydrolyse der Proteine, während bei einer höheren Säurekonzentration eine Störung der photometrischen Kohlenhydratbestimmung auftritt.

Alle Untersuchungen haben gezeigt, dass eine Hydrolysedauer von 2 Stunden ausreichend ist, eine weitere Erhöhung der Hydrolysedauer hat kaum Auswirkungen. Daher wurden die Biofilme im Folgenden durch Zugabe von Salzsäure der Konzentration 3 mol/L über einer Dauer von zwei Stunden hydrolysiert.

3.5.2.6. Vergleich der Kohlenhydratbestimmungen nach Dubois und Smith

Als Referenzmethode für die Kohlenhydratbestimmung nach Dubois et al. [220] wurde die Methode nach Smith et al. [221] eingesetzt. Ein Vergleich der beiden Methoden wurde mit vier Biofilmen durchgeführt. Nach Ablösung der Biofilme von den TRFA-Probenträgern mittels Ultraschallmikrosonde wurden die gewonnenen Lösungen zwei Stunden bei 100°C mit drei molarer Salzsäure hydrolysiert. Nach dem Abkühlen erfolgte mit einem Teil der Probenlösung eine Kohlenhydratbestimmung nach Dubois et al. [220]. Ein weiterer Teil der Probenlösung wurde mit 0,5 molarer Natronlauge neutralisiert und anschließend einer Kohlenhydratbestimmung nach Smith et al. [221] unterzogen. Tabelle 37 zeigt die Masse an Kohlenhydraten in den vier Biofilmen, jeweils nach der Methode von Dubois et al. [220] und Smith et al. [221] bestimmt, sowie die Ergebnisse des F- und t-Tests.

Tabelle 37: Vergleich der Masse an Kohlenhydraten in Biofilmen, bestimmt nach der Methode von Dubois et al. [220] und Smith et al. [221]. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95 und n = 4 dar).

Biofilm	Masse(Kohlenhy	Prüfgrößen		
	Methode nach Dubois	Methode nach Smith	F-Test ¹⁾	t-Test ²⁾
1	$26,30 \pm 2,00$	$24,02 \pm 1,29$	2,39	1,92
2	$68,16 \pm 3,43$	$66,63 \pm 2,53$	1,84	0,72
3	$27,09 \pm 1,94$	$28,51 \pm 1,19$	2,65	1,25
4	$28,13 \pm 2,00$	$25,46 \pm 1,66$	1,45	2,06

1) Prüfgröße zu vergleichen mit $F(f_1=3; f_2=3; P=0.95) = 9.28$

2) Prüfgröße zu vergleichen mit t(f=6; P=0.95) = 2.447

Ein Vergleich der beiden Methoden zur Kohlenhydratbestimmung zeigt, dass die ermittelten Werte der Prüfgrößen F und t kleiner sind als die in Tabellen [196, 197, 198] angegebenen Werte. Mit 95 % Aussagesicherheit sind danach keine signifikanten Unterschiede der Ergebnisse festzustellen. Die Schwankungsbreiten betragen bei der Methode nach Dubois et al. [220] zwischen 5 und 8 %, bei der Methode nach Smith et al. [221] zwischen 4 und 7 %, das heißt die Reproduzierbarkeit ist bei beiden Methoden gut.

3.5.2.7. Kohlenhydratmengen als Bezugsparameter

Die nach Dubois et al. [220] bestimmten absoluten Kohlenhydratmengen in jeweils sechs bereits in Kapitel 3.4. aufgeführten, zum gleichen Zeitpunkt entnommenen, bewachsenen TRFA-Probenträgern der Probennahmepunkte Wroclaw, Schwedt und Wittenberge sind in Tabelle 38 dargestellt. Die in ihnen direkt gemessenen absoluten Metallmengen wurden auf diese Kohlenhydratmengen bezogen und die hierbei erhaltenen Werte mittels einfacher Varianzanalyse verglichen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 39 bis 41 dargestellt.

Tabelle 38: Kohlenhydratmengen in je sechs unterschiedlichen Biofilmen der Probennahmepunkte Wroclaw (WR), Schwedt (SW) und Wittenberge (WI). Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95 und n=4 dar.

		Masse(Kohlenhydrate) _{absolut} [µg]							
	Biofilm								
	1	2	3	4	5	6			
WR	$16,13 \pm 0,77$	$20,78 \pm 0,37$	$7,062 \pm 0,333$	$19,12 \pm 0,69$	8,612 ± 0,394	$16,25 \pm 0,73$			
SW	22,61 ± 1,08	$20,72 \pm 0,93$	46,10 ± 1,89	$28,37 \pm 1,01$	$31,07 \pm 1,37$	$51,32 \pm 2,32$			
WI	32,85 ± 1,26	$23,53 \pm 0,78$	31,18 ± 1,37	45,68 ± 1,76	48,64 ± 1,95	58,17 ± 2,21			

Tabelle 39: Relative Gehalte in sechs unterschiedlichen Biofilmen vom Probennahmepunkt Wroclaw, die zum gleichen Zeitpunkt aus der Oder entnommen wurden. Als Bezugsgröße wurde die Kohlenhydratmenge der Biofilme verwendet. (Die angegebenen Schwankungsbreiten wurden durch Fehlerfortpflanzung aus den Zählratenfehlern der Einzelmessungen und den Vertrauensintervallen der Kohlenhydratmengen berechnet).

Element	Masse(Element	t)/Masse	(Kohlen	Bartlett-Test ¹⁾	Varianz-		
		Biofilm						analyse ²⁾
	1	2	3	4	5	6	χ^2	F
Al	695,4	447,5	575,4	591,3	656,6	647,9	3,07	8,96
	±36,3	±13,2	±29,5	±24,8	±33,0	±33,0		
Si	2253	1534	1897	2056	1987	2382	3,97	10,7
	±112	±34	±91	± 80	±93	±112		
K	199,2	153,1	151,6	175,6	168,3	204,7	3,70	8,71
	±9,8	±3,1	±7,2	±6,6	±7,8	±9,4		
Ca	157,6	121,2	140,2	133,1	118,6	161,0	3,82	8,68
	±7,7	±2,5	±6,7	±5,0	±5,5	±7,4		
Ti	51,52	45,91	40,44	47,56	44,79	55,92	3,05	6,98
	±2,53	±0,95	±1,92	±1,80	±2,08	±2,58		
V	1,316	1,292	0,963	1,192	1,200	1,433	2,12	7,94
	$\pm 0,068$	±0,033	±0,049	±0,048	$\pm 0,060$	±0,070		
Cr	1,723	1,481	1,403	1,257	1,408	1,694	2,09	6,58
	±0,089	±0,043	±0,072	±0,053	±0,070	±0,085		
Mn	198,0	222,7	199,7	175,9	185,5	251,8	2,75	9,91
	±9,7	±4,6	±9,5	±6,7	±8,6	±11,6		
Fe	494,1	462,1	381,7	433,2	429,4	514,4	2,83	6,25
	±24,2	±9,4	±18,1	±16,3	±19,9	±23,7		
Со	0,723	0,481	0,594	0,613	0,535	0,833	3,86	17,1
	±0,039	±0,014	±0,031	±0,025	±0,027	±0,042		
Ni	0,929	0,857	0,686	0,827	0,760	0,994	2,39	8,49
	±0,048	±0,021	±0,035	±0,033	±0,038	±0,048		
Cu	0,654	0,459	0,649	0,536	0,555	0,868	4,44	23,1
	±0,033	±0,012	±0,033	±0,020	±0,028	±0,041		
Zn	13,83	10,36	11,69	14,00	11,34	18,21	4,73	23,0
	±0,68	±0,21	±0,56	±0,53	±0,53	±0,84		
As	0,594	0,367	0,537	0,549	0,602	0,764	4,45	20,9
	±0,031	±0,010	±0,027	±0,023	$\pm 0,030$	±0,039		
Rb	1,547	1,374	1,143	1,384	1,305	1,595	2,70	7,23
	±0,077	±0,031	±0,056	±0,054	±0,062	±0,075		
Sr	2,539	2,112	1,991	2,242	2,021	3,082	3,84	16,3
	±0,126	±0,045	±0,096	±0,086	±0,096	±0,143		
Y	0,476	0,303	0,332	0,400	0,473	0,550	4,13	21,0
	±0,025	±0,009	±0,017	±0,017	±0,024	±0,027		
Ba	17,42	16,25	14,60	17,37	12,87	20,01	2,37	10,9
	±0,89	±0,40	±0,74	±0,71	±0,66	±0,97		
W	0,271	0,163	0,187	0,185	0,201	0,250	3,88	16,6
	±0,014	±0,005	±0,010	±0,008	±0,010	±0,013		
Pb	1,216	0,898	1,092	1,069	1,204	1,404	2,46	9,17
	±0,064	±0,029	±0,057	±0,045	±0,062	±0,070		

Element	Masse(Element	t)/Masse	(Kohlen	Bartlett-Test ¹⁾	Varianz-		
			Bio	film		analyse ²⁾		
	1	2	3	4	5	6	χ^2	F
Bi	0,070	0,043	0,061	0,058	0,055	0,074	3,75	13,7
	±0,004	±0,001	±0,003	±0,002	±0,003	$\pm 0,004$		
Th	0,270	0,223	0,211	0,208	0,201	0,301	2,71	12,9
	±0,014	±0,006	±0,011	±0,009	±0,010	±0,015		
U	0,081	0,072	0,052	0,061	0,070	0,087	2,54	14,6
	±0,004	±0,002	±0,003	±0,003	±0,004	$\pm 0,004$		

Tabelle 39: Fortsetzung

2) Prüfgröße zu vergleichen mit $F(f_1=5, f_2=1, P=0.95) = 230$

Tabelle 40: Relative Gehalte in sechs unterschiedlichen Biofilmen vom Probennahmepunkt Schwedt, die zum gleichen Zeitpunkt aus der Oder entnommen wurden. Als Bezugsgröße wurde die Kohlenhydratmenge der Biofilme verwendet. (Die angegebenen Schwankungsbreiten wurden durch Fehlerfortpflanzung aus den Zählratenfehlern der Einzelmessungen und den Vertrauensintervallen der Kohlenhydratmengen berechnet).

Element	Masse(Element	t)/Masse	(Kohlen	Bartlett-Test ¹⁾	Varianz-		
			Bio	film		analyse ²⁾		
	1	2	3	4	5	6	χ^2	F
Al	353,6	452,1	296,0	366,1	388,3	315,1	1,02	9,97
	±18,2	±22,2	±13,5	±15,0	±19,4	±15,8		
Si	1662	1923	1419	1730	1714	1301	0,66	9,34
	±81	±89	±64	±64	±79	±63		
K	71,03	97,28	77,41	78,55	91,36	77,08	0,69	7,08
	±3,46	±4,48	±3,47	±2,92	±4,22	±3,76		
Ca	508,1	484,9	464,5	457,8	558,9	371,4	0,80	8,40
	±24,6	±22,1	±20,4	±16,8	±25,4	±18,1		
Ti	20,42	28,11	23,94	22,66	24,72	23,50	0,61	5,38
	±1,00	±1,30	±1,08	±0,85	±1,14	±1,15		
V	0,610	0,821	0,752	0,698	0,818	0,810	0,59	5,61
	±0,032	±0,040	$\pm 0,034$	±0,028	±0,039	±0,039		
Cr	0,744	0,980	0,784	0,872	0,936	0,953	0,56	5,32
	±0,038	±0,047	±0,035	±0,035	±0,045	±0,047		
Mn	79,05	101,0	64,91	68,63	89,76	87,37	2,29	11,6
	±3,85	±5,6	±2,90	±2,55	±4,14	±4,25		
Fe	315,6	431,1	372,2	331,2	410,3	418,8	1,00	7,63
	±15,4	±19,8	±16,6	±12,3	±18,9	±20,4		
Со	0,215	0,267	0,178	0,161	0,187	0,163	1,71	17,9
	±0,011	±0,013	$\pm 0,008$	$\pm 0,007$	$\pm 0,009$	$\pm 0,008$		
Ni	0,475	0,664	0,532	0,463	0,596	0,607	1,01	8,37
	±0,025	±0,033	±0,024	±0,020	$\pm 0,030$	±0,030		
Cu	0,525	0,783	0,594	0,495	0,535	0,549	1,27	14,1
	±0,027	±0,038	±0,027	±0,020	±0,026	±0,027		

Element	Masse(Element	t)/Masse	(Kohlen	Bartlett-Test ¹⁾	Varianz-		
			Bio	film		analyse ²⁾		
	1	2	3	4	5	6	χ^2	F
Zn	7,614	10,40	8,689	7,324	9,616	10,24	1,30	10,0
	±0,371	±0,48	±0,389	±0,273	±0,444	±0,50		
As	0,303	0,456	0,345	0,299	0,401	0,397	1,29	12,2
	±0,016	±0,022	±0,016	±0,012	±0,019	±0,020		
Rb	0,625	0,846	0,793	0,643	0,825	0,859	1,00	8,19
	±0,032	±0,041	±0,036	±0,025	±0,040	±0,042		
Sr	1,822	2,042	1,591	1,714	2,229	1,644	0,92	8,55
	$\pm 0,089$	±0,095	±0,072	±0,064	±0,103	±0,080		
Y	0,266	0,274	0,280	0,235	0,241	0,241	0,47	2,63
	±0,013	±0,013	±0,013	±0,009	±0,012	±0,012		
Ba	6,265	7,095	7,208	5,785	7,097	7,345	0,66	3,69
	±0,324	±0,344	±0,328	±0,233	±0,340	±0,367		
W	0,166	0,231	0,191	0,163	0,192	0,164	0,95	8,75
	$\pm 0,009$	±0,011	$\pm 0,009$	±0,007	$\pm 0,009$	$\pm 0,008$		
Pb	0,905	1,250	1,092	0,962	1,161	1,280	0,91	7,65
	$\pm 0,049$	$\pm 0,064$	$\pm 0,050$	±0,041	±0,057	±0,065		
Bi	0,025	0,032	0,027	0,021	0,022	0,022	1,20	11,2
	$\pm 0,001$	$\pm 0,002$	±0,001	±0,001	$\pm 0,001$	±0,001		
Th	0,097	0,128	0,097	0,111	0,118	0,130	0,78	7,41
	$\pm 0,005$	$\pm 0,006$	±0,004	±0,004	±0,006	±0,006		
U		0,054	0,058	0,052	0,061		0,33	2,25
		±0,003	±0,003	±0,002	±0,003			

Tabelle 40: Fortsetzung

2) Prüfgröße zu vergleichen mit $F(f_1=5, f_2=1, P=0,95) = 230$

Tabelle 41: Relative Gehalte in sechs unterschiedlichen Biofilmen vom Probennahmepunkt Wittenberge, die zum gleichen Zeitpunkt aus der Elbe entnommen wurden. Als Bezugsgröße wurde die Kohlenhydratmenge der Biofilme verwendet. (Die angegebenen Schwankungsbreiten wurden durch Fehlerfortpflanzung aus den Zählratenfehlern der Einzelmessungen und den Vertrauensintervallen der Kohlenhydratmengen berechnet).

Element	Masse(Element	t)/Masse	(Kohlen	Bartlett-Test ¹⁾	Varianz-		
			Bio	film		analyse ²⁾		
	1	2	3	4	5	6	χ^2	F
Al	359,2	371,8	350,6	314,7	296,7	294,1	0,39	5,68
	±15,1	±13,9	±16,7	±13,4	±12,7	±12,3		
Si	1161	1348	1197	1034	974,7	941,6	0,45	11,7
	±46	±47	±54	±42	±40,4	±39,4		
K	62,19	66,24	55,17	58,31	57,43	66,11	0,12	3,52
	±2,51	±2,31	±2,52	±2,40	±2,40	±2,76		
Element	Masse(Element	t)/Masse	(Kohlen	hydrate)	[mg/g]	Bartlett-Test ¹⁾	Varianz-
---------	-------------	-------------	-------------	-------------	-------------	-------------	-----------------------------	-----------------------
			Bio	film				analyse ²⁾
	1	2	3	4	5	6	χ^2	F
Ca	208,6	218,2	196,8	211,3	180,8	237,1	0,34	5,06
	±8,3	±7,5	±8,9	±8,6	±7,5	±9,9		
Ti	16,95	17,75	12,50	15,61	13,33	13,57	0,18	12,3
	±0,68	±0,62	±0,57	±0,64	±0,57	±0,57		
V	0,588	0,592	0,610	0,655	0,633	0,707	0,39	2,87
	±0,024	±0,022	±0,029	±0,028	±0,027	±0,029		
Cr	0,279	0,463	0,301	0,394	0,290	0,326	0,69	24,5
	±0,012	±0,017	$\pm 0,014$	±0,017	±0,013	±0,014		
Mn	356,6	324,3	367,8	295,9	214,6	217,6	1,89	30,1
	±14,1	±11,1	±16,5	±11,9	$\pm 8,8$	±8,9		
Fe	260,3	265,3	298,9	312,2	256,0	298,7	0,64	4,28
	±10,5	±9,2	±13,6	±12,8	±10,7	±12,5		
Со	0,380	0,358	0,455	0,317	0,381	0,352	1,08	8,26
	±0,016	±0,013	±0,021	±0,013	±0,016	±0,015		
Ni	0,639	0,584	0,572	0,537	0,495	0,566	0,32	3,82
	±0,027	±0,022	$\pm 0,028$	±0,023	±0,021	±0,025		
Cu	0,692	0,822	0,752	0,680	0,613	0,724	0,37	5,51
	$\pm 0,029$	$\pm 0,030$	$\pm 0,036$	±0,029	$\pm 0,026$	$\pm 0,030$		
Zn	15,47	12,91	13,05	12,30	10,65	11,21	0,66	10,7
	±0,62	±0,45	±0,60	±0,51	±0,44	±0,47		
As	0,481	0,614	0,599	0,552	0,504	0,452	0,59	8,17
	$\pm 0,020$	±0,023	$\pm 0,028$	±0,023	±0,023	±0,019		
Rb	0,569	0,607	0,498	0,569	0,465	0,499	0,12	5,82
	±0,024	±0,022	$\pm 0,024$	±0,024	$\pm 0,020$	±0,022		
Sr	1,436	1,422	1,472	1,569	1,348	1,639	0,45	2,99
	$\pm 0,058$	$\pm 0,050$	$\pm 0,067$	$\pm 0,064$	$\pm 0,056$	$\pm 0,069$		
Y	0,140	0,186	0,194	0,219	0,156	0,203	0,99	14,3
	$\pm 0,006$	$\pm 0,007$	$\pm 0,009$	$\pm 0,009$	$\pm 0,007$	$\pm 0,009$		
Ba	5,964	5,980	6,259	6,286	4,652	5,445	0,56	6,65
	±0,239	±0,219	±0,291	±0,261	$\pm 0,198$	±0,231		
W	0,234	0,252	0,175	0,190	0,162	0,197	0,44	16,6
	±0,010	±0,010	$\pm 0,008$	$\pm 0,008$	$\pm 0,007$	$\pm 0,008$		
Hg	0,052	0,076	0,082	0,068	0,053	0,059	1,30	19,8
	$\pm 0,002$	±0,003	$\pm 0,004$	±0,003	$\pm 0,002$	$\pm 0,002$		
T1	0,116	0,117	0,113	0,075	0,078	0,088	1,14	22,5
	$\pm 0,005$	$\pm 0,004$	$\pm 0,005$	±0,003	$\pm 0,003$	$\pm 0,004$		
Pb	0,820	0,869	0,942	1,017	0,781	1,076	0,66	8,62
	±0,033	±0,033	±0,045	±0,042	±0,034	±0,045		
Bi	0,018	0,022	0,021	0,020	0,017	0,021	0,32	5,40
	±0,001	±0,001	±0,001	±0,001	±0,001	±0,001		
Th	0,202	0,246	0,214	0,226	0,162	0,160	0,78	16,8
	±0,008	±0,009	±0,010	±0,009	±0,007	±0,007		
U	0,038	0,042	0,030	0,034	0,028	0,036	0,32	12,4
	±0,002	±0,002	±0,001	±0,001	±0,001	±0,002		

Tabelle 41: Fortsetzung

2) Prüfgröße zu vergleichen mit $F(f_1=5, f_2=1, P=0.95) = 230$

Bei der Verwendung der absoluten Kohlenhydratmenge als Bezugsparameter ergab die Varianzanalyse, dass die ermittelten Werte der Prüfgröße F alle deutlich kleiner sind als der in Tabellen [196] angegebene Schwellenwert.

Somit existiert mit 95 prozentiger Sicherheit zwischen den ermittelten Werten kein statistisch signifikanter Unterschied und die sechs Messreihen eines Probennahmepunktes können zusammengefasst werden. Sie gehören einer gemeinsamen Grundgesamtheit an, was bedeutet, dass der Bezug von absoluten Metallmengen in Biofilmen auf die absolute Kohlenhydratmenge zulässig ist und diese somit als Bezugsparameter geeignet ist.

3.5.3. Schwefel- und Phosphormengen als Bezugsparameter

Für die Bestimmung der absoluten Kohlenhydratmenge als Bezugsparameter müssen die Biofilme zunächst von ihrer Unterlage entfernt werden, was zu Verlusten führen kann. Außerdem ist die Prozedur aufgrund der Isolierung und Hydrolyse der Biofilme sehr aufwändig und fehleranfällig.

Da die mit Mo-Anregung aufgenommenen TRFA-Spektren, wie Abbildung 15 zeigt, die Photopeaks der K-Strahlung von Schwefel und Phosphor gut auflösen, lag es nahe zu überprüfen, ob die aus dem TRFA-Spektrum bestimmbaren absoluten Schwefelbzw. Phosphormengen in den Biofilmen als Bezugsgrößen geeignet sind. Dies hätte den Vorteil, die Bezugsgrößen ohne Zusatzaufwand bei der direkten Bestimmung der Metalle mit zu erfassen.

Voraussetzung hierfür ist, dass Schwefel und Phosphor in den Biofilmen nur in der organischen Matrix aus Kohlenhydraten, Proteinen, Nukleotiden und Phospholipiden enthalten sind, da sie nur dann in der Lage sind, die Menge des Biofilms zu kennzeichnen.

3.5.3.1. Schwefelmengen als Bezugsparameter

Die absoluten Schwefelmengen der in Kapitel 3.4. bereits aufgeführten Biofilme dreier Probennahmepunkte sind in Tabelle 42 dargestellt. Die gemessenen absoluten Metallmengen wurden auf diese Schwefelmengen bezogen und die hierbei erhaltenen Werte mittels einfacher Varianzanalyse verglichen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 43 bis 45 dargestellt.

Tabelle 42: Schwefelmengen in je sechs unterschiedlichen Biofilmen der Probennahmepunkte Wroclaw (WR), Schwedt (SW) und Wittenberge (WI). Die angegebenen Schwankungsbreiten sind die Zählratenfehler der Einzelmessungen für P = 0,68.

	Masse(Schwefel) _{absolut} [µg]												
	Biofilm												
	1 2 3 4 5 6												
WR	$0,521 \pm 0,010$	$0,453 \pm 0,010$	$0,186 \pm 0,004$	$0,444 \pm 0,009$	$0,248 \pm 0,005$	$0,585 \pm 0,012$							
SW	$0,648 \pm 0,010$	$0,684 \pm 0,012$	$1,137 \pm 0,029$	$0,810 \pm 0,014$	$0,872 \pm 0,018$	$1,242 \pm 0,030$							
WI	$0,933 \pm 0,016$	$0,781 \pm 0,011$	$0,919 \pm 0,016$	$1,211 \pm 0,022$	$1,094 \pm 0,015$	$1,645 \pm 0,022$							

Tabelle 43: Relative Gehalte in sechs unterschiedlichen Biofilmen vom Probennahmepunkt Wroclaw, die zum gleichen Zeitpunkt aus der Oder entnommen wurden. Als Bezugsgröße wurde die Schwefelmenge der Biofilme verwendet. (Die angegebenen Schwankungsbreiten wurden durch Fehlerfortpflanzung aus den Zählratenfehlern der Einzelmessungen berechnet).

Element	Mas	sse(Elem	ent)/Ma	sse(Schv	lg∕g]	Bartlett-Test ¹⁾	Varianz-	
			Bio	film				analyse ²⁾
	1	2	3	4	5	6	χ^2	F
Al	21539	20529	21852	25478	22837	17989	0,32	14,7
	±601	±650	±615	±758	±676	±566		
Si	69780	70355	72047	88598	69126	66149	0,61	21,4
	± 1581	±1779	±1543	±2212	±1603	±1619		
Κ	6171	7022	5756	7565	5853	5683	0,81	29,2
	±130	±166	±119	±177	±130	±129		
Ca	4880	5562	5326	5734	4126	4472	0,70	31,3
	±103	±132	±110	±135	±92	±101		
Ti	1596	2106	1536	2049	1558	1553	1,18	45,5
	±34	±50	±32	±48	±35	±35		
V	40,75	59,28	36,57	51,36	41,75	39,78	1,01	45,4
	±1,12	±1,66	±1,03	±1,43	±1,21	±1,13		
Cr	53,37	67,96	53,29	54,15	48,98	47,03	0,87	20,7
	±1,44	±2,14	±1,50	±1,64	±1,42	±1,43		
Mn	6134	10217	7585	7580	6452	6992	1,52	70,4
	±131	±243	±159	±180	±146	±160		
Fe	15304	21200	14498	18662	14937	14283	1,38	56,3
	±321	±500	±298	±435	±329	±322		
Co	22,38	22,07	22,56	26,41	18,61	23,12	0,28	13,4
	±0,68	±0,68	±0,68	±0,76	±0,56	±0,70		
Ni	28,78	39,32	26,05	35,61	26,43	27,61	0,83	41,7
	±0,75	±1,06	±0,73	±0,98	±0,78	±0,75		
Cu	20,26	21,06	24,66	23,10	19,31	24,10	0,26	13,7
	±0,51	±0,62	±0,66	±0,56	±0,55	±0,62		
Zn	428,3	475,4	444,1	603,0	394,6	505,5	1,06	45,4
	±9,1	±11,3	±9,3	±14,2	±8,9	±11,5		
As	18,41	16,83	20,39	23,65	20,95	21,22	0,51	16,0
	±0,49	±0,52	±0,57	±0,69	±0,61	±0,65		
Rb	47,93	63,01	43,41	59,62	45,40	44,28	1,05	45,2
	±1,11	±1,59	±1,03	±1,50	±1,14	±1,10		
Sr	78,63	96,88	75,62	96,61	70,31	85,57	0,76	30,4
	±1,75	±2,37	±1,70	±2,37	±1,71	±2,02		
Y	14,75	13,89	12,59	17,23	16,45	15,27	0,40	14,7
	±0,40	±0,42	±0,37	±0,50	±0,50	±0,43		
Ba	539,6	745,5	554,4	748,4	447,7	555,5	1,18	52,2
	±13,8	±20,4	±14,8	±21,2	±14,0	±15,1		
W	8,390	7,475	7,098	7,953	6,987	6,941	0,08	7,13
	±0,230	±0,229	±0,210	±0,232	±0,212	±0,208		
Pb	37,65	41,21	41,46	46,04	41,89	38,98	0,37	5,11
	±1,07	±1,43	±1,25	±1,39	±1,31	±1,15		

Element	Mas	sse(Elem	ent)/Ma	sse(Schv	vefel) [m	g/g]	Bartlett-Test ¹⁾	Varianz-
			Bio	film		analyse ²⁾		
	1	2	3	4	6	χ^2	F	
Bi	2,178	1,982	2,332	2,487	1,926	2,046	0,21	11,3
	±0,060	±0,061	$\pm 0,071$	±0,072	$\pm 0,060$	±0,063		
Th	8,348	10,225	8,016	8,975	6,985	8,356	0,61	18,2
	±0,229	±0,314	±0,234	±0,266	±0,212	±0,243		
U	2,499	3,318	1,974	2,616	2,431	2,413	0,92	32,9
	±0,069	±0,102	±0,062	±0,076	±0,073	±0,072		

Tabelle 43: Fortsetzung

2) Prüfgröße zu vergleichen mit $F(f_1=5, f_2=1, P=0.95) = 230$

Tabelle 44: Relative Gehalte in sechs unterschiedlichen Biofilmen vom Probennahmepunkt Schwedt, die zum gleichen Zeitpunkt aus der Oder entnommen wurden. Als Bezugsgröße wurde die Schwefelmenge der Biofilme verwendet. (Die angegebenen Schwankungsbreiten wurden durch Fehlerfortpflanzung aus den Zählratenfehlern der Einzelmessungen berechnet).

Element	Ma	sse(Elem	ent)/Ma	sse(Schv	ig/g]	Bartlett-Test ¹⁾	Varianz-	
			Bio	film				analyse ²⁾
	1	2	3	4	5	6	χ^2	F
Al	12331	13697	12005	12827	13833	13018	0,55	3,70
	±302	±366	±389	±335	±433	±421		
Si	57952	58244	57525	60601	61054	53765	1,35	3,38
	±1032	±1193	± 1801	±1206	±1509	±1630		
K	2477	2947	3139	2752	3255	3184	2,96	15,8
	±44	±60	±98	±55	±80	±96		
Ca	17716	14692	18837	16040	19913	15344	2,54	25,2
	±300	±286	±566	±303	±466	±462		
Ti	711,8	851,5	970,7	793,9	880,7	970,8	3,43	20,4
	±12,9	±17,6	±30,5	±16,0	±22,0	±29,5		
V	21,28	24,88	30,50	24,47	29,15	33,46	1,88	33,6
	±0,55	±0,63	±0,95	±0,60	±0,80	±1,01		
Cr	25,93	29,68	31,81	30,55	33,35	39,37	1,77	24,2
	±0,64	±0,73	±1,01	±0,78	±0,94	±1,24		
Mn	2756	3666	2632	2405	3198	3610	2,94	48,0
	±49	±74	±82	±47	±78	±109		
Fe	11003	13060	15094	11606	14620	17305	4,56	42,8
	±194	±265	±469	±229	±358	±521		
Co	7,513	8,089	7,227	5,646	6,647	6,724	0,81	18,0
	±0,171	±0,206	$\pm 0,240$	±0,151	±0,191	±0,216		
Ni	16,57	20,11	21,59	16,24	21,25	25,06	1,77	28,7
	±0,43	±0,56	±0,71	±0,46	±0,68	±0,80		
Cu	18,32	23,71	24,09	17,33	19,06	22,67	1,82	25,4
	±0,42	±0,58	±0,77	±0,44	±0,53	±0,71		

Element	Mas	sse(Elem	ent)/Ma	sse(Schv	vefel) [m	g/g]	Bartlett-Test ¹⁾	Varianz-
			Bio	film				analyse ²⁾
	1	2	3	4	5	6	χ^2	F
Zn	265,5	315,0	352,4	256,6	342,6	422,9	4,78	51,1
	±4,7	±6,4	±11,0	±5,1	±8,5	±12,8		
As	10,56	13,83	13,99	10,48	14,28	16,42	2,10	35,5
	±0,26	±0,36	±0,45	±0,28	±0,41	±0,52		
Rb	21,80	25,63	32,16	22,52	29,39	35,51	3,45	46,2
	±0,48	±0,62	±1,04	±0,54	±0,82	±1,10		
Sr	63,54	61,87	64,51	60,05	79,40	67,92	2,20	17,3
	±1,17	±1,30	±2,03	±1,23	±1,99	±2,07		
Y	9,279	8,309	11,35	8,219	8,569	9,949	2,00	21,1
	±0,189	±0,223	±0,37	±0,207	±0,240	±0,306		
Ba	218,5	215,0	292,3	202,7	252,8	303,5	2,54	34,2
	±5,4	±5,5	±9,4	±5,1	±7,0	±9,8		
W	5,804	6,987	7,743	5,728	6,833	6,779	1,68	16,4
	±0,136	±0,181	±0,254	±0,140	±0,192	±0,205		
Pb	31,54	37,87	44,28	33,72	41,38	52,87	1,93	36,8
	±0,91	±1,14	±1,42	±0,98	±1,22	±1,79		
Bi	0,887	0,956	1,096	0,731	0,798	0,898	1,54	23,6
	±0,022	±0,025	±0,036	±0,019	±0,023	±0,028		
Th	3,365	3,884	3,938	3,888	4,200	5,369	2,17	33,9
	±0,076	±0,095	±0,125	±0,098	±0,118	±0,164		
U		1,643	2,333	1,813	2,163		1,24	29,1
		±0,043	±0,076	±0,047	±0,062			

Tabelle 44: Fortsetzung

2) Prüfgröße zu vergleichen mit $F(f_1=5, f_2=1, P=0,95) = 230$

Tabelle 45: Relative Gehalte in sechs unterschiedlichen Biofilmen vom Probennahmepunkt Wittenberge, die zum gleichen Zeitpunkt aus der Elbe entnommen wurden. Als Bezugsgröße wurde die Schwefelmenge der Biofilme verwendet. (Die angegebenen Schwankungsbreiten wurden durch Fehlerfortpflanzung aus den Zählratenfehlern der Einzelmessungen berechnet).

Element	Ma	sse(Elem	ent)/Ma	sse(Schv	vefel) [m	ig/g]	Bartlett-Test ¹⁾	Varianz-
			Bio	film				analyse ²⁾
	1	2	3	4	5	6	χ^2	F
Al	12643	11198	11900	11871	13187	10403	0,38	12,8
	±303	±250	±296	±307	±267	±233		
Si	40871	40609	40647	39004	43316	33304	0,21	18,2
	±830	±710	±836	±879	±756	±743		
K	2189	1995	1873	2200	2552	2338	0,60	28,3
	±46	±36	±40	±51	±46	±52		
Ca	7342	6572	6681	7972	8034	8387	0,97	24,8
	±148	±113	±136	±178	±139	±185		

Element	Mas	sse(Elem	ent)/Ma	sse(Schv	vefel) [m	g/g]	Bartlett-Test ¹⁾	Varianz-
			Bio	film				analyse ²⁾
	1	2	3	4	5	6	χ^2	F
Ti	596,6	534,7	424,3	588,9	592,2	480,1	0,69	40,2
	±12,3	±9,5	±9,0	±13,4	±11,6	±10,7		
V	20,69	17,83	20,70	24,72	28,12	25,01	0,88	50,6
	±0,47	±0,38	±0,53	±0,63	±0,58	±0,54		
Cr	9,802	13,94	10,22	14,86	12,89	11,52	0,94	48,8
	±0,250	±0,31	±0,24	±0,38	±0,27	±0,26		
Mn	12550	9768	12485	11163	9537	7695	1,54	85,8
	±242	±162	±244	±238	±158	±156		
Fe	9161	7992	10146	11776	11374	10563	1,34	44,1
	±190	±142	±213	±272	±203	±232		
Со	13,37	10,78	15,43	11,95	16,92	12,46	0,88	55,9
	±0,29	±0,23	±0,37	±0,27	±0,36	±0,30		
Ni	22,49	17,58	19,42	20,26	22,00	20,01	0,35	12,3
	±0,56	±0,42	±0,52	±0,56	±0,47	±0,51		
Cu	24,36	24,77	25,53	25,65	27,24	25,62	0,34	2,83
	±0,58	±0,51	±0,67	±0,65	±0,54	±0,56		
Zn	544,4	388,8	443,1	463,8	473,2	396,4	0,90	37,1
	±11,3	±6,9	±9,3	±10,8	±8,5	±8,8		
As	16,92	18,49	20,35	20,82	22,40	15,98	0,92	27,9
	±0,41	±0,43	±0,49	±0,50	±0,58	±0,35		
Rb	20,02	18,30	16,89	21,48	20,69	17,66	0,37	15,6
	±0,47	±0,39	±0,43	±0,54	±0,47	±0,45		
Sr	50,53	42,83	49,97	59,18	59,92	57,96	1,10	36,4
	±1,05	±0,78	±1,06	±1,35	±1,06	±1,32		
Y	4,921	5,588	6,589	8,268	6,953	7,192	1,22	58,9
	±0,122	±0,125	±0,153	±0,205	±0,141	±0,169		
Ba	209,9	180,1	212,4	237,1	206,7	192,6	0,65	17,9
	±4,3	±3,8	±4,9	±5,7	±4,1	±4,5		
W	8,220	7,579	5,936	7,176	7,182	6,977	0,47	20,5
	±0,196	±0,175	±0,136	±0,154	±0,172	±0,157		
Hg	1,838	2,300	2,795	2,547	2,365	2,103	0,80	39,6
	±0,042	$\pm 0,049$	$\pm 0,061$	±0,065	±0,051	$\pm 0,047$		
Tl	4,079	3,510	3,830	2,816	3,479	3,112	0,36	35,9
	±0,091	$\pm 0,074$	$\pm 0,080$	$\pm 0,070$	$\pm 0,076$	$\pm 0,068$		
Pb	28,86	26,18	31,99	38,35	34,70	38,06	0,75	41,0
	±0,63	±0,61	±0,78	±0,91	±0,79	±0,86		
Bi	0,620	0,664	0,701	0,755	0,759	0,745	0,14	10,7
	±0,016	±0,016	±0,018	±0,019	±0,017	±0,017		
Th	7,096	7,399	7,263	8,525	7,184	5,659	0,83	32,3
	±0,155	±0,155	±0,166	±0,207	±0,144	±0,127		
U	1,348	1,269	1,030	1,290	1,248	1,288	0,43	14,8
	±0,032	±0,029	±0,025	±0,033	±0,025	±0,029		

Tabelle 45: Fortsetzung

2) Prüfgröße zu vergleichen mit $F(f_1=5, f_2=1, P=0.95) = 230$

Die Varianzanalyse ergab, dass die ermittelten Werte der Prüfgröße F alle deutlich kleiner sind als der in Tabellen [196] angegebene Schwellenwert.

Somit existiert mit 95 prozentiger Sicherheit zwischen den ermittelten Werten kein statistisch signifikanter Unterschied und die sechs Messreihen eines Probennahmepunktes können zusammengefasst werden. Sie gehören einer gemeinsamen Grundgesamtheit an, was bedeutet, dass der Bezug von absoluten Metallmengen in Biofilmen auf die absolute Schwefelmenge zulässig ist und diese somit als Bezugsparameter geeignet ist.

3.5.3.2. Phosphormengen als Bezugsparameter

Die absoluten Phosphormengen der in Kapitel 3.4. bereits aufgeführten Biofilme dreier Probennahmepunkte sind in Tabelle 46 dargestellt. Die gemessenen absoluten Metallmengen wurden auf diese Phosphormengen bezogen und die hierbei erhaltenen Werte mittels einfacher Varianzanalyse verglichen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 47 bis 49 dargestellt.

Tabelle 46: Phosphormengen in je sechs unterschiedlichen Biofilmen der Probennahmepunkte Wroclaw (WR), Schwedt (SW) und Wittenberge (WI). Die angegebenen Schwankungsbreiten sind die Zählratenfehler der Einzelmessungen für P = 0,68.

	Masse(Phosphor) _{absolut} [µg]											
	Biofilm											
	1 2 3 4 5 6											
WR	$0,443 \pm 0,021$	$0,497 \pm 0,021$	$0,180 \pm 0,008$	$0,481 \pm 0,020$	$0,265 \pm 0,012$	$0,466 \pm 0,021$						
SW	$0,673 \pm 0,020$	$0,724 \pm 0,024$	$1,116 \pm 0,052$	$0,690 \pm 0,026$	$0,862 \pm 0,035$	$1,422 \pm 0,055$						
WI	$0,946 \pm 0,027$	$0,744 \pm 0,021$	$0,895 \pm 0,026$	$1,333 \pm 0,038$	$1,055 \pm 0,027$	$1,512 \pm 0,036$						

Tabelle 47: Relative Gehalte in sechs unterschiedlichen Biofilmen vom Probennahmepunkt Wroclaw, die zum gleichen Zeitpunkt aus der Oder entnommen wurden. Als Bezugsgröße wurde die Phosphormenge der Biofilme verwendet. (Die angegebenen Schwankungsbreiten wurden durch Fehlerfortpflanzung aus den Zählratenfehlern der Einzelmessungen berechnet).

Element	Mas	se(Elem	ent)/Ma	sse(Phos	phor) [n	ng/g]	Bartlett-Test ¹⁾	Varianz-
			Bio	film				analyse ²⁾
	1	2	3	4	5	6	χ^2	F
Al	25304	18726	22585	23489	21338	22604	0,45	3,86
	±1314	±912	±1143	±1114	±1032	±1176		
Si	81978	64176	74463	81685	64590	83121	0,66	6,20
	±4040	±2875	±3516	±3642	±2890	±3999		
K	7249	6405	5949	6975	5469	7142	0,56	5,64
	±352	±281	±279	±305	±242	±337		
Ca	5733	5073	5505	5287	3855	5619	0,85	8,23
	±279	±223	±258	±231	±171	±265		
Ti	1875	1921	1587	1889	1456	1951	0,52	6,29
	±91	±84	±75	±83	±65	±92		
V	47,87	54,07	37,79	47,36	39,01	49,99	0,53	7,94
	±2,47	±2,51	±1,91	±2,19	±1,87	±2,51		
Cr	62,70	61,99	55,08	49,93	45,76	59,10	0,65	5,95
	±3,22	±3,01	±2,79	±2,38	±2,19	±3,04		
Mn	7206	9320	7839	6989	6029	8785	0,83	11,5
	±351	±410	±369	±307	±268	±416		
Fe	17979	19338	14984	17206	13956	17948	0,53	6,81
	±873	± 848	±702	±752	±616	±847		
Со	26,29	20,14	23,31	24,35	17,39	29,06	1,33	12,3
	±1,40	±0,97	±1,21	±1,14	±0,85	±1,49		
Ni	33,81	35,86	26,92	32,83	24,70	34,70	0,61	8,77
	±1,72	±1,64	±1,36	±1,51	±1,19	±1,72		
Cu	23,80	19,21	25,48	21,30	18,04	30,28	1,43	15,9
	±1,20	±0,91	±1,27	±0,94	±0,86	±1,48		
Zn	503,1	433,7	458,9	556,0	368,7	635,2	1,33	16,7
	±24,5	±19,1	±21,6	±24,4	±16,4	±30,0		
As	21,63	15,35	21,07	21,81	19,57	26,66	1,22	11,9
	±1,11	±0,74	±1,07	±1,02	±0,94	±1,38		
Rb	56,31	57,48	44,87	54,96	42,42	55,65	0,54	7,09
	±2,79	±2,57	±2,17	±2,46	±1,94	±2,69		
Sr	92,38	88,37	78,16	89,07	65,70	107,52	0,99	11,8
	±4,54	±3,92	±3,73	±3,95	±2,98	±5,13		
Y	17,32	12,67	13,01	15,89	15,37	19,18	0,89	10,2
	±0,89	±0,61	±0,67	±0,75	±0,75	±0,96		
Ва	633,9	680,0	572,9	690,0	418,3	698,0	0,87	12,6
	±32,1	±31,3	±28,5	±32,1	±20,7	±34,6		
W	9,857	6,819	7,336	7,332	6,528	8,722	1,10	10,5
	±0,509	±0,327	±0,377	±0,345	±0,319	±0,446		
Pb	44,23	37,59	42,85	42,44	39,14	48,98	0,35	3,45
	±2,31	±1,91	±2,22	±2,03	±1,93	±2,49		

Element	Mas	sse(Elem	ent)/Mas	sse(Phos	phor) [n	ng/g]	Bartlett-Test ¹⁾	Varianz-
			Bio	film				analyse ²⁾
	1	2	3	4	6	χ^2	F	
Bi	2,559	1,808	2,410	2,293	1,800	2,571	1,06	9,61
	±0,132	±0,087	±0,125	±0,108	±0,089	±0,133		
Th	9,808	9,327	8,284	8,274	6,527	10,50	0,97	10,1
	±0,507	$\pm 0,448$	±0,424	±0,392	±0,319	±0,53		
U	2,935	3,027	2,040	2,411	2,272	3,032	0,88	10,7
	±0,152	±0,145	±0,107	±0,113	±0,111	±0,155		

Tabelle 47: Fortsetzung

2) Prüfgröße zu vergleichen mit $F(f_1=5, f_2=1, P=0,95) = 230$

Tabelle 48: Relative Gehalte in sechs unterschiedlichen Biofilmen vom Probennahmepunkt Schwedt, die zum gleichen Zeitpunkt aus der Oder entnommen wurden. Als Bezugsgröße wurde die Phosphormenge der Biofilme verwendet. (Die angegebenen Schwankungsbreiten wurden durch Fehlerfortpflanzung aus den Zählratenfehlern der Einzelmessungen berechnet).

Element	Mas	se(Elem	ent)/Mas	sse(Phos	phor) [n	ng/g]	Bartlett-Test ¹⁾	Varianz-
			Bio	film				analyse ²⁾
	1	2	3	4	5	6	χ^2	F
Al	11873	12942	12233	15055	13989	11374	0,87	6,14
	±421	±501	±619	±636	±649	±500		
Si	55801	55037	58618	71129	61739	46974	1,39	11,5
	±1743	±1908	±2926	±2753	±2610	±1995		
Κ	2385	2785	3199	3230	3292	2782	2,01	8,50
	±75	±96	±160	±125	±139	±118		
Ca	17058	13883	19195	18826	20137	13406	2,24	16,6
	±525	±473	±943	±719	±836	±568		
Ti	685,4	804,6	989,2	931,8	890,6	848,2	2,25	8,76
	±21,5	±28,0	±49,5	±36,2	±37,8	±36,1		
V	20,49	23,51	31,08	28,72	29,48	29,23	1,94	12,2
	±0,75	±0,89	±1,55	±1,19	±1,29	±1,24		
Cr	24,96	28,05	32,41	35,86	33,72	34,40	1,58	9,39
	±0,89	±1,04	±1,62	±1,50	±1,49	±1,49		
Mn	2654	3464	2682	2822	3234	3154	0,97	7,51
	±83	±120	±134	±109	±136	±134		
Fe	10595	12341	15381	13622	14784	15119	2,53	10,8
	±330	±426	±766	±526	±623	±640		
Со	7,234	7,644	7,364	6,626	6,721	5,875	0,71	4,67
	±0,248	±0,289	±0,377	±0,282	$\pm 0,300$	±0,257		
Ni	15,95	19,00	22,00	19,06	21,49	21,90	1,51	7,04
	±0,58	±0,75	±1,12	±0,83	±1,01	±0,96		
Cu	17,64	22,40	24,55	20,34	19,27	19,80	1,57	7,58
	±0,61	±0,83	±1,23	±0,85	±0,85	±0,85		

Element	Mas	se(Elem	ent)/Ma	sse(Phos	phor) [n	ng/g]	Bartlett-Test ¹⁾	Varianz-
			Bio	film				analyse ²⁾
	1	2	3	4	5	6	χ^2	F
Zn	255,6	297,7	359,1	301,2	346,4	369,5	2,46	10,7
	±8,0	±10,3	±17,9	±11,7	±14,6	±15,7		
As	10,17	13,07	14,25	12,30	14,44	14,35	1,62	8,47
	±0,36	±0,50	±0,72	±0,52	±0,64	±0,62		
Rb	20,99	24,22	32,77	26,44	29,72	31,02	2,58	13,7
	±0,71	±0,90	±1,66	±1,08	±1,32	±1,33		
Sr	61,18	58,47	65,74	70,48	80,29	59,34	1,61	9,44
	±1,93	±2,05	±3,29	±2,75	±3,41	±2,53		
Y	8,934	7,851	11,56	9,647	8,665	8,693	2,02	10,2
	±0,293	$\pm 0,304$	±0,58	±0,402	±0,384	$\pm 0,372$		
Ba	210,3	203,1	297,9	237,9	255,7	265,1	2,11	10,8
	±7,5	±7,7	±15,0	±9,9	±11,3	±11,6		
W	5,588	6,602	7,890	6,723	6,909	5,923	1,80	7,88
	±0,194	±0,252	$\pm 0,402$	±0,277	±0,306	±0,251		
Pb	30,37	35,79	45,12	39,58	41,84	46,20	1,62	10,9
	±1,17	±1,47	±2,28	±1,75	±1,89	±2,08		
Bi	0,854	0,904	1,117	0,858	0,807	0,784	1,68	9,46
	$\pm 0,030$	±0,035	$\pm 0,057$	±0,036	±0,036	$\pm 0,034$		
Th	3,240	3,670	4,012	4,563	4,247	4,691	1,60	9,93
	±0,111	±0,136	±0,201	±0,190	±0,188	±0,200		
U		1,553	2,377	2,128	2,187		1,41	14,1
		±0,060	±0,121	±0,090	±0,098			

Tabelle 48: Fortsetzung

2) Prüfgröße zu vergleichen mit $F(f_1=5, f_2=1, P=0.95) = 230$

Tabelle 49: Relative Gehalte in sechs unterschiedlichen Biofilmen vom Probennahmepunkt Wittenberge, die zum gleichen Zeitpunkt aus der Elbe entnommen wurden. Als Bezugsgröße wurde die Phosphormenge der Biofilme verwendet. (Die angegebenen Schwankungsbreiten wurden durch Fehlerfortpflanzung aus den Zählratenfehlern der Einzelmessungen berechnet).

Element	Mas	se(Elem	ent)/Ma	sse(Phos	phor) [n	ng/g]	Bartlett-Test ¹⁾	Varianz-
			Bio	film				analyse ²⁾
	1	2	3	4	5	6	χ^2	F
Al	12481	11763	12211	10786	13674	11314	0,20	6,72
	±418	±386	±415	±367	±402	±336		
Si	40345	42658	41710	35441	44918	36222	0,17	9,44
	±1252	±1268	±1293	±1119	±1237	±1073		
K	2161	2096	1922	1999	2646	2543	0,24	19,4
	± 68	±63	± 60	±64	±74	±75		
Ca	7247	$\pm 68 \pm 63$ 7247 6904		7244	8331	9122	0,28	15,9
	±224	±204	±212	±228	±229	±268		

Element	Mas	se(Elem	ent)/Ma	sse(Phos	phor) [n	ng/g]	Bartlett-Test ¹⁾	Varianz-
			Bio	film				analyse ²⁾
-	1	2	3	4	5	6	χ^2	F
Ti	588,9	561,7	435,4	535,1	614,1	522,1	0,33	14,2
	±18,4	±16,8	±13,7	±17,0	±17,8	±15,5		
V	20,42	18,73	21,24	22,46	29,16	27,21	0,48	30,5
	±0,67	±0,60	±0,73	±0,76	±0,86	±0,79		
Cr	9,676	14,64	10,49	13,50	13,37	12,53	0,64	22,4
	$\pm 0,335$	±0,48	±0,35	±0,46	±0,40	±0,37		
Mn	12389	10261	12811	10143	9890	8370	1,10	27,5
	±376	±300	±389	±312	±267	±235		
Fe	9043	8396	10411	10700	11795	11488	0,42	18,4
	±283	±251	±326	±342	±328	±338		
Со	13,20	11,32	15,83	10,85	17,55	13,56	0,96	34,5
	±0,42	±0,37	±0,53	±0,34	±0,53	±0,42		
Ni	22,20	18,46	19,93	18,41	22,82	21,76	0,14	7,85
	±0,76	±0,63	±0,70	±0,65	±0,69	±0,70		
Cu	24,05	26,02	26,19	23,31	28,24	27,86	0,09	5,71
	±0,80	±0,82	±0,92	±0,78	±0,82	±0,82		
Zn	537,4	408,4	454,7	421,4	490,7	431,1	0,40	12,2
	±16,8	±12,2	±14,2	±13,5	±13,7	±12,7		
As	16,70	19,43	20,88	18,91	23,23	17,38	0,68	13,8
	±0,56	±0,65	±0,70	±0,62	±0,78	±0,51		
Rb	19,76	19,22	17,34	19,52	21,45	19,21	0,07	4,29
	±0,66	±0,62	±0,59	±0,66	±0,67	±0,61		
Sr	49,88	44,99	51,28	53,78	62,13	63,04	0,36	18,6
	±1,56	±1,36	±1,61	±1,71	±1,72	±1,89		
Y	4,858	5,870	6,761	7,513	7,210	7,823	0,64	27,0
	±0,166	±0,193	±0,222	±0,250	±0,212	±0,239		
Ba	207,2	189,2	218,0	215,5	214,4	209,4	0,14	2,55
	±6,5	±6,0	±7,1	±7,0	±6,2	±6,4		
W	8,114	7,962	6,091	6,520	7,448	7,588	0,53	11,8
	±0,271	±0,266	±0,198	±0,201	±0,239	±0,226		
Hg	1,814	2,417	2,868	2,314	2,452	2,287	0,62	20,2
	±0,059	±0,078	±0,092	±0,078	±0,074	±0,068		
Tl	4,026	3,687	3,930	2,559	3,607	3,385	0,70	22,4
	±0,131	±0,118	±0,123	±0,085	±0,110	±0,099		
Pb	28,49	27,51	32,82	34,85	35,99	41,39	0,42	22,7
	±0,91	±0,92	±1,10	±1,13	±1,12	±1,23		
Bi	0,612	0,698	0,719	0,686	0,787	0,810	0,11	9,26
	±0,021	±0,024	±0,025	±0,023	±0,025	±0,025		
Th	7,005	7,772	7,453	7,746	7,450	6,155	0,41	7,04
	±0,225	±0,248	±0,243	±0,254	±0,218	±0,183		
U	1,330	1,333	1,057	1,172	1,294	1,401	0,24	9,79
	±0,044	±0,044	±0,035	±0,039	±0,038	±0,042		·

Tabelle 49: Fortsetzung

2) Prüfgröße zu vergleichen mit $F(f_1=5, f_2=1, P=0,95) = 230$

Die Varianzanalyse ergab auch hier, dass die ermittelten Werte der Prüfgröße F alle deutlich kleiner sind als der in Tabellen [196] angegebene Schwellenwert.

Somit existiert auch bei der absoluten Phosphormenge als Bezugsparameter mit 95 prozentiger Sicherheit zwischen den ermittelten Werten kein statistisch signifikanter Unterschied und die sechs Messreihen eines Probennahmepunktes können zusammengefasst werden. Sie gehören einer gemeinsamen Grundgesamtheit an, was bedeutet, dass der Bezug von absoluten Metallmengen in Biofilmen auf die absolute Phosphormenge zulässig ist und diese somit als Bezugsparameter geeignet ist.

3.5.4. Korrelationsanalysen

Zur Absicherung dieser Ergebnisse wurden bivariate Korrelationsanalysen aller als Bezugsgrößen in Frage kommenden Parameter sämtlicher Probennahmepunkte durchgeführt. Sowohl bei den Oder- als auch bei den Elbe-Biofilmen ergab sich keine Korrelation der Trockenmasse mit den Kohlenhydrat-, Schwefel- und Phosphormengen. Dies ist in Abbildung 40 und 42 dargestellt.

Im Gegensatz dazu ist anhand der in Abbildung 41 und 43 dargestellten Korrelationsgeraden klar erkennbar, dass sowohl bei den Oder- als auch bei den Elbe-Biofilmen die drei Bezugsparameter Kohlenhydrat-, Schwefel- und Phosphormenge hochsignifikant miteinander korrelieren. Die Korrelation der Kohlenhydrat- mit der Schwefelmenge ergab bei den Oder-Biofilmen einen Korrelationskoeffizienten von 0,96, bei den Elbe-Biofilmen einen Korrelationskoeffizienten von 0,98. Für P = 0,99 und f = 80 beträgt der Prüfwert r(P,f) = 0,28. Da der Korrelationskoeffizient jeweils größer als der Prüfwert ist, korrelieren die Kohlenhydrat- mit der Phosphormenge (Korrelationskoeffizienten 0,97 für die Oder- und 0,98 für die Elbe-Biofilme) sowie für die Korrelation der Schwefel- mit der Phosphormenge (Korrelationskoeffizienten 0,97 für die Oder- und 0,98 für die Elbe-Biofilme). Somit eignen sich die Kohlenhydrat-, Schwefel- und Phosphormengen als Bezugsparameter für die absoluten Metallmengen in den gemessenen Biofilmen.



Abbildung 40: Korrelation zwischen Trockenmasse und Kohlenhydrat-, Schwefel-, bzw. Phosphormenge in den Oder-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=4 dar).



Abbildung 41: Korrelation zwischen Kohlenhydrat- und Schwefel- bzw. Phosphormenge sowie zwischen Schwefel- und Phosphormenge in den Oder-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=4 dar).



Abbildung 42: Korrelation zwischen Trockenmasse und Kohlenhydrat-, Schwefel-, bzw. Phosphormenge in den Elbe-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=4 dar).



Abbildung 43: Korrelation zwischen Kohlenhydrat- und Schwefel- bzw. Phosphormenge sowie zwischen Schwefel- und Phosphormenge in den Elbe-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=4 dar).

Um abzuklären, ob die durch Bezug auf die Bezugsgrößen erhaltenen Quotienten die Metallakkumulation in den Biofilmen der jeweiligen Probennahmepunkte vergleichbar beschreiben, wurde eine multiple lineare Korrelationsanalyse durchgeführt. Diese ergab für die neun Probennahmepunkte von Oder und Elbe, dass alle Elemente untereinander sowie mit den Schwefel-, Phosphor- und Kohlenhydratmengen hochsignifikant korrelierten. Eine Korrelation mit der Trockenmasse war nur bei den Biofilmen der Probennahmepunkte Bystrzyca und Frankfurt/Oder sowie teilweise bei den Biofilmen der Probennahmepunkte Brzeg Dolny und Viehle zu beobachten. Tabelle 50 bis 58 zeigen die Korrelationskoeffizienten.

		C •		C	T/	C	T '	17	C	м	P	C	N 1*	C
		SI	P	8	К	Ca	11	V	Cr	Mn	re	Co	NI	Cu
	1,00	1.00												
51	0,97	1,00	1.00											
P	0,90	0,92	1,00	1 00										
S	0,91	0,92	0,96	1,00	1.00									
K	0,95	0,98	0,93	0,91	1,00	1 0 0								
Ca	0,95	0,94	0,92	0,92	0,96	1,00								
Ti	0,93	0,97	0,91	0,91	0,97	0,95	1,00							
V	0,94	0,95	0,88	0,90	0,94	0,96	0,99	1,00						
Cr	0,96	0,96	0,87	0,89	0,94	0,95	0,95	0,97	1,00					
Mn	0,93	0,94	0,91	0,94	0,94	0,94	0,91	0,88	0,91	1,00				
Fe	0,95	0,96	0,89	0,90	0,95	0,96	0,99	1,00	0,98	0,90	1,00			
Со	0,94	0,92	0,89	0,93	0,92	0,95	0,92	0,92	0,93	0,95	0,93	1,00		
Ni	0,96	0,97	0,93	0,92	0,98	0,98	0,98	0,97	0,96	0,94	0,98	0,94	1,00	
Cu	0,93	0,97	0,90	0,93	0,94	0,93	0,95	0,93	0,94	0,92	0,94	0,91	0,94	1,00
Zn	0,93	0,96	0,92	0,93	0,94	0,95	0,97	0,97	0,95	0,90	0,98	0,92	0,96	0,98
As	0,96	0,96	0,91	0,93	0,95	0,97	0,95	0,95	0,96	0,94	0,97	0,97	0,98	0,96
Rb	0,94	0,96	0,90	0,91	0,95	0,96	0,99	1,00	0,97	0,89	1,00	0,92	0,97	0,94
Sr	0,95	0,96	0,93	0,92	0,96	0,97	0,97	0,97	0,96	0,91	0,98	0,93	0,98	0,94
Y	0,98	0,97	0,87	0,91	0,94	0,94	0,94	0,95	0,97	0,91	0,96	0,91	0,95	0,97
Ba	0,96	0,98	0,93	0,92	0,96	0,96	0,97	0,96	0,96	0,92	0,98	0,94	0,98	0,95
W	0,98	0,96	0,88	0,88	0,94	0,94	0,95	0,95	0,96	0,91	0,97	0,92	0,96	0,91
TI	0,96	0,95	0,87	0,87	0,95	0,97	0,96	0,96	0,96	0,93	0,97	0,92	0,97	0,93
Pb	0,96	0,97	0,89	0,89	0,96	0,95	0,98	0,98	0,98	0,91	0,99	0,91	0,97	0,95
Bi	0,95	0,97	0,91	0,93	0,95	0,95	0,97	0,98	0,99	0,92	0,98	0,92	0,97	0,95
Th	0,94	0,95	0,93	0,94	0,95	0,96	0,94	0,91	0,91	0,97	0,93	0,95	0,96	0,95
U	0,96	0,96	0,86	0,87	0,93	0,94	0,95	0,97	0,99	0,89	0,98	0,92	0,96	0,93
KH	0,90	0,92	0,95	0,93	0,93	0,91	0,91	0,88	0,85	0,92	0,88	0,87	0,94	0,88
ТМ	0,19	0,22	0,37	0,32	0,29	0,33	0,24	0,21	0,17	0,36	0,19	0,26	0,33	0,19
	_			~		_								
-	Zn	As	Rb	Sr	Y	Ba	W	TI	Pb	Bi	Th	U	KH	ТМ
Zn	1,00	1.00												
As	0,97	1,00	1.00											
Rb	0,98	0,96	1,00	1 0 0										
Sr	0,98	0,97	0,98	1,00	1.00									
Y	0,96	0,95	0,95	0,95	1,00	1 0 0								
Ba	0,98	0,98	0,97	0,99	0,95	1,00	1 00							
W	0,94	0,94	0,96	0,96	0,96	0,97	1,00	1						
TI	0,93	0,94	0,96	0,94	0,96	0,95	0,96	1,00	1 00					
Pb	0,97	0,95	0,98	0,97	0,97	0,97	0,97	0,97	1,00	1				
Bi	0,97	0,96	0,98	0,97	0,96	0,98	0,96	0,95	0,98	1,00	1			
Th	0,95	0,95	0,92	0,95	0,93	0,95	0,94	0,94	0,93	0,92	1,00	1.00		
U	0,95	0,96	0,97	0,97	0,96	0,97	0,97	0,95	0,98	0,98	0,90	1,00	1 00	
KH	0,90	0,91	0,89	0,91	0,87	0,91	0,89	0,88	0,88	0,89	0,93	0,84	1,00	1.05
ТМ	0,21	0,30	0,20	0,24	0,15	0,22	0,19	0,26	0,16	0,24	0,29	0,15	0,47	1,00

Tabelle 50: Korrelationsmatrix für 24 Biofilme vom Probennahmepunkt Wroclaw $(r(P=0,99, f=22) \ge 0.52, r(P=0.95, f=22) \ge 0.41)$

	Al	Si	Р	S	К	Ca	Ti	V	Mn	Fe	Со	Ni	Cu
Al	1.00		-	~						- •			
Si	0.95	1.00											
Р	0,88	0,89	1,00										
S	0,91	0,95	0,95	1,00									
K	0,94	0,94	0,79	0,87	1,00								
Ca	0,98	0,95	0,87	0,92	0,95	1,00							
Ti	0,97	0,97	0,88	0,94	0,95	0,96	1,00						
V	0,94	0,95	0,90	0,92	0,92	0,91	0,95	1,00					
Mn	0,92	0,92	0,96	0,97	0,87	0,93	0,92	0,92	1,00				
Fe	0,96	0,93	0,86	0,89	0,95	0,95	0,96	0,96	0,90	1,00			
Co	0,95	0,91	0,88	0,91	0,89	0,96	0,95	0,89	0,93	0,92	1,00		
Ni	0,94	0,97	0,91	0,95	0,93	0,95	0,96	0,92	0,95	0,92	0,93	1,00	
Cu	0,93	0,89	0,87	0,88	0,93	0,94	0,93	0,93	0,92	0,97	0,93	0,92	1,00
Zn	0,97	0,97	0,89	0,93	0,96	0,98	0,97	0,93	0,93	0,94	0,95	0,97	0,93
As	0,93	0,93	0,94	0,92	0,88	0,93	0,93	0,94	0,93	0,91	0,93	0,93	0,92
Rb	0,95	0,94	0,82	0,90	0,96	0,96	0,97	0,93	0,90	0,98	0,93	0,94	0,96
Sr	0,98	0,95	0,86	0,90	0,97	0,98	0,97	0,95	0,91	0,98	0,94	0,95	0,96
Y	0,96	0,98	0,86	0,94	0,96	0,96	0,98	0,94	0,91	0,96	0,92	0,96	0,92
Ba	0,96	0,97	0,88	0,94	0,96	0,96	0,98	0,95	0,93	0,97	0,95	0,96	0,96
W	0,94	0,96	0,91	0,95	0,94	0,95	0,96	0,93	0,94	0,92	0,93	0,95	0,93
Hg	0,96	0,95	0,88	0,94	0,93	0,96	0,97	0,91	0,94	0,92	0,97	0,95	0,92
Tl	0,95	0,97	0,90	0,93	0,92	0,95	0,95	0,94	0,90	0,93	0,91	0,95	0,89
Pb	0,80	0,79	0,55	0,65	0,92	0,79	0,81	0,77	0,66	0,81	0,72	0,76	0,79
Th	0,92	0,92	0,85	0,89	0,96	0,94	0,94	0,94	0,92	0,96	0,90	0,93	0,97
KH	0,88	0,93	0,97	0,97	0,82	0,89	0,91	0,90	0,95	0,84	0,87	0,93	0,84
ΤM	0,70	0,65	0,63	0,63	0,68	0,78	0,64	0,58	0,72	0,66	0,72	0,71	0,73
	Zn	As	Rb	Sr	Y	Ba	W	Hg	Tl	Pb	Th	KH	ТМ
Zn	1,00							_					
As	0,95	1,00											
Rb	0,95	0,88	1,00										
Sr	0,97	0,93	0,97	1,00									
Y	0,96	0,90	0,97	0,97	1,00								
Ba	0,97	0,93	0,97	0,97	0,98	1,00							
W	0,98	0,94	0,93	0,94	0,95	0,96	1,00						
Hg	0,96	0,92	0,94	0,95	0,96	0,97	0,97	1,00					
Tl	0,97	0,94	0,93	0,95	0,96	0,95	0,94	0,92	1,00				
Pb	0,82	0,69	0,84	0,84	0,81	0,82	0,79	0,78	0,74	1,00			
Th	0,94	0,91	0,96	0,96	0,94	0,96	0,94	0,91	0,90	0,84	1,00		
KH	0,91	0,94	0,84	0,86	0,89	0,89	0,93	0,90	0,92	0,57	0,85	1,00	
ТМ	0,73	0,69	0,69	0,74	0,66	0,66	0,67	0,69	0,68	0,50	0,72	0,66	1,00

Tabelle 51: Korrelationsmatrix für 24 Biofilme vom Probennahmepunkt Bystrzyca $(r(P=0,99, f=22) \ge 0,52, r(P=0,95, f=22) \ge 0,41)$

	v			,	v		,							
	Al	Si	Р	S	K	Ca	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Со	Ni	Cu
Al	1,00													
Si	0,98	1,00												
Р	0,87	0,89	1,00											
S	0,93	0,96	0,93	1,00										
K	0,99	0,97	0,84	0,94	1,00									
Ca	0,97	0,97	0,81	0,94	0,99	1,00								
Ti	0.99	0.96	0.83	0.90	0.98	0.96	1,00							
v	0.98	0.97	0.83	0.93	0.99	0.99	0.98	1.00						
Cr	0.97	0.95	0.81	0.87	0.96	0.95	0.97	0.97	1.00					
Mn	0.97	0.98	0.87	0.97	0.98	0.98	0.96	0.98	0.94	1.00				
Fe	0.97	0.97	0.87	0.96	0,99	0.98	0.96	0,99	0.95	0.99	1.00			
	0,97	0,97	0.81	0,95	0,97	0,90	0,95	0,99	0,95	0,99	0.98	1.00		
Ni	0,95	0,90	0.86	0,95	0,97	0,99	0,95	0,90	0,92	0,90	0,90	0.95	1.00	
Cu	0,98	0,90	0,80	0,92	0,97	0,95	0,98	0,98	0,97	0,97	0,97	0,95	0.06	1.00
Cu 7n	0,95	0,97	0,85	0,95	0,90	0,98	0,94	0,97	0,94	0,98	0,98	0,98	0,90	1,00
	0,95	0,95	0,62	0,95	0,97	0,98	0,94	0,98	0,92	0,99	0,99	0,99	0,95	0,98
AS	0,90	0,90	0,85	0,90	0,98	0,98	0,95	0,98	0,95	0,99	0,99	0,99	0,90	0,98
KD S.	0,98	0,90	0,87	0,92	0,98	0,90	0,98	0,98	0,97	0,90	0,97	0,95	0,97	0,94
Sr N	0,96	0,97	0,85	0,95	0,98	0,99	0,95	0,98	0,94	0,98	0,99	0,98	0,94	0,98
Y	0,97	0,96	0,84	0,93	0,97	0,97	0,96	0,97	0,97	0,97	0,97	0,95	0,95	0,96
Ba	0,97	0,97	0,89	0,93	0,96	0,94	0,96	0,97	0,95	0,97	0,97	0,95	0,98	0,97
W	0,96	0,96	0,88	0,94	0,97	0,95	0,96	0,97	0,95	0,98	0,98	0,95	0,98	0,97
TI	0,95	0,92	0,71	0,82	0,95	0,96	0,96	0,96	0,98	0,93	0,93	0,93	0,95	0,93
Pb	0,98	0,98	0,87	0,94	0,98	0,97	0,98	0,98	0,97	0,97	0,98	0,96	0,97	0,98
Bi	0,96	0,96	0,84	0,88	0,95	0,94	0,96	0,95	0,99	0,94	0,94	0,92	0,96	0,94
Th	0,98	0,97	0,85	0,92	0,97	0,97	0,96	0,97	0,97	0,96	0,97	0,94	0,95	0,96
U	0,95	0,92	0,72	0,84	0,95	0,96	0,96	0,96	0,97	0,93	0,93	0,93	0,94	0,93
KH	0,90	0,93	0,89	0,98	0,93	0,93	0,88	0,92	0,85	0,96	0,96	0,95	0,89	0,95
TM	0,50	0,51	0,58	0,49	0,47	0,41	0,50	0,44	0,52	0,46	0,47	0,39	0,51	0,44
	Zn	As	Rb	Sr	Y	Ba	W	Tl	Pb	Bi	Th	U	KH	ТМ
Zn	1,00													
As	1,00	1,00												
Rb	0,94	0,95	1,00											
Sr	0,99	0,99	0,96	1,00										
Y	0,96	0,96	0,97	0,98	1,00									
Ba	0,94	0,96	0,96	0,94	0,94	1,00								
W	0,96	0,97	0,96	0,96	0,95	0,98	1,00							
TI	0,93	0,92	0,94	0,93	0,95	0,92	0,92	1,00						
Pb	0,96	0,97	0,98	0,97	0,97	0,98	0,97	0,95	1,00					
Bi	0,92	0,93	0,96	0,94	0,97	0,96	0,94	0,96	0,97	1,00				
Th	0,95	0,96	0,98	0,98	0,98	0,95	0,95	0,95	0,98	0,97	1,00			
U	0,92	0,92	0,94	0,94	0,96	0,91	0,92	0,99	0,94	0,96	0,95	1,00		
KH	0,96	0,96	0,90	0,95	0,91	0,91	0,93	0,82	0,92	0,86	0,90	0,82	1,00	
ТМ	0,39	0,42	0,54	0,44	0,47	0,52	0,52	0,40	0,50	0,53	0,50	0,42	0,46	1,00

Tabelle 52: Korrelationsmatrix für 24 Biofilme vom Probennahmepunkt Brzeg Dolny $(r(P=0,99, f=22) \ge 0.52, r(P=0.95, f=22) \ge 0.41)$

		C •		C	17	C	T •	• 7	C		Б	C	N 1•	C
		Sı	Р	8	К	Ca	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu
Al	1,00	1 00												
Si	0,98	1,00	1 00											
P	0,97	0,98	1,00	1.00										
S	0,98	0,96	0,98	1,00	1									
K	0,97	0,98	0,95	0,96	1,00									
Ca	0,90	0,93	0,89	0,88	0,95	1,00								
Ti	0,94	0,96	0,91	0,92	0,98	0,95	1,00							
V	0,94	0,96	0,93	0,93	0,98	0,97	0,98	1,00						
Cr	0,96	0,97	0,95	0,95	0,96	0,96	0,95	0,96	1,00					
Mn	0,92	0,95	0,93	0,92	0,95	0,97	0,94	0,96	0,98	1,00				
Fe	0,93	0,96	0,93	0,92	0,96	0,99	0,96	0,98	0,99	0,98	1,00			
Со	0,95	0,96	0,97	0,95	0,95	0,95	0,94	0,96	0,97	0,95	0,97	1,00		
Ni	0,93	0,94	0,92	0,92	0,96	0,98	0,96	0,98	0,98	0,98	0,99	0,96	1,00	
Cu	0,95	0,97	0,94	0,93	0,97	0,98	0,96	0,98	0,99	0,98	0,99	0,97	0,99	1,00
Zn	0,96	0,98	0,97	0,96	0,97	0,96	0,96	0,97	0,99	0,98	0,99	0,98	0,98	0,99
As	0,95	0,96	0,95	0,95	0,96	0,96	0,95	0,97	0,99	0,98	0,99	0,98	0,99	0,99
Rb	0,94	0,97	0,93	0,93	0,98	0,98	0,99	0,99	0,97	0,97	0,98	0,96	0,98	0,98
Sr	0,94	0,97	0,93	0,93	0,98	0,97	0,96	0,98	0,97	0,98	0,98	0,95	0,97	0,98
Y	0,91	0,95	0,91	0,90	0,96	0,99	0,97	0,98	0,97	0,97	0,99	0,95	0,98	0,98
Ba	0,94	0,94	0,91	0,93	0,95	0,94	0,93	0,94	0,97	0,96	0,96	0,92	0,97	0,97
W	0,95	0,96	0,93	0,94	0,97	0,98	0,96	0,98	0,97	0,97	0,98	0,96	0,98	0,99
Tl	0,92	0,93	0,91	0,89	0,93	0,95	0,90	0,92	0,95	0,94	0,95	0,94	0,95	0,95
Pb	0,91	0,94	0,91	0,90	0,94	0,98	0,94	0,96	0,98	0,98	0,99	0,96	0,99	0,99
Bi	0,90	0,93	0,90	0,89	0,95	0,98	0,96	0,97	0,96	0,97	0,98	0,94	0,98	0,97
Th	0,96	0.98	0.96	0.95	0.98	0.96	0.97	0.98	0.98	0.98	0.97	0.97	0.97	0.97
U	0,91	0.93	0.90	0.91	0.95	0.97	0,94	0.96	0.98	0.98	0.99	0,94	0.99	0.98
КН	0.97	0.94	0.95	0.96	0.92	0.80	0.87	0.88	0.89	0.85	0.85	0.89	0.85	0.88
ТМ	0.84	0.83	0.84	0.84	0.79	0.72	0.79	0.79	0.76	0.77	0.76	0.79	0.76	0.75
	-) -	-)	-) -	-) -	- ,	-) -	- ,	-)	- ,	-)	-)	-)	-)	-)
	Zn	As	Rb	Sr	Y	Ba	W	Tl	Pb	Bi	Th	U	KH	ТМ
Zn	1,00													
As	0.99	1.00												
Rb	0.98	0.97	1.00											
Sr	0.98	0.97	0.99	1.00										
Y	0.97	0.97	0.99	0.99	1.00									
Ba	0.96	0.97	0.96	0.97	0.95	1.00								
W	0.98	0.97	0.98	0.98	0.98	0.95	1.00							
TI	0.95	0.94	0.93	0.94	0.94	0.93	0.94	1.00						
Ph	0.98	0.98	0.97	0.97	0.98	0.97	0.97	0.94	1 00					
Ri	0.96	0.96	0.98	0.98	0.90	0.96	0.96	0.03	0.98	1.00				
Th	0,90	0,90	0,98	0,98	0.97	0.95	0.97	0.94	0,96	0.96	1.00			
IT I	0,90	0,90	0,90	0,90	0,97	0,95	0,97	0,94	0,90	0,90	0.96	1.00		
и КП	0,077	0,20	0.87	0,27	0,20	0,20	0,20	0,75	0,20	0,20	0,20	0.83	1.00	
	0,90	0.79	0.79	0.77	0.75	0.72	0,00	0.74	0,05	0,02	0,90	0.72	0.80	1.00
I IVI	0,80	0,78	0,78	0,77	0,73	0,75	0,77	0,74	0,72	0,72	0,01	0,73	0,80	1,00

Tabelle 53: Korrelationsmatrix für 24 Biofilme vom Probennahmepunkt Frankfurt/Oder $(r(P=0,99, f=22) \ge 0,52, r(P=0,95, f=22) \ge 0,41)$

	Al	Si	Р	S	K	Ca	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Со	Ni	Cu
Al	1,00								-		-			
Si	0,99	1,00												
Р	0,85	0,83	1,00											
S	0,84	0,84	0,98	1,00										
K	0,99	0,98	0,86	0,87	1,00									
Ca	0,95	0,95	0,90	0,91	0,97	1,00								
Ti	0,98	0,97	0,83	0,83	0,99	0,96	1,00							
V	0,97	0,96	0,88	0,88	0,99	0,98	0,99	1,00						
Cr	0,97	0,95	0,90	0,90	0,98	0,97	0,98	0,99	1,00					
Mn	0,94	0,89	0,93	0,89	0,94	0,91	0,92	0,94	0,96	1,00				
Fe	0,97	0,95	0,89	0,88	0,99	0,97	0,99	1,00	0,99	0,96	1,00			
Co	0,95	0,94	0,86	0,86	0,96	0,92	0,95	0,95	0,95	0,93	0,95	1,00		
Ni	0,95	0,93	0,94	0,93	0,97	0,97	0,96	0,99	0,99	0,97	0,99	0,95	1,00	
Cu	0,93	0,91	0,96	0,95	0,95	0,95	0,94	0,97	0,96	0,96	0,97	0,94	0,99	1,00
Zn	0,96	0,94	0,90	0,88	0,98	0,96	0,98	0,99	0,99	0,96	1,00	0,95	0,99	0,97
As	0,97	0,94	0,91	0,90	0,98	0,97	0,97	0,99	0,99	0,97	0,99	0,95	1,00	0,98
Rb	0,96	0,95	0,88	0,87	0,99	0,97	0,99	1,00	0,99	0,95	1,00	0,95	0,99	0,96
Sr	0,93	0,93	0,94	0,95	0,95	0,99	0,93	0,96	0,95	0,93	0,95	0,90	0,97	0,96
Y	0,93	0,94	0,79	0,80	0,96	0,93	0,97	0,96	0,93	0,84	0,95	0,94	0,92	0,91
Ba	0,94	0,94	0,82	0,81	0,97	0,95	0,99	0,99	0,96	0,90	0,99	0,93	0,96	0,94
W	0,91	0,92	0,63	0,64	0,92	0,85	0,95	0,90	0,87	0,79	0,90	0,88	0,84	0,80
Pb	0,96	0,94	0,89	0,87	0,98	0,96	0,98	1,00	0,99	0,96	1,00	0,94	0,99	0,97
Bi	0,91	0,93	0,81	0,83	0,95	0,92	0,97	0,95	0,93	0,86	0,95	0,96	0,93	0,93
Th	0,96	0,93	0,86	0,85	0,97	0,94	0,97	0,98	0,99	0,96	0,98	0,94	0,97	0,93
U	0,94	0,95	0,75	0,76	0,97	0,94	0,98	0,97	0,94	0,85	0,96	0,91	0,92	0,88
KH	0,84	0,84	0,98	0,99	0,87	0,93	0,85	0,90	0,91	0,89	0,89	0,84	0,94	0,96
ТМ	0,33	0,34	-0,15	-0,18	0,24	0,12	0,27	0,18	0,15	0,10	0,18	0,20	0,06	0,02
	Zn	As	Rb	Sr	Y	Ba	W	Pb	Bi	Th	U	кн	тм	
Zn	1.00	1 20		~-	-	2.		- ~	21		e			
As	1.00	1.00												
Rb	1.00	0.99	1.00											
Sr	0.95	0.97	0.95	1.00										
Y	0.95	0,93	0.96	0.89	1,00									
Ba	0,98	0,97	0,99	0,92	0,98	1,00								
W	0.88	0,87	0.91	0.80	0,94	0.93	1,00							
Pb	1,00	0,99	1,00	0,95	0,95	0,99	0,89	1,00						
Bi	0,94	0,93	0,96	0,90	0,98	0,96	0,93	0,94	1,00					
Th	0,98	0,98	0,98	0,92	0,91	0,96	0,88	0,98	0,90	1,00				
U	0,95	0,93	0,97	0,89	0,97	0,98	0,96	0,95	0,95	0,94	1,00			
KH	0,90	0,91	0,89	0,95	0,82	0,85	0,66	0,90	0,84	0,86	0,80	1,00		
ТМ	0,16	0,15	0,18	0,04	0,29	0,24	0,49	0,16	0,20	0,19	0,33	-0,17	1,00	

Tabelle 54: Korrelationsmatrix für 12 Biofilme vom Probennahmepunkt Schwedt $(r(P=0,99, f=10) \ge 0,71, r(P=0,95, f=10) \ge 0,58)$

	Al	Si	Р	S	K	Ca	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Со	Ni	Cu
Al	1,00													
Si	0,99	1,00												
Р	0,95	0,95	1,00											
S	0,94	0,95	0,99	1,00										
K	0,96	0,96	0,92	0,91	1,00									
Ca	0,94	0,95	0,96	0,95	0,97	1,00								
Ti	0,94	0,93	0,86	0,85	0,98	0,93	1,00							
V	0,95	0,91	0,84	0,83	0,95	0,88	0,97	1,00						
Cr	0,95	0,92	0,85	0,83	0,96	0,90	0,97	0,99	1,00					
Mn	0,97	0,94	0,90	0,90	0,93	0,89	0,93	0,96	0,95	1,00				
Fe	0,97	0,94	0,90	0,89	0,97	0,94	0,97	0,99	0,98	0,97	1,00			
Со	0,96	0,93	0,92	0,91	0,95	0,93	0,93	0,95	0,94	0,98	0,97	1,00		
Ni	0,96	0,92	0,87	0,86	0,95	0,90	0,95	0,99	0,98	0,98	0,99	0,97	1,00	
Cu	0,95	0,91	0,86	0,85	0,95	0,90	0,96	0,99	0,97	0,97	0,99	0,97	0,99	1,00
Zn	0,96	0,92	0,88	0,87	0,94	0,90	0,95	0,98	0,96	0,98	0,99	0,98	0,99	0,99
As	0,98	0,95	0,91	0,90	0,96	0,93	0,96	0,98	0,97	0,99	0,99	0,98	0,99	0,99
Rb	0,94	0,91	0,84	0,83	0,96	0,90	0,97	0,99	0,98	0,95	0,99	0,95	0,99	0,99
Sr	0,97	0,96	0,92	0,91	0,97	0,94	0,97	0,96	0,96	0,96	0,98	0,96	0,97	0,97
Y	0,95	0,93	0,84	0,84	0,96	0,89	0,98	0,98	0,98	0,94	0,98	0,94	0,98	0,98
Ba	0,98	0,97	0,95	0,94	0,97	0,96	0,95	0,95	0,95	0,98	0,98	0,98	0,97	0,96
W	0,97	0,95	0,92	0,92	0,95	0,93	0,94	0,96	0,95	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98
Hg	0,97	0,95	0,89	0,89	0,96	0,91	0,95	0,98	0,97	0,97	0,99	0,97	0,99	0,98
Tl	0,93	0,90	0,81	0,81	0,91	0,84	0,93	0,97	0,96	0,97	0,96	0,94	0,97	0,98
Pb	0,97	0,94	0,90	0,89	0,95	0,92	0,95	0,98	0,97	0,98	0,99	0,97	0,99	0,99
Bi	0,92	0,89	0,80	0,78	0,92	0,84	0,95	0,98	0,98	0,94	0,96	0,92	0,97	0,96
Th	0,97	0,95	0,93	0,93	0,93	0,91	0,92	0,94	0,92	0,97	0,96	0,97	0,95	0,96
U	0,96	0,94	0,86	0,85	0,96	0,89	0,96	0,97	0,96	0,95	0,97	0,94	0,96	0,96
KH	0,90	0,91	0,97	0,97	0,91	0,95	0,86	0,83	0,83	0,86	0,88	0,88	0,84	0,84
ТМ	-0,29	-0,30	-0,33	-0,33	-0,23	-0,26	-0,19	-0,26	-0,24	-0,27	-0,28	-0,23	-0,27	-0,23
	Zn	As	Rb	Sr	Y	Ba	W	Hg	Tl	Pb	Bi	Th	U	KH
Zn	1,00													
As	0,99	1,00												
Rb	0,98	0,97	1,00											
Sr	0,97	0,98	0,97	1,00										
Y	0,97	0,97	0,99	0,97	1,00									
Ba	0,97	0,99	0,95	0,98	0,95	1,00								
W	0,98	0,98	0,96	0,98	0,96	0,98	1,00							
Hg	0,99	0,99	0,98	0,97	0,98	0,97	0,97	1,00						
Tl	0,97	0,97	0,97	0,94	0,96	0,94	0,95	0,97	1,00					
Pb	0,99	0,99	0,98	0,98	0,97	0,98	0,99	0,99	0,97	1,00				
Bi	0,95	0,95	0,97	0,94	0,97	0,92	0,93	0,95	0,97	0,96	1,00			
Th	0,97	0,97	0,94	0,97	0,94	0,97	0,98	0,96	0,94	0,97	0,90	1,00		
U	0,95	0,96	0,97	0,96	0,97	0,94	0,94	0,97	0,96	0,96	0,96	0,94	1,00	1.05
KH	0,86	0,88	0,83	0,90	0,82	0,92	0,90	0,86	0,78	0,87	0,77	0,90	0,82	1,00
ΤM	-0,27	-0,28	-0,27	-0,23	-0,21	-0,26	-0,24	-0,32	-0,22	-0,27	-0,23	-0,30	-0,30	-0,33

Tabelle 55: Korrelationsmatrix für 24 Biofilme vom Probennahmepunkt Klein Lüben $(r(P=0,99, f=22) \ge 0.52, r(P=0.95, f=22) \ge 0.41)$

•••														
	Al	Si	Р	S	K	Ca	Ti	\mathbf{V}	Cr	Mn	Fe	Со	Ni	Cu
Al	1,00													
Si	0,93	1,00												
Р	0,86	0,92	1,00											
S	0,85	0,93	0,97	1,00										
K	0,93	0,97	0,91	0,94	1,00									
Ca	0,93	0,94	0,91	0,94	0,97	1,00								
Ti	0,95	0,93	0,86	0,88	0,96	0,95	1,00							
V	0.94	0.94	0.88	0.92	0.97	0.96	0.97	1.00						
Cr	0,91	0,83	0,75	0,74	0,85	0,83	0,92	0,90	1,00					
Mn	0.89	0.91	0.92	0.89	0.85	0.85	0.86	0.87	0.81	1.00				
Fe	0.93	0.95	0.93	0.94	0.97	0.96	0.96	0.98	0.87	0.91	1.00			
Co	0.89	0.90	0.88	0.92	0.91	0.92	0.88	0.94	0.80	0.90	0.93	1.00		
Ni	0.97	0.92	0.90	0.92	0.94	0.95	0.94	0.95	0.89	0.91	0.94	0.93	1.00	
Cu	0.95	0.94	0.90	0.93	0.96	0.96	0.95	0.98	0.89	0.89	0.96	0.94	0.98	1 00
Zn	0.93	0.93	0.90	0.91	0.93	0.90	0.91	0.93	0.87	0.92	0.93	0.91	0.97	0.96
As	0.95	0.92	0.87	0.87	0.91	0,90	0.91	0.94	0.90	0.90	0.93	0.91	0.96	0.97
Rh	0.92	0.92	0.88	0.92	0.94	0.96	0.96	0.98	0.89	0,90	0.96	0.92	0.95	0.97
Sr	0.88	0.92	0,00	0,92	0,95	0,20	0.91	0,90	0.84	0.88	0,90	0,92	0,95	0.96
V	0,00	0,92	0,95	0,20	0,95	0,20	0,21	0,20	0,01	0,00	0,20	0,91	0,95	0,90
L Ra	0,95	0,24	0,91	0,92	0,20	0,20	0,25	0,90	0,20	0,00	0,90	0,91	0,94	0,97
Da W	0,91	0,50	0,20	0,25	0,23	0,27	0,91	0,25	0,05	0,92	0,95	0,50	0,24	0,95
V Ug	0,95	0,91	0,05	0,00	0,95	0,92	0,90	0,90	0,94	0,90	0,95	0,91	0,95	0,90
ng Ti	0,92	0,05	0,11	0,00	0,00	0,07	0,92	0,95	0,90	0,02	0,07	0,00	0,92	0,95
11 ԾՆ	0,07	0,94	0,07	0,92 0.01	0,95	0,91	0,92	0,95	0,04	0,00	0,90	0,00	0,92	0,94
rv D;	0,92	0,92	0,07	0,91	0,95	0,95	0,95	0,90	0,00	0,01	0,90	0,91	0,95	0,90
DI TL	0,84	0,90	0,87	0,92	0,92	0,91	0,90	0,94	0,80	0,87	0,94	0,89	0,87	0,91
	0,90	0,95	0,84	0,82	0,91	0,90	0,95	0,95	0,94	0,89	0,92	0,85	0,92	0,92
	0,89	0,91	0,84	0,90	0,95	0,91	0,92	0,95	0,87	0,87	0,95	0,89	0,95	0,90
KH	0,86	0,91	0,95	0,96	0,93	0,93	0,89	0,93	0,74	0,87	0,95	0,93	0,91	0,92
ТМ	-0,14	0,03	0,24	0,24	0,00	0,00	-0,13	-0,00	-0,27	0,03	0,02	0,05	-0,03	0,00
	7-1	Ås	ու	C.,	V	Da	NN 7	Пa	ті	ու	р;	ть	TT	νIJ
7 n	Z h 1.00	AS	KD	51	I	Da	vv	ng	11	ru	Di	111	U	Kn
	0.06	1.00												
As Dh	0,90	0.02	1.00											
KU Sr	0,95	0,92	1,00	1.00										
SI V	0,95	0,71	0,95	1,00	1.00									
1 Do	0,92	0,94	0,90	0,90	1,00	1.00								
Ба	0,95	0,95	0,92	0,90	0,90	1,00	1.00							
W TL-	0,95	0,92	0,97	0,94	0,95	0,91	1,00	1 00						
Hg	0,87	0,92	0,90	0,87	0,92	0,85	0,94	1,00	1.00					
	0,94	0,89	0,92	0,92	0,90	0,92	0,94	0,87	1,00	1.00				
PD	0,91	0,91	0,96	0,94	0,98	0,94	0,93	0,92	0,90	1,00	1 00			
Bi	0,86	0,84	0,94	0,91	0,93	0,88	0,90	0,82	0,88	0,94	1,00	1 00		
Th	0,91	0,94	0,92	0,87	0,94	0,91	0,94	0,92	0,89	0,91	0,85	1,00	1 00	
U	0,94	0,91	0,95	0,93	0,94	0,92	0,96	0,90	0,95	0,95	0,93	0,89	1,00	1 00
KH	0,88	0,88	0,90	0,94	0,92	0,92	0,85	0,78	0,88	0,92	0,90	0,82	0,86	1,00
TM	-0,01	-0,02	-0,05	0,07	0,00	0,11	-0,17	-0,23	0,01	-0,01	0,01	-0,19	-0,04	0,23

Tabelle 56: Korrelationsmatrix für 24 Biofilme vom Probennahmepunkt Wittenberge $(r(P=0,99, f=22) \ge 0.52, r(P=0.95, f=22) \ge 0.41)$

Р S V Al Si K Ca Ti Cr Mn Fe Co Ni Cu Al 1,00 0,98 1,00 Si Р 0,95 0,95 1,00 S 0.97 0.96 0,99 1,00 0,93 Κ 0,92 0,97 0,94 1,00 0,88 0,92 0,87 0,88 0,94 1,00 Ca 0,93 0,98 0,97 Ti 0,86 0,87 0,87 1,00 V 0,95 0.98 0,93 0.94 0.98 0.97 0.98 1,00 Cr 0,98 0,98 0,96 0,97 0,96 0,93 0,92 0,97 1,00 0,95 0,97 0,95 0,95 0,98 0,96 0,96 0,99 0,98 1,00 Mn 0,97 0,99 0,95 0,98 0,95 0,95 0,99 0,94 0,97 0,99 1,00 Fe 0,97 0,96 0,98 0,98 0,93 0.90 0.88 0.95 0.98 0,97 0,95 1,00 Co 0.95 0.96 0.98 0.96 0.95 0.86 0.89 0.94 0.96 0.96 0.97 0.96 1.00 Ni 0,96 0,99 0,97 0,97 0,98 Cu 0,93 0,97 0,97 0,92 0,95 0,99 0,96 0,98 1,00 0,97 0,99 0,97 0,98 0,94 0,98 0,98 0,98 0,99 0,97 0,96 0,98 Zn 0,96 0,93 0,94 0,96 0,98 0,96 0,96 0,87 0,90 0,94 0,96 0,97 0,97 0,96 0,99 0,98 As Rb 0,96 0,98 0,94 0,96 0,97 0,96 0.96 0,99 0,98 0,98 0,99 0,97 0,94 0,97 0,95 0,97 0,94 0,95 0,96 0,97 0,95 0,99 0,98 0,98 0,98 0,96 0,93 0,96 Sr 0,97 Y 0,95 0,98 0,93 0,95 0,97 0,97 0,97 0,99 0,98 0,98 0,96 0,93 0,97 0,93 0,96 0,97 0,95 0,98 0,90 0,93 0,95 0,96 0,98 0,97 0,95 0,98 0,99 Ba 0,91 0.99 0,95 0,95 0.98 W 0.90 0,94 0,93 0.94 0.97 0,97 0.98 0,98 0,92 Hg 0.92 0.96 0,91 0,91 0.98 0.97 0.98 0.99 0.96 0.99 0,98 0,92 0,92 0.97 0,99 0,94 0,95 0,98 0,98 0,98 0,94 0,96 Tl 0,97 0,93 0,97 0,95 0,99 0,96 Pb 0,96 0,98 0,97 0,96 0,99 0,93 0,95 0,98 0,98 0,98 0,99 0,97 0,98 0,99 Bi 0,82 0,86 0,86 0,87 0,89 0,93 0,92 0,92 0,87 0,89 0,90 0,85 0,82 0,88 0,91 0,92 0,99 0,92 0,96 0,97 0,94 0,98 0,98 0,96 0,99 Th 0,95 0,94 0,92 U 0,96 0,98 0,98 0,98 0,96 0,92 0,92 0,97 0,98 0,98 0,98 0,98 0,97 0,98 0,95 0,99 0,98 0,92 0,95 0,93 0,94 0,96 0,96 0,96 KH 0,94 0,93 0,85 0,85 0,58 0,42 0,32 0,49 0,58 0,50 ТМ 0,68 0,56 0,52 0,38 0,50 0,47 0,61 0,42 Y W Tl Pb Th U Zn As Rb Sr Ba Hg Bi KH 1,00 Zn 0,97 1,00 As 0,98 0,95 1,00 Rb Sr 0,98 0,93 0,99 1,00 Y 0,98 0,93 0,99 0,99 1,00 1,00 Ba 0,97 0.99 0,94 0,94 0,94 W 0.96 0.96 0,95 0.96 0.95 0.97 1,00 0,97 0,94 0,98 0,98 0,98 0,95 0,97 1,00 Hg Tl 0,98 0,94 0,98 0,99 0,98 0,95 0,95 0,98 1,00 0,99 0,98 0,98 0,97 0,98 0,97 0,97 0,97 0,97 1,00 Pb Bi 0,89 0,83 0,92 0,92 0,92 0.84 0.89 0,90 0,87 0,89 1,00 0.96 0.97 0,95 0,95 0.95 0.98 0.99 0.97 0.95 0.97 0.87 1.00 Th 0,97 U 0,98 0,97 0,98 0,97 0,97 0,97 0,96 0,96 0,98 0,90 0,96 1,00 KH 0,95 0,96 0,93 0,92 0,93 0,95 0,90 0,89 0,91 0,95 0,86 0,92 0,97 1,00 ТМ 0,54 0,49 0,54 0,51 0,35 0,44 0,57 0,53 0,54 0,55 0,43 0,47 0,36 0,38

Tabelle 57: Korrelationsmatrix für 24 Biofilme vom Probennahmepunkt Viehle $(r(P=0,99, f=22) \ge 0.52, r(P=0.95, f=22) \ge 0.41)$

	AI	Si	Р	S	K	Са	Ti	V	Cr	Mn	Fe	Co	Ni	Cu
Al	1.00	~ -	-	~										
Si	0,97	1,00												
Р	0,98	0,97	1,00											
S	0,98	0,97	0,99	1,00										
K	0,97	0,96	0,97	0,97	1,00									
Ca	0,94	0,92	0,93	0,94	0,97	1,00								
Ti	0,96	0,95	0,96	0,97	1,00	0,97	1,00							
V	0,96	0,95	0,96	0,96	0,99	0,99	0,99	1,00						
Cr	0,96	0,93	0,95	0,96	0,97	0,96	0,96	0,97	1,00					
Mn	0,93	0,90	0,91	0,92	0,94	0,98	0,95	0,97	0,96	1,00				
Fe	0,96	0,92	0,95	0,95	0,99	0,98	0,99	0,99	0,97	0,97	1,00			
Со	0,93	0,90	0,90	0,91	0,94	0,96	0,95	0,96	0,96	0,98	0,96	1,00		
Ni	0,95	0,92	0,93	0,93	0,96	0,97	0,96	0,98	0,96	0,97	0,96	0,95	1,00	
Cu	0,95	0,94	0,95	0,96	0,99	0,97	0,99	0,99	0,97	0,96	0,99	0,95	0,98	1,00
Zn	0,95	0,92	0,93	0,93	0,96	0,99	0,95	0,98	0,95	0,98	0,96	0,96	0,97	0,96
As	0,95	0,93	0,94	0,94	0,95	0,95	0,95	0,97	0,97	0,97	0,96	0,96	0,99	0,97
Rb	0,95	0,93	0,94	0,94	0,97	0,96	0,97	0,98	0,98	0,97	0,98	0,96	0,97	0,97
Sr	0,98	0,95	0,97	0,96	0,97	0,95	0,97	0,97	0,95	0,93	0,96	0,95	0,94	0,95
Y	0,94	0,91	0,93	0,93	0,96	0,97	0,97	0,97	0,97	0,97	0,98	0,97	0,95	0,96
Ba	0,97	0,95	0,97	0,97	0,97	0,97	0,97	0,98	0,98	0,95	0,98	0,96	0,96	0,97
W	0,94	0,91	0,93	0,93	0,95	0,96	0,95	0,97	0,97	0,97	0,96	0,98	0,98	0,96
Hg	0,66	0,60	0,58	0,59	0,64	0,73	0,66	0,69	0,74	0,78	0,70	0,83	0,72	0,65
	0,54	0,48	0,52	0,52	0,63	0,69	0,66	0,66	0,65	0,71	0,71	0,74	0,66	0,65
PD D:	0,96	0,93	0,95	0,95	0,98	0,97	0,98	0,99	0,98	0,98	0,99	0,97	0,98	0,99
DI Th	0,90	0,97	0,90	0,97	0,97	0,95	0,97	0,97	0,94	0,95	0,95	0,95	0,95	0,97
	0,95	0,95	0,90	0,95	0,90	0,95	0,90	0,90	0,97	0,95	0,90	0,95	0,95	0,95
U VH	0,95	0,94	0,94	0,95	0,90	0,95	0,90	0,97	0,97	0,90	0,97	0,93	0,95	0,90
ТМ	0,70	0,20	0,13	0,70	0,70	0,95	0,90	0,77	0,75	0,92	0,95	0,90	0,74	0,70
1 1/1	0,14	0,20	0,15	0,14	0,10	0,00	0,00	0,10	0,07	0,00	0,05	0,00	0,11	0,15
	Zn	As	Rb	Sr	Y	Ba	W	Hg	Tl	Pb	Bi	Th	U	KH
Zn	1,00	1												
As	0,95	1,00	1 00											
Rb C	0,95	0,98	1,00	1.00										
Sr	0,95	0,96	0,96	1,00	1 00									
Y D.	0,96	0,95	0,98	0,95	1,00	1.00								
ы	0,95	0,97	0,97	0,98	0,95	1,00	1 00							
W Ha	0,95	0,99	0,90	0,95	0,95	0,97	1,00	1.00						
пg тi	0,75	0,73	0,74	0,71	0,74	0,71	0,77	1,00	1.00					
Dh	0,04	0,08	0,70	0,05	0,70	0,04	0,70	0,78	1,00	1.00				
Ri	0,90	0,90	0,90	0.95	0,97	0,90	0,90	0,75	0,09	0.96	1.00			
Th	0.94	0.97	0.97	0.98	0.95	0.98	0.97	0.72	0.68	0.97	0.94	1.00		
U	0.96	0.96	0.98	0.96	0.96	0.97	0.94	0.71	0.63	0.98	0.96	0.96	1.00	
КН	0.95	0.93	0.93	0.95	0.94	0.95	0.92	0.58	0.55	0.95	0.97	0.93	0.93	1.00
ТМ	0.12	0.11	0.06	0.11	0.06	0.12	0.08	-0.18	-0.35	0.09	0.18	0.09	0.14	0.11

Tabelle58:Korrelationsmatrixfür24BiofilmevomProbennahmepunktTespe $(r(P=0,99, f=22) \ge 0,52, r(P=0,95, f=22) \ge 0,41)$

Bei den kursiv dargestellten Koeffizienten besteht keine nachweisbare Korrelation. Dies ist bei den Korrelationen der Trockenmassen mit sämtlichen Metall-, Schwefel-, Phosphor- und Kohlenhydratmengen der Probennahmepunkte Wroclaw, Schwedt, Klein Lüben, Wittenberge und Tespe sowie bei den Korrelationen der Trockenmassen mit den Cobalt-, Zink-, und Thalliummengen des Probennahmepunktes Brzeg Dolny und den Kalium-, Titan-, Wolfram-, Bismut- und Thoriummengen des Probennahmepunktes Viehle zu beobachten.

3.5.5. Fehlercharakterisierung

Die Schwankungsbreiten bei der Mittelwertbildung der obigen Werte können sowohl als Vertrauensintervall als auch nach den Gesetzen der Fehlerfortpflanzung berechnet werden. Um festzustellen, welcher der beiden Fehler der größere ist, wurden beide Verfahren auf obige Werte angewendet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 59 bis 61 dargestellt.

Tabelle 59: Mittelwerte der relativen Gehalte von jeweils sechs zum gleichen Zeitpunkt entnommenen Biofilmen der Probennahmepunkte Wroclaw, Schwedt und Wittenberge. Als Bezugsgröße wurde die Schwefelmenge der Biofilme verwendet. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen den durch Fehlerfortpflanzung berechneten Fehler σ sowie das Vertrauensintervall Δx der t-Verteilung für P=0,95 und n=6 dar).

Element	Wro	claw		Sch	wedt		Witter	nberge	•
	Mittelwert	σ	Δx	Mittelwert	σ	Δx	Mittelwert	σ	Δx
	[mg	g/g]		[mg	g/g]		[mg	g/g]	
Al	21704	1586	2602	12952	762	924	11867	679	1043
Si	72676	4258	8431	58190	2740	3481	39625	1947	3559
Κ	6342	351	813	2959	184	314	2191	111	253
Ca	5017	278	666	17090	1008	2166	7498	372	793
Ti	1733	97	282	863,2	55,0	106,3	536,1	27,4	74,5
V	44,92	3,13	9,04	27,29	1,91	4,73	22,84	1,29	3,94
Cr	54,13	3,95	7,70	31,78	2,23	4,70	12,20	0,71	2,13
Mn	7493	425	1529	3045	187	554	10533	500	1985
Fe	16480	918	2951	13781	883	2475	10169	520	1480
Co	22,53	1,67	2,61	6,974	0,485	0,882	13,49	0,75	2,41
Ni	30,63	2,09	5,77	20,13	1,52	3,50	20,29	1,25	1,88
Cu	22,08	1,44	2,29	20,86	1,44	3,11	25,53	1,04	1,44
Zn	475,1	26,7	77,0	325,8	21,1	64,6	451,6	23,0	59,9
As	20,24	1,45	2,49	13,26	0,95	2,43	19,16	1,14	2,58
Rb	50,61	3,10	8,92	27,83	1,97	5,74	19,17	1,13	1,91
Sr	83,94	4,92	11,62	66,22	4,12	7,33	53,40	2,74	7,09
Y	15,03	1,08	1,77	9,278	0,643	1,267	6,585	0,380	1,250
Ba	598,5	41,3	127,7	247,5	17,8	44,7	206,5	11,2	20,3
W	7,474	0,540	0,617	6,646	0,463	0,802	7,178	0,407	0,789
Hg							2,325	0,130	0,351
T1							3,471	0,188	0,483
Pb	41,20	3,02	3,12	40,28	3,13	8,14	33,02	1,89	5,18
Bi	2,159	0,159	0,228	0,894	0,064	0,133	0,707	0,042	0,059
Th	8,484	0,617	1,127	4,107	0,284	0,708	7,188	0,394	0,960
U	2,542	0,187	0,460	1,988	0,117	0,502	1,245	0,070	0,116

Tabelle 60: Mittelwerte der relativen Gehalte von jeweils sechs zum gleichen Zeitpunkt entnommenen Biofilmen der Probennahmepunkte Wroclaw, Schwedt und Wittenberge. Als Bezugsgröße wurde die Phosphormenge der Biofilme verwendet. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen den durch Fehlerfortpflanzung berechneten Fehler σ sowie das Vertrauensintervall Δx der t-Verteilung für P=0,95 und n=6 dar).

Element	Wroclaw			Sch	wedt		Wittenberge		
	Mittelwert	σ	Δx	Mittelwert	σ	Δx	Mittelwert	σ	Δx
	[mg/g]			[mg/g]			[mg/g]		
Al	22341	2313	2748	12911	1374	1458	12038	951	1056
Si	75002	8635	9208	58216	5797	8415	40216	2964	3900
K	6531	739	752	2945	299	373	2228	166	312
Ca	5179	589	724	17084	1711	2989	7617	559	955
Ti	1780	201	216	858,3	87,9	111,5	542,9	40,6	65,7
V	46,02	5,53	6,68	27,08	2,89	4,33	23,20	1,81	4,29
Cr	55,76	6,85	7,16	31,57	3,35	4,40	12,37	0,99	2,00
Mn	7695	875	1273	3002	295	347	10644	779	1748
Fe	16902	1906	2131	13640	1397	1962	10306	767	1410
Со	23,42	2,94	4,40	6,911	0,670	0,723	13,72	1,08	2,71
Ni	31,47	3,77	4,78	19,90	2,19	2,48	20,60	1,69	2,03
Cu	23,02	2,77	4,73	20,67	2,18	2,57	25,95	2,03	2,08
Zn	492,6	56,5	98,9	321,6	33,0	46,1	457,3	34,2	51,2
As	21,02	2,60	3,84	13,09	1,40	1,75	19,42	1,57	2,50
Rb	51,95	6,01	6,85	27,53	2,96	4,68	19,41	1,38	1,56
Sr	86,86	10,03	14,75	65,92	6,66	8,76	54,18	4,04	7,47
Y	15,58	1,91	2,62	9,225	0,983	1,344	6,673	0,528	1,174
Ba	615,5	74,1	112,6	245,0	26,5	37,3	208,9	11,0	16,0
W	7,766	0,963	1,334	6,606	0,704	0,847	7,287	0,576	0,849
Hg							2,359	0,185	0,356
T1							3,532	0,274	0,556
Pb	42,54	4,21	5,29	39,82	4,44	6,27	33,51	2,64	5,38
Bi	2,240	0,279	0,371	0,887	0,096	0,126	0,719	0,058	0,075
Th	8,787	1,084	1,476	4,071	0,428	0,577	7,263	0,563	0,640
U	2,620	0,323	0,454	2,061	0,189	0,565	1,265	0,099	0,133

Tabelle 61: Mittelwerte der relativen Gehalte von jeweils sechs zum gleichen Zeitpunkt entnommenen Biofilmen der Probennahmepunkte Wroclaw, Schwedt und Wittenberge. Als Bezugsgröße wurde die Kohlenhydratmenge der Biofilme verwendet. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen den durch Fehlerfortpflanzung berechneten Fehler σ sowie das Vertrauensintervall Δx der t-Verteilung für P=0,95 und n=6 dar).

Element	Wroclaw			Scl	iwedt		Wittenberge		
	Mittelwert	σ	Δx	Mittelwert	σ	Δx	Mittelwert	σ	Δx
	[mg/g]			[mg/g]			[mg/g]		
Al	602,3	71,8	92,1	361,9	43,1	58,3	331,2	34,5	35,2
Si	2018	222	311	1625	181	237	1110	111	162
K	175,4	18,7	23,7	82,12	9,20	10,48	60,91	4,89	6,10
Ca	138,6	14,9	18,8	474,3	52,6	65,3	208,8	20,1	20,8
Ti	47,69	5,02	5,68	23,89	2,66	2,68	14,95	1,49	2,24
V	1,233	0,138	0,167	0,752	0,087	0,088	0,631	0,047	0,065
Cr	1,494	0,173	0,190	0,878	0,101	0,102	0,342	0,036	0,076
Mn	205,6	21,5	28,9	85,12	9,79	21,15	296,1	29,9	70,2
Fe	452,5	47,1	50,5	379,9	42,8	50,6	281,9	25,3	28,5
Co	0,630	0,076	0,135	0,195	0,023	0,042	0,374	0,039	0,048
Ni	0,842	0,094	0,117	0,556	0,067	0,083	0,565	0,050	0,060
Cu	0,620	0,072	0,149	0,580	0,068	0,110	0,714	0,074	0,074
Zn	13,24	1,44	2,96	8,979	1,019	1,383	12,60	1,27	1,78
As	0,569	0,069	0,134	0,367	0,044	0,065	0,534	0,056	0,069
Rb	1,391	0,150	0,173	0,765	0,089	0,109	0,535	0,056	0,058
Sr	2,331	0,253	0,439	1,840	0,208	0,261	1,481	0,111	0,150
Y	0,422	0,051	0,099	0,256	0,021	0,030	0,183	0,019	0,031
Ba	16,42	1,84	2,60	6,799	0,656	0,797	5,764	0,592	0,654
W	0,209	0,025	0,044	0,185	0,022	0,027	0,202	0,021	0,036
Hg							0,065	0,007	0,013
T1							0,098	0,010	0,021
Pb	1,147	0,138	0,179	1,108	0,135	0,159	0,918	0,096	0,121
Bi	0,060	0,007	0,012	0,025	0,003	0,004	0,020	0,002	0,002
Th	0,236	0,028	0,042	0,113	0,013	0,015	0,201	0,021	0,036
U	0,070	0,008	0,013	0,056	0,005	0,006	0,035	0,004	0,005

Bei der Verwendung der absoluten Schwefel-, Phosphor- und Kohlenhydratmengen als Bezugsparameter zeigt sich, dass bei allen obigen Werten der mittels Fehlerfortpflanzung berechnete Fehler kleiner ist als das Vertrauensintervall der t-Verteilung. Daher wird im folgenden stets das Vertrauensintervall als Fehler angegeben.

Die mittels Fehlerfortpflanzung berechneten Fehler liegen nach Bezug auf die absoluten Schwefelmengen zwischen 4 und 8 %, bei Verwendung der Phosphormengen zwischen 5 und 12 % sowie bei Verwendung der Kohlenhydratmengen zwischen 7 und 12 %. Die Vertrauensintervalle der t-Verteilung liegen nach Bezug auf die absoluten Schwefelmengen zwischen 6 und 21 %, bei Verwendung der Phosphormengen zwischen 8 und 21 % sowie bei Verwendung der Kohlenhydratmengen zwischen 10 und 22 %. Die Reproduzierbarkeit ist also gut, so dass die drei Parameter Schwefel-, Phosphor- und Kohlenhydratmenge auch von daher als Bezugsgrößen geeignet sind.

3.6. Fazit der methodischen Entwicklungen

Die Züchtung der Biofilme erfolgte direkt auf TRFA-Probenträgern, welche in den jeweiligen Flusslauf gehängt wurden. Nach Entnahme der Probenträger wurden diese zunächst im Trockenschrank getrocknet und dann von den Schutzfolien befreit. Auf die getrockneten Biofilme wurde eine Galliumnitrat-Standardlösung gegeben, das Wasser mittels Ölpumpe abgezogen und die Biofilme direkt mit der TRFA gemessen. Anschließend wurden sie durch eine Ultraschall-Mikrosonde mit Wasser von den Probenträgern abgelöst, die entstandenen Lösungen mit Salzsäure hydrolysiert und einer photometrischen Kohlenhydratbestimmung nach Dubois et al. [220] unterzogen.

Die erhaltenen absoluten Metallmengen wurden jeweils auf die absoluten Schwefel-, Phosphor- bzw. Kohlenhydratmengen bezogen. Aus den Ergebnissen wurde jeweils mittels der t-Verteilung statistisch ein Mittelwert und ein Vertrauensintervall für n = 6und P = 0,95 berechnet. Abbildung 44 zeigt ein Fließschema des endgültigen, entwickelten Verfahrens.



Abbildung 44: Fließschema des Verfahrens zur Bestimmung von Metallgehalten in Biofilmen mittels TRFA

Die Nachweisgrenzen des TRFA-Verfahrens für die Analyse von Biofilmen lagen in Abhängigkeit vom jeweiligen Element zwischen 0,11 und 111 ng absolut pro Biofilm. Die nach Giauque [199] und DIN 32645 [198] bestimmten Nachweisgrenzen der TRFA unterschieden sich je nach Element um bis zu 20 %, das heißt, es besteht eine gute Übereinstimmung zwischen beiden Bestimmungsmethoden. Die nach DIN 32645 [198] experimentell ermittelte Nachweisgrenze für die Kohlenhydratbestimmung nach Dubois et al. [220] beträgt 0,4 µg/mL.

Nach Bezug der absoluten Metallmengen der Biofilme auf ihre absoluten Schwefel-, Phosphor- bzw. Kohlenhydratmengen lag die Reproduzierbarkeit zwischen 6 und 22 %.

3.7. Anwendung des entwickelten Verfahrens auf Biofilme aus Oder und Elbe

Das entwickelte Verfahren zur Direktbestimmung von relativen Schwermetallgehalten in Biofilmen mittels TRFA unter Verwendung der Bezugsparameter Schwefel-, Phosphor- und Kohlenhydratmenge wurde prototypisch auf Biofilme aus Oder und Elbe angewendet. Zum Vergleich wurden während des Versuchszeitraums auch Wasserproben aus den jeweiligen Flüssen entnommen und untersucht.

3.7.1. Bestimmung der Elementgehalte in Biofilmen mit Hilfe der TRFA

Nach dem in Kapitel 3.6. beschriebenen Verfahren wurden jeweils sechs Probenträger mit Biofilmbewuchs in regelmäßigen Zeitabständen aus den Flüssen entnommen und nach den entsprechenden Vorbereitungen mit der TRFA gemessen. Nach Ablösung und Hydrolyse der Biofilme erfolgte eine Kohlenhydratbestimmung nach Dubois et al. [220].

3.7.1.1. Biofilme aus der Oder

Die Züchtung der Biofilme erfolgte von Juni bis Oktober 2000 an sechs ausgewählten Standorten der Oder. Bei dem Probennahmepunkt Bystrzyca handelt es sich um einen Nebenfluss, welcher kurz hinter Wroclaw in die Oder mündet. Am Probennahmepunkt Schwedt konnten nur nach einer Wachstumsdauer von 2 und 7 Wochen Biofilme entnommen werden, da zu einem späteren Zeitpunkt der Wasserstand der Oder im Bereich Schwedt so stark gefallen war, dass sich die Probenträger nicht mehr im Flusslauf befanden. Die Probennahmepunkte Frankfurt/Oder I und Frankfurt/Oder II lagen ober- und unterhalb eines Klärwerkes. Am Probennahmepunkt Frankfurt/Oder II konnten nur nach einer Wachstumsdauer von 7 Wochen Biofilme entnommen werden, da zu einem früheren Zeitpunkt die Zufahrt zum Probennahmepunkt aufgrund von Straßenbauarbeiten gesperrt war und zu einem späteren Zeitpunkt die Probenträger vermutlich von Anglern aus dem Flusslauf entnommen worden waren, so dass diese nicht mehr verwendet werden konnten.

Die Abbildungen 45–54 zeigen die auf die absoluten Schwefel-, Phosphor- bzw. Kohlenhydratmengen bezogenen relativen Elementakkumulationen in den Oder-Biofilmen. Die dazugehörigen Werte sind in den Tabellen I–XVI des Anhangs dargestellt.



Abbildung 45: Relative Elementakkumulationen in den Biofilmen des Probennahmepunktes Wroclaw (Bezugsparameter: Absolute Schwefel-, Phosphor- bzw. Kohlenhydratmenge)


Abbildung 46: Relative Elementakkumulationen in den Biofilmen des Probennahmepunktes Wroclaw (Bezugsparameter: Absolute Schwefel-, Phosphor- bzw. Kohlenhydratmenge)



Abbildung 47: Relative Elementakkumulationen in den Biofilmen des Probennahmepunktes Bystrzyca (Bezugsparameter: Absolute Schwefel-, Phosphor- bzw. Kohlenhydratmenge)



Abbildung 48: Relative Elementakkumulationen in den Biofilmen des Probennahmepunktes Bystrzyca (Bezugsparameter: Absolute Schwefel-, Phosphor- bzw. Kohlenhydratmenge)



Abbildung 49: Relative Elementakkumulationen in den Biofilmen des Probennahmepunktes Brzeg Dolny (Bezugsparameter: Absolute Schwefel-, Phosphor- bzw. Kohlenhydratmenge)



Abbildung 50: Relative Elementakkumulationen in den Biofilmen des Probennahmepunktes Brzeg Dolny (Bezugsparameter: Absolute Schwefel-, Phosphor- bzw. Kohlenhydratmenge)



Abbildung 51: Relative Elementakkumulationen in den Biofilmen des Probennahmepunktes Frankfurt/Oder I (Bezugsparameter: Absolute Schwefel-, Phosphor- bzw. Kohlenhydratmenge)



Abbildung 52: Relative Elementakkumulationen in den Biofilmen des Probennahmepunktes Frankfurt/Oder I (Bezugsparameter: Absolute Schwefel-, Phosphor- bzw. Kohlenhydratmenge)



Abbildung 53: Relative Elementakkumulationen in den Biofilmen des Probennahmepunktes Schwedt (Bezugsparameter: Absolute Schwefel-, Phosphor- bzw. Kohlenhydratmenge)



punktes Schwedt (Bezugsparameter: Absolute Schwefel-, Phosphor- bzw. Kohlenhydratmenge)

Die Elementverteilungsmuster der Biofilme eines Probennahmepunktes sind auch nach unterschiedlicher Wachstumsdauer nahezu gleich. Dies gilt bei Bezug auf alle drei betrachteten Bezugsparameter. Silicium und Aluminium gehören zu den am häufigsten vorkommenden Elementen in den Oder-Biofilmen. Sie stammen einerseits aus Kieselalgen, zum anderen aus Silikaten und Alumosilikaten (z.B. Feldspäte, Tonmineralien). Auch Eisen, Mangan, Calcium, Kalium, Titan, Zink und Barium werden sehr stark in den Biofilmen akkumuliert.

Vergleicht man die Konzentrationen von Mangan und Titan, die von Barium und Strontium sowie die von Zink und Barium in den Oder-Biofilmen, so zeigt sich, dass Mangan sehr viel besser akkumuliert wird als Titan, Barium deutlich besser als Strontium und Zink außer in den Biofilmen der Probennahmepunkte Wroclaw und Bystrzyca deutlich besser als Barium.

Strontium, Blei, Kupfer, Chrom, Rubidium, Vanadium, Nickel, Arsen und Cobalt werden gut in den Oder-Biofilmen akkumuliert, wohingegen Yttrium, Wolfram, Thorium, Thallium, Quecksilber, Uran und Bismut weniger gut aufgenommen werden. Cadmium konnte in keinem der Biofilme gefunden werden, obwohl Zink stark angereichert wird.

Die Abbildungen 55–79 zeigen den zeitlichen Verlauf der relativen Akkumulation der Elemente in den Oder-Biofilmen. Die dazugehörigen Werte sind in den Tabellen I–XVI des Anhangs dargestellt. Als Bezugsgrößen wurden die absoluten Schwefel-, Phosphorbzw. Kohlenhydratmengen der Biofilme verwendet.



Abbildung 55: Verlauf der relativen Akkumulation von Silicium in Oder-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 56: Verlauf der relativen Akkumulation von Aluminium in Oder-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 57: Verlauf der relativen Akkumulation von Eisen in Oder-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 58: Verlauf der relativen Akkumulation von Calcium in Oder-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 59: Verlauf der relativen Akkumulation von Mangan in Oder-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 60: Verlauf der relativen Akkumulation von Kalium in Oder-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 61: Verlauf der relativen Akkumulation von Titan in Oder-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 62: Verlauf der relativen Akkumulation von Zink in Oder-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 63: Verlauf der relativen Akkumulation von Barium in Oder-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 64: Verlauf der relativen Akkumulation von Strontium in Oder-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 65: Verlauf der relativen Akkumulation von Blei in Oder-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0.95 und n=6 dar).



Abbildung 66: Verlauf der relativen Akkumulation von Kupfer in Oder-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 67: Verlauf der relativen Akkumulation von Chrom in Oder-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 68: Verlauf der relativen Akkumulation von Rubidium in Oder-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 69: Verlauf der relativen Akkumulation von Vanadium in Oder-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 70: Verlauf der relativen Akkumulation von Nickel in Oder-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 71: Verlauf der relativen Akkumulation von Arsen in Oder-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 72: Verlauf der relativen Akkumulation von Cobalt in Oder-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 73: Verlauf der relativen Akkumulation von Yttrium in Oder-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 74: Verlauf der relativen Akkumulation von Wolfram in Oder-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 75: Verlauf der relativen Akkumulation von Thorium in Oder-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 76: Verlauf der relativen Akkumulation von Thallium in Oder-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 77: Verlauf der relativen Akkumulation von Quecksilber in Oder-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 78: Verlauf der relativen Akkumulation von Uran in Oder-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 79: Verlauf der relativen Akkumulation von Bismut in Oder-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0.95 und n=6 dar).

Bei allen Elementen ist eine zunächst starke Anreichung zu erkennen, die sich dann meistens einem Grenzwert nähert.

Ein Vergleich der ermittelten Werte an den fünf Probennahmepunkten zeigt, dass die Biofilme des Probennahmepunktes Wroclaw in diesem Sättigungsbereich deutlich höhere Konzentrationen an Silicium, Aluminium, Eisen, Kalium, Titan, Chrom, Rubidium, Vanadium, Yttrium, Thorium, Uran und Bismut als die Biofilme der übrigen Probennahmepunkte enthalten.

Die Biofilme des Probennahmepunktes Bystrzyca enthalten die geringsten Konzentrationen an diesen Elementen, mit Ausnahme des Aluminiums, Vanadiums und Thoriums, sowie die geringste Konzentration an Blei. Gleichzeitig enthalten sie jedoch die höchsten Konzentrationen an Mangan, Zink, Barium, Nickel, Arsen, Cobalt, Wolfram und Thallium. Die Konzentration an Mangan ist sogar um das zehnfache, die Konzentration an Cobalt um das drei- bis sechzehnfache höher als in den Biofilmen der übrigen Probennahmepunkte. Aus den Abbildungen 45–54 ist ersichtlich, dass in den Oder-Biofilmen aller anderen Probennahmepunkte die Konzentration an Eisen deutlich höher als die an Mangan und die Konzentration an Nickel deutlich höher als die an Cobalt ist. In den Biofilmen des Probennahmepunktes Bystrzyca ist es genau umgekehrt. Außerdem konnte eine Akkumulation an Quecksilber nur in den Biofilmen des Probennahmepunktes Bystrzyca nachgewiesen werden (Abbildung 77).

Aus Abbildung 58 ist ersichtlich, dass die Konzentration an Calcium in den Biofilmen des Probennahmepunktes Schwedt am größten ist. Die Biofilme der Probennahmepunkte Frankfurt/Oder I und II enthalten recht hohe Konzentrationen an Blei, Kupfer und Arsen (Abbildung 65, 66, 71). Auch die Biofilme des Probennahmepunktes Wroclaw enthalten recht hohe Konzentrationen an Blei (Abbildung 65), die Biofilme des Probennahmepunktes Brzeg Dolny sehr hohe Konzentrationen an Kupfer (Abbildung 66).

Betrachtet man den Verlauf der Oder, so fällt auf, dass die Konzentrationen von Mangan, Barium, Strontium, Nickel, Cobalt und Thorium in den Oder-Biofilmen von Wroclaw über Brzeg Dolny und Frankfurt/Oder nach Schwedt kontinuierlich abnehmen. Einen ähnlichen Verlauf zeigen die Konzentrationen von Silicium, Aluminium, Titan, Chrom, Rubidium, Yttrium und Uran; mit dem Unterschied, dass
ihre Konzentrationen in den Biofilmen des Probennahmepunktes Schwedt dann wieder etwas ansteigen. Auch die Konzentrationen von Kalium, Vanadium, Wolfram und Bismut in den Biofilmen nehmen vom Probennahmepunkt Wroclaw zum Probennahmepunkt Brzeg Dolny ab, bleiben dann aber im weiteren Verlauf über Frankfurt/Oder nach Schwedt nahezu konstant.

Im Gegensatz dazu nehmen die Konzentrationen von Eisen, Zink und Blei in den Biofilmen vom Probennahmepunkt Wroclaw zum Probennahmepunkt Brzeg Dolny ab, steigen dann aber am Probennahmepunkt Frankfurt/Oder wieder an und sinken am Probennahmepunkt Schwedt erneut. Auch die Konzentrationen von Calcium und Arsen in den Biofilmen steigen am Probennahmepunkt Frankfurt/Oder stark an; die Konzentration des Arsens in den Biofilmen nimmt dann am Probennahmepunkt Schwedt wieder stark ab, wohingegen die Konzentration des Calciums in den Biofilmen dort weiter zunimmt.

Die Konzentration von Kupfer in den Biofilmen steigt bereits vom Probennahmepunkt Wroclaw zum Probennahmepunkt Brzeg Dolny stark an, bleibt am Probennahmepunkt Frankfurt/Oder annähernd gleich und sinkt dann am Probennahmepunkt Schwedt wieder deutlich ab.

3.7.1.2. Biofilme aus der Elbe

Die Züchtung der Biofilme in der Elbe erfolgte von Juni bis Oktober 2001 an den vier ausgewählten Standorten. Der Probennahmepunkt Wittenberge lag direkt unterhalb der Mülldeponie Wittenberge.

Die Abbildungen 80–87 zeigen die auf die absoluten Schwefel-, Phosphor- bzw. Kohlenhydratmengen bezogenen relativen Elementakkumulationen in den Elbe-Biofilmen. Die dazugehörigen Werte sind in den Tabellen XVII–XXVIII des Anhangs dargestellt.



Abbildung 80: Relative Elementakkumulationen in den Elbe-Biofilmen des Probennahmepunktes Klein Lüben (Bezugsparameter: Absolute Schwefel-, Phosphor- bzw. Kohlenhydratmenge)



Abbildung 81: Relative Elementakkumulationen in den Elbe-Biofilmen des Probennahmepunktes Klein Lüben (Bezugsparameter: Absolute Schwefel-, Phosphor- bzw. Kohlenhydratmenge)



Abbildung 82: Relative Elementakkumulationen in den Elbe-Biofilmen des Probennahmepunktes Wittenberge (Bezugsparameter: Absolute Schwefel-, Phosphor- bzw. Kohlenhydratmenge)



Abbildung 83: Relative Elementakkumulationen in den Elbe-Biofilmen des Probennahmepunktes Wittenberge (Bezugsparameter: Absolute Schwefel-, Phosphor- bzw. Kohlenhydratmenge)



Abbildung 84: Relative Elementakkumulationen in den Elbe-Biofilmen des Probennahmepunktes Viehle (Bezugsparameter: Absolute Schwefel-, Phosphor- bzw. Kohlenhydratmenge)



Abbildung 85: Relative Elementakkumulationen in den Elbe-Biofilmen des Probennahmepunktes Viehle (Bezugsparameter: Absolute Schwefel-, Phosphor- bzw. Kohlenhydratmenge)



Abbildung 86: Relative Elementakkumulationen in den Elbe-Biofilmen des Probennahmepunktes Tespe (Bezugsparameter: Absolute Schwefel-, Phosphor- bzw. Kohlenhydratmenge)



Abbildung 87: Relative Elementakkumulationen in den Elbe-Biofilmen des Probennahmepunktes Tespe (Bezugsparameter: Absolute Schwefel-, Phosphor- bzw. Kohlenhydratmenge)

Auch bei den Elbe-Biofilmen sind die Elementverteilungsmuster der Biofilme eines Probennahmepunktes nach unterschiedlicher Wachstumsdauer (bezogen auf alle drei Bezugsparameter) nahezu gleich. Wie bei den Oder-Biofilmen werden auch hier Silicium, Aluminium, Eisen, Mangan, Calcium, Kalium, Titan, Zink und Barium sehr stark akkumuliert.

Bei einem Vergleich der Konzentrationen von Mangan und Titan, der von Barium und Strontium sowie der von Zink und Barium zeigt sich wie bei den Oder-Biofilmen, dass Mangan sehr viel besser akkumuliert wird als Titan, Barium deutlich besser als Strontium und Zink besser als Barium.

Allgemein werden auch hier Strontium, Blei, Kupfer, Chrom, Rubidium, Vanadium, Nickel, Arsen und Cobalt gut akkumuliert, wohingegen Yttrium, Wolfram, Thorium, Thallium, Quecksilber, Uran und Bismut weniger gut aufgenommen werden. Cadmium konnte ebenfalls in keinem der Elbe-Biofilme gefunden werden, obwohl Zink stark akkumuliert wird.

Die Abbildungen 88–112 zeigen den zeitlichen Verlauf der relativen Akkumulation der Elemente in den Elbe-Biofilmen. Die dazugehörigen Werte sind in den Tabellen XVII– XXVIII des Anhangs dargestellt. Als Bezugsgrößen wurden die absoluten Schwefel-, Phosphor- bzw. Kohlenhydratmengen der Biofilme verwendet.



Abbildung 88: Verlauf der relativen Akkumulation von Silicium in Elbe-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 89: Verlauf der relativen Akkumulation von Aluminium in Elbe-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 90: Verlauf der relativen Akkumulation von Eisen in Elbe-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 91: Verlauf der relativen Akkumulation von Calcium in Elbe-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 92: Verlauf der relativen Akkumulation von Mangan in Elbe-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 93: Verlauf der relativen Akkumulation von Kalium in Elbe-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 94: Verlauf der relativen Akkumulation von Titan in Elbe-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 95: Verlauf der relativen Akkumulation von Zink in Elbe-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 96: Verlauf der relativen Akkumulation von Barium in Elbe-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 97: Verlauf der relativen Akkumulation von Strontium in Elbe-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 98: Verlauf der relativen Akkumulation von Blei in Elbe-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 99: Verlauf der relativen Akkumulation von Kupfer in Elbe-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 100: Verlauf der relativen Akkumulation von Chrom in Elbe-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0.95 und n=6 dar).



Abbildung 101: Verlauf der relativen Akkumulation von Rubidium in Elbe-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 102: Verlauf der relativen Akkumulation von Vanadium in Elbe-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 103: Verlauf der relativen Akkumulation von Nickel in Elbe-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 104: Verlauf der relativen Akkumulation von Arsen in Elbe-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 105: Verlauf der relativen Akkumulation von Cobalt in Elbe-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 106: Verlauf der relativen Akkumulation von Yttrium in Elbe-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 107: Verlauf der relativen Akkumulation von Wolfram in Elbe-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 108: Verlauf der relativen Akkumulation von Thorium in Elbe-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 109: Verlauf der relativen Akkumulation von Thallium in Elbe-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 110: Verlauf der relativen Akkumulation von Quecksilber in Elbe-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 111: Verlauf der relativen Akkumulation von Uran in Elbe-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 112: Verlauf der relativen Akkumulation von Bismut in Elbe-Biofilmen. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).

Wie bei den Biofilmen aus der Oder ist auch hier bei allen Elementen zunächst eine starke Anreichung zu erkennen, die sich dann meistens einem Grenzwert nähert.

Ein Vergleich der ermittelten Werte an den vier Probennahmepunkten zeigt, dass die Biofilme des Probennahmepunktes Wittenberge in diesem Sättigungsbereich deutlich höhere Konzentrationen an Mangan, Barium, Arsen, Thorium und Thallium als die Biofilme der übrigen Probennahmepunkte enthalten. Die Biofilme der Probennahmepunkte Tespe und Viehle enthalten die geringsten Konzentrationen an diesen Elementen. Die Konzentration an Mangan in den Biofilmen des Probennahmepunktes Wittenberge ist sogar um das anderthalb- bis zweifache höher als in den Biofilmen der übrigen Probennahmepunkte. Aus den Abbildungen 80–87 ist ersichtlich, dass in den meisten Elbe-Biofilmen die Konzentration an Eisen anderthalb bis zweimal so groß ist wie die an Mangan. In den Biofilmen des Probennahmepunktes Wittenberge sind die Konzentrationen an Eisen und Mangan jedoch nahezu gleich groß.

Die Biofilme des Probennahmepunktes Klein Lüben enthalten deutlich höhere Konzentrationen an Eisen, Kalium, Titan, Zink, Blei, Kupfer, Rubidium und Vanadium als die Biofilme der übrigen Probennahmepunkte. Die Biofilme des Probennahmepunktes Viehle enthalten die geringsten Konzentrationen an diesen Elementen.

Die Biofilme des Probennahmepunktes Tespe enthalten deutlich höhere Konzentrationen an Calcium, Strontium, Nickel und Wolfram als die Biofilme der übrigen Probennahmepunkte. Die Biofilme des Probennahmepunktes Viehle enthalten die geringsten Konzentrationen an diesen Elementen, mit Ausnahme des Calciums. Die Konzentration an Strontium in den Biofilmen des Probennahmepunktes Tespe ist sogar um das zweifache, die Konzentration an Calcium um das zwei- bis vierfache höher als in den Biofilmen der übrigen Probennahmepunkte. Aus den Abbildungen 80–87 ist ersichtlich, dass in den meisten Elbe-Biofilmen die Konzentration an Calcium drei- bis sechsmal so groß ist wie die an Kalium. In den Biofilmen des Probennahmepunktes Tespe sind die Konzentrationen an Calcium acht- bis zwölfmal so groß wie die an Kalium.

Aus Abbildung 100 wird deutlich, dass die Konzentrationen an Chrom in den Biofilmen der Probennahmepunkte Klein Lüben und Tespe am größten sind.
Betrachtet man den Verlauf der Elbe, so fällt auf, dass die Konzentrationen von Silicium, Eisen, Kalium, Titan, Zink, Blei, Kupfer, Rubidium, Vanadium und Yttrium in den Elbe-Biofilmen von Klein Lüben über Wittenberge nach Viehle kontinuierlich abnehmen und in Tespe dann wieder etwas ansteigen. Einen ähnlichen Verlauf zeigen die Konzentrationen von Strontium, Nickel und Wolfram, mit dem Unterschied, dass ihre Konzentrationen in den Biofilmen des Probennahmepunktes Tespe so stark ansteigen, dass die Werte noch oberhalb derer des Probennahmepunktes Klein Lüben liegen. Auch die Konzentrationen von Chrom und Bismut in den Biofilmen nehmen vom Probennahmepunkt Klein Lüben zum Probennahmepunkt Wittenberge stark ab, steigen dann aber im weiteren Verlauf über Viehle nach Tespe wieder stark an. Einen ähnlichen Verlauf zeigt die Konzentration von Uran; mit dem Unterschied, dass die Konzentration in den Biofilmen des Probennahmepunktes Tespe wieder stark an. Einen ähnlichen Verlauf zeigt die Konzentration von Uran; mit dem Unterschied, dass die Konzentration in den Biofilmen des Probennahmepunktes Tespe wieder etwas sinken. Die Konzentrationen von Quecksilber sind in den Biofilmen der Probennahmepunkte Klein Lüben und Wittenberge annähernd gleich, sinken dann aber im weiteren Verlauf über Viehle nach Tespe wieder stark ab.

Im Gegensatz dazu nehmen die Konzentrationen von Aluminium, Mangan, Barium, Arsen, Thorium und Thallium in den Biofilmen vom Probennahmepunkt Klein Lüben zum Probennahmepunkt Wittenberge zu, sinken dann aber im weiteren Verlauf über Viehle nach Tespe wieder ab. Einen ähnlichen Verlauf zeigt die Konzentration von Cobalt; mit dem Unterschied, dass die Konzentration in den Biofilmen des Probennahmepunktes Tespe wieder stark ansteigt. Die Konzentrationen von Calcium sind in den Biofilmen der Probennahmepunkte Klein Lüben und Wittenberge annähernd gleich und nehmen dann im weiteren Verlauf über Viehle nach Tespe stark zu.

3.7.2. Bestimmung der Elementgehalte in Wasser- und Schwebstoffproben

Um einen Vergleich der in den Biofilmen akkumulierten Elementgehalte mit den in der Wasserphase und den Schwebstoffen enthaltenen Elementkonzentrationen ziehen zu können, wurden an allen Probennahmepunkten bei jeder Entnahme von Biofilmen aus dem jeweiligen Flusslauf auch Wasserproben entnommen und anschließend zur Abtrennung der Schwebstoffe über einen Membranfilter der Porengröße 0,45 µm filtriert. Das Filtrat wurde zur Konservierung mit Salpetersäure (suprapur, 65%) versetzt und im Kühlschrank gelagert. Vor der Messung wurde ein Teil davon abgenommen und mit einer Galliumnitrat-Standardlösung versetzt. Die Schwebstofffilter wurden getrocknet, gewogen und anschließend in einem Gemisch aus Salzsäure (suprapur, 30%), Salpetersäure (suprapur, 65%) und Flusssäure (suprapur, 40%) im Mirowellenofen aufgeschlossen. Nach dem Aufschluss wurden die Lösungen mit Wasser quantitativ in ein PE-Gefäß überführt, auf ein bestimmtes Volumen aufgefüllt und mit einer Galliumnitrat-Standardlösung versetzt.

Die Wasserproben wurden mit Hilfe der TRFA unverdünnt gemessen; die Aufschlusslösungen der Schwebstofffilter wurden vor der TRFA-Messung um den Faktor fünf verdünnt. Für die ICP-MS-Messungen wurden die Wasserproben um den Faktor 10, die Aufschlusslösungen der Schwebstofffilter um den Faktor 25 verdünnt und jeweils mit einer Rhodiumchlorid-Standardlösung versetzt. Abbildung 113 zeigt ein Fließschema des eingesetzten Verbundverfahrens.



Abbildung113: Verbundverfahren für die Untersuchung der Wasser- und Schwebstoffproben

3.7.2.1. Bestimmung der Elementgehalte in Wasserproben

Die Mittelwerte der TRFA- und ICP-MS-Messungen sind in Tabelle XXIX–XXXI des Anhangs dargestellt. Die Abbildungen 114–123 zeigen eine graphische Darstellung der Elementverteilungsmuster im Wasser.



Abbildung 114: Konzentrationen gelöster Elemente in Wasserproben der Oder vom Probennahmepunkt Wroclaw. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=32 dar).



Abbildung 115: Konzentrationen gelöster Elemente in Wasserproben des Oder-Nebenflusses Bystrzyca. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=32 dar).



Abbildung 116: Konzentrationen gelöster Elemente in Wasserproben der Oder vom Probennahmepunkt Brzeg Dolny. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=32 dar).



Abbildung 117: Konzentrationen gelöster Elemente in Wasserproben der Oder vom Probennahmepunkt Frankfurt/Oder I. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=32 dar).



Abbildung 118: Konzentrationen gelöster Elemente in Wasserproben der Oder vom Probennahmepunkt Frankfurt/Oder II. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=8 dar).



Abbildung 119: Konzentrationen gelöster Elemente in Wasserproben der Oder vom Probennahmepunkt Schwedt. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0.95 und n=16 dar).



Abbildung 120: Konzentrationen gelöster Elemente in Wasserproben der Elbe vom Probennahmepunkt Klein Lüben. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=32 dar).



Abbildung 121: Konzentrationen gelöster Elemente in Wasserproben der Elbe vom Probennahmepunkt Wittenberge. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=32 dar).



Abbildung 122: Konzentrationen gelöster Elemente in Wasserproben der Elbe vom Probennahmepunkt Viehle. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0.95 und n=32 dar).



Abbildung 123: Konzentrationen gelöster Elemente in Wasserproben der Elbe vom Probennahmepunkt Tespe. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=32 dar).

Calcium, Kalium, Strontium und Eisen haben die höchsten Konzentrationen in der Wasserphase. Auch Aluminium, Mangan, Barium und Zink sind in recht hohen Konzentrationen enthalten, wohingegen Titan, Blei, Kupfer, Chrom, Rubidium, Vanadium, Nickel, Arsen, Cobalt, Yttrium, Wolfram, Thorium, Thallium, Uran und Bismut in deutlich geringeren Konzentrationen vorkommen. Die Konzentrationen an Quecksilber und Cadmium lagen in allen untersuchten Wasserproben unterhalb der Nachweisgrenze. Bei einem Vergleich der Konzentrationen an Barium und Strontium zeigt sich, dass beide Elemente in recht hohen Konzentrationen im Wasser enthalten sind. Die Konzentrationen an Strontium in der Wasserphase sind jedoch wesentlich höher als die an Barium. Ursache hierfür ist die höhere Mobilität des Strontiums, verglichen mit der des Bariums, welches schwerlöslichere Salze bildet und somit stärker aus der Wasserphase ausgefällt wird.

Weiterhin wird aus den Abbildungen 114 bis 119 deutlich, dass in der Oder die Konzentrationen an Aluminium, Kalium, Titan, Vanadium, Chrom, Rubidium, Yttrium und Bismut am Probennahmepunkt Wroclaw am größten sind, während am Probennahmepunkt Bystrzyca die höchsten Konzentrationen an Mangan, Cobalt, Nickel, Zink, Barium, Wolfram und Thallium zu finden sind. Besonders auffällig ist hierbei, dass die Konzentration an Eisen an allen übrigen Probennahmepunkten deutlich höher ist als die an Mangan, während es am Probennahmepunkt Bystrzyca genau umgekehrt ist. Die Konzentrationen an Kupfer und Blei sind an den Probennahmepunkten Frankfurt/Oder I und II am größten.

Aus den Abbildungen 120 bis 123 wird deutlich, dass in der Elbe die Konzentrationen an Kalium, Titan, Vanadium, Chrom, Eisen, Zink, Rubidium und Bismut am Probennahmepunkt Klein Lüben am größten sind, während am Probennahmepunkt Wittenberge die höchsten Konzentrationen an Aluminium, Mangan, Arsen, Barium und Thorium zu finden sind. Die Konzentrationen an Calcium, Nickel, Strontium und Wolfram sind am Probennahmepunkt Tespe am größten.

3.7.2.2. Bestimmung der Elementgehalte in Schwebstoffproben

Die Schwebstoffproben wurden nach dem in Kapitel 3.7.2. dargestellten Verbundverfahren behandelt. Die Mittelwerte der TRFA- und ICP-MS-Messungen der aufgeschlossenen Schwebstoffproben sind in Tabelle XXXII–XXXIV des Anhangs dargestellt. Die Abbildungen 124–133 zeigen eine graphische Darstellung der Element-verteilungsmuster in den Schwebstoffen.



Abbildung 124: Elementgehalte in Schwebstoffproben der Oder vom Probennahmepunkt Wroclaw. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=32 dar).



Abbildung 125: Elementgehalte in Schwebstoffproben des Oder-Nebenflusses Bystrzyca. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95und n=32 dar).



Abbildung 126: Elementgehalte in Schwebstoffproben der Oder vom Probennahmepunkt Brzeg Dolny. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=32 dar).



Abbildung 127: Elementgehalte in Schwebstoffproben der Oder vom Probennahmepunkt Frankfurt/Oder I. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=32 dar).



Abbildung 128: Elementgehalte in Schwebstoffproben der Oder vom Probennahmepunkt Frankfurt/Oder II. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=8 dar).



Abbildung 129: Elementgehalte in Schwebstoffproben der Oder vom Probennahmepunkt Schwedt. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=16 dar).



Abbildung 130: Elementgehalte in Schwebstoffproben der Elbe vom Probennahmepunkt Klein Lüben. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=32 dar).



Abbildung 131: Elementgehalte in Schwebstoffproben der Elbe vom Probennahmepunkt Wittenberge. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=32 dar).



Abbildung 132: Elementgehalte in Schwebstoffproben der Elbe vom Probennahmepunkt Viehle. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=32 dar).



Abbildung 133: Elementgehalte in Schwebstoffproben der Elbe vom Probennahmepunkt Tespe. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=32 dar).

Eisen, Aluminium, Calcium, Mangan, Kalium, Titan, Zink und Barium haben die höchsten Gehalte in den Schwebstoffen. Auch Strontium, Blei, Kupfer, Chrom, Rubidium, Vanadium, Nickel, Arsen und Cobalt sind in recht hohen Konzentrationen in den Schwebstoffen enthalten, wohingegen Yttrium, Wolfram, Thorium, Thallium, Uran und Bismut in deutlich geringeren Konzentrationen darin vorkommen. Die Gehalte an Quecksilber und Cadmium lagen in allen untersuchten Schwebstoffproben unterhalb der Nachweisgrenze. Bei einem erneuten Vergleich der Gehalte an Barium und Strontium zeigt sich, dass beide Elemente in recht hohen Konzentrationen in den Schwebstoffen enthalten sind. Im Gegensatz zur Wasserphase sind in den Schwebstoffen jedoch die Gehalte an Barium wesentlich höher als die an Strontium. Ursache hierfür ist wieder die höhere Mobilität des Strontiums, verglichen mit der des Bariums, welches schwerlöslichere Salze bildet und somit stärker in den Schwebstoffen angereichert wird.

Weiterhin wird aus den Abbildungen 124 bis 129 deutlich, dass – ähnlich wie bei den Wasserproben – in den Schwebstoffproben der Oder die Gehalte an Aluminium, Kalium, Titan, Vanadium, Chrom, Eisen, Rubidium, Yttrium, Bismut und Uran am Probennahmepunkt Wroclaw am größten sind, während am Probennahmepunkt Bystrzyca die höchsten Konzentrationen an Mangan, Cobalt, Nickel, Zink, Arsen, Barium, Wolfram, Thallium und Thorium zu finden sind. Auch hier ist besonders auffällig, dass der Gehalt an Mangan in den Schwebstoffen des Probennahmepunktes Bystrzyca deutlich höher ist als der an Eisen, während es in den Schwebstoffen aller übrigen Probennahmepunkte genau umgekehrt ist. Die Gehalte an Kupfer und Blei sind – wie schon bei den Wasserproben – in den Schwebstoffen der Probennahmepunkte Frankfurt/Oder I und II am größten.

Aus den die Verhältnisse in der Elbe beschreibenden Abbildungen 130 bis 133 wird deutlich, dass – ähnlich wie bei den Wasserproben – in den Schwebstoffen die Gehalte an Kalium, Titan, Vanadium, Eisen, Zink, Rubidium und Blei am Probennahmepunkt Klein Lüben am größten sind, während am Probennahmepunkt Wittenberge die höchsten Konzentrationen an Aluminium, Mangan, Arsen, Barium, Thallium und Thorium zu finden sind. Die Gehalte an Calcium, Nickel, Strontium, Yttrium und Wolfram sind – wie schon bei den Wasserproben – in den Schwebstoffen des Probennahmepunktes Tespe am größten.

4. Diskussion der Ergebnisse

Mikroorganismen haben die Eigenschaft, sich an Oberflächen anzulagern und diese durch Produktion von extrazellulären polymeren Substanzen (EPS) mit einem Film zu überziehen. Die Mikroorganismen zusammen mit den EPS werden als Biofilme bezeichnet. Diese besitzen unter anderem die Eigenschaft, Metallionen aus dem umgebenden Medium anzureichern. Dieser Prozess spielt eine wichtige Rolle bei der Immobilisierung und Remobilisierung der Halb- und Schwermetalle in natürlichen Systemen und hat somit direkten Einfluss auf die Metallkreisläufe in der Natur. Biofilme sind insofern ein wichtiges Kompartiment in aquatischen Systemen, ihre Rolle und Funktion ist aber noch weitgehend unklar.

Es bietet sich z.B. an, zu prüfen, ob die Züchtung und Analyse von Biofilmen im Rahmen des umweltanalytischen Monitorings auf Metallionen eingesetzt werden kann. Um ihre Akkumulation in Biofilmen bestimmen zu können, war zunächst die Entwicklung eines leistungsstarken Analysenverfahrens notwendig. Bedingt durch die in Biofilmen enthaltenen unterschiedlichen Elementgehalte muss das zu entwickelnde Verfahren geringe Nachweisgrenzen für die nur in Spuren enthaltenen Metallionen und eine hohe Toleranz gegenüber Matrixelementen besitzen. Weiterhin müssen geeignete Bezugsparameter zur Quantifizierung der in den Biofilmen akkumulierten Metallmengen zur Verfügung stehen.

4.1. Methodische Entwicklungen zur Bestimmung von Schwermetallen in Biofilmen

Für die Bestimmung von Schwermetallen in Biofilmen werden etliche Analysenmethoden in der Literatur beschrieben, z.B. die ICP-Massenspektrometrie [227, 228], die ICP-Atomemissionsspektrometrie [229, 230] und die Atomabsorptionsspektrometrie [231, 232]. Diese setzen jedoch alle die Isolierung und den Aufschluss der Biofilme voraus. Bei der Isolierung der Biofilme von ihrer Unterlage erhält man jedoch entweder nicht den ganzen Biofilm (bezogen auf seine Dicke), oder es werden auch Teile des Substratums mit entfernt. Da Biofilme hinsichtlich ihrer Zusammensetzung inhomogen sind und somit auch die Verteilung der in ihnen immobilisierten Metallionen nicht homogen ist, führt die Untersuchung von nur einzelnen Teilen eines Biofilms zu anderen Ergebnissen als diejenige des gesamten Biofilms. Werden bei der Isolierung des Biofilms auch Teile des Substratums mit entfernt, so führt die anschließende Untersuchung auch zu falschen Ergebnissen.

Beim Aufschluss von Biofilmen ist zu beachten, dass einerseits Säuren oder andere Chemikalien hinzugegeben werden, welche ein Kontaminationsrisiko darstellen, andererseits die Biofilme und deren Aufschlusslösungen mehrfach von einem Gefäß in ein anderes überführt werden, was zu Verlusten führen kann.

Hauptsächliche Nachteile der oben beschriebenen Vorgehensweise sind neben Verlusten bzw. Kontaminationen, welche sowohl durch die Isolierung als auch den Aufschluss der Biofilme zustande kommen können, der hohe Zeit- und Arbeitsaufwand sowie die Tatsache, dass durch den Aufschluss der Biofilme deren organische Bestandteile zerstört werden, so dass diese später nicht mehr als Bezugsparameter verwendet werden können.

Selbst bei der Wahl von Probenzuführungstechniken, mit deren Hilfe eine direkte Feststoffeinführung möglich ist (z.B. Verwendung von Graphitrohren für GF-AAS [233, 234] und ETV-ICP-MS [180]) muss zunächst eine Isolierung der Biofilme von ihrer Unterlage erfolgen. Eine Ausnahme bildet hier nur die Laserverdampfung, bei der jedoch die Quantifizierung der Metallionen nach wie vor ein Problem darstellt [181-185]. Die GF-AAS besitzt den weiteren Nachteil, dass es sich bei ihr um eine Einzelelementmethode handelt, welche den Multielementmethoden hinsichtlich des benötigten Zeitaufwands unterlegen ist.

Die neben der Direktmessung mittels TRFA zur Zeit einzige verfügbare und anwendbare Analysenmethode, mit deren Hilfe Biofilme ohne Isolierung von ihrer Unterlage gemessen werden können, ist die instrumentelle Neutronenaktivierungsanalyse [235]. Dabei werden auch die den Untergrund stark erhöhenden Nuklide ²⁴Na und ³²P gebildet, was das Nachweisvermögen der Methode bei Einsatz biologischer Materialien stark einschränkt. Weiterhin ist diese Methode nicht für eine Routineanalytik einsetzbar, da sie sehr teuer ist und die Messkapazitäten an den zur Verfügung stehenden Reaktoren stark begrenzt sind. Die Direktmessung mittels TRFA erscheint damit als die einzige anwendbare, kostengünstige und routinetaugliche Analysenmethode zur Bestimmung von Schwermetallen in Biofilmen.

4.1.1. Direktanalyse von Biofilmen mit der TRFA

Bei der TRFA müssen die Proben in einer dünnen, amorphen, matrixarmen Schicht auf dem Probenträger vorliegen, da nur dann eine lineare Beziehung zwischen der Fluoreszenzintensität und der Konzentration eines Analysenelements besteht. Die Dicke der Biofilme ist daher ein kritischer Punkt bei ihrer Direktanalyse. Sie stellt immer nur einen Kompromiss zwischen zwei gegensätzlichen Anforderungen dar. Einerseits muss das Wachstum der Biofilme im Flusslauf lange genug andauern, damit die Absolutmenge an akkumulierten Spurenelementen in den Biofilmen möglichst hoch ist. Andererseits sollte die Dicke der Biofilme sowie die Masse der akkumulierten Matrixelemente möglichst gering sein, um eine störungsfreie Messung zu gewährleisten.

Ein Vergleich der Messergebnisse zwischen der Direktmessung von Biofilmen mittels TRFA und der Bestimmung der Elementgehalte in den aufgeschlossenen Proben mittels ICP-MS (bzw. AAS für Chrom und ICP-AES für Schwefel und Phosphor) zeigte für die meisten Elemente keine signifikanten Unterschiede, wie Abbildung 134 und 135 zeigen. Somit konnte nachgewiesen werden, dass die Direktmessung von Biofilmen mittels TRFA trotz ihrer relativ großen Dicke zu richtigen Messwerten führt.

Probleme traten bei der Bestimmung von Titan und Vanadium auf, wo mittels ICP-MS deutlich höhere Werte als mit der TRFA ermittelt wurden. Die Ursache hierfür lag in der Kontamination der Proben durch die Ablösung der Biofilme mittels Ultraschallsonde, deren Kegelspitze aus Titan besteht. Die daraus resultierende Blindwertbelastung lag bei den Elementen Titan und Vanadium in der gleichen Größenordnung wie die in den meisten Biofilmen enthaltenen Metallgehalte. Dies verdeutlicht den durch die Probenaufbereitung entstehenden Nachteil der ICP-MS-Messung gegenüber der Direktmessung der Biofilme mittels TRFA.



Abbildung 134: Vergleich der Elementgehalte eines Oder-Biofilms, bestimmt mittels TRFA und ICP-MS, bzw. ICP-AES für Phosphor und Schwefel sowie AAS für Chrom. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=4 dar).



Abbildung 135: Vergleich der Elementgehalte eines Elbe-Biofilms, bestimmt mittels TRFA und ICP-MS, bzw. ICP-AES für Phosphor und Schwefel sowie AAS für Chrom. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=4 dar).

Die Nachweisgrenzen von Analysen mit der TRFA sind stark von der Matrix des eingesetzten Probenmaterials sowie dessen Oberfläche abhängig. Bei der Direktanalyse von Biofilmen waren aufgrund der damit verbundenen biologischen Matrix auf dem Probenträger und der rauen Oberfläche der Biofilme durch daraus resultierende Matrixund Streuungseffekte schlechtere Nachweisgrenzen als bei der Analyse von Lösungen zu erwarten. Dies wurde durch die Untersuchungen bestätigt. Dennoch waren die Nachweisgrenzen für die meisten Elemente gering genug, um sowohl Matrixelemente als auch nur in Spuren enthaltene Elemente nebeneinander mit hinreichender Nachweisstärke bestimmen zu können. Die akkumulierten Metallmengen in den Biofilmen lagen in fast allen Fällen oberhalb der absoluten Nachweisgrenzen des TRFA-Verfahrens. Nur bei Cadmium lagen sie in allen Proben darunter. Die absoluten Nachweisgrenzen lagen je nach Element zwischen 0,11 und 111 ng. Die Direktmessung von Biofilmen mittels TRFA besitzt somit einen weiteren Vorteil. Sie benötigt nur äußerst geringe Probenmengen, die durch die Begrenzung des Wachstums auf den vom Detektor erfassten Bereich des Probenträgers resultieren.

Die Intensität der Fluoreszenzstrahlung hängt unter anderem von der Stromstärke ab, mit der die Röntgenröhre betrieben wird. Durch ihre Erhöhung können auch Proben, die nur geringe Absolutmengen an Metallionen enthalten, gemessen werden. Andererseits darf die Stromstärke bei Proben, die sehr hohe Absolutmengen an Metallionen enthalten, nur sehr gering sein, damit die Fluoreszenzstrahlung nicht zu hoch ist, da sich ansonsten der Detektor schließt.

Da die akkumulierten Metallgehalte in den Biofilmen je nach Wachstumsdauer recht unterschiedlich sind, benötigt man für die Direktmessung mittels TRFA ein Spektrometer, bei dem sich die Stromstärke der Röntgenröhre bei jeder Probe je nach Intensität der Fluoreszenzstrahlung automatisch hoch- und runterregelt. Dies ist nur bei neueren TRFA-Geräten der Fall.

Weiterhin wird für die Bestimmung von Schwefel und Phosphor ein Spektrometer mit hoher spektraler Auflösung benötigt, da die Fluoreszenzausbeute dieser Elemente gering ist und sich ihre Fluoreszenzpeaks im vorderen Massenbereich auf einem erhöhten Untergrund befinden. Mit einem geeigneten Spektrometer lassen sich die Peaks von Schwefel und Phosphor klar voneinander und vom spektralen Untergrund unterscheiden, wie Abbildung 136 und 137 zeigen.



Abbildung 136: TRFA-Spektrum eines mit einer Sulfat- und Phosphatstandardlösung versehenen Perspex[®]*-Probenträgers, aufgenommen mit Mo-Anregung.*



Abbildung 137: TRFA-Spektrum eines Biofilms, aufgenommen mit Mo-Anregung.

4.1.2. Entwicklung von Bezugsparametern

Ein Vergleich der Messergebnisse von jeweils sechs Biofilmen des selben Probennahmepunktes mittels Varianzanalyse hat gezeigt, dass diese keiner gemeinsamen Grundgesamtheit angehören und daher nicht zusammengefasst werden können. Da sich auf den einzelnen Probenträgern unterschiedliche Mengen an Biofilm befinden, welche sich auch in ihren akkumulierten Metallmengen unterscheiden, ist dies nicht überraschend. Um die Metallakkumulation von mikrobiellen Biofilmen quantifizieren zu können, musste für diese also ein geeigneter Parameter gefunden werden, auf den man die Metallgehalte beziehen kann. Es existieren verschiedene Ansätze, die allerdings aufgrund der Verwendung unterschiedlicher Bezugsparameter nur recht begrenzt vergleichbare Daten liefern [199].

Voraussetzung für die Eignung als Bezugsparameter ist, dass dieser ein Maß für die Menge des Biofilms und somit auch für die Bindungskapazität von Metallionen darstellt. Neben Dicke, Dichte, Zellzahl und Volumen, deren Bestimmung häufig recht zeitaufwändig, von geringer Präzision und mit hohen Kosten verbunden ist, sind hierfür prinzipiell insbesondere spezifische Biofilm- oder Zellkomponenten (wie z.B. Polysaccharide oder Proteine) sowie die Trockenmasse geeignet [204-218].

Bei der Verwendung der Trockenmasse als Bezugsparameter für die ermittelten Metallmengen zeigte ein varianzanalytischer Vergleich der resultierenden Werte von jeweils sechs Biofilmen des selben Probennahmepunktes, dass diese keiner gemeinsamen Grundgesamtheit angehören. Die Trockenmasse war damit in diesem Fall nicht als Bezugsparameter für die akkumulierten Metallmengen geeignet. Ursache ist vermutlich die hygroskopische Natur der Biofilme, welche nach der Trocknung wieder Feuchtigkeit adsorbieren [219].

Die Bestimmung der Kohlenhydratgehalte von Biofilmen mit der Methode nach Dubois et al. [220] ergab im Vergleich zur HPLC meist zu hohe Werte [211]. Dennoch wird diese Methode oft zur Bestimmung der Kohlenhydratmenge in den Biofilmen verwendet, da sie einfach anzuwenden, kostengünstig und schnell ist. Es konnte gezeigt werden, dass die in den Biofilmen enthaltenen Proteine eine Störung der photometrischen Kohlenhydratbestimmung bewirken und daher die wahrscheinlichste Ursache für die in der Literatur beschriebenen Falschanalysen darstellen. In den Biofilmen wurden daher die enthaltenen Proteine hydrolysiert, so dass sie keine Störung der photometrischen Kohlenhydratbestimmung mehr verursachen können. Danach konnte die Methode nach Dubois et al. [220] problemlos verwendet werden.

Ein in dieser Arbeit neu gewählter Ansatz war die Verwendung der in Biofilmen enthaltenen Anteile an Schwefel und Phosphor als Bezugsparameter für die Akkumulation der Metallionen. Voraussetzung hierfür ist, dass Schwefel und Phosphor nicht in anorganischer Form in den Biofilmen enthalten sind, sondern als Kohlenhydrate, Proteine, Nukleotide und Phospholipide vorliegen.

Ein Vergleich der auf die jeweiligen Schwefel-, Phosphor- bzw. Kohlenhydratmengen bezogenen Messwerte von jeweils sechs Biofilmen des selben Probennahmepunktes mittels Varianzanalyse zeigte, dass die resultierenden Werte einer gemeinsamen Grundgesamtheit angehörten. Die Vertrauensintervalle der t-Verteilung lagen zwischen 6 und 22 %, die Reproduzierbarkeit war also gut. Dies zeigte, dass sowohl die Schwefel- und Phosphor- als auch die Kohlenhydratmenge die Absolutmenge der Biofilme repräsentierten und folglich als Bezugsparameter für die akkumulierten Metallmengen geeignet sind. Im Umkehrschluss bedeutet dies, dass Schwefel und Phosphor in den untersuchten Biofilmen praktisch nicht als freie Sulfate oder Phosphate vorliegen, sondern hauptsächlich Teil der organischen Matrix sind. Auch die Metallionen müssen in die Stoffwechselvorgänge eingebunden sein.

Darüber hinaus haben bivariate Korrelationsanalysen aller als Bezugsgrößen in Frage kommenden Parameter sämtlicher Probennahmepunkte der Oder und Elbe gezeigt, dass die drei Parameter Kohlenhydrat-, Schwefel- und Phosphormenge hochsignifikant miteinander korrelierten, während eine Korrelation dieser drei Parameter mit der Trockenmasse nicht gegeben war. Darauf aufbauend ergab eine multiple lineare Korrelationsanalyse aller gemessenen Werte sämtlicher Probennahmepunkte, dass alle Elemente untereinander sowie mit den Schwefel-, Phosphor- und Kohlenhydratmengen hochsignifikant korrelierten, was hinsichtlich der Korrelation mit der Trockenmasse nur bei einigen Biofilmen zu beobachten war. Auch hier zeigt sich also, dass die Kohlenhydrat-, Schwefel- und Phosphormengen im Gegensatz zur Trockenmasse als Bezugsgrößen für die in den Biofilmen enthaltenen Absolutmengen geeignet sind. Da die Biofilme verschiedener Probennahmepunkte unterschiedliche Zusammensetzungen sowohl hinsichtlich der Biozönose als auch der EPS-Matrix besitzen können, unterscheiden sie sich vermutlich in ihrem Vermögen, nachträglich Wasser zu adsorbieren. Dies würde erklären, weshalb eine Korrelation der Elemente mit der Trockenmasse in den Biofilmen einiger Probennahmepunkte zu beobachten war und in anderen nicht.

Die Schwefel- bzw. Phosphormengen in den Biofilmen können zusammen mit den Metallmengen direkt mit der TRFA gemessen werden. Es ist somit keine Isolierung und Aufarbeitung der auf den TRFA-Probenträgern gezüchteten Biofilme notwendig. Der entscheidende Vorteil dieses Verfahrens liegt also in der Vermeidung einer hinsichtlich Verlusten und Kontaminationen risikoreichen Probenvorbereitung. Damit verbunden ist ein wesentlich geringerer Arbeitsaufwand und eine deutliche Zeitersparnis.

4.2. Anwendung des entwickelten Verfahrens auf Biofilme aus Oder und Elbe

Das entwickelte Verfahren zur Direktbestimmung von relativen Schwermetallgehalten in Biofilmen mittels TRFA unter Verwendung der Bezugsparameter Schwefel-, Phosphor- und Kohlenhydratmenge wurde prototypisch auf Biofilme aus Oder und Elbe angewendet. Zum Vergleich wurden während des Versuchszeitraums auch Wasser- und Schwebstoffproben aus den jeweiligen Flüssen entnommen und untersucht.

Bei der Bestimmung von Metallgehalten in den Biofilmen wurde deutlich, dass diese die Fähigkeit besitzen, Metallionen elementspezifisch aus dem Medium anzureichern. Es tritt jedoch keine "unendliche" Anreicherung auf, sondern die Metallgehalte in den Biofilmen zeigen einen zeitlich abhängigen, sigmoiden Verlauf. Bei allen Elementen war zunächst eine starke Anreichung zu erkennen, die sich dann meistens einem Grenzwert näherte. Die Ursache hierfür liegt darin, dass Biofilme keine unbegrenzte Dicke erreichen, sondern sich nach einer starken Wachstumsphase ein dynamisches Gleichgewicht zwischen Neubildung und Ablösung von Teilen des Biofilms einstellt. Dieses Gleichgewicht wird im wesentlichen vom Wachstum der Mikroorganismen und der Scherkraft des Mediums bestimmt [43]. Bei dem in natürlichen Fließgewässern vorherrschenden pH-Wert von ca. 8 bilden viele der im Wasser enthaltenen Metallionen ausfallende bzw. kolloidale Oxidhydrate. Besonders Eisen- und Manganionen liegen in hohen Konzentrationen im Wasser vor und fallen bei pH-Werten um 8 als Eisen- und Manganoxidhydrate aus. Diese werden an den Biofilmen sorbiert und somit immobilisiert. Mitfällungs- und Adsorptionsprozesse bringen auch andere Metallionen aus der wässrigen Phase in die Nähe der wachsenden Biofilme. In diesen treten die in Kapitel 2.2.4. erwähnten Sorptionsmechanismen sowie die in Kapitel 2.2.3. aufgeführten Mechanismen zur Detoxifikation auf. Die so an den Zelloberflächen bzw. in der Biofilmmasse akkumulierten Metallionen werden offensichtlich anschließend in Stoffwechselprozesse einbezogen und danach gegebenenfalls wieder an das aquatische Medium abgegeben oder als essentielle Spurenelemente in weiteren Stoffwechselprozessen verwertet.

Die relativen Elementverteilungsmuster der Biofilme eines Probennahmepunktes sind dementsprechend nach unterschiedlicher Wachstumsdauer nahezu gleich. Dies gilt sowohl für die Schwefel-, als auch für die Phosphor- und Kohlenhydratmengen als Bezugsparameter. Silicium, Aluminium, Eisen, Mangan, Calcium, Kalium, Titan, Zink und Barium werden sehr stark in den Biofilmen akkumuliert, was ihre Bedeutung für den Stoffwechsel der Mikroorganismen verdeutlicht.

Bei einem Vergleich der Konzentrationen von Mangan und Titan, Barium und Strontium sowie Zink und Barium in den Biofilmen zeigte sich, dass Mangan sehr viel besser als Titan, Barium deutlich besser als Strontium und Zink besser als Barium akkumuliert wurden.

Weiterhin fiel auf, dass die Gehalte an Mangan in allen Schwebstoffen mit Ausnahme denen des Probennahmepunktes Bystrzyca niedriger als die Gehalte an Kalium in diesen Schwebstoffen waren, während seine Gehalte in den Biofilmen ausnahmslos höher als diejenigen an Kalium waren. Mangan wird in den Biofilmen also deutlich besser akkumuliert als in den Schwebstoffen. Die Ursache kann also nicht in der passiven Adsorption schwerlöslicher Manganverbindungen liegen, da diese auch an den Schwebstoffen stattfindet.

Beim Mangan liegt die Bildung bioanorganischer Substanzen besonders nahe, da die Biofilme eine große Menge an Algen enthielten und Mangan von diesen zur Wasseroxidation während der Photosynthese benötigt wird. Die bessere Akkumulation des Bariums, verglichen mit der des Strontiums, hat ihre Ursache vermutlich in der Zusammensetzung der Mikrobiozönose und möglicherweise in Detoxifikationseffekten. Sowohl BaSO₄ als auch SrSO₄ gehören zu den wichtigsten Biomineralien, deren unabdingbare Voraussetzung die geringe Löslichkeit unter normalen physiologischen Bedingungen ist. In einigen einzelligen Schmuckalgen liegt Bariumsulfat in kristalliner Form als Schwerspat in Vesikeln vor, welche eine Funktion als Schwerkraftsensoren erfüllen [84]. Einige einzellige Strahlentierchen besitzen Exoskelette aus Strontiumsulfat-Einkristallen, die eine Funktion als Stützgerüst innehaben [236].

Die Ursache für die bessere Akkumulation von Zink, verglichen mit der des Bariums, liegt vermutlich in seiner großen Bedeutung als Zentralatom diverser Enzyme.

Vergleicht man die Akkumulation der Ionen von Strontium, Blei, Kupfer, Chrom, Rubidium, Vanadium, Nickel, Arsen und Cobalt mit der von Yttrium, Wolfram, Thorium, Thallium, Quecksilber, Uran und Bismut, so wird ebenfalls die bioanorganische Relevanz der erstgenannten als essentielle Spurenelemente deutlich. Blei, Quecksilber, Thallium und Arsen sind aufgrund ihrer Thiophilie und der damit verbundenen Blockierung von Enzymen toxisch für Organismen und werden daher zur Detoxifikation im Biofilm immobilisiert und teilweise nach Biomethylierung an die Umgebung wieder abgegeben.

Bei der Höhe der Akkumulationen der einzelnen Elementionen spielt sicher die Häufigkeit des Auftretens in der Wasserphase eine Rolle. Die strikte Korrelation mit biogenen Parametern wie Schwefel, Phosphor und Kohlenhydraten verdeutlicht, dass alle durch den Stoffwechsel geschleust worden sein müssen. Im Verlauf der dabei ablaufenden Prozesse kann es zu An- und Abreicherungen kommen, die durch die Höhe der Konzentrationen der einzelnen Elementionen in der Wasserphase beeinflusst sein können, aber nicht müssen. Mikroorganismen verfügen bekanntlich über extrem leistungsfähige Transportsysteme. Siderophore können z.B. Eisen(III)ionen aus extremsten Verdünnungen in Gläsern herauslösen [237].

Cadmium konnte in keinem der Biofilme nachgewiesen werden, was einerseits an seiner extrem hohen Mobilität und seiner hohen Toxizität liegen dürfte, andererseits

aber auch an der Tatsache, dass die Bestimmungsgrenze des TRFA-Verfahrens für Cadmium mit 1,65 ng absolut deutlich höher ist als die ähnlich seltener Elemente. Ursache hierfür ist, dass Cadmium mit der W-Anregung gemessen werden muss, bei der die Intensitäten nur ein Fünftel jener der Mo-Anregung betragen. Dies kann zwar durch Messzeitverlängerung ausgeglichen werden, aber dabei steigt auch die Untergrundrate, so dass sich das Signal/Untergrund-Verhältnis nicht verbessert. In einigen TRFA-Spektren war ein kleiner Cadmium-Peak zu erkennen, wie Abbildung 138 zeigt. Dieser konnte jedoch aufgrund der oben angeführten Gründe nicht quantitativ ausgewertet werden. Ob Cadmium eine Rolle in Biofilmen spielt, konnte daher aus analytischen Gründen nicht abgeklärt werden.



Abbildung 138 : TRFA-Spektrum eines Biofilms, aufgenommen mit W-Anregung

4.2.1. Biofilme aus der Oder

Wie bereits erwähnt, lagen die Probennahmepunkte Frankfurt/Oder I und Frankfurt/Oder II ober- und unterhalb eines Klärwerks. Bei einem Vergleich der jeweils nach 7 Wochen entnommenen Biofilme (Abbildungen 139 und 140) zeigte sich am Probennahmepunkt II unterhalb des Klärwerks eine leichte Erhöhung der Konzentrationen an Eisen, Barium, Strontium, Chrom, Rubidium, Vanadium, Nickel, Yttrium und Uran sowie eine deutliche Erhöhung der Konzentrationen an Calcium, Blei und Kupfer gegenüber dem Probennahmepunkt I oberhalb des Klärwerks. Die Ergebnisse verdeutlichen den massiven Einfluss des Klärwerks, der sowohl hinsichtlich der Einträge von Metallionen als auch hinsichtlich der von Mikroorganismen besteht.



Abbildung 139: Vergleich der relativen Elementakkumulationen in den Biofilmen der Probennahmepunkte Frankfurt/Oder I und II. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 140: Vergleich der relativen Elementakkumulationen in den Biofilmen der Probennahmepunkte Frankfurt/Oder I und II. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).

4.2.2. Biofilme aus der Elbe

Die Probennahmepunkte Klein Lüben und Wittenberge lagen - wie bereits erwähnt ober- und unterhalb der Stadt sowie der Mülldeponie. Verglichen mit dem Probennahmepunkt Klein Lüben oberhalb von Wittenberge zeigte sich in den jeweils nach 17 Wochen entnommenen Biofilmen (Abbildung 141 und 142) am Probennahmepunkt darunter eine leichte Erhöhung der Konzentrationen an Aluminium, Barium, Arsen und Thallium sowie eine deutliche Erhöhung der Konzentrationen an Mangan, Cobalt und Thorium. Gleichzeitig sanken die Konzentrationen an Eisen, Kalium, Titan, Zink, Strontium, Blei, Kupfer, Chrom, Rubidium, Vanadium, Nickel, Yttrium, Uran und Bismut. Eine mögliche Ursache hierfür könnte der Eintrag von Metallionen durch die Stadt Wittenberge einschließlich ihrer Mülldeponie sein. Eine andere mögliche Ursache könnte der beobachtete Anstieg des pH-Werts vom Probennahmepunkt Klein Lüben (pH=7,72) zum Probennahmepunkt Wittenberge (pH=8,01) sein, da hierdurch eventuell ein größerer Anteil der Metallionen aus der Wasserphase ausgefällt wird. Weiterhin verändert sich möglicherweise die Zusammensetzung der Mikrobiozönose. Diese Ergebnisse zeigen den großen Einfluss von Städten auf das labile Gleichgewicht aquatischer Ökosysteme.



Abbildung 141: Vergleich der relativen Elementakkumulationen in den Biofilmen der Probennahmepunkte Klein Lüben und Wittenberge. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).



Abbildung 142: Vergleich der relativen Elementakkumulationen in den Biofilmen der Probennahmepunkte Klein Lüben und Wittenberge. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=6 dar).

4.2.3. Beziehungen zwischen Metallgehalten in Biofilmen, gelöster Phase und Schwebstoffen

Um beurteilen zu können, ob Biofilme anstelle von Wasser- oder Schwebstoffproben zur regelmäßigen Überwachung der Wasserqualität von aquatischen Ökosystemen herangezogen werden können, wurden die einzelnen Kompartimente miteinander verglichen.

4.2.3.1. Situation in der gelösten Phase und den Schwebstoffen

Wie schon bei den Biofilmen, so besitzen auch in den Schwebstoffen Eisen, Aluminium, Calcium, Mangan, Kalium, Titan, Zink und Barium die höchsten Gehalte. Auch Strontium, Blei, Kupfer, Chrom, Rubidium, Vanadium, Nickel, Arsen und Cobalt sind in recht hohen Konzentrationen in den Schwebstoffen enthalten, wohingegen Yttrium, Wolfram, Thorium, Thallium, Uran und Bismut in deutlich geringeren Konzentrationen darin vorkommen. Die Gehalte an Quecksilber und Cadmium lagen in allen untersuchten Schwebstoffproben unterhalb der Nachweisgrenze (0,23 ng absolut für Quecksilber und 0,45 ng absolut für Cadmium).

In der gelösten Phase besitzen Calcium, Kalium, Strontium und Eisen die höchsten Konzentrationen. Auch Aluminium, Mangan, Barium und Zink sind in recht hohen Konzentrationen enthalten, wohingegen Titan, Blei, Kupfer, Chrom, Rubidium, Vanadium, Nickel, Arsen, Cobalt, Yttrium, Wolfram, Thorium, Thallium, Uran und Bismut in deutlich geringeren Konzentrationen vorkommen. Die Konzentrationen an Quecksilber und Cadmium lagen wie schon bei den Schwebstoffproben in allen untersuchten Wasserproben unterhalb der Nachweisgrenze.

Für die Summe von Wasser- und Schwebstoffphase, wie sie in unfiltrierten Mischproben betrachtet wird, ergeben sich recht hohe Konzentrationen an Eisen, Aluminium, Calcium, Mangan, Kalium, Titan, Zink, Barium, Strontium und Rubidium, während Blei, Kupfer, Chrom, Vanadium, Nickel, Arsen, Cobalt, Yttrium, Wolfram, Thorium, Thallium, Uran und Bismut in deutlich geringeren Konzentrationen darin enthalten sind.
Die Konzentrationen an Quecksilber und Cadmium lagen – wie oben bereits erwähnt – unterhalb der Nachweisgrenze.

Sowohl die Wasser- als auch die Schwebstoffproben sowie ihre Summe zeigen damit eine ähnliche Elementverteilung wie die Biofilme. Eine Ausnahme bilden Strontium und Titan in der gelösten Phase. Die Konzentrationen an Strontium liegen in der Wasserphase deutlich höher und die an Titan deutlich niedriger als in den Schwebstoffproben und den Biofilmen.

Besondere Verhältnisse liegen an der Oder wieder im Bereich des Klärwerks Frankfurt/Oder und an der Elbe im Bereich der Stadt Wittenberge einschließlich deren Mülldeponie vor.

Bei einem Vergleich der Wasser- und Schwebstoffproben der Probennahmepunkte Frankfurt/Oder I und Frankfurt/Oder II (Abbildung 143 und 144) zeigt sich gegenüber dem Probennahmepunkt I oberhalb des Klärwerks am Probennahmepunkt II unterhalb des Klärwerks bei den Wasserproben eine leichte Erhöhung der Konzentrationen an Eisen, Calcium, Barium, Strontium, Blei, Chrom, Vanadium, Nickel, Yttrium und Uran sowie eine deutliche Erhöhung der Konzentrationen an Kupfer und Rubidium, bei den Schwebstoffproben eine leichte Erhöhung der Konzentrationen an Eisen, Barium, Strontium, Chrom, Rubidium, Vanadium, Nickel, Yttrium und Uran sowie eine deutliche Erhöhung der Konzentrationen an Calcium, Blei und Kupfer. Die Werte entsprechen den Verteilungen in den dort gewonnenen Biofilmen, wobei die Konzentrationen an Calcium und Rubidium in den Wasserproben deutlich höher und die an Blei in den Wasserproben deutlich niedriger sind als in den Biofilmen und den Schwebstoffproben. Diese Ergebnisse stehen in Übereinstimmung mit Untersuchungen aus dem Jahr 1996, bei denen in den Schwebstoffen hinter dem Klärwerk Frankfurt/Oder geringfügige Erhöhungen der Konzentrationen an Chrom, Nickel und Blei sowie ein starkes Ansteigen des Kupfergehalts festgestellt wurden [154].

Verglichen mit dem Probennahmepunkt Klein Lüben oberhalb der Stadt sowie der Mülldeponie Wittenberge stiegen die Konzentrationen an Aluminium, Barium, Arsen, Thallium, Mangan, Cobalt und Thorium in den Wasser- und Schwebstoffproben des Probennahmepunktes darunter an, während die Konzentrationen an Eisen, Kalium, Titan, Zink, Strontium, Blei, Kupfer, Chrom, Rubidium, Vanadium, Nickel, Yttrium, Uran und Bismut sanken (Abbildung 145 und 146). Diese Werte zeigen eine ähnliche Verteilung wie in den Biofilmen der Probennahmepunkte Klein Lüben und Wittenberge.



Abbildung 143: Vergleich der Konzentrationen gelöster Elemente in Wasserproben der Probennahmepunkte Frankfurt/Oder I und Frankfurt/Oder II. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=8 dar).



Abbildung 144: Vergleich der Elementgehalte in Schwebstoffproben der Probennahmepunkte Frankfurt/Oder I und Frankfurt/Oder II. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=8 dar).



Abbildung 145: Vergleich der Konzentrationen gelöster Elemente in Wasserproben der Probennahmepunkte Klein Lüben und Wittenberge. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=32 dar).



Abbildung 146: Vergleich der Elementgehalte in Schwebstoffproben der Probennahmepunkte Klein Lüben und Wittenberge. (Die dargestellten Fehlerbalken stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=32 dar).

Generell stimmen die ermittelten Werte der Wasser- und Schwebstoffproben aus der Oder und der Elbe mit den Ergebnissen früherer Untersuchungen überein [3, 154, 238, 239] und zeigen ähnliche Elementverteilungen wie die Biofilme.

4.2.3.2. Beziehung der Metallgehalte der gelösten Phase und der Schwebstoffe zu denen der Biofilme

Es erhebt sich daher die Frage, ob hinter den Beobachtungen an Elbe und Oder eine generelle Beziehung zwischen Wasser- und Schwebstoffphase einerseits und den Biofilmen andererseits besteht. Daher wurden die Metallgehalte der Kompartimente Wasser, Schwebstoff und Biofilm aller Probennahmepunkte miteinander korreliert. Für die Korrelationen wurden die nach Bezug auf die absoluten Schwefelmengen resultierten Metallgehalte der nach 17 Wochen (also nach Gleichgewichtseinstellung) entnommenen Biofilme sowie die über den ganzen Versuchszeitraum gemittelten Metallgehalte der Wasser- und Schwebstoffproben verwendet. Die Korrelations-koeffizienten sind in Tabelle 62 dargestellt.

Tabelle 62: Korrelationskoeffizienten für die Korrelationen der Metallgehalte der Kompartimente Wasser, Schwebstoff und Biofilm. (Bei kursiv dargestellten Werten ist keine signifikante Korrelation gegeben).

Element	Korrelationen folgender Kompartimente				Prüfwert
	Wasser und	Biofilm und	Biofilm und	Biofilm und	(P = 95 %)
	Schwebstoff	Wasser	Schwebstoff	Summe von	, , ,
				Wasser und	
				Schwebstoff	
Al	0,96	0,98	0,97	0,94	0,67
K	0,95	0,95	0,94	0,96	0,67
Ca	0,93	0,89	0,98	0,90	0,67
Ti	0,97	0,44	0,56	0,92	0,67
V	0,92	0,78	0,89	0,90	0,67
Cr	0,99	0,90	0,90	0,97	0,71
Mn	0,89	0,85	0,99	0,94	0,67
Fe	0,89	0,91	0,96	0,78	0,67
Со	0,98	1,00	0,98	0,97	0,67
Ni	0,97	0,99	0,95	0,92	0,67
Cu	0,98	0,56	0,62	0,43	0,67
Zn	0,96	0,86	0,85	0,67	0,67
As	1,00	0,87	0,87	0,68	0,67
Rb	0,91	0,96	0,96	0,97	0,67
Sr	0,97	0,75	0,73	0,77	0,67
Y	0,95	1,00	0,93	0,99	0,67
Ba	0,94	0,94	1,00	0,92	0,67
W	0,80	0,86	0,88	0,79	0,67
Tl	0,66	0,89	0,87	0,90	0,75
Pb	0,92	0,86	0,75	0,70	0,67
Bi	0,88	0,96	0,94	0,92	0,71
Th	0,81	0,94	0,93	0,90	0,67
U	0,94	0,92	0,92	0,92	0,71

Es ist bei allen Elementen mit Ausnahme von Titan und Kupfer eine signifikante Korrelation zwischen den jeweiligen Metallgehalten der Kompartimente Biofilm, Wasser, Schwebstoff sowie mit der Summe der Gehalte in Wasser und Schwebstoff festzustellen. Beim Titan korrelieren die Biofilme nicht mit den Wasser- und Schwebstoffphasen, mit deren Summe hingegen schon. Beim Kupfer korrelieren die Biofilme weder mit den Wasser- und Schwebstoffphasen noch mit deren Summe. Außerdem korrelieren beim Thallium die Wasser- und Schwebstoffphasen nicht miteinander. Hieraus ergibt sich, dass mit Ausnahme für Titan und Kupfer wahrscheinlich anstelle von Wasser-, Schwebstoff- bzw. Mischproben auch die Untersuchung von Biofilmen für die Kennzeichnung der Belastungssituation von Gewässern herangezogen werden kann.

Da die Konzentrationen an Titan in der gelösten Phase deutlich niedriger und die an Kupfer etwas höher waren als in den Schwebstoffproben und den Biofilmen, könnte eine mögliche Ursache für die nicht vorhandenen Korrelationen darin bestehen, dass beim Titan ein überdurchschnittlich großer Teil und beim Kupfer ein etwas geringerer Teil der im Wasser enthaltenen Ionen verstoffwechselt wird. Dagegen spricht jedoch, dass bei allen Elementen – einschließlich Titan und Kupfer – eine hochsignifikante Korrelation sowohl untereinander als auch mit den biogenen Parametern Schwefel, Phosphor und Kohlenhydrate gegeben ist.

Die Anwendung der Korrelationsanalyse setzt weitgehend normal verteilte Messwerte voraus. Diese Voraussetzung ist bei Umweltdaten häufig nicht oder nur zum Teil erfüllt, so dass Korrelationen vorgetäuscht aber auch verdeckt werden können. Die Aussagen einer Korrelationsrechnung sind daher immer sorgfältig zu prüfen. Da die Signifikanz einer Korrelation auch von der Anzahl der Proben abhängt, ist es durchaus möglich, dass man bei der Wahl eines größeren Stichprobenumfangs ein anderes Ergebnis erhält. Auf jeden Fall verdeutlichen diese Ergebnisse, dass die Untersuchungen auf andere Flusssysteme mit anderen Belastungen ausgedehnt werden müssen, bevor die Biofilme als alternatives Analysensystem für Monitoring-Zwecke eingesetzt werden können. Leider ist die Arbeitszeit dieser Promotion so weit fortgeschritten, dass dies nicht mehr in Angriff genommen werden kann.

4.2.4. Vergleich der Verhältnisse in Oder und Elbe

Bei einem Vergleich der in den Oder- und Elbe-Biofilmen festgestellten Elementgehalte zeigte sich, dass die Konzentrationen an Silicium, Eisen, Arsen und Uran in den Biofilmen der Oder in etwa doppelt so hoch wie die in den Biofilmen der Elbe waren. Die Gehalte an Barium in den Oder-Biofilmen betrugen an den Probennahmepunkten Brzeg Dolny, Frankfurt/Oder und Schwedt in etwa das doppelte, am Probennahmepunkt Wroclaw das vierfache und am Probennahmepunkt Bystrzyca sogar das achtfache der Gehalte in den Elbe-Biofilmen. Quecksilber war in allen Biofilmen der Elbe enthalten, in den Biofilmen der Oder konnte es hingegen nicht nachgewiesen werden. Die Biofilme des Nebenflusses Bystrzyca enthielten jedoch sehr hohe Konzentrationen an Quecksilber, diese waren etwa viermal so hoch wie die in den Elbe-Biofilmen. Weiterhin war besonders auffällig, dass die Gehalte an Mangan, Cobalt, Nickel, Zink, Barium, Wolfram und Thallium in den Biofilmen des Probennahmepunkte der Oder und der Elbe.

Die Gegenüberstellung der Konzentrationen in der Wasserphase von Oder und Elbe zeigte, dass auch hier die Konzentrationen an Eisen in der Oder ca. doppelt so groß und die Konzentrationen an Barium anderthalb bis zweimal so groß wie die in der Elbe waren.

Ein Vergleich der Gehalte in den Schwebstoffen von Oder und Elbe ergab, dass auch hier die Konzentrationen an Eisen in der Oder ca. anderthalb mal so groß, die Gehalte an Barium anderthalb bis fünfmal so groß und die Konzentrationen an Uran zwei- bis dreieinhalb mal so groß wie die in der Elbe waren.

Wie schon bei den Biofilmen, so zeigte sich auch bei den Wasser- und Schwebstoffproben, dass die Gehalte an Mangan, Cobalt, Nickel, Zink und Barium in der gelösten Phase und den Schwebstoffen des Probennahmepunktes Bystrzyca deutlich höher waren als in denen aller anderen Probennahmepunkte der Oder und der Elbe.

Hierbei muss jedoch berücksichtigt werden, dass die Proben aus Oder und Elbe zwar aus der gleichen Jahreszeit, aber aus aufeinanderfolgenden Jahren stammen und daher nicht direkt miteinander vergleichbar sind. Außerdem ist die Mikroflora in Oder und Elbe möglicherweise unterschiedlich. Untersuchungen darüber hätten aber den Rahmen dieser Arbeit gesprengt. Da verschiedene Mikroorganismen unterschiedliche Metallionen benötigen und sich die Toxizität vermutlich ebenfalls unterscheidet, werden die Metallionen in unterschiedlichen Biofilmen eventuell unterschiedlich stark akkumuliert.

4.3. Zusammenfassende Bewertung des Analysenverfahrens

In der Gesamtbewertung des Analysenverfahrens für die Bestimmung von Schwermetallen in Biofilmen mittels TRFA-Direktmessung ist festzustellen, dass ein schnelles, zuverlässiges und somit routinetaugliches Verfahren entwickelt wurde, das für fast alle bestimmten Elemente (mit Ausnahme von Cadmium) ausreichende Nachweisgrenzen bietet. Die absoluten Nachweisgrenzen des Verfahrens lagen je nach Element zwischen 0,11 und 111 ng. Damit ist das Verfahren sehr gut geeignet, um die Akkumulation von Schwermetallen in Biofilmen zu untersuchen.

Ein besonderer Vorteil besteht in der Möglichkeit, alle relevanten Metallionen direkt und gleichzeitig neben Schwefel und Phosphor zu bestimmen. Damit hebt sich das neu entwickelte Analysenverfahren deutlich von den bisher entwickelten Verfahren ab, welche die Isolation und den Aufschluss der Biofilme mit allen Kontaminations- und Elementverlustrisiken beinhalten. Die Analyse geht außerdem schnell, so dass man die Ergebnisse in einem Bruchteil der Zeit, die für herkömmliche nasschemische Methoden aufgewendet werden muss, erhält. Dabei ist die notwendige Probenmenge sehr gering, sie beträgt nur wenige hundert Mikrogramm.

Die Validierung der neu entwickelten Methode mit der ICP-MS (bzw. AAS für Chrom sowie ICP-AES für Schwefel und Phosphor) ergab nach statistischem Vergleich mit einer Aussagesicherheit von 95 % für die meisten Elemente keine signifikanten Unterschiede. Eine Ausnahme bildeten nur Titan und Vanadium, deren höhere Befunde mittels ICP-MS jedoch durch Kontamination aus der Kegelspitze der verwendeten Ultraschallsonde entstanden. Das neu entwickelte Analysenverfahren ist also frei von systematischen Fehlern. Damit dürfte das Verfahren allgemein in der Wasseranalytik einsetzbar sein.

4.4. Ausblick

Die Untersuchungen hinsichtlich der Zusammenhänge zwischen den Metallgehalten der Kompartimente Wasser, Schwebstoff und Biofilm haben gezeigt, dass diese bei allen Elementen mit Ausnahme von Titan und Kupfer signifikant miteinander korrelieren. Um abzuklären, ob es sich bei diesen beiden Ausnahmen um Zufälle oder eine Systematik handelt, müssen die Untersuchungen auf weitere Flusssysteme mit anderen Belastungssituationen (wie z.B. Mulde, Saale oder Rhein) ausgedehnt werden. Weiterhin sollte eine Validierung der neu entwickelten TRFA-Methode mit anderen Analysenmethoden wie z.B. der AAS oder NAA erfolgen.

Um Aussagen hinsichtlich der Unterschiede der Mikrobiozönose treffen zu können, sollten in Zukunft mikrobiologische Untersuchungen der Biofilme sowie deren Umgebung erfolgen. Auch die zeitliche Entwicklung der Biofilme sollte durch mehr als vier Probennahmezeitpunkte untersucht werden, da dann die einzelnen Phasen der Anund Abreicherungen besser miterfasst werden können.

Da die Nachweisgrenze von Cadmium mit 0,45 ng absolut pro Biofilm für die in den Biofilmen enthaltenen Cadmiummengen zu hoch ist, wäre eine Verbesserung der Nachweisgrenze wünschenswert. Theoretisch kann dies durch den Einsatz der Synchrotron-RFA erreicht werden, da bei Anregung mit Synchrotronstrahlung der spektrale Untergrund deutlich geringer ist. Abbildung 147 zeigt die absoluten und relativen Nachweisgrenzen der SY-RFA bei polychromatischer Anregung im Vergleich zur TRFA. Man erkennt deutlich, dass die Nachweisgrenzen der SY-RFA um den Faktor 10 bis 100 niedriger sind als diejenigen der TRFA. Diese können bei optimierter monochromatischer Anregung noch weiter gesenkt werden. Ein weiterer Vorteil der SY-RFA liegt in der Möglichkeit, ortsaufgelöste Bestimmungen durchzuführen, so dass einzelne Bereiche der inhomogenen Biofilme genauer untersucht werden könnten. Die SY-RFA erfordert jedoch Speicherringe, was ihrer Anwendung für die Routineanalytik im Wege steht.



Abbildung 147: Absolute und relative Nachweisgrenzen der SY-RFA bei polychromatischer Anregung im Vergleich zu TXRF, PIXE und GFAAS. Auf der linken Skala sind die absoluten Mengen angegeben. Die rechte Skala zeigt die relativen Gehalte [240].

Die Untersuchungen hinsichtlich der Verwendung der Trockenmasse als Bezugsparameter für die in Biofilmen akkumulierten Metallmengen haben gezeigt, dass diese aufgrund der hygroskopischen Natur von Biofilmen nicht als Bezugsgröße geeignet ist. Dieses Problem ist jedoch eventuell lösbar, wenn in Wägeräumen mit konstanter Luftfeuchtigkeit gearbeitet wird. Unter solch standardisierten Bedingungen ließe sich herausfinden, ob die Trockenmasse eventuell doch als Bezugsgröße verwendbar ist.

5. Experimenteller Teil

5.1. Laborausrüstung und eingesetzte Chemikalien

- Cleanbenches vom Typ LaminarFlow ASW F II 1200 T der Fa. Bleymehl, Inden-Pier
- Analysenwaage vom Typ MC1 der Fa. Sartorius, Göttingen
- Mikrowaage vom Typ MC5 der Fa. Sartorius, Göttingen
- Nanopur-Wasseranlage der Fa. Barnstead, Dubuque, Iowa, USA
- Spektrophotometer DR2010 der Fa. Hach, Loveland, Colorado, USA
- Universal-Meter Multiline P4 der Fa. WTW (Weilheim) mit pH-Elektrode Sen Tix 21, Redox-Elektrode Ingold Pt 4805-SY/120, Sauerstoff-Elektrode WTW Cell Ox 325 und Leitfähigkeitselektrode Tetra Con 325
- Schnellkochtopf Clipso 7,5 l der Fa. Tefal
- Trockenschrank der Fa. Haraeus, Hanau
- Mikrowellendruckaufschlussgerät MLS 1200, Exhaust Module EM 5, Automatic Cupping Module ACM der Firma Milestone (Vertrieb: Fa. Büchi, Göppingen)
- Druckaufschlussgefäße HPV-80 der Firma Büchi, Göppingen
- Druckfiltrationsanlage aus Kunststoff der Firma Sartorius, Göttingen
- Membranfilter OE 67 S (Porenweite 0,45 µm) der Firma Schleicher & Schüll, Dassel
- Vortex REAX 1DR der Fa. Heidolph, Schwabach
- Ultraschallsonde Sonopuls HD70 der Fa. Bandelin (Berlin) mit:
 - HF-Generator Sonopuls GM70
 - o Ultraschallwandler UW70
 - Stufenhorn SH70G
 - Kegelspitze KE76 (6 mm \emptyset)
 - Mikrospitze MS73 (3 mm Ø)
- Kulturröhrchen (steril) der Fa. Sarstedt, Nümbrecht
- Einmalküvetten 1,5 mL halbmikro der Fa. Brand, Wertheim
- Pipetten mit variablen Volumina von 10 μl 1000 μl und Pipettenspitzen der Fa.
 Eppendorf, Hamburg
- Reaktionsgefäße der Fa. Eppendorf, Hamburg

- Einzel- und Mehrelementstandardlösungen für ICP der Fa. Merck, Darmstadt
- Alle Säuren und Chemikalien sind, sofern nichts anderes angegeben ist, Produkte der Fa. Merck in Suprapur-Qualität bzw. in p.a. Qualität

5.2. Messgeräte

Die TRFA-Messungen der Biofilme wurden am Institut für Küstenforschung des GKSS-Forschungszentrums in Geesthacht durchgeführt. Die TRFA-Messungen der Wasser- und Schwebstoffproben sowie die ICP-MS-Messungen erfolgten im Isotopenlabor des Instituts für Anorganische und Angewandte Chemie der Universität Hamburg.

- TRFA-Anlage 8030 C der Firma Atomika Instruments, Oberschleißheim
 - Strichfokusröhre Mo/W 50:50 (Gesamtleistung 2500W, optischer Brennfleck: 12 x 0,4 mm, Take of-Winkel: 6°)
 - Si(Li)-Detektor 80 mm² (Auflösung \leq 160 eV)
 - o Primärfilter (Zr 20 μm), Multilayer (zweistufiger Monochromator)
- TRFA-Anlage EXTRA II der Firma Seifert (Ahrensburg) mit einem Auswertesystem der Firma LINK-System
 - Röntgengenerator DEBYE FLEX 1001
 - Röntgenröhre SF 60 Mo
 - Si(Li)-Detektor: LINK-SYSTEM 30 mm²
 - Hochspannungsversorgung, Vorverstärker, Verstärker, ADC-Wandler, Vielkanalanalysator, Rechnereinheit: integriert im LINK-SYSTEM AN 10 000
 - Drucker Facit 45/11
 - Probenwechsler
- ICP-MS-Spektrometer PE-SCIEX-ELAN 6000 der Firma Perkin-Elmer, Überlingen
 - Autosampler Perkin-Elmer AS 90
 - o Autosampler Controler Perkin-Elmer AS 90 / AS 91
 - Rechner Celebris XL 5100 mit Intel Pentium-Prozessor (90 MHz)

5.3. Gefahrenhinweise für verwendete Chemikalien

Im folgenden sind die in dieser Arbeit verwendeten Chemikalien mit ihren Gefahrenhinweisen, Sicherheitsratschlägen und Entsorgungshinweisen in alphabetischer Reihenfolge aufgeführt [241].

Ammoniaklösung (25 %)		
Gefahrensymbol	C,N	
R-Sätze	R 34-50: Verursacht Verätzungen. Sehr giftig für Wasserorganismen.	
S-Sätze	S 26-36/37/39-45-61: Bei Berührung mit den Augen sofort gründlich	
	mit Wasser abspülen und Arzt konsultieren. Bei der Arbeit geeignete	
	Schutzkleidung, Schutzhandschuhe und Schutzbrille/ Gesichtsschutz	
	tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort Arzt zuziehen. Freisetzung	
	in die Umwelt vermeiden.	
Entsorgung	Rückstände werden in Wasser gelöst und nach Neutralisation in den	
	Sammelbehälter für Salzlösungen (pH-Wert 6-8) entsorgt.	

Ammoniumchlorid		
Gefahrensymbol	Xn	
R-Sätze	R 22-36: Gesundheitsschädlich beim Verschlucken. Reizt die Augen.	
S-Sätze	S 22: Staub nicht einatmen.	
Entsorgung	Rückstände werden in Wasser gelöst und in den Sammelbehälter für	
	Salzlösungen (pH-Wert 6-8) entsorgt.	

2,2'-Bicinchoninsäure Dinatriumsalz Dihydrat		
Gefahrensymbol	Xn	
R-Sätze	R 36/37-42: Reizt die Augen und die Atmungsorgane. Sensibili-	
	sierung durch Einatmen möglich.	
S-Sätze	S 22-26-36: Staub nicht einatmen. Bei Berührung mit den Augen	
	sofort gründlich mit Wasser abspülen und Arzt konsultieren. Bei der	
	Arbeit geeignete Schutzkleidung tragen.	
Entsorgung	Rückstände werden in Wasser gelöst und in den Sammelbehälter für	
	Salzlösungen (pH-Wert 6-8) entsorgt.	

Essigsäure (96 %)		
Gefahrensymbol	C	
R-Sätze	R 10-35: Entzündlich. Verursacht schwere Verätzungen.	
S-Sätze	S 23.2-26-36/37/39/45: Dampf nicht einatmen. Bei Berührung mit	
	den Augen sofort gründlich mit Wasser abspülen und Arzt konsul-	
	tieren. Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung, Schutzhandschuhe	
	und Schutzbrille/ Gesichtsschutz tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein	
	sofort Arzt zuziehen.	
Entsorgung	Rückstände werden in Wasser gelöst und nach Neutralisation in den	
	Sammelbehälter für Salzlösungen (pH-Wert 6-8) entsorgt.	

Ethanol (96 %)	
Gefahrensymbol	F
R-Sätze	R 11: Leichtentzündlich
S-Sätze	S 7-16: Behälter dicht geschlossen halten. Von Zündquellen
	fernhalten – Nicht rauchen.
Entsorgung	Rückstände werden im Sammelbehälter für halogenfreie, organische
	Lösungsmittel entsorgt.

Extran	
Gefahrensymbol	C
R-Sätze	R 34-37: Verursacht Verätzungen. Reizt die Atmungsorgane.
S-Sätze	S 22-26-36/37/39-45: Staub nicht einatmen. Bei Berührung mit den
	Augen sofort gründlich mit Wasser abspülen und Arzt konsultieren.
	Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung, Schutzhandschuhe und
	Schutzbrille/ Gesichtsschutz tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein
	sofort Arzt zuziehen.
Entsorgung	Lösungen werden in den Sammelbehälter für Salzlösungen (pH-Wert
	6-8) entsorgt.

Flusssäure (40 %)		
Gefahrensymbol	T+, C	
R-Sätze	R 26/27/28-35: Sehr giftig beim Einatmen, Verschlucken und	
	Berührung mit der Haut. Verursacht schwere Verätzungen.	
S-Sätze	S 7/9-26-28.1-36/37/39-45: Behälter dicht geschlossen an einem gut	
	gelüfteten Ort aufbewahren. Bei Berührung mit den Augen sofort	
	gründlich mit Wasser abspülen und Arzt konsultieren. Bei Berührung	
	mit der Haut sofort abwaschen mit viel Wasser. Bei der Arbeit	
	geeignete Schutzkleidung, Schutzhandschuhe und Schutzbrille/	
	Gesichtsschutz tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort Arzt	
	zuziehen.	
Entsorgung	Rückstände werden in den Sammelbehälter für saure, schwermetall-	
	salzhaltige Lösungen entsorgt.	

1,1,1,3,3,3-Hexamethyldisilazan		
Gefahrensymbol	F, Xn	
R-Sätze	R 11-20/21/22-36/37/38: Leichtentzündlich. Gesundheitsschädlich	
	beim Einatmen, Verschlucken und Berührung mit der Haut. Reizt die	
	Augen, Atmungsorgane und die Haut.	
S-Sätze	S 16-36/37: Von Zündquellen fernhalten – nicht rauchen. Bei der	
	Arbeit geeignete Schutzhandschuhe und Schutzkleidung tragen.	
Entsorgung	Lösungen werden im Sammelbehälter für halogenfreie, organische	
	Lösungsmittel entsorgt.	

Kupfersulfat-Pentahydrat		
Gefahrensymbol	Xn, N	
R-Sätze	R 22-36/38-50/53: Gesundheitsschädlich beim Verschlucken. Reizt	
	die Augen und die Haut. Sehr giftig für Wasserorganismen, kann in	
	Gewässern längerfristig schädliche Wirkung haben.	
S-Sätze	S 22-60-61: Staub nicht einatmen. Dieser Stoff und/oder sein	
	Behälter sind als gefährlicher Abfall zu entsorgen. Freisetzung in die	
	Umwelt vermeiden.	
Entsorgung	Rückstände werden in Wasser gelöst und in den Sammelbehälter für	
	Salzlösungen (pH-Wert 6-8) entsorgt.	

Natriumcarbonat	
Gefahrensymbol	Xi
R-Sätze	R 36: Reizt die Augen.
S-Sätze	S 22-26: Staub nicht einatmen. Bei Berührung mit den Augen sofort
	gründlich mit Wasser abspülen und Arzt konsultieren.
Entsorgung	Rückstände werden in Wasser gelöst und in den Sammelbehälter für
	Salzlösungen (pH-Wert 6-8) entsorgt.

Natriumhydroxid		
Gefahrensymbol	С	
R-Sätze	R 35: Verursacht schwere Verätzungen.	
S-Sätze	S 26-37/39-45: Bei Berührung mit den Augen sofort gründlich mit	
	Wasser abspülen und Arzt konsultieren. Bei der Arbeit geeignete	
	Schutzhandschuhe und Schutzbrille/Gesichtsschutz tragen. Bei Unfall	
	oder Unwohlsein sofort Arzt zuziehen.	
Entsorgung	Rückstände werden in Wasser gelöst und nach Neutralisation in den	
	Sammelbehälter für Salzlösungen (pH-Wert 6-8) entsorgt.	

Oxalsäure-Dihydi	rat
Gefahrensymbol	Xn
R-Sätze	R 21/22: Gesundheitsschädlich bei Berührung mit der Haut und dem
	Verschlucken.
S-Sätze	S24/25: Berührung mit den Augen und der Haut vermeiden.
Entsorgung	Rückstände werden in Wasser gelöst und nach Neutralisation in den
	Sammelbehälter für Salzlösungen (pH-Wert 6-8) entsorgt.

Phenol	
Gefahrensymbol	Т
R-Sätze	R 24/25-34: Giftig bei Berührung mit der Haut und beim
	Verschlucken. Verursacht Verätzungen.
S-Sätze	S 28.6-45: Bei Berührung mit der Haut sofort abwaschen mit viel
	Polyethylenglycol 400 (807485) und anschließend Reinigung mit viel
	Wasser. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort Arzt zuziehen.
Entsorgung	Lösungen werden im Sammelbehälter für halogenfreie, organische
	Lösungsmittel entsorgt.

ortho-Phosphorsäure (85 %)	
Gefahrensymbol	С
R-Sätze	R 34: Verursacht Verätzungen.
S-Sätze	S 26-36/37/39-45: Bei Berührung mit den Augen sofort gründlich mit
	Wasser abspülen und Arzt konsultieren. Bei der Arbeit geeignete
	Schutzkleidung, Schutzhandschuhe und Schutzbrille/ Gesichtsschutz
	tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort Arzt zuziehen.
Entsorgung	Rückstände werden in den Sammelbehälter für saure, schwermetall-
	salzhaltige Lösungen entsorgt.

Salpetersäure (65	%)	
Gefahrensymbol	С	
R-Sätze	R35: Verursacht schwere Verätzungen.	
S-Sätze	S 23.2-26-36/37/39-45: Dampf nicht einatmen. Bei Berührung mit	
	den Augen sofort gründlich mit Wasser abspülen und Arzt	
	konsultieren. Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung, Schutz-	
	handschuhe und Schutzbrille/ Gesichtsschutz tragen. Bei Unfall oder	
	Unwohlsein sofort Arzt zuziehen.	
Entsorgung	Rückstände werden in den Sammelbehälter für saure, schwermetall-	
	salzhaltige Lösungen entsorgt.	

Salzsäure (30 %)	
Gefahrensymbol	С
R-Sätze	R 34-37: Verursacht Verätzungen. Reizt die Atmungsorgane.
S-Sätze	S 26-36/37/39-45: Bei Berührung mit den Augen sofort gründlich mit
	Wasser abspülen und Arzt konsultieren. Bei der Arbeit geeignete
	Schutzkleidung, Schutzhandschuhe und Schutzbrille/ Gesichtsschutz
	tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort Arzt zuziehen.
Entsorgung	Rückstände werden in den Sammelbehälter für saure, schwermetall-
	salzhaltige Lösungen entsorgt.

Schwefelsäure (96 %)		
Gefahrensymbol	C	
R-Sätze	R 35: Verursacht schwere Verätzungen	
S-Sätze	S 26-30-45: Bei Berührung mit den Augen sofort gründlich mit	
	Wasser abspülen und Arzt konsultieren. Niemals Wasser hinzu-	
	gießen. Bei Unfall oder Unwohlsein sofort Arzt zuziehen.	
Entsorgung	Rückstände werden in den Sammelbehälter für saure, schwermetall-	
	salzhaltige Lösungen entsorgt.	

Wasserstoffperoxid-Lösung (30%)	
Gefahrensymbol	С
R-Sätze	R 34: Verursacht Verätzungen.
S-Sätze	S 3-26-36/37/39/-45: Kühl aufbewahren. Bei Berührung mit den
	Augen sofort gründlich mit Wasser abspülen und Arzt konsultieren.
	Bei der Arbeit geeignete Schutzkleidung, Schutzhandschuhe und
	Schutzbrille/ Gesichtsschutz tragen. Bei Unfall oder Unwohlsein
	sofort Arzt zuziehen.
Entsorgung	Kleinere Mengen werden nach Verkochen in den Sammelbehälter für
	Salzlösungen (pH-Wert 6-8) entsorgt. Größere Mengen werden mit
	Natriumthiosulfat umgesetzt und in den Sammelbehälter für
	Salzlösungen (pH-Wert 6-8) entsorgt.

5.4. Allgemeine Arbeitsvorschriften

5.4.1. Züchtung und Bestimmung der Trockenmasse von Biofilmen

Präparation der Perspex[®] -Probenträger:

Aus einer handelsüblichen Perspex[®]-Platte werden Probenträger mit einem Durchmesser von 30 mm und einer Dicke von 3 mm hergestellt. In diese Probenträger wird anschließend am Rand ein Loch von 1,5 mm Durchmesser gebohrt. Zur Züchtung der Biofilme wird auf einer Seite der Perspex[®]-Probenträger in der Mitte mittels eines Korkbohrers ein Loch von 8 mm Durchmesser in die Schutzfolie gestanzt.

Anschließend werden die Probenträger auf einer Polypropylen-Schnur aufgefädelt und durch UV-Strahlung sterilisiert.

Züchtung der Biofilme:

Zur Züchtung der Biofilme werden die auf der Polypropylen-Schnur aufgefädelten Perspex[®]-Probenträger an beschwerten PE-Kästen befestigt und direkt in den Flusslauf gehängt. Es werden jeweils sechs Probenträger mit Biofilmbewuchs in regelmäßigen Zeitabständen entnommen, am Rand mit einem fusselfreien Tuch abgewischt und bei minus 20°C eingefroren, bis die gesamte Probenserie komplett ist.

Anschließend werden die auf den Probenträgern befindlichen Biofilme 48 Stunden bei 60 °C im Trockenschrank getrocknet. Nach beiderseitigem Entfernen der Schutzfolien vom Probenträger werden diese mit einem Edding[®]-Marker auf der Rückseite beschriftet und zur Bestimmung der Trockenmasse der Biofilme durch Differenzwägung auf der Mikrowaage gewogen.

5.4.2. Bestimmung der Elementgehalte in den Biofilmen mit Hilfe der TRFA

Zur TRFA-Messung werden 20 μ L einer Galliumnitrat-Standardlösung (Konzentration 1 μ g Ga/mL) auf die Mitte des Biofilms aufpipettiert und im Ölpumpenvakuum eingetrocknet. Die Proben werden direkt mit der TRFA 8030 C jeweils 2000 Sekunden bei einer Probenkippung von 1 mrad mit einer Anregung durch eine Strichfokusröhre mit Molybdän-Target bei einer Leistung von 50 kV und 47 mA gemessen. Zur Bestimmung von Cadmium werden die Proben jeweils 5000 Sekunden bei einer Probenkippung von 0,5 mrad mit einer Anregung durch eine Strichfokusröhre mit Wolfram-Target bei einer Leistung von 55 kV und 42 mA gemessen. Die erhaltenen Spektren werden mit Hilfe einer Elementliste automatisch ausgewertet. Die Quantifizierung erfolgt anhand der vorher zugegebenen internen Galliumnitrat-Standardlösung mit Hilfe eines integrierten Auswerteprogramms.

5.4.3. Ablösung der Biofilme mittels Ultraschallsonde

Zum Ablösen der Biofilme wird ein für die Dithiocarbamatmethode [201] vorgesehenes Teflon-Probengestell verwendet. In diese Vorrichtung werden zentrisch um eine Teflonschraube sechs TRFA-Probenträger zwischen zwei Teflon-Scheiben eingespannt. Zwischen Deckel und Probenträger wird je ein PE-Schlauchstück befestigt. Danach wird die Schraube gedreht, bis die Probenträger fest eingespannt sind. Das PE-Schlauchstück umschließt den Biofilm, welcher durch ein Loch im Teflon-Oberteil erreicht werden kann. Die Ablösung der Biofilme von den Probenträgern erfolgt mittels der Ultraschall-Mikrosonde Sonopuls HD70. Durch die Öffnungen des Teflon-Oberteils werden je 400 µL Nanopur-Wasser auf die Biofilme pipettiert. Anschließend wird mit der Kegelspitze der Ultraschallsonde bei einer Amplitude von 30 % und einer Cycle-Rate von 50 % 30 Sekunden beschallt. Die Lösungen werden abpipettiert und in 3 mL-Schraubdeckelgläsern gesammelt. Dieser Vorgang wird noch zweimal wiederholt. Die Probenträger werden 48 Stunden bei 60 °C im Trockenschrank getrocknet und anschließend zur Bestimmung der Trockenmasse der Biofilme erneut auf der Mikrowaage gewogen.

5.4.4. Hydrolyse der Biofilm-Lösung

Vor der Bestimmung des Kohlenhydratgehalts werden die in der Probenlösung enthaltenen Polysaccharide und Proteine zunächst hydrolysiert. Dazu werden 1200 μ L der Probenlösung im 3 mL-Schraubdeckelglas mit 600 μ L 3 M Salzsäure (suprapur) versetzt und 2 Stunden im Trockenschrank auf 100°C erhitzt. Nach Abkühlen der Lösung kann die Bestimmung durchgeführt werden.

5.4.5. Bestimmung des Kohlenhydratgehalts nach Dubois

Zur Bestimmung des Kohlenhydratgehalts nach Dubois et al. [220] werden 300 μ L der hydrolysierten Probenlösung mit 200 μ L Phenol-Lösung (p.A. 10 %) und 1 mL konz. Schwefelsäure (suprapur, 96 %) versetzt. Nach 10 minütiger Inkubation bei Raumtemperatur wird die Probenlösung geschüttelt. Anschließend wird die Extinktion mit dem Spektrophotometer DR2010 bei 490 nm gegen eine Blindwertlösung gemessen, welche genauso behandelt wurde wie die Proben, jedoch anstelle des zu bestimmenden Analyten Nanopur-Wasser enthält.

5.4.6. Bestimmung des Kohlenhydratgehalts nach Smith

Zur Bestimmung des Kohlenhydratgehalts nach Smith et al. [221] werden folgende Lösungen hergestellt:

Lösung A: 6,8 g (64,2 mmol) Natriumcarbonat (p.A.), 1,6 g (8,2 mmol) Natriumtartrat (p.A.) und 1,6 g (40 mmol) Natriumhydroxid (p.A.) werden in 90 mL Nanopur-Wasser gelöst. Diese Lösung wird mit Natriumhydrogencarbonat (p.A.) auf einen pH-Wert von 11,25 eingestellt und anschließend auf 100 mL aufgefüllt.

Lösung B: 4,0 g (9,4 mmol) des Dinatriumsalzes der 2,2'-Bicinchoninsäure (p.A.) werden in 100 mL Nanopur-Wasser gelöst.

Lösung C: 0,2 g (0,8 mmol) Kupfersulfat-Pentahydrat (p.A.) werden in 5 mL Nanopur-Wasser gelöst.

Reagenzlösung D besteht aus 50 Teilen Lösung A, 48 Teilen Lösung B und 2 Teilen Lösung C.

Anschließend werden 600 μ L der hydrolysierten Probenlösung mit 1200 μ L 0,5 M Natronlauge (suprapur) neutralisiert. 400 μ L der neutralisierten Probenlösung werden dann mit 400 μ L der Reagenzlösung D versetzt und geschüttelt. Nach einer Inkubation von 60 min bei 60°C und 10 minütigem Abkühlen der Lösung wird die Extinktion mit dem Spektrophotometer DR2010 bei 560 nm gegen eine Blindwertlösung gemessen, welche genauso behandelt wurde wie die Proben, jedoch anstelle des zu bestimmenden Analyten Nanopur-Wasser enthält.

5.4.7. Bestimmung des Proteingehalts

Die Bestimmung des Proteingehalts erfolgt nach der Methode von Bradford [222]. Dazu wird folgende Reagenzlösung hergestellt:

10 mg Coomassie-Brilliant-Blue werden in 5 mL Ethanol (p.A. 95 %) gelöst, mit 10 mL Phosphorsäure (suprapur, 85 %) versetzt und mit Nanopur-Wasser auf 100 mL aufgefüllt. Diese Reagenzlösung ist maximal 2 Wochen haltbar.

Zur Bestimmung des Proteingehalts werden 100 μ L der Probenlösung mit 1 mL der Reagenzlösung versetzt und geschüttelt. Nach einer Inkubation von 5 min bei Raumtemperatur wird die Extinktion mit dem Spektrophotometer DR2010 bei 595 nm gegen eine Blindwertlösung gemessen, welche genauso behandelt wurde wie die Proben, jedoch anstelle des zu bestimmenden Analyten Nanopur-Wasser enthält.

5.4.8. Probennahme und Aufarbeitung der Wasser- und Schwebstoffproben

Die Wasserproben werden durch Eintauchen einer 2 L-PE-Flasche unter die Wasseroberfläche entgegen der Strömungsrichtung des Flusses entnommen. Vor der Probennahme wird die Flasche zweimal mit Flusswasser ausgespült. Anschließend erfolgt eine Druckfiltration von jeweils 500 mL der Wasserprobe über einen zuvor mit Nanopur-Wasser gewaschenen, getrockneten und gewogenen Membranfilter der Porengröße 0,45 µm. Das Filtrat wird in einer zuvor mehrfach mit Nanopur-Wasser ausgespülten und getrockneten PE-Flasche aufgefangen, mit je 1 mL Salpetersäure (suprapur, 65 %) versetzt und bei 4°C im Kühlschrank gelagert. Die belegten Schwebstofffilter werden bei 60°C bis zur Massenkonstanz im Trockenschrank getrocknet und anschließend gewogen.

5.4.9. Durchführung der Mikrowellendruckaufschlüsse

Alle Aufschlüsse erfolgen nach dem in Tabelle 63 angegebenen Energie-Zeit-Programm.

Schritt	Leistung [Watt]	Zeit [min]
1	250	5
2	0	2
3	400	10
4	0	2
5	250	10
6	0	5

Tabelle 63: Energie-Zeit-Programm für den Mikrowellendruckaufschluss

Aufschluss der Biofilm-Lösungen für die ICP-MS-Messungen:

Die wässrigen Biofilm-Lösungen werden in Mikrowellendruckaufschlussgefäßen mit je 3 mL Salpetersäure (suprapur, 65%), 1 mL Wasserstoffperoxid-Lösung (suprapur, 30%) und 0,5 mL Flusssäure (suprapur, 40%) versetzt. Nach Verschließen der Aufschlussgefäße werden diese in den Mikrowellenofen gestellt und das oben angegebene Programm gestartet. Nach dem Aufschluss erfolgt die quantitative Überführung der Lösungen in ICP-MS-Röhrchen der Firma Sarstedt. Dabei werden die Lösungen mit Nanopur-Wasser auf je 10 mL aufgefüllt und anschließend mit je 100 µL einer Rhodiumchlorid-Standardlösung der Konzentration 1 mg Rh/L versetzt.

Aufschluss der Biofilm-Lösungen für die ICP-AES-Messungen:

Die wässrigen Biofilm-Lösungen werden in Mikrowellendruckaufschlussgefäßen mit je 900 µL Salzsäure (suprapur, 30 %) und 100 µL Flusssäure (suprapur, 40 %) versetzt. Nach Verschließen der Aufschlussgefäße werden diese in den Mikrowellenofen gestellt und das oben angegebene Programm gestartet. Nach dem Aufschluss erfolgt die quantitative Überführung der Lösungen in ICP-MS-Röhrchen der Firma Sarstedt. Dabei werden die Lösungen mit Nanopur-Wasser auf je 5 mL aufgefüllt.

Aufschluss der Schwebstoffproben:

Der belegte Schwebstofffilter wird in ein Mikrowellendruckaufschlussgefäß gegeben und mit je 3 mL Salzsäure (suprapur, 30 %), 1 mL Salpetersäure (suprapur, 65 %) und

0,5 mL Flusssäure (suprapur, 40 %) versetzt. Nach Verschließen des Aufschlussgefäßes wird dieses in den Mikrowellenofen gestellt und das oben angegebene Programm gestartet. Nach dem Aufschluss erfolgt die quantitative Überführung der Lösung in ein 30 mL-PE-Gefäß der Firma Sarstedt. Dabei wird die Lösung mit Nanopur-Wasser auf 30 mL aufgefüllt und anschließend mit 150 µL einer Galliumnitrat-Standardlösung der Konzentration 1 g Ga/L versetzt.

Aufschluss des Standardreferenzmaterials:

Ca. 100 mg des Standardreferenzmaterials CRM 414 werden in ein Mikrowellendruckaufschlussgefäß gegeben und mit je 3 mL Salpetersäure (suprapur, 65 %), 1 mL Wasserstoffperoxid-Lösung (suprapur, 30 %) und 0,5 mL Flusssäure (suprapur, 40 %) versetzt. Nach Verschließen des Aufschlussgefäßes wird dieses in den Mikrowellenofen gestellt und das oben angegebene Programm gestartet. Nach dem Aufschluss erfolgt die quantitative Überführung der Lösung in ein 30 mL-PE-Gefäß der Firma Sarstedt. Dabei wird die Lösung mit Nanopur-Wasser auf 20 mL aufgefüllt und anschließend mit 200 µL einer Galliumnitrat-Standardlösung der Konzentration 100 mg Ga/L versetzt.

5.4.10. Bestimmung der Elementgehalte in den Wasser- und Schwebstoffproben sowie in dem Standardreferenzmaterial mit Hilfe der TRFA

Auf die Quarzglasprobenträger werden jeweils 25 μ L 1,1,1,3,3,3-Hexamethyldisilazan aufpipettiert und durch Schwenken der Probenträger gleichmäßig darauf verteilt, um eine bessere Tropfenbildung zu ermöglichen. Nach dem Trocknen unter der Cleanbench werden je 25 μ L der zu bestimmenden Probenlösung auf die Mitte der Probenträger pipettiert und im Ölpumpenvakuum zu einem amorphen Film eingeengt.

Die Wasserproben, das Standardreferenzwasser und die Aufschlusslösungen des Standardreferenzmaterials werden unverdünnt gemessen, die Aufschlusslösungen der Schwebstofffilter werden vor der Messung um den Faktor fünf verdünnt. Von den Wasserproben und dem Standardreferenzwasser werden je 1 mL abgenommen und mit je 100 µL einer Galliumnitrat-Standardlösung der Konzentration 10 mg Ga/L versetzt.

Von jeder Probenlösung werden vier Probenträger präpariert. Die Proben werden mit der TRFA Extra II jeweils 1000 bzw. 5000 Sekunden mit einer Anregung durch eine Feinstrukturröntgenröhre mit Molybdän- bzw. Wolfram-Target bei einer Leistung von 50 kV und 20 mA gemessen. Die erhaltenen Spektren werden mit Hilfe einer Elementliste automatisch ausgewertet. Die Quantifizierung erfolgt anhand der vorher zugegebenen internen Galliumnitrat-Standardlösung mit Hilfe eine internen Auswerteprogramms.

5.4.11. Bestimmung der Elementgehalte mit Hilfe der ICP-MS

Die aufgeschlossenen Biofilm-Lösungen werden unverdünnt verwendet. Von den Wasserproben, dem Standardreferenzwasser und den Aufschlusslösungen des Standardreferenzmaterials werden je 1 mL, von den Aufschlusslösungen der Schwebstofffilter werden je 400 μ L Lösung mit je 50 μ L Salpetersäure (suprapur, 65 %) und je 100 μ L einer Rhodiumchlorid-Standardlösung der Konzentration 1 mg Rh/L versetzt und mit Nanopur-Wasser auf je 10 mL aufgefüllt.

Nach einer Optimierung der ICP-MS werden die Proben in den Autosampler gestellt und mit folgenden Parametern gemessen:

Parameter	Wert
Plasmaleistung	1000 W
Plasmaargonfluss	15 L/min
Hilfsgasfluss	1 L/min
Zerstäubergas	Crossflow mit Scott-Sprühkammer
Detektor	Dual-Detektor
Ionenlinse	AutoLens-Scan
Spülung mit Probe	45 s bei 36 U/min
Equilibrierungszeit	10 s bei 24 U/min
Pumprate	24 U/min entspricht ca. 1,5 mL/min
Spülung mit Blanklösung	45 s bei 36 U/min
Messzeit (Dwelltime)	50 ms
Wiederholungen (Sweeps)	20
Integrationszeit (Reading)	1000 ms
Parallelmessungen (Replicates)	4
Scanning Mode	Peakhopping
Anzahl Punkte pro Peak	1

Tabelle 64: Parameter der ICP-MS-Messung

Die erhaltenen Spektren werden mit Hilfe einer Elementliste automatisch ausgewertet. Die Auswertung erfolgt über die vorher zugegebene Rhodiumchlorid-Standardlösung als internem Standard. Die Quantifizierung erfolgt anhand von mitgemessenen externen Multielement-Standardlösungen mit Hilfe eines integrierten Auswerteprogramms.

5.4.12. Bestimmung von Schwefel und Phosphor mit Hilfe der ICP-AES

Die Bestimmung von Schwefel und Phosphor erfolgt über eine Standardaddition mit Natriumsulfat-Kaliumdihydrogenphosphat-Standardlösung. Dazu werden je 1,5 mL der aufgeschlossenen Biofilm-Lösungen mit 1,5 mL Nanopur-Wasser bzw. 750 μ L Nanopur-Wasser und 750 μ L Na₂SO₄-KH₂PO₄-Standardlösung (c(S und P) = 0,4 mg/L) bzw. 1,5 mL Na₂SO₄-KH₂PO₄-Standardlösung (c(S und P) = 0,4 mg/L) versetzt, so dass die Endkonzentrationen an Schwefel und Phosphor in den Lösungen ca. 100, 200 und 300 μ g/L betragen. Diese Lösungen werden mit der ICP-AES gegen eine Blindwertlösung gemessen, welche genauso behandelt wurde wie die Proben, jedoch anstelle der zu bestimmenden Analytelemente Nanopur-Wasser enthält. Die Auswertung erfolgt durch Ablesen der Konzentration der Probenlösung aus der Ausgleichsgeraden der Standardaddition.

6. Zusammenfassung

Es wurde ein Verfahren zur Direktmessung von Biofilmen mittels Totalreflexions-Röntgenfluoreszenzanalyse einschließlich deren Züchtung unmittelbar auf TRFA-Probenträgern in Flussläufen entwickelt.

Die Züchtung der Biofilme erfolgte direkt auf Perspex[®]-Probenträgern, welche beidseitig mit einer elektrostatisch anhaftenden Schutzfolie bedeckt waren. Aus dieser wurde auf einer Seite des Probenträgers in der Mitte ein kreisrunder Bereich von 8 mm Durchmesser entfernt, so dass der mikrobielle Bewuchs auf den vom TRFA-Detektor erfassten Bereich des Probenträgers begrenzt war. Zur Züchtung wurden die am Rand mit einem Loch versehenen Probenträger auf eine Schnur aufgefädelt und für mehrere Wochen in beschwerte Kästen direkt in den Flusslauf gehängt. Nach Entnahme der Probenträger wurden diese getrocknet, von ihren Schutzfolien befreit, gewogen und nach Zugabe eines internen Standards auf die Mitte des Biofilms mit der TRFA gemessen.

Zur Quantifizierung der in den Biofilmen akkumulierten Metallmengen wurden unter anderem deren Kohlenhydratmengen als Bezugsparameter verwendet. Hierzu wurden die Biofilme quantitativ mittels einer Ultraschall-Mikrosonde von den Probenträgern abgelöst und dabei in ein wässriges Medium überführt. Um in diesen Lösungen die Kohlenhydratmengen bestimmen zu können, mussten zuvor die ebenfalls enthaltenen Proteine mit Salzsäure hydrolysiert werden, da sie eine Störung der photometrischen Kohlenhydratbestimmung verursachen. Das Optimum der Hydrolyse ergab sich bei Verwendung von 3 molarer Salzsäure und einer Dauer von 2 Stunden bei einer Temperatur von 100°C. In den auf diese Weise hergestellten Lösungen wurden die Kohlenhydratmengen photometrisch nach der Methode von Dubois et al. [220] bestimmt. Die experimentell ermittelte Nachweisgrenze betrug 0,4 µg/mL, die Reproduzierbarkeit lag zwischen 5 und 8 %. Die Validierung mit der Methode von Smith et al. [221] ergab nach statistischem Vergleich mit einer Aussagesicherheit von 95 % keine signifikanten Unterschiede. Als weitere Bezugsparameter wurden die aus dem TRFA-Spektrum bestimmbaren Schwefel- und Phosphormengen der Biofilme eingesetzt.

Hinsichtlich der Verwendung der absoluten Schwefel-, Phosphor- und Kohlenhydratmengen als Bezugsparameter für die akkumulierten Metallmengen zeigten varianzanalytische Vergleiche der resultierenden Werte von jeweils sechs Biofilmen des selben Probennahmepunktes, dass diese einer gemeinsamen Grundgesamtheit angehörten. Dies zeigte, dass sowohl die Schwefel- und Phosphor- als auch die Kohlenhydratmenge die Absolutmenge der Biofilme repräsentierten und folglich als Bezugsparameter für die akkumulierten Metallmengen geeignet sind. Im Gegensatz dazu gehörten die auf die Trockenmasse bezogenen Werte keiner gemeinsamen Grundgesamtheit an, was bewies, dass die Trockenmasse – vermutlich aufgrund der hygroskopischen Natur der Biofilme – in diesem Fall nicht als Bezugsparameter für die akkumulierten Metallmengen geeignet war. Dies bedeutet, dass der häufig vorgenommene Bezug von Metallmengen in Biofilmen auf die Trockenmasse nicht zulässig ist und viele publizierte Ergebnisse daher möglicherweise fehlerhaft sind.

Bestätigt wurde dies auch durch eine multiple lineare Korrelationsanalyse. Diese ergab, dass alle bestimmten Elemente untereinander sowie mit den Schwefel-, Phosphor- und Kohlenhydratmengen hochsignifikant korrelierten. Eine Korrelation mit der Trockenmasse war demgegenüber nur bei den Biofilmen weniger Probennahmepunkte zu beobachten.

Die Ergebnisse der Varianz- und Korrelationsanalyse zeigen darüber hinaus, dass Schwefel und Phosphor in den untersuchten Biofilmen praktisch nicht als freie Sulfate oder Phosphate vorliegen, sondern hauptsächlich Teil der organischen Matrix sind. Sie sind ebenso wie die Metallionen und die Kohlenhydrate in die Stoffwechselvorgänge eingebunden.

Die Schwefel- und Phosphormengen der Biofilme können zusammen mit den Metallmengen direkt mit der TRFA gemessen werden, so dass keine weitere Aufarbeitung des auf dem TRFA-Probenträger gezüchteten Biofilms notwendig ist. Der entscheidende Vorteil des entwickelten Verfahrens liegt also zum einen in der Vermeidung von Verlusten bzw. Kontaminationen bei der Probenvorbereitung und zum anderen in einem wesentlich geringeren Arbeitsaufwand und einer damit verbundenen deutlichen Zeitersparnis. Das entwickelte Analysenverfahren ist in Abbildung 148 schematisch dargestellt.



Abbildung 148: Fließschema des entwickelten Verfahrens zur Bestimmung von Metallgehalten in Biofilmen mittels TRFA

Die Nachweisgrenzen des TRFA-Verfahrens für die Analyse von Biofilmen lagen in Abhängigkeit vom jeweiligen Element zwischen 0,11 und 111 ng absolut und waren für die meisten Elemente gering genug, um sowohl Matrixelemente als auch nur in Spuren enthaltene Elemente nebeneinander mit hinreichender Nachweisstärke zu bestimmen. Nur bei Cadmium lagen die akkumulierten Mengen in den Biofilmen unterhalb der absoluten Nachweisgrenzen des TRFA-Verfahrens.

Eine zentrale Frage bei der Direktmessung von Biofilmen ist die Richtigkeit der Messergebnisse. Diese wurde anhand eines Vergleichs der Ergebnisse des TRFA-Direktverfahrens mit den nach Ablösung der Biofilme von den Probenträgern mittels Ultraschall-Mikrosonde und anschließend durchgeführtem herkömmlichen Nassaufschluss erhaltenen Werten überprüft. Die Validierung des neu entwickelten Verfahrens mit der ICP-MS (bzw. AAS für Chrom) sowie ICP-AES für Schwefel und Phosphor ergab nach statistischem Vergleich mit einer Aussagesicherheit von 95 % für die meisten Elemente keine signifikanten Unterschiede. Eine Ausnahme bildeten nur Titan und Vanadium, deren höhere Befunde mittels ICP-MS jedoch auf Kontaminationen aus der Kegelspitze der verwendeten Ultraschallsonde zurückzuführen waren.

Die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse lag nach Bezug der absoluten Metallmengen der Biofilme auf ihre absoluten Schwefel-, Phosphor- bzw. Kohlenhydratmengen zwischen 6 und 22 %.

Das entwickelte Verfahren wurde prototypisch auf Biofilme aus Oder und Elbe angewendet. Zum Vergleich wurden während des Versuchszeitraums auch Wasser- und Schwebstoffproben aus den jeweiligen Flüssen entnommen und untersucht.

Eine multiple lineare Korrelationsanalyse ergab, dass bei allen Elementen mit Ausnahme von Titan und Kupfer eine signifikante Korrelation zwischen den jeweiligen Metallgehalten der Kompartimente Biofilm, Wasser, Schwebstoff sowie mit der Summe der Gehalte in Wasser und Schwebstoff bestand. Somit deutet sich an, dass man anstelle von Wasser-, Schwebstoff- bzw. Mischproben auch Biofilme für die Kennzeichnung der Belastungssituation von Gewässern heranziehen kann. Untersuchungen an weiteren Flusssystemen mit anderen Belastungen müssen diese These aber weiter erhärten. Die festgestellten Korrelationen verdeutlichen, dass die Biofilme die Metallionen elementspezifisch aus dem Medium anreichern und verstoffwechseln. Es tritt jedoch keine "unendliche" Anreicherung auf, sondern die Metallgehalte in den Biofilmen zeigen einen zeitlich abhängigen, sigmoiden Verlauf. Bei allen Elementen war zunächst eine starke Anreichung zu erkennen, die sich dann meistens einem Grenzwert näherte.

Die relativen Elementverteilungsmuster der Biofilme eines Probennahmepunktes sind auch nach unterschiedlicher Wachstumsdauer nahezu gleich. Dies gilt bei Bezug auf alle drei betrachteten Bezugsparameter. Silicium, Aluminium, Eisen, Mangan, Calcium, Kalium, Titan, Zink und Barium gehören zu den am häufigsten vorkommenden Elementen in den Oder- und Elbe-Biofilmen, was ihre Bedeutung für den Stoffwechsel der Mikroorganismen verdeutlicht. Auch Strontium, Blei, Kupfer, Chrom, Rubidium, Vanadium, Nickel, Arsen und Cobalt wurden gut in den Biofilmen akkumuliert, wohingegen Yttrium, Wolfram, Thorium, Thallium, Quecksilber, Uran und Bismut weniger gut aufgenommen wurden. Dies zeigt die bioanorganische Relevanz der erstgenannten als essentielle Spurenelemente. Blei, Quecksilber, Thallium und Arsen sind aufgrund ihrer Thiophilie und der damit verbundenen Blockierung von Enzymen toxisch für Organismen und werden daher zur Detoxifikation im Biofilm immobilisiert und teilweise nach Biomethylierung an die Umgebung wieder abgegeben. Cadmium konnte aus analytischen Gründen in keinem der Biofilme nachgewiesen werden.

Eine ähnliche Elementverteilung zeigte sich auch in den untersuchten Wasser- und Schwebstoffproben. Eine Ausnahme bildet Mangan, welches in den Biofilmen sehr stark und deutlich besser als in den Schwebstoffen angereichert wird. Ursache hierfür ist eventuell die große Menge an Algen in den Biofilmen, welche zur Wasseroxidation während der Photosynthese Mangan benötigen.

Bei einem Vergleich der in den Oder- und Elbe-Biofilmen festgestellten Elementgehalte zeigte sich, dass die Konzentrationen an Mangan, Cobalt, Nickel, Zink, Barium, Wolfram, Thallium und Quecksilber in den Biofilmen des Oder-Nebenflusses Bystrzyca deutlich höher waren als in denen aller anderen Probennahmepunkte der Oder und der Elbe. Dies wurde durch die Gehalte in den Wasser- und Schwebstoffproben des Probennahmepunktes Bystrzyca bestätigt.

7. Literatur

- [1] G. Schwedt, Biogeochemie toxischer Metalle, Umschau 81 (1981), Heft 15.
- [2] F. Kieffer, Metalle als Lebensnotwendige Spurenelemente f
 ür Pflanzen, Tiere und Menschen, In: E. Merian, Metalle in der Umwelt, Verlag Chemie, Weinheim, 1984, 117-123.
- [3] A.-K. Meyer, Die Belastung der Oder Ergebnisse des Internationalen Oderprojekts, Universität Hamburg, Hamburg, 2002.
- [4] K. Hohendorf, Ergebnisse der Elbeforschung 1991–1995, Internationale Kommission zum Schutz der Elbe, Magdeburg, 1997.
- [5] H. Hellmann, Eisen, Titan und Aluminium in Sedimenten und Böden Ihr Zusammenhang mit der Korngröße und ihre Rolle als Referenzelemente, Vom Wasser 78 (1992), 73-89.
- [6] N. Möller-Lindhof, H. Reincke, Problematik der Standardisierung von Schwermetallen in Sedimenten auf Korngrößenfraktionen, DGM 35 (1991), 42-45.
- [7] H.-C. Flemming, Biofilme Das Leben am Rande der Wasserphase, Nachrichten aus der Chemie 48 (2000), 442-447.
- [8] B.Atkinson, Biochemical Reactors, Pion Press, London, 1975.
- J.D. Bryers, W.G. Characklis, Biofilms in Water and Wastewater Treatment, In:
 W.G. Characklis, K.C. Marshall, Biofilms, John Wiley, New York, 1990, 671-696.
- [10] K.H. Krauth, Tauchkörper, In: Lehr- und Handbuch der Abwassertechnik, Band IV: Biologisch-chemische und weitergehende Abwasserreinigung, Verlag W. Ernst und Sohn, 1985, 194-223.
- [11] B. Gutekunst, Sielhautuntersuchungen zur Einkreisung schwermetallhaltiger Einleitungen, Korrespondenz Abwasser 37 (1990), 1000-1004.
- B. Gutekunst, Wechselwirkungen zwischen Schwermetallen und Sielhaut, GWF Wasser-Abwasser 130 (1989), 456-462.
- [13] B. Gutekunst, Sielhautkataster der Stadt Zürich Grundlagen, Funktionsweise und praktische Anwendung, GWA Gas-Wasser-Abwasser 75 (1995), 981-987.
- [14] B. Gutekunst, H.H. Hahn, Anwendung der Sielhautanalytik zur Vermeidung von Schwermetallkontaminationen in Klärschlämmen, *Korrespondenz Abwasser* 33 (1986), 724-727.

- [15] U. Hornig, G. Sbieschni, Schwermetallproblematik in Klärschlämmen Lokalisierung von Emittenten mit Hilfe der Sielhautanalytik, *Wasserwirtschaft – Wassertechnik* 41 (1991), 68.
- [16] K. Friese et al., Determination of heavy metals in biofilms from the river Elbe by total-reflection X-ray fluorescence spectrometry, *Spectrochimica Acta Part B* 52 (1997), 1019-1025.
- [17] T. Brandenburg, Entwicklung von neuen Probenpräparations- und Standardisierungsverfahren für die Totalreflexions-Röntgenfluoreszenzanalyse und die ortsauflösende Synchrotron-Röntgenfluoreszenzanalyse, Dissertation, Universität Hamburg, Hamburg, 1994.
- [18] J.W. Schopf, J.M. Hayes, M.R. Walter, Evolution an earth's earliest ecosystems; recent progress and unsolved problems, In: J.W. Schopf, Earth's earliest biosphere, Princeton Univ. Press, New Jersey, **1983**, 361-384.
- [19] F.G. Ferris et al, Mineral formation and decomposition by microorganisms, In: T.J. Beveridge, R.J. Doyle, Metal ions and bacteria, John Wiley, New York, 1989, 413-441.
- [20] B.K. Pierson, J.M. Olson, Evolution of photosynthesis in anoxic photosynthetic procaryotes, In: Y. Cohen, E. Rosenberg, Microbial Mats. Am. Soc. Microbiol., Washington, **1989**, 402-427.
- [21] D.M. Ward et al., Hot spring microbial mats: anoxygenic and oxygenic mats of possible evolutionary significance, In: Y. Cohen, E. Rosenberg, Microbial Mats. Acad. Soc. Microbiol., Washington, **1989**, 3-15.
- [22] H.G. Schlegel, Allgemeine Mikrobiologie, 7. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1992.
- [23] Y. Cohen, E. Rosenberg, Microbial Mats. Physiological ecology of benthic microbial communities, Am. Soc. Microbiol., Washington, 1989.
- [24] B.S.C. Leadbeter, R. Riding, Biomineralization in lower plants and animals, Clarendon Press, Oxford, 1986.
- [25] J. Hahn, P. Haug, Traces of archebacteria in ancient sediments, System. Appl. Microbiol. 7 (1986), 178-183.
- [26] F.E.W. Eckhardt, Solubilization, transport and deposition of mineral cations by microorganisms – efficient rock weathering agents, In: J.I. Drever, The chemistry of weathering, D. Reidel Publ., **1985**, 161-173.

- [27] W.E. Krumbein, Microbial Interactions with mineral materials, In: D.R. Houghton, R.N. Smith, H.O.W. Eggins, Biodeterioration 7, Elsevier, London, 1987, 78-100.
- [28] J.W. Costerton et al., Bacterial biofilms in nature and desease, Ann. Rev. Microbiol. 41 (1987), 435-464.
- [29] W.G. Characklis, K.C. Marshall, Biofilms a basis for an interdisciplinary approach, In: W.G. Characklis, K.C. Marshall, Biofilms, John Wiley, New York, 1990, 3-15.
- [30] M.S. Favero et al., Pseudomonas aeruginosa growth in distilled waters from hospitals, *Science* 173 (1971), 836-838.
- [31] M.C. Mittelmann, Bacterial growth and biofouling control in purified water systems, In: H.C. Flemming, G.G. Geesy, Biofouling and Biocorrosion in Industrial Water Systems, Springer, Heidelberg, 1986, 133-154.
- [32] T.K. Haack, G.A. McFeters, Nutritional relationships among microorganisms in an epilithic biofilm community, *Microb. Ecol.* 8 (1982), 115-126.
- [33] W.A. Hamilton, Biofilms microbial interactions and metabolic activities, In: M. Fletcher, T.R.G. Gray, J.G. Jones, Ecology of microbial environments, Cambridge Univ. Press, 1987, 361-385.
- [34] L.J.Stal et al., Group Report: Cellular physiology and interactions of biofilm organisms, In: W.G. Characklis, P.A. Wilderer, Structure and function of biofilms, John Wiley, New York, **1989**, 269-286.
- [35] H.-C. Flemming, J. Wingender, Was Biofilme zusammenhält, Chemie in unserer Zeit 36, Nr.1 (2002), 30-42.
- [36] H.C. Flemming, Biofilme und Wassertechnologie, Teil II, *GWF Wasser-Abwasser* 133 (1992), 119-130.
- [37] R.M. Atlas, R. Bartha, Microbial ecology: fundamentals and applications, Benjamin/Cummings, Menlo Park, 1997.
- [38] K.O. Stetter et al., Extremely thermophilic sulfur-metabolizing archebacteria, *System. Appl. Microbiol.* **7** (1985), 393-397.
- [39] B.J. Tindall, The natronbacteria: alkaliphilic members of the aerobic, halophilic archebacteria, In: O. Kandler, U.W. Zillig, Archebacteria '85, G. Fischer Verlag, Stuttgart, **1986**, 410.

- [40] R.G.E. Murray, The biology and ecology of the Deinococcae, In: F. Megusar, M. Gantar, Perspectives in microbial ecology, Slov. Soc. Microbiol., Ljubljana, 1986, 153-158.
- [41] T. Lessel, H. Mötsch, E. Hennig, Experience with a pilot plant for the irradiation of sewage sludge, In: Radiation for a clean environment, Int. Atom. En. Ag. Vienna, 1975, 447-463.
- [42] M. Exner, G.-J. Tuschewitzki, E. Thofern, Untersuchung zur Wandbesiedlung der Kupferrohrleitung einer zentralen Desinfektionsmitteldosieranlage, *Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. B* 177 (1983), 170-181.
- [43] H.C. Flemming, Biofilme und Wassertechnologie, Teil I, *GWF Wasser-Abwasser* 132 (1991), 197-207.
- [44] J.H. Paul, W.H. Jeffrey, Evidence for separate adhesion mechanisms for hydrophilic and hydrophobic surfaces in Vibrio proteolytica, *Appl. Environ. Microbiol.* 50 (1985), 431-437.
- [45] W.G. Characklis, Microbial fouling, In: W.G. Characklis, K.C. Marshall, Biofilms, John Wiley, New York, 1990, 523-584.
- [46] R.E. Baier, Substrata influences on adhesion of microorganisms and their resultant new surface properties, In: G. Bitton, K.C. Marshall, Adsorption of Microorganisms to surfaces, John Wiley, New York, **1980**, 59-104.
- [47] H.C. Flemming, G. Schaule, Untersuchungen zum Biofouling an Umkehrosmoseund Ultrafiltrationsmembranen, Teil I, *Vom Wasser* 71 (1988), 207-233.
- [48] H. F. Ridgway, Microbial adhesion and biofouling of reverse osmosis membranes, In: B.S. Parekh, Reverse osmosis technology, Marcel Decker, New York, 1989, 429-481.
- [49] C.E. Zobell, The effect of surfaces upon bacterial activity, *J. Bacteriol.* 46 (1943), 39-56.
- [50] K. Power, K.C. Marshall, Cellular growth and reproduction of marine bacteria on surface-bound substrate, *Biofouling* 1 (1989), 163-174.
- [51] W.G. Characklis, G.A. McFeters, K.C. Marshall, Physiological ecology in biofilm systems, In: W.G. Characklis, K.C. Marshall, Biofilms, John Wiley, New York, 1990, 341-394.
- [52] K.C. Marshall, Bacterial adhesion in oligotrophic habitats, *Microb. Sci.* 2 (1985), 321-326.
- [53] M. Rosenberg, S. Kjelleberg, Hydrophobic interactions role in bacterial adhesion, Adv. Microb. Ecol. 9 (1986), 353-393.
- [54] M.M. Fletcher, Effect of solid surfaces on the activity of attached bacteria, In: D.C. Savage, M.M. Fletcher, Bacterial adhesion, Plenum Press, New York, 1985, 339-362.
- [55] W.G. Characklis, M.H. Turakhia, N. Zelver, Transport and interfacial transfer phenomena, In: W.G. Characklis, K.C. Marshall, Biofilms, John Wiley, New York, 1990, 265-340.
- [56] W.G. Characklis, Biofilm processes, In: W.G. Characklis, K.C. Marshall, Biofilms, John Wiley, New York, 1990, 195-232.
- [57] T.R. Bott, Bio-Fouling, In: M. Bohnet, Fouling von Wärmeübertragungsflächen, VDI, Düsseldorf, 1990, 5.1-5.20.
- [58] C.J. Gantzer et al., Group report Exchange processes at the fluid-biofilm interface, In: W.G. Characklis, P. Wilderer, Structure and function of biofilms, John Wiley, New York, 1989, 73-89.
- [59] M.H. Turakhia, K.E. Cooksey, W.G. Characklis, Influence of a calcium-specific chelant on biofilm removal, *Appl. Environ. Microb.* 46 (1989), 1270-1238.
- [60] W.G. Characklis, P.Wilderer, Introduction, In: W.G. Characklis, P. Wilderer, Structure and function of biofilms, John Wiley, New York, **1989**, 5-17.
- [61] B.E. Christensen, W.G. Characklis, Physical and chemical properties of biofilms, In: W.G. Characklis, K.C. Marshall, Biofilms, John Wiley, New York, 1990, 93-130.
- [62] W.A. Hamilton, W.G. Characklis, Relative activities of cells in suspension and in biofilms, In: W.G. Characklis, P. Wilderer, Structure and funktion of biofilms, John Wiley, New York, **1989**, 199-219.
- [63] S. Rettinger, Wasser- und Stoffdynamik bei der Abwasserperkolation, Korrespondenz Abwasser 40 (1993), 1604-1614.
- [64] I.W. Sutherland, Microbial exopolosaccharides their role in microbial adhesion in aqueous systems, CRC Crit. Rev. Microbiol. 10 (1984), 173-201.
- [65] J.W. Costerton, T.J. Marrie, K.-J. Cheng, Phenomena of bacterial adhesion, In: D.C. Savage, M.M. Fletcher, Bacterial adhesion, Plenum Press, New York, 1985, 3-44.
- [66] R. Gehr, J.G. Henry, Removal of extracellular material techniques and pitfalls, *Wat. Res.* 12 (1983), 1743-1748.

- [67] J.R. Lawrence et al., Optical sectioning of microbial biofilms, *J. Bacteriol.* 173 (1991), 6558-6567.
- [68] G.G. Geesey, L. Jang, Interactions between metal ions and capsular polymers, In: T.J. Beveridge, R.J. Doyle, Metal ions and bacteria, John Wiley, New York, 1989,325-357.
- [69] T.J. Beveridge, Metal ions and bacteria, In: T.J. Beveridge, R.J. Doyle, Metal ions and bacteria, John Wiley, New York, 1989, 1-29.
- [70] I.W. Sutherland, Biosynthesis of micribial exopolysaccharides, Adv. Microb. Physiol. 23 (1972), 79.
- [71] H.T. Flammann, J.R. Golecki, J. Weckesser, The capsule and slime polysaccharides of the wild type and a phage resistant mutant of Rhodopseudomonas capsulata, *St. Lewis. Arch. Microbiol.* **139** (1984), 38.
- [72] B.E. Christensen, J. Kjosbakken, O. Smidsrod, Partial chemical and physical characterization of two extracellular polysaccharides produced by marine, periphytic Pseudomonas sp. strain NCMB 2021, *Appl. Environ. Microbiol.* 50 (1985), 837.
- [73] W. Corpe, Factors influencing growth and polysaccharide formation by strains of Chromobacterium violaceum, J. Bacteriol. 88 (1964), 1433.
- [74] W.A. Corpe, Metal-binding properties of surface materials from marine bacteria, *Dev. Int. Microbiol.* 16 (1975), 249.
- [75] J.L. Povoni, M.W. Tenney, W.F. Echelberger, Bacterial exocellular polymers and biologica flocculation, J. Water Pollut. Contr. Fed. 44 (1972), 414.
- [76] I. Sutherland, Bacterial exopolysaccharides their nature and production, In: I. Sutherland, Surface carbohydrates of the procaryotic cell, Academic, London, 1977, 27.
- [77] W.J. Cretney, R.W. MacDonald, C.S. Wong, D.R. Green, B. Whitehouse, G.G. Geesey, Biodegradation of a chemically dispersed oil, In: Proceedings of the 1981 Oil Spill Conference, Atlanta, GA, 1981, 37.
- [78] J.W. Costerton, R.T. Irvin, The bacterial glycocalyx in nature and disease, Ann. Rev. Microbiol. 35 (1981), 299-324.
- [79] I.W. Sutherland, Polysaccarides in the adhesion of marine and freshwater bacteria, In: R.C.W. Berkeley, J.M. Lynch, J. Melling, B. Vincent, Microbial adhesion to surfaces, Ellis Horwood, Chichester, United Kingdom, 1980, 329.

- [80] R. Moorhouse, W.T. Winter, S. Arnott, M.E. Bayer, Conformation and molecular organization in fibers of the capsular polysaccharide from Escherichia coli M41 mutant, *J. Mol. Biol.* **109** (1977), 373.
- [81] P.A. Sandford et al., Variations in Xanthomonas campestris NRRL B 1459: characterization of xanthan products of differing pyruvic acid content, In: P.A. Sandford, A. Laskin, Extracellular microbial polysaccarides, Am. Chem. Soc. Symp. Ser. No. 45, American Chemical Society, Washington, DC, 1977, 192.
- [82] C.D. Boyle, A.E. Reade, Characterization of two extracellular polysaccharides from marine bacteria, *Appl. Environ. Microbiol.* 46 (1983), 392.
- [83] L.P. Wackett, W.H. Orme-Johnson, C.T. Walsh, Transition metal enzymes in bacterial metabolism, In: T.J. Beveridge, R.J. Doyle, Metal Ions and Bacteria, John Wiley, New York, 1989, 165-206.
- [84] W. Kaim, B. Schwederski, Bioanorganische Chemie, 2. Aufl., Teubner, Stuttgart, 1995.
- [85] R.G. Pearson, J. Am. Chem. Soc. 85 (1963), 3533.
- [86] Y.E. Collins, G. Stotzky, Factors affecting the toxicity of heavy metals to microbes, In: T.J. Beveridge, R.J. Doyle, Metal ions and bacteria, John Wiley, New York, 1989, 31-90.
- [87] J.S. Thayer, F.E. Brinckman, The biological methylation of metals and metalloids, In: F.G.A. Stone, R. West, Advances in organometallic chemistry, Vol. 20, Academic, New York, 1982, 313.
- [88] J.M. Wood, H.-K. Wang, Microbial resistance to heavy metals, *Environ. Sci. Technol.* 17 (1983), 582A.
- [89] J.B. Robinson, O.A. Tuovinen, Mechanisms of microbial resistance and detoxification of mercury and organomercury compounds – Physiological, biochemical and genetic analysis, *Microbiol. Rev.* 48 (1984), 95.
- [90] G.J. Olson, W.P. Iverson, F.E. Brinckman, Volatilization of mercury by Thiobacillus Ferrooxidans, *Curr. Microbiol.* **5** (1981), 115.
- [91] I. Mahler, H.S. Levinson, Y. Wang, H.O. Halvorson, Cadmium- and mercury resistance Bacillus strains from a salt marsh and from Boston Harbor, *Appl. Environ. Microbiol.* 52 (1986), 1293.
- [92] R.W. Olafson, K. Abel, R.G. Sim, Procaryotic metallothionein: preliminary caracterization of a blue-green alga heavy metal-binding protein, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 89 (1979), 36.

- [93] W.N. Kuo, Partial purification and caracterization of the cation-binding protein and megamodulin from E. coli, *Microbios.* **37** (1983), 189.
- [94] T.J. Beveridge, R.G.E. Murray, Uptake and retention of metals by cell walls of Bacillus Subtilis, *J. Bacteriol.* 127 (1976), 1502-1518.
- [95] T.J. Beveridge, R.G.E. Murray, Sites of metal deposition in the cell wall of Bacillus Subtilis, J. Bacteriol. 141 (1980), 876-887.
- [96] W.R. Blair et al., Biotransformations of tin, In: W.H.O. Ernst, Proceedings international conference heavy metals in the environment, Amsterdam, CEP Consultants, Edinburgh, 1981, 235.
- [97] Z. Tynecka, Z. Gos, J. Zajac, Reduzed Cadmium transport determined by a resistance plasmid in Staphylococcus Aureus, *J. Bacteriol.* **147** (1981), 305.
- [98] S. Silver, Mechanism of bacterial resistances to toxic heavy metals: arsenic, antimony, silver, cadmium and mercury, NBS Special Publ., **1981**, 301-324.
- [99] C.L. Brierley, Metal immobilization using bacteria, In: H.C. Ehrlich, C.L. Brierley, Microbial mineral recovery, McGraw-Hill, New York, 1990, 303-323.
- [100] R.J.C. McLean, T.J. Beveridge, Metal-binding capacity of bacterial surfaces and their ability to from mineralized aggregates, In: H.C. Ehrlich, C.L. Brierley, Microbial mineral recovery, McGraw-Hill, New York, **1990**, 185-222.
- [101] J.W. Costerton, J. Boivin, Microbially influenced corrosion, In: M.W. Mittelman, G.G. Geesey, Biological fouling of industrial water systems – A problem solving approach, Wat. Microassiciates, San Diego, **1987**, 56-76.
- [102] L.E. Makaskie, A.C.R. Dean, Use of immobilized biofilm of Citrobacter sp. for the removal of uranium and lead from aqueous flow, *Enz. Microbiol. Technol.* 9 (1987), 2-4.
- [103] L.E. Makaskie, A.C.R. Dean, Uranium accumulation by a Citrobacter sp. immobilized as biofilm on various support materials, In: O.M. Neijssel, R.R. Van der Meer, K.Ch.A.M. Luyben, Proc. 4th Eur. Cong. Biotechnol., Elsevier, Amsterdam, **1987**, 37-40.
- [104] L.E. Makaskie, A.C.R. Dean, Uranium accumulation by immobilized biofilms on a Citrobacter sp., P.R. Norris, D.P. Kelly, Biohydrometallurgy, Science Technol. Let. Kew. Surey, UK, 1988, 556-557.
- [105] A. Zirino, S. Yamamoto, A pH-dependent model for the chemical speciation of copper, zinc, cadmium and lead in seawater, *Limnol. Oceanogr.* 17 (1972), 661.

- [106] H.C.H. Hahne, W. Kroontje, The simultaneous effect of pH and chloride concentrations upon mercury (II) as a pollutant, *Soil. Sci. Am. Proc.* **37** (1973), 838.
- [107] H.C.H. Hahne, W. Kroontje, Significance of pH and chloride concentration on behavior of heavy metal pollutants: mercury (II), cadmium (II), zinc (II) and lead (II), J. Environ. Qual. 2 (1973), 444.
- [108] W. Stumm, H. Bilinski, Trace metals in natural waters: Difficulties of interpretation arising from our ignorance on their speciation, In: Proc. Sixth Int. Conf. Wat. Poll. Res., Pergamon Press, New York, 1972, 39.
- [109] F.E.Ferris, Metallic interactions with the outer membrane of gram-negative bacteria, In: T.J. Beveridge, R.J. Doyle, Metal ions and bacteria, John Wiley, New York, 1989, 295-323.
- [110] I.C. Hancock, The use of gram-positive bacteria for the removal of metals from aqueous solution, In: R. Thompson, Trace Metal Removal from Aqueous Solutions, The Royal Society of Chemistry, London, **1986**, 25-43.
- [111] H.-C. Flemming, J. Schmitt, K.C. Marshall, Sorption properties of biofilms, In:
 W. Calmano, U. Förstner, Sediments and Toxic Substances, Springer, Berlin, 1996, 115-157.
- [112] C.L. Brierley, D.P. Kelly, K.J. Seal, D.J. Best, Biotechnology principles and applications, Blackwell Scient, Oxford, 163-212.
- [113] T.J. Beveridge, C.F. Forsberg, R.J.Doyle, Major sites of metal binding in Bacillus licheniformis walls, J. Bacteriol. 150 (1982), 1438-1448.
- [114] B. Hoyle, T.J. Beveridge, Binding of metallic ions to the outer membrane of Escherichia coli, *Appl. Environ. Microbiol.* 46 (1983), 749-752.
- [115] F.G. Ferris, T.J. Beveridge, W.S. Fyfe, Iron-silica crystallite nucleation by bacteria in a geothermal sediment, *Nature (London)* **320** (1986), 609-611.
- [116] F.G. Ferris, W.S. Fyfe, T.J. Beveridge, Manganese oxide deposition in a hot spring microbial mat, *Geomicrobiol. J.* **5** (1986), 33-42.
- [117] F.G. Ferris, W.S. Fyfe, T.J. Beveridge, Bacteria as nucleation sites for authigenic minerals in a metal-contaminated lake sediment, *Chem. Geol.* 63 (1987), 225-232.
- [118] A.M. James, The electrical properties and topochemistry of bacterial cells, Adv. Colloid Interface Sci. 15 (1982), 171-221.

- [119] V.P. Harden, J.O. Harris, The isoelectric point of bacterial cells, J. Bacteriol. 65 (1953), 198-202.
- [120] R. Neihof, W.H. Echols, Physicochemical studies of microbial cell walls, 1. Comparative electrophoretic behavior of intact cells and isolated cell walls, *Biochim. Biophys. Acta* **318** (1973), 22-32.
- [121] D.V. Richmond, D.J. Fisher, The electrophoretic mobility of microorganisms, Adv. Microb. Physiol. 9 (1973), 1-27.
- [122] R.J. Doyle, How cell walls of gram-positive bacteria interact with metal ions, In:
 T.J. Beveridge, R.J. Doyle, Metal Ions and Bacteria, John Wiley, New York, 1989, 275-293.
- [123] A.R. Archibald, J. Baddiley, S. Heptinstall, The alanine ester content and magnesium binding capacity of walls of Staphylococcus Aureus H grown at different pH values, *Biochim. Biophys. Acta* 291 (1973), 629-634.
- [124] A. Hurst, A. Hughes, M.Duckworth, J.Baddiley, Loss of D-alanine during sublethal heating of Staphylococcus Aureus s 6 and magnesium binding during repair, J. Gen. Microbiol. 89 (1975), 277-284.
- [125] J. Baddiley, I.C. Hancock, P.M.A. Sherwood, X-ray photoelectron studies of magnesium ions bound to the cell walls of Gram-positive bacteria, *Nature* 243 (1973), 43-45.
- [126] P.A. Lambert, I.C. Hancock, J. Baddiley, The interaction of magnesium ions with teichoic acid, *Biochem. J.* 149 (1975), 519-524.
- [127] P.A. Lambert, I.C. Hancock, J. Baddiley, Influence of alanyl ester residues on the binding of magnesium ions to teichoic acids, *Biochem. J.* 151 (1975), 671-676.
- [128] F. Galdiero, M.A. Tufano, M.T. Berlingieri, L. Sommese, Ion binding properties of s-layer proteins from Bacillus subtilis, *Microbiologica (Italy)* 5 (1982), 371-376.
- [129] T.H. Matthews, R.J. Doyle, U.N. Streips, Contribution of peptidoglycan to the binding of metal ions by the cell wall of Bacillus Subtilis, *Curr. Microbiol.* 3 (1979), 51-53.
- [130] R.J. Doyle, T.H. Matthews, U.N. Streips, Chemical basis for selectivity of metal ions by the Bacillus Subtilis cell wall, *J. Bacteriol.* 143 (1980), 471-480.
- [131] L. Weiss, The pH value at the surface of Bacillus Subtilis, J. Gen. Microbiol. 32 (1963), 331-340.

- [132] J.L. Meers, D.W. Tempest, The influence of growth-limiting substrate an medium NaCl concentration an the synthesis of magnesium-binding sites in the wall of Bacillis subtilis var. niger., J. Gen. Microbiol. 63 (1970), 325-331.
- [133] D.C. Ellwood, D.W. Tempest, Effects of environment on bacterial cell wall content and composition, *Adv. Microb. Physiol.* 7 (1972), 83-117.
- [134] S. Heptinstall, A.R. Archibald, J. Baddiley, Teichoic acids and membrane function in bacteria, *Nature* 225 (1970), 519-521.
- [135] J.E. Heckels, P.A. Lambert, J. Baddiley, Binding of magnesium ions to cell walls of Bacillus subtilis W 23 containing teichoic acid or teichuronic acid, *Biochemical J.* 162 (1977), 359-365.
- [136] T.J. Beveridge, Ultrastructure, chemistry and function of the bacterial wall, *Int. Rev. Cytol.* 72 (1981), 229
- [137] F.G. Ferris, T.J. Beveridge, Fuctions of bacterial cell surface structures, *Bio Science* 35 (1985), 172.
- [138] R.T. Coughlin, S. Tonsager, E.J. McGroarty, Quantitation of metal cations bound to membranes and extracted lipopolysaccharide from Escherichia coli, *Biochemistry* 22 (1983), 2002.
- [139] F.G. Ferris, T.J. Beveridge, Physiochemical roles of soluble metal cations in the outer membrane of Escherichia coli K-12, *Can. J. Microbiol.* **32** (1986), 594.
- [140] N.L. Martin, T.J. Beveridge, Gentamicin interaction with Pseudomonas aerugenosa cell envelope, *Antimicrobial Agents Chemother.* **29** (1986), 1079.
- [141] D. Lugtenberg, L van Alphen, Molecular architecture and functionic of the outer membrane of Escherichia coli and other gram-negativ bacteria, *Biochim. Biophys. Acta* 737 (1983), 51.
- [142] M. Nikaido, T. Nakae, The outer membrane of gram-nagative bacteria, Adv. Microb. Physiol. 20 (1979), 163.
- [143] M.J. Osborn, H.C.P. Wu, Proteins of the outer membrane of gram-negative bacteria, Ann. Rev. Microbiol. 34 (1980), 369.
- [144] T.J. Beveridge, Mechanism of the binding of metallic ions to bacterial walls and the possible impact on microbial ecology, In: C.A. Reddy, M.J. Klug, Current Perspectives in Microbial Ecology, American Society for Microbiology, Washington, DC, **1984**, 601.

- [145] F.G. Ferris, T.J. Beveridge, Binding of a paramagnetic metal cation of Escherichia coli K-12 outer membrane vesicles, *FEMS Microbiol. Lett.* 24 (1984), 43.
- [146] J.M. Diamond, E.M. Wright, Biological membranes: the physical basis of ion and nonelectrolyte selectivity, *Ann. Rev. Physiol.* **31** (1969), 581.
- [147] G.M. Gadd, A.J. Griffiths, Microorganisms and heavy metal toxicity, *Microb. Ecol.* 4 (1978), 303.
- [148] G. Bitton, V. Friehofer, Influence of extracellular polysaccharide on the toxicity of copper and cadmium toward Klebsiella aerogenes, *Microb. Ecol.* 4 (1978), 119.
- [149] D.W. Smiley, B.J. Wilkinson, Survey of taurine uptake and metabolism in Staphylococcus aureus, J. Gen. Microbiol. 129 (1983), 2421-2428.
- [150] I.W. Sutherland, Microbial exopolysaccharides their role in microbial adhesion in aqueous systems, CRC Crit. Rev. Microbiol. 10 (1984), 173-201.
- [151] E. Altman, J.-R. Brisson, M.B. Perry, Structural studies of the capsular polysaccharide from Haemophilus pleumoniae serotype, *Biochem. Cell. Biol.* 64 (1986), 707-716.
- [152] A.E. Martell, Principles of complex formation, In: S.J. Faust, J.V. Hunter, Organic Compounds in Aquatic Environments, Dekker, New York, 1971, 239.
- [153] J.A. Rendleman, Metal-polysaccaride complexes, Part II, Fd. Chem. 3 (1978), 127.
- [154] F. Sonnenburg, H. Borchardt, Untersuchungen der Oder zur Belastung der Schwebstoff- bzw. Sedimentphase und angrenzender Bereiche, Landesumweltamt Brandenburg, Potsdam, 1999.
- [155] A. Prange et al., Zusammenfassende Aus- und Bewertung der Längsprofiluntersuchungen in der Elbe, Institut für Physikalische und Chemische Analytik -GKSS-Forschungszentrum Geesthacht GmbH, Geesthacht, 1997.
- [156] M. Simon, Die Elbe und ihr Einzugsgebiet, Wasserwirtschaft Wassertechnik 7 (1993), 15-23.
- [157] R. Klockenkämper, Totalreflexions-Röntgenfluoreszenzanalyse, In: Analytiker Taschenbuch, Band 10, Springer-Verlag, Berlin, 1991, 111-152.
- [158] H. Neuert, Physik f
 ür Naturwissenschaftler, Band II, BI Wissenschaftsverlag, Heidelberg, 1991.

- [159] D.A. Skoog, J.J. Leary, Instrumentelle Analytik, Springer-Verlag, Berlin, 1996, 387-410.
- [160] H. Schreiber, Röntgenspektroskopie, In: H. Naumer, W. Heller, Untersuchungsmethoden in der Chemie, 3. Aufl., Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1997, 322-333.
- [161] P. Hahn-Weinheimer, A. Hirner, K. Weber-Diefenbach, Röntgenfluoreszenzanalytische Methoden, Vieweg, Braunschweig, 1995.
- [162] S. Brüggerhoff, E. Jackwerth, B. Raith, A. Stratmann, B. Gonsior, *Fresenius Z. Anal. Chem.* **311** (1982), 252-258.
- [163] H.G. Moseley, *Phil. Mag.* 27 (1914), 703.
- [164] Y. Yoneda, T. Horiuchi, Optical flats for use in X-ray spectrochemical microanalyis, *Rev. Sci. Instr.* 42 (1971), 1069.
- [165] P. Wobrauschek, H. Aiginger, Totalreflexions-Röntgenfluoreszenzanalyse, X-Ray Spectrom. 8 (1979), 57.
- [166] M. Schmitt, P. Hoffmann, K.H. Lieser, Perspex as sample carrier in TXRF, *Fresenius Z. Anal. Chem.* 328 (1987), 594-595.
- [167] J.A.C. Broekaert, ICP-Massenspektrometrie, In: Analytiker Taschenbuch, Band9, Springer-Verlag, Berlin, 1990, 127-163.
- [168] J.A.C. Broekaert, G. Tölg, Fresenius Z. Anal. Chem. 326 (1987), 495.
- [169] P. Schramel, Anwendung der ICP-MS f
 ür die Spurenelementbestimmung in biologischen Materialien, In: Analytiker Taschenbuch, Band 15, Springer-Verlag, Berlin, 1997, 89-120.
- [170] P. Schramel, B.-J. Klose, S. Hasse, Fresenius Z. Anal. Chem. 310 (1982), 209.
- [171] V.A. Fassel, B.R. Bear, Spectrochim. Acta 41B (1986), 1089.
- [172] P. Schramel, J. Ovcar-Pavlu, Fresenius Z. Anal. Chem. 298 (1979), 28.
- [173] G. Zhu, R.F. Browner, J. Anal. Atom. Spectrom. 3 (1988), 781.
- [174] J. Möller, Analytiker Taschenbuch, Band 7, Springer-Verlag, Berlin, 1988.
- [175] W.C. Story, J.A. Caruso, D.T. Heitkemper, L. Perkins, J. Chromatogr. Sc. 30 (1992), 427.
- [176] T. Nakahara, Prog. Analyt. Atom. Spectrosc. 6 (1983), 163.
- [177] U. Völlkopf, A. Janssen, Atomic Spectroscopy 11/4 (1990), 135.
- [178] B. Welz, M. Schubert-Jacobs, Atomic Spectroscopy 12/4 (1991), 91.
- [179] E.R. Denoyer, Q. Lu, A. Stroh, P. Jordan, Perkin-Elmer Appl. Rep. FAR-2 (1993).

- [180] C.J. Park, J. C. Van Loon, P. Arrowsmith, J.B. French, Anal. Chem. 59 (1987), 2191.
- [181] E.R. Denoyer, K.J. Fredeen, J.W. Hager, Anal. Chem. 63 (1991), 445-457.
- [182] P.A. Arrowsmith, Anal. Chem. 59 (1987), 1437-1444.
- [183] J.W. Hager, Anal. Chem. 61 (1989), 1243-1248.
- [184] A.L. Gray, Analyst 110 (1985), 551-556.
- [185] U. Voellkopf, M. Paul, E.R. Denoyer, Fresenius J. Anal. Chem. 342 (1992), 917-923.
- [186] D. Boomer, M. Powell, R.L.A. Sing, E.D. Salin, Anal. Chem. 58 (1986), 975.
- [187] G.E.M. Hall, J.C. Pelchat, D.W. Boomer, M. Powell, J.A.A.S. 3 (1988), 791.
- [188] De Galan, Spectrochim. Acta **39B** (1984), 537.
- [189] B. Raeymaekers, J.A.C. Broekaert, F. Leis, Spectrochim. Acta 43B (1988), 941.
- [190] J.A.C. Broekaert, Anal. Chim. Acta 196 (1987), 1.
- [191] J. Bergerow, L. Dunemann, ICP-MS bei biologischen Proben, Nachr. Chem. Tech. Lab. 44 (1996), Nr. 7/8, 739-743.
- [192] M.A. Vaughan, G. Horlick, Appl. Spectrosc. 40 (1986), 434.
- [193] G. Horlick, S.H. Tan, M.A. Vaughan, C.A. Rose, *Spectrochim. Acta* 40B (1985), 1555.
- [194] S.H. Tan, G. Horlick, Appl. Spectrosc. 40 (1986), 445.
- [195] K. Doerffel, R. Greyer, H. Müller, Analytikum, 9. Aufl., Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie, Leipzig, 1994.
- [196] K. Doerffel, Statistik in der analytischen Chemie, 5. Aufl., Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie, Leipzig, 1990.
- [197] W. Funk, V. Dammann, G. Donnevert, Qualitätssicherung in der Analytischen Chemie, VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, 1992.
- [198] W. Gottwald, Statistik f
 ür Anwender, WILEY-VCH Verlag GmbH, Weinheim, 2000.
- [199] F.S. Giauque, F.S. Golding, R.H. Jaclevic, R.H. Pehl, Anal. Chem. 45 (1973), 671.
- [200] A. Montaser, D.W. Golightly, Inductively Coupled Plasmas in Analytical Atomic Spectrometry, Sec. Ed., VCH, Weinheim, 1992.
- [201] A. Prange, Entwicklung eines spurenanalytischen Verfahrens zur Bestimmung von gelösten Schwermetallen in Meerwasser mit Hilfe der TRFA, Dissertation, Universität Hamburg, Hamburg, 1983.

- [202] O. Schulz, P. Heitland, Application of prominent spectral lines in the 125-180 nm range for inductively coupled plasma optical emission spectrometry, *Fresenius J. Anal. Chem.* **371** (2001), 1070-1075.
- [203] V. Lazarova, J. Manem, Biofilm characterization and activity analysis in water and wastewater treatment, *Wat. Res.* **29** (1995), 2227-2245.
- [204] G. Bratbak, I. Dundas, Bacterial dry matter content and biomass estimations, *Appl. Environ. Microbiol.* **48** (1984), 755-757.
- [205] G. Bratbak, Bacterial biovolume and biomass estimations, Appl. Envir. Microbiol. 49 (1985), 1488-1493.
- [206] G.H. Kristensen, F.R. Christensen, Application of cryo-cut method for measurements of biofilm thickness, *Wat. Res.* 16 (1982), 1619-1621.
- [207] R. Bakke, P.Q. Olsson, Biofilm thickness measurements by light microscopy, J. Microbiol. Meth. 5 (1986), 93-98.
- [208] R.C. Hoehn, A.D. Ray, Effects of thickness on bacterial film, J. Wat. Pollut. Control Fed. 45 (1973), 2302-2320.
- [209] G.G. Geesey, D.C. White, Determination of bacterial growth and activity at solid-liquid interfaces, *Ann. Rev. Microbiol.* 44 (1990), 579-602.
- [210] B. Sonnleitner, G. Locher, A. Fiechter, Biomass determination, J. Biotechnol. 25 (1992), 5-22.
- [211] N. J. Horan, C. R. Eccles, Purification and characterization of extracellular polysaccharide from activated sludges, *Wat. Res.* 20 (1986), 1427-1432.
- [212] T. Ford et al., Characterization of exopolymers of aquatic bacteria by pyrolysis mass spectrometry, *Appl. Environ. Microbiol.* 57 (1991), 1595-1601.
- [213] V.L. McKinley, J.R. Vestal, Physical and chemical correlates of microbial activity and biomass in composting municipal sewage sludges, *Appl. Environ. Microbiol.* 50 (1985), 1395-1403.
- [214] A. Sperandio, P. Püchner, Bestimmung der Gesamtproteine als Biomasse-Parameter in wäbrigen Kulturen und auf Trägermaterialien aus Bio-Reaktoren, *Wasser-Abwasser GMF* 134 (1993), 482-485.
- [215] D.C. White et al., Biochemical measurements of microbial mass and activity from environmental samples, In: J.W. Costerton, Native Aquatic Bacteria: Enumeration, Activity and Ecology, ASTM Spec. Tech. Publ., University of Calgery, Md, **1979**, 69-81.

- [216] S.W. Watson, J.E. Hobbie, Measurement of bacterial biomass as lipopolysaccharide, In: J.W. Costerton, Native Aquatic Bacteria: Enumeration, Activity and Ecology, ASTM Spec. Tech. Publ., University of Calgery, Md, 1979, 82-88.
- [217] T.C. Zhang, L. Bishop, Structure, activity and composition of biofilms, *Wat. Sci. Technol.* 29(7) (1994), 335-344.
- [218] C. Krambeck et al., Microcomputer-assisted biomass determination of plancton bacteria on scanning electron micrographs, *Appl. Envir. Microbiol.* 42 (1981), 142-149.
- [219] C.M. Harris, D.B. Kell, The estimation of microbial biomass, *Biosensors* 1 (1985), 17-84.
- [220] M. Dubois, K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Rebers, F. Smith, Colorimetric method for determination of sugars and related substances, *Anal. Chem.* 28 (1956), 350-356.
- [221] P.K. Smith et al., Measurement of protein using bicinchoninic acid, Anal. Biochem. 150 (1985), 76-85.
- [222] M.M. Bradford, A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Anal. Biochem.* 72 (1976), 248-254.
- [223] W.G. Brogdon, C.M. Dickinson, A microassay system for measuring esterase activity and protein concentration in small samples and in high-pressure liquid chromatography eluate fractions, *Anal Biochem.* **131** (1983), 499-503.
- [224] A. Bensadoun, D. Weinstein, Assay of proteins in the presence of interfering materials, *Anal. Biochem.* 70 (1976), 241-250.
- [225] S. Waffenschmidt, L. Jaenicke, Assay of reducing sugars in the nanomole range with 2,2'-Bicinchoninate, *Anal. Biochem.* 165 (1987), 337-340.
- [226] S.P.J. Brooks et al., A comparison of methods for determining total body protein, *Anal Biochem.* **226** (1995), 26-30.
- [227] R.J.C. McLean, D. Beauchemin, L. Clapham, T.J. Beveridge, Metal-Binding characteristics of the gamma-glutamyl capsular polymer of Bacillus licheniformis ATCC 9945, *Appl. Environ. Microbiol.* 56 (1990), 3671-3677.
- [228] R.J.C. McLean, D. Beauchemin, T.J. Beveridge, Influence of oxidation state on iron binding by Bacillus licheniformis capsule, *Appl. Environ. Microbiol.* 58 (1992), 405-408.

- [229] M.D. Mullen et al., Bacterial sorption of heavy metals, Appl. Environ. Microbiol. 55 (1989), 3143-3149.
- [230] M.U. Mera, M. Kemper, R. Doyle, T.J. Beveridge, The membrane-induced proton motive force influences the metal binding ability of Bacillus subtilis cell walls, *Appl. Environ. Microbiol.* 58 (1992), 3837-3844.
- [231] M.W. Mittelman, G.G. Geesey, Copper-binding characteristics of exopolymers from a freshwater-sediment bacterium, *Appl. Environ. Microbiol.* **49** (1985), 846-851.
- [232] F.G. Ferris, S. Schultze, T.C. Witten, W.S. Fyfe, T.J. Beveridge, Metal interactions with microbial biofilms in acidic and neutral pH environments, *Appl. Environ. Microbiol.* 55 (1989), 1249-1257.
- [233] K. Dittrich, Flammenlose Atomabsorptionsspektrometrie, Analytiker Taschenbuch, Band 8, Springer-Verlag, Berlin, 1989, 37-91.
- [234] U. Kurfürst, Die direkte Analyse von Feststoffen mit der Graphitrohr-AAS, Analytiker Taschenbuch, Band 10, Springer-Verlag, Berlin, **1991**, 189-248.
- [235] V. Krivan, Neutronenaktivierungsanalyse, Analytiker Taschenbuch, Band 5, Springer-Verlag, Berlin, 1985, 35-68.
- [236] C.C. Perry, J.R. Wilcock, R.J.P. Williams, A physicochemical approach to morphogenesis: The roles of inorganic ions and crystals, *Experientia* 44 (1988), 638.
- [237] K.N. Raymond, G. Müller, B.F. Matzanke, Complexation of iron by sirephores A review of their solution and structural chemistry and biological functions, *Top. Curr. Chem.* 123 (1984), 49.
- [238] H. Reincke et al., Wassergütedaten der Elbe von Schmilka bis zur See Zahlentafel 1999, Arbeitsgemeinschaft für die Reinhaltung der Elbe, Hamburg, 2001.
- [239] H. Reincke et al., Multielementanalysen von Wasserproben der Elbe und ausgewählter Nebenflüsse – Längsprofilbeprobung vom September 1997, Arbeitsgemeinschaft für die Reinhaltung der Elbe, Hamburg, 2000.
- [240] A. Knöchel, F. Lechtenberg, M. Paulsen, A. Ranck, S. Staub, G.Weseloh, Ortsabhängige Multielementanalysen in schadstoffbelasteten Lungengeweben von Arbeitern aus dem Uranbergbau, Hamburg, 2001, 24.
- [241] W. Baden, Chemikalien Reagenzien, Merck KGaA, Darmstadt, 2002.

8. Anhang

Tabelle I: Relative Elementgehalte in Oder-Biofilmen vom Probennahmepunkt Wroclaw mit der absoluten Schwefelmenge als Bezugsparameter. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95 und n = 6dar).

Element	t Masse(Element)/Masse(Schwefel) [mg/g]			
	2 Wochen	7 Wochen	12 Wochen	17 Wochen
Al	15141 ± 1797	21704 ± 2602	24581 ± 3983	28527 ± 2932
Si	49916 ± 9560	72676 ± 8431	87813 ± 14534	92844 ± 7808
K	4795 ± 700	6342 ± 813	7163 ± 1183	7558 ± 1111
Ca	3435 ± 529	5017 ± 723	5933 ± 940	6254 ± 683
Ti	1099 ± 212	1733 ± 282	2132 ± 358	2299 ± 274
V	$24,62 \pm 3,89$	$44,92 \pm 9,04$	$57,11 \pm 10,02$	$67,22 \pm 7,74$
Cr	$28,08 \pm 1,73$	$54,12\pm 8,61$	$70,92 \pm 7,89$	$88,73 \pm 7,11$
Mn	6073 ± 909	7493 ± 1529	8096 ± 1093	8355 ± 1084
Fe	9100 ± 1512	16480 ± 2951	21440 ± 3302	25332 ± 2274
Со	$17,70 \pm 2,55$	$22,53 \pm 0,57$	$23,47 \pm 4,85$	$25,32 \pm 4,21$
Ni	$19,61 \pm 3,84$	$30,63 \pm 5,77$	$36,14 \pm 4,54$	$37,34 \pm 2,66$
Cu	$16,66 \pm 1,96$	$22,08 \pm 2,82$	$26,47 \pm 3,47$	$26,77 \pm 3,91$
Zn	$351,6\pm 58,1$	$475,1\pm 86,1$	$552,0\pm 91,6$	$578,8 \pm 98,8$
As	$15,27 \pm 2,69$	$20,24 \pm 1,33$	$23,75 \pm 3,88$	$23,86 \pm 1,43$
Rb	$29,70 \pm 4,93$	$50,61 \pm 8,92$	$63,87 \pm 11,14$	$75,69 \pm 7,08$
Sr	$59,32 \pm 6,40$	83,94± 13,43	$97,09 \pm 18,06$	$107,0\pm 9,1$
Y	9,114± 1,492	$15,03 \pm 1,37$	$18,60 \pm 2,76$	$21,83 \pm 2,05$
Ba	$399,1\pm 43,9$	$598,5 \pm 130,0$	$727,9 \pm 130,3$	$756,5 \pm 92,3$
W	$3,803 \pm 0,347$	$7,714 \pm 0,354$	$10,43 \pm 1,56$	$12,48 \pm 2,11$
Hg				
T1			$2,237 \pm 0,245$	$2,582 \pm 0,275$
Pb	$2\overline{2,26\pm 3,95}$	$4\overline{1,20\pm 3,38}$	$53,90 \pm 10,80$	$6\overline{6,12\pm 9,53}$
Bi	$1,407 \pm 0,221$	$2,159 \pm 0,253$	$2,670 \pm 0,257$	$3,011 \pm 0,406$
Th	$6,590 \pm 0,700$	8,484± 1,211	9,648± 1,263	$9,750 \pm 1,173$
U		$2,585 \pm 0,458$	$2,990 \pm 0,129$	$3,701 \pm 0,236$

Tabelle II: Relative Elementgehalte in Oder-Biofilmen vom Probennahmepunkt Wroclaw mit der absoluten Phosphormenge als Bezugsparameter. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95 und n = 6 dar).

Element	Masse(Element)/Masse(Phosphor) [mg/g]			
	2 Wochen	7 Wochen	12 Wochen	17 Wochen
Al	15295 ± 2590	22341 ± 2313	24636 ± 3839	29297 ± 2997
Si	53147 ± 8921	75002 ± 9208	87713 ± 12280	95372 ± 5180
K	4786 ± 365	6531 ± 752	7128 ± 578	7766 ± 1119
Ca	3653 ± 631	5095 ± 888	5946 ± 1016	6420 ± 585
Ti	1138 ± 201	1780 ± 216	2267 ± 282	2361 ± 260
V	$24,61 \pm 2,72$	$46,02 \pm 6,68$	$60,81 \pm 8,77$	$68,99 \pm 6,73$
Cr	$27,48 \pm 1,80$	$60,11 \pm 10,45$	$66,76 \pm 13,36$	$89,98 \pm 6,53$
Mn	6377 ± 1204	7695 ± 1273	7528 ± 396	8598± 1222
Fe	9099± 1124	16902 ± 2131	22576 ± 2263	26020 ± 2090
Со	$18,16\pm 3,21$	$25,16 \pm 4,79$	$25,88 \pm 5,33$	$25,60 \pm 4,04$
Ni	$21,09 \pm 4,26$	$31,47 \pm 4,78$	$36,09 \pm 2,80$	$38,38 \pm 2,96$
Cu	$16,71 \pm 1,77$	$24,40\pm5,30$	$27,07 \pm 5,15$	$27,55 \pm 4,43$
Zn	$351,8\pm 44,9$	$504,4\pm 105,3$	$553,5\pm 93,2$	$594,9 \pm 103,4$
As	$15,91 \pm 3,18$	$22,23 \pm 3,23$	$23,88 \pm 4,28$	$24,53 \pm 1,64$
Rb	$30,75 \pm 4,49$	$51,95 \pm 6,85$	$68,73 \pm 9,57$	$77,70\pm5,85$
Sr	$59,81 \pm 9,06$	$81,32 \pm 12,65$	96,39± 9,43	$109,8\pm6,7$
Y	$9,789 \pm 1,765$	$15,12\pm 2,45$	$20,14 \pm 2,84$	$22,38 \pm 2,90$
Ba	$400,9 \pm 45,7$	578,8± 122,9	$722,3\pm55,9$	$777,7\pm 95,9$
W	$3,750 \pm 0,726$	$6,174 \pm 1,137$	$10,16 \pm 1,15$	$12,73 \pm 1,68$
Hg				
T1			$2,527 \pm 0,305$	$2,677 \pm 0,166$
Pb	$23,15 \pm 4,26$	$43,53 \pm 3,75$	$53,31 \pm 9,76$	$68,31 \pm 9,71$
Bi	$1,617 \pm 0,322$	$2,306 \pm 0,379$	$2,883 \pm 0,423$	$3,113 \pm 0,3\overline{44}$
Th	$6,681 \pm 1,300$	$8,717 \pm 1,681$	$9,686 \pm 0,797$	$10,03 \pm 1,27$
U		$2,537 \pm 0,449$	$3,400 \pm 0,095$	$3,743 \pm 0,206$

Tabelle III: Relative Elementgehalte in Oder-Biofilmen vom Probennahmepunkt Wroclaw mit der absoluten Kohlenhydratmenge als Bezugsparameter. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95und n = 6 dar).

Element	t Masse(Element)/Masse(Kohlenhydrate) [mg/g]			
	2 Wochen	7 Wochen	12 Wochen	17 Wochen
Al	$463,8\pm 81,6$	$602,3\pm 92,1$	$669,7\pm 102,1$	928,7± 159,5
Si	1324 ± 157	2018 ± 311	2374 ± 195	2372 ± 57
K	$126,1\pm 12,8$	$175,4\pm 23,7$	$194,5\pm 24,3$	$208,6\pm 19,0$
Ca	$104,7\pm 9,3$	$137,4\pm 17,0$	$147,3\pm 16,2$	$172,5\pm 10,8$
Ti	$28,78 \pm 2,31$	$47,69 \pm 5,68$	$61,98 \pm 10,20$	$66,15 \pm 9,62$
V	$0,646 \pm 0,079$	$1,233 \pm 0,167$	$1,774 \pm 0,266$	$1,951 \pm 0,299$
Cr	$0,814 \pm 0,065$	$1,604 \pm 0,216$	$1,835 \pm 0,251$	$2,592 \pm 0,395$
Mn	$165,6\pm\ 25,6$	$205,6\pm\ 28,9$	$206,1\pm 12,5$	$231,1\pm 25,0$
Fe	$239,7\pm\ 26,7$	$452,5\pm 50,5$	$618,9\pm 107,1$	737,1± 109,0
Со	$0,483 \pm 0,027$	$0,679 \pm 0,189$	$0,660 \pm 0,136$	$0,679 \pm 0,115$
Ni	$0,603 \pm 0,066$	$0,842 \pm 0,117$	$0,985 \pm 0,124$	$1,062 \pm 0,075$
Cu	$0,449 \pm 0,024$	$0,682 \pm 0,139$	$0,741 \pm 0,144$	$0,685 \pm 0,059$
Zn	$10,10\pm 1,71$	$13,81 \pm 2,87$	$15,06 \pm 2,57$	$15,97 \pm 3,35$
As	$0,456 \pm 0,056$	$0,624 \pm 0,102$	$0,650 \pm 0,124$	$0,691 \pm 0,107$
Rb	$0,795 \pm 0,080$	$1,391 \pm 0,173$	$1,995 \pm 0,292$	$2,182 \pm 0,324$
Sr	$1,777 \pm 0,222$	$2,325 \pm 0,375$	$2,646 \pm 0,491$	$3,086 \pm 0,499$
Y	$0,255 \pm 0,043$	$0,417 \pm 0,104$	$0,539 \pm 0,094$	$0,662 \pm 0,124$
Ba	$10,91 \pm 0,84$	$15,57 \pm 2,34$	$19,70\pm 2,29$	$22,60 \pm 4,20$
W	$0,115 \pm 0,019$	$0,161 \pm 0,019$	$0,256 \pm 0,033$	$0,331 \pm 0,061$
Hg				
T1			$0,071 \pm 0,017$	$0,069 \pm 0,008$
Pb	$0,608 \pm 0,093$	$1,238 \pm 0,163$	$1,702 \pm 0,119$	$1,944 \pm 0,343$
Bi	$0,044 \pm 0,006$	$0,064 \pm 0,010$	$0,075 \pm 0,016$	$0,082 \pm 0,015$
Th	$0,183 \pm 0,021$	$0,229 \pm 0,033$	$0,268 \pm 0,032$	$0,271 \pm 0,036$
U		$0,067 \pm 0,012$	$0,096 \pm 0,014$	$0,099 \pm 0,007$

Tabelle IV: Relative Elementgehalte in Oder-Biofilmen vom Probennahmepunkt Bystrzyca mit der absoluten Schwefelmenge als Bezugsparameter. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95 und n = 6 dar).

Element	t Masse(Element)/Masse(Schwefel) [mg/g]			
	2 Wochen	7 Wochen	12 Wochen	17 Wochen
Al	9350± 499	12677 ± 1724	16037 ± 2826	17899 ± 2707
Si	13647 ± 2584	26487 ± 4538	32459 ± 4995	35396 ± 6625
K	$750,1\pm 126,5$	1264 ± 162	2285 ± 183	2608 ± 202
Ca	4534 ± 428	7289 ± 1056	8962 ± 1025	10448 ± 961
Ti	$293,8\pm 28,4$	$503,3\pm 95,0$	$640,1\pm108,7$	747,6± 117,3
V	$11,17\pm 2,03$	$24,98 \pm 3,43$	$31,59 \pm 6,41$	$37,21 \pm 2,39$
Cr				
Mn	43458 ± 3213	58428 ± 5049	60172 ± 8624	62068 ± 8384
Fe	2501 ± 368	6033 ± 883	7623 ± 1422	10477 ± 884
Со	$48,56 \pm 3,29$	$79,77 \pm 11,71$	$89,43 \pm 18,01$	$98,05 \pm 7,44$
Ni	$39,97 \pm 3,49$	$63,14 \pm 8,79$	$78,61 \pm 13,90$	$87,72\pm 5,86$
Cu	$10,49 \pm 1,54$	$22,05 \pm 0,81$	$28,38 \pm 3,98$	$38,51 \pm 0,52$
Zn	$355,8\pm 23,6$	591,6± 55,9	$763,2\pm 99,4$	847,0± 130,9
As	$18,55 \pm 0,63$	$28,28 \pm 2,03$	$31,55 \pm 6,37$	$35,24 \pm 7,90$
Rb	$5,056 \pm 0,650$	$12,04 \pm 1,82$	$16,99 \pm 1,62$	$21,80 \pm 1,45$
Sr	$27,60 \pm 2,68$	$56,66 \pm 2,77$	$77,70 \pm 13,16$	$95,97 \pm 8,83$
Y		$4,987 \pm 1,253$	$6,470 \pm 1,069$	$7,524 \pm 0,357$
Ba	$600,1\pm 95,6$	1049 ± 90	1341 ± 126	1571 ± 144
W	$8,938 \pm 1,162$	$12,72 \pm 1,37$	$15,42 \pm 2,16$	$15,59 \pm 2,23$
Hg	$6,374 \pm 0,718$	$7,880 \pm 1,185$	$8,972 \pm 1,626$	$9,578 \pm 1,030$
T1	$5,009 \pm 0,634$	$6,424 \pm 1,058$	$7,557 \pm 1,234$	$8,387 \pm 1,882$
Pb			$17,92 \pm 2,35$	$21,11 \pm 2,22$
Bi				
Th	$2,\overline{369\pm 0,402}$	$5,354 \pm 1,275$	$7,701 \pm 1,287$	$9,989 \pm 0,404$
U				

Tabelle V: Relative Elementgehalte in Oder-Biofilmen vom Probennahmepunkt Bystrzyca mit der absoluten Phosphormenge als Bezugsparameter. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95 und n = 6 dar).

Element	it Masse(Element)/Masse(Phosphor) [mg/g]			
	2 Wochen	7 Wochen	12 Wochen	17 Wochen
Al	9366 ± 536	12704 ± 2146	16970 ± 3087	19040 ± 968
Si	13750 ± 2734	26109 ± 6169	32283 ± 4389	37306 ± 1238
K	$761,8\pm 152,4$	1262 ± 109	2419 ± 412	2570 ± 282
Ca	4515 ± 367	7294 ± 1211	9537 ± 1792	10843 ± 1614
Ti	$307,7\pm6,5$	$500,9\pm 62,1$	$638,5 \pm 113,4$	$735,8 \pm 164,9$
V	$11,10\pm 1,70$	$25,07 \pm 4,26$	$33,40\pm 5,48$	$36,37 \pm 0,15$
Cr				
Mn	43306 ± 3169	58076 ± 8613	64193 ± 5787	58539 ± 5281
Fe	2488 ± 329	5978 ± 66	8122 ± 1664	10288 ± 1567
Co	$48,39 \pm 3,14$	$79,82 \pm 13,33$	94,50± 18,23	$96,78 \pm 14,33$
Ni	$39,87 \pm 3,84$	$65,19 \pm 9,37$	78,21± 13,91	$90,74 \pm 9,02$
Cu	$10,38 \pm 1,38$	$21,59 \pm 2,56$	$29,93 \pm 3,66$	$37,73 \pm 3,09$
Zn	354,4± 19,6	$611,5\pm70,0$	$766,8\pm 96,0$	873,2± 117,3
As	24,11± 2,31	$28,03 \pm 1,97$	$33,00 \pm 4,21$	$36,30\pm7,36$
Rb	$4,241 \pm 0,587$	$12,02 \pm 1,51$	$16,54 \pm 2,38$	$21,39 \pm 2,88$
Sr	$27,48 \pm 2,33$	$56,78\pm5,60$	$82,59 \pm 15,30$	$102,85 \pm 11,90$
Y		$4,833 \pm 0,825$	$6,002 \pm 0,711$	$7,358 \pm 0,153$
Ba	$592,2\pm 88,2$	1047 ± 67	1335 ± 175	1483 ± 63
W	$9,046 \pm 1,573$	$12,71 \pm 1,35$	$15,83 \pm 2,26$	$16,08 \pm 1,71$
Hg	$6,369 \pm 0,853$	$7,905 \pm 1,468$	8,534± 1,816	9,419± 1,186
Tl	$5,016 \pm 0,845$	$6,471 \pm 0,843$	$7,413 \pm 0,921$	$8,489 \pm 1,579$
Pb			$16,95 \pm 2,09$	$20,61 \pm 0,76$
Bi				
Th	$2,430 \pm 0,374$	$5,329 \pm 1,038$	8,427± 1,577	$9,772 \pm 0,272$
U				

Tabelle VI: Relative Elementgehalte in Oder-Biofilmen vom Probennahmepunkt Bystrzyca mit der absoluten Kohlenhydratmenge als Bezugsparameter. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95und n = 6 dar).

Element	t Masse(Element)/Masse(Kohlenhydrate) [mg/g]				
	2 Wochen	7 Wochen	12 Wochen	17 Wochen	
Al	$259,5\pm 19,4$	$351,3\pm 60,5$	$457,5\pm\ 58,3$	$593,7\pm 25,1$	
Si	$381,1\pm 68,7$	$715,6\pm 89,4$	888,7± 87,9	1033 ± 91	
K	$20,51 \pm 3,64$	$34,85 \pm 0,53$	$67,78 \pm 10,18$	$75,18 \pm 8,48$	
Ca	$126,5\pm 12,9$	$201,8\pm 34,9$	$256,4\pm 23,3$	$316,2\pm 38,4$	
Ti	$8,146 \pm 0,482$	$13,81 \pm 0,73$	$17,49 \pm 1,70$	$19,42 \pm 2,87$	
V	$0,310 \pm 0,043$	$0,692 \pm 0,097$	$0,888 \pm 0,138$	$0,967 \pm 0,071$	
Cr					
Mn	1212 ± 83	1615 ± 208	1757 ± 156	1696 ± 368	
Fe	$69,70 \pm 9,54$	$166,2\pm 27,9$	$215,0\pm 35,3$	$272,2\pm 20,4$	
Co	$1,353 \pm 0,071$	$2,209 \pm 0,393$	$2,450 \pm 0,329$	$2,823 \pm 0,488$	
Ni	$1,117 \pm 0,125$	$1,737 \pm 0,248$	$2,189 \pm 0,332$	$2,662 \pm 0,351$	
Cu	$0,296 \pm 0,043$	$0,790 \pm 0,118$	$0,821 \pm 0,109$	$1,001 \pm 0,004$	
Zn	$9,929 \pm 0,740$	$16,33 \pm 2,33$	$21,62 \pm 2,40$	$25,40 \pm 1,57$	
As	$0,673 \pm 0,044$	$0,798 \pm 0,066$	$0,926 \pm 0,136$	$1,051 \pm 0,134$	
Rb	$0,143 \pm 0,022$	$0,331 \pm 0,018$	$0,454 \pm 0,025$	$0,566 \pm 0,032$	
Sr	$0,770 \pm 0,083$	$1,567 \pm 0,152$	$2,289 \pm 0,188$	$3,200 \pm 0,229$	
Y		$0,136 \pm 0,008$	$0,165 \pm 0,004$	$0,196 \pm 0,011$	
Ba	$16,72\pm2,08$	$28,94 \pm 2,40$	$37,71 \pm 6,30$	$42,77\pm6,24$	
W	$0,250 \pm 0,037$	$0,351 \pm 0,041$	$0,432 \pm 0,078$	$0,487 \pm 0,022$	
Hg	$0,178 \pm 0,025$	$0,217 \pm 0,033$	$0,235 \pm 0,040$	$0,276 \pm 0,055$	
Tl	$0,140 \pm 0,018$	$0,177 \pm 0,033$	$0,202 \pm 0,032$	$0,244 \pm 0,026$	
Pb			$0,499 \pm 0,101$	$0,549 \pm 0,063$	
Bi					
Th	$0,\overline{067\pm\ 0,014}$	$0,\overline{146\pm\ 0,017}$	$0,\overline{222\pm 0,040}$	$0,\overline{260\pm 0,013}$	
U					

Tabelle VII: Relative Elementgehalte in Oder-Biofilmen vom Probennahmepunkt Brzeg Dolny mit der absoluten Schwefelmenge als Bezugsparameter. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95 und n = 6 dar).

Element	it Masse(Element)/Masse(Schwefel) [mg/g]			
	2 Wochen	7 Wochen	12 Wochen	17 Wochen
Al	7816 ± 680	11317 ± 1949	13136 ± 2604	14336 ± 1052
Si	40348 ± 5259	49796 ± 5415	55942 ± 9152	58341 ± 7258
K	1939 ± 356	2795 ± 358	3341 ± 542	3612 ± 395
Ca	2807 ± 586	4599 ± 571	5651 ± 978	6375 ± 769
Ti	$434,5\pm76,3$	$653,5\pm 85,4$	$768,6\pm 148,2$	$908,0\pm77,9$
V	$15,35 \pm 2,50$	$25,51 \pm 2,88$	$29,83 \pm 5,22$	$34,18\pm 2,44$
Cr	9,466± 1,669	$18,99 \pm 2,20$	$26,15 \pm 2,35$	$31,60 \pm 3,73$
Mn	5371 ± 886	6731 ± 1161	7508 ± 1301	8022 ± 1100
Fe	9754 ± 627	11771 ± 1348	14898 ± 2344	15632 ± 1727
Co	$12,51 \pm 1,74$	$17,81 \pm 2,55$	$18,93 \pm 1,32$	$20,\!47 \pm 2,\!04$
Ni	$17,67 \pm 1,03$	$25,31 \pm 3,20$	$30,14 \pm 4,62$	$32,89\pm 5,90$
Cu	$24,92 \pm 4,36$	$35,43 \pm 6,96$	$41,76\pm7,85$	$45,87 \pm 9,23$
Zn	$275,1\pm 9,4$	$368,1\pm 49,8$	$425,6\pm 80,0$	$451,3\pm 63,6$
As	$15,84 \pm 1,28$	$20,26 \pm 2,10$	$22,86 \pm 4,13$	$24,73 \pm 2,85$
Rb	$15,76 \pm 1,73$	$22,86 \pm 2,89$	$26,56 \pm 3,83$	$29,36 \pm 3,89$
Sr	$53,47 \pm 10,03$	$72,35 \pm 10,54$	84,33± 17,04	$93,47\pm5,57$
Y	$4,520 \pm 0,667$	$7,436 \pm 0,996$	$8,701 \pm 1,857$	$9,819 \pm 1,680$
Ba	$229,1\pm 23,7$	$309,5\pm 23,4$	$337,8\pm 40,8$	$367,4\pm 61,0$
W	$5,711 \pm 0,978$	$7,073 \pm 1,068$	$7,822 \pm 0,836$	$8,637 \pm 1,529$
Hg				
Tl		$1,723 \pm 0,325$	$2,268 \pm 0,321$	$2,676 \pm 0,253$
Pb	$28,05 \pm 2,88$	$40,16\pm5,41$	$47,34 \pm 9,92$	$51,83 \pm 6,63$
Bi	$0,641 \pm 0,044$	$1,064 \pm 0,181$	$1,328 \pm 0,197$	$1,519 \pm 0,271$
Th	$3,562 \pm 0,347$	$5,390 \pm 0,612$	$6,275 \pm 1,074$	$7,062 \pm 1,183$
U		$2,003 \pm 0,135$	$2,634 \pm 0,386$	$3,226 \pm 0,210$

Tabelle VIII: Relative Elementgehalte in Oder-Biofilmen vom Probennahmepunkt Brzeg Dolny mit der absoluten Phosphormenge als Bezugsparameter. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95 und n = 6 dar).

Element	Masse(Element)/Masse(Phosphor) [mg/g]			
	2 Wochen	7 Wochen	12 Wochen	17 Wochen
Al	8572 ± 1546	11346 ± 2163	12844 ± 2193	14378 ± 1381
Si	42684 ± 5535	48463 ± 6233	56880 ± 8036	58666 ± 9441
K	2020 ± 322	2827 ± 528	3233 ± 508	3619 ± 426
Ca	2830 ± 561	4579 ± 573	5370 ± 345	6183 ± 883
Ti	$451,3\pm 87,2$	$648,3 \pm 117,0$	782,6± 118,9	911,5± 112,6
V	$15,84 \pm 2,12$	$25,73 \pm 4,06$	$31,79 \pm 2,79$	$34,22 \pm 2,39$
Cr	$8,960 \pm 1,542$	$18,76 \pm 2,39$	$27,28 \pm 1,69$	$31,58 \pm 2,91$
Mn	5703 ± 491	6701 ± 1142	7509 ± 1151	8241 ± 503
Fe	9508 ± 740	11863 ± 1835	14538 ± 1636	15593 ± 763
Со	$11,28 \pm 1,30$	$18,12\pm 2,56$	$18,35 \pm 1,97$	$20,19 \pm 2,06$
Ni	$17,92 \pm 2,62$	$26,22 \pm 3,85$	$30,77\pm5,12$	$32,90 \pm 4,58$
Cu	$24,21 \pm 3,26$	$36,49 \pm 6,18$	$37,27 \pm 6,04$	$45,44 \pm 6,58$
Zn	$268,1\pm 11,1$	$367,6\pm 58,4$	$398,9\pm 22,9$	$449,7\pm 38,9$
As	$15,95 \pm 1,00$	$20,22 \pm 2,64$	$21,77 \pm 2,60$	$24,65 \pm 1,23$
Rb	$15,63 \pm 1,85$	$23,10\pm 4,32$	$30,21\pm 5,13$	$29,36 \pm 3,42$
Sr	$51,82 \pm 7,67$	$72,70 \pm 11,26$	$79,96 \pm 9,89$	$90,55 \pm 6,43$
Y	$4,396 \pm 0,604$	$7,461 \pm 0,965$	$8,325 \pm 2,050$	9,601± 1,689
Ba	$231,3 \pm 27,7$	$309,2\pm 37,7$	$374,5\pm54,0$	$366,1\pm 45,6$
W	$5,567 \pm 1,008$	$7,095 \pm 1,014$	8,737± 1,752	8,612± 1,234
Hg				
T1		$1,684 \pm 0,377$	$2,158 \pm 0,377$	$2,717 \pm 0,160$
Pb	$27,11 \pm 4,14$	$40,09 \pm 6,32$	$47,79 \pm 6,65$	$50,53\pm5,65$
Bi	$0,594 \pm 0,081$	$1,071 \pm 0,254$	$1,313 \pm 0,249$	$1,587 \pm 0,235$
Th	$3,586 \pm 0,429$	$5,404 \pm 0,475$	$6,351 \pm 0,789$	$7,118 \pm 1,240$
U		$1,958 \pm 0,072$	$2,520 \pm 0,421$	$3,429 \pm 0,075$

Tabelle IX: Relative Elementgehalte in Oder-Biofilmen vom Probennahmepunkt Brzeg Dolny mit der absoluten Kohlenhydratmenge als Bezugsparameter. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95 und n = 6 dar).

Element	it Masse(Element)/Masse(Kohlenhydrate) [mg/g]			
	2 Wochen	7 Wochen	12 Wochen	17 Wochen
Al	$223,8\pm 29,3$	$298,2\pm55,5$	$386,3\pm 66,7$	$407,0\pm 52,1$
Si	1172 ± 146	1375 ± 255	1644 ± 199	1661 ± 306
K	$54,73 \pm 8,44$	$76,07 \pm 13,69$	$98,50 \pm 15,18$	$102,5\pm 15,4$
Ca	$74,73 \pm 15,73$	$129,1\pm 21,8$	$160,6\pm 17,1$	$171,5\pm 22,6$
Ti	12,11± 1,44	$18,20\pm 3,62$	$23,72 \pm 4,43$	$25,84 \pm 4,34$
V	$0,432 \pm 0,080$	$0,813 \pm 0,133$	$0,862 \pm 0,181$	$0,968 \pm 0,103$
Cr	$0,353 \pm 0,086$	$0,572 \pm 0,110$	$0,795 \pm 0,128$	$0,893 \pm 0,107$
Mn	$145,2\pm 21,5$	$182,1\pm 28,9$	222,1± 43,8	$238,6\pm\ 20,0$
Fe	$275,1\pm 38,8$	$347,3\pm 58,4$	$421,2\pm 80,4$	$440,3\pm 26,1$
Co	$0,339 \pm 0,051$	$0,440 \pm 0,083$	$0,556 \pm 0,070$	$0,568 \pm 0,047$
Ni	$0,496 \pm 0,058$	$0,656 \pm 0,059$	$0,827 \pm 0,109$	$0,935 \pm 0,164$
Cu	$0,670 \pm 0,125$	$0,989 \pm 0,218$	$1,190 \pm 0,210$	$1,277 \pm 0,140$
Zn	$7,766 \pm 1,091$	9,911± 1,468	$12,25 \pm 1,69$	$12,71 \pm 1,29$
As	$0,446 \pm 0,072$	$0,547 \pm 0,079$	$0,663 \pm 0,119$	$0,696 \pm 0,039$
Rb	$0,444 \pm 0,066$	$0,679 \pm 0,148$	$0,767 \pm 0,196$	$0,830 \pm 0,112$
Sr	$1,619 \pm 0,289$	$2,124 \pm 0,339$	$2,318 \pm 0,389$	$2,513 \pm 0,178$
Y	$0,136 \pm 0,025$	$0,221 \pm 0,048$	$0,230 \pm 0,031$	$0,245 \pm 0,039$
Ba	$6,440 \pm 1,021$	8,661± 1,387	$10,32 \pm 1,74$	$10,32 \pm 1,20$
W	$0,157 \pm 0,032$	$0,209 \pm 0,042$	$0,226 \pm 0,044$	$0,244 \pm 0,042$
Hg				
T1		$0,047 \pm 0,008$	$0,066 \pm 0,005$	$0,077 \pm 0,011$
Pb	$0,803 \pm 0,141$	$1,115 \pm 0,170$	$1,449 \pm 0,217$	$1,408 \pm 0,145$
Bi	$0,020 \pm 0,004$	$0,032 \pm 0,003$	$0,037 \pm 0,009$	$0,045 \pm 0,007$
Th	$0,\overline{101 \pm 0,017}$	$0,\overline{161 \pm 0,038}$	$0,\overline{189\pm\ 0,044}$	$0,\overline{200\pm 0,039}$
U		$0,056 \pm 0,002$	$0,080 \pm 0,018$	$0,098 \pm 0,010$

Tabelle X: Relative Elementgehalte in Oder-Biofilmen vom Probennahmepunkt Frankfurt/Oder I mit der absoluten Schwefelmenge als Bezugsparameter. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95und n = 6 dar).

Element	t Masse(Element)/Masse(Schwefel) [mg/g]			
	2 Wochen	7 Wochen	12 Wochen	17 Wochen
Al	10293 ± 1512	10715 ± 888	10967 ± 1350	11537 ± 1856
Si	42200 ± 6782	48974 ± 4276	51089 ± 4527	54268 ± 9987
K	2210 ± 370	2960 ± 374	3130 ± 439	3250 ± 403
Ca	4010 ± 560	$7847 \pm\ 800$	10475 ± 1650	13052 ± 1481
Ti	$488,4\pm75,2$	738,1± 123,5	$818,3\pm 145,0$	863,0± 132,9
V	$19,91 \pm 3,39$	$24,56 \pm 3,14$	$29,01\pm5,27$	$31,33 \pm 4,57$
Cr	$18,61 \pm 1,57$	$23,78 \pm 2,62$	$29,33 \pm 1,23$	$29,46 \pm 3,07$
Mn	2857 ± 569	4228 ± 545	5039 ± 519	5515 ± 880
Fe	10103 ± 1691	14420 ± 1663	17885 ± 2271	20407 ± 2116
Со	$7,984 \pm 0,806$	$8,957 \pm 0,593$	$10,88 \pm 2,03$	$11,33 \pm 1,57$
Ni	$17,06 \pm 2,82$	$23,18 \pm 2,53$	$29,42 \pm 3,74$	$34,07 \pm 1,71$
Cu	$25,17 \pm 3,46$	$33,05\pm 5,26$	$42,\!48 \pm 6,\!68$	$48,13 \pm 4,25$
Zn	$367,8\pm 34,9$	$486,3\pm 38,7$	$517,9\pm 59,6$	$572,2\pm 39,8$
As	$20,14 \pm 2,62$	$26,48 \pm 2,82$	$30,39 \pm 3,08$	$32,95 \pm 3,23$
Rb	$15,11\pm 2,78$	$25,13 \pm 3,92$	$28,56 \pm 3,59$	$30,63 \pm 3,73$
Sr	$44,84 \pm 5,40$	71,66± 11,25	$83,09 \pm 13,87$	87,08± 13,01
Y	$3,801 \pm 0,159$	$6,625 \pm 1,273$	$8,419 \pm 0,873$	$9,934 \pm 1,597$
Ba	$197,1\pm 35,4$	$274,4\pm 40,5$	$313,9\pm 29,9$	$359,9 \pm 45,4$
W	$4,761 \pm 0,670$	$5,827 \pm 0,978$	$7,255 \pm 1,227$	8,181± 1,274
Hg				
T1	$0,600 \pm 0,042$	$1,314 \pm 0,133$	$1,790 \pm 0,139$	$2,216 \pm 0,200$
Pb	$25,73 \pm 3,14$	$41,61 \pm 6,43$	$57,59 \pm 12,08$	$63,62 \pm 8,06$
Bi	$0,\overline{435 \pm 0,030}$	$0,832 \pm 0,147$	$1,045 \pm 0,171$	$1,214 \pm 0,151$
Th	$3,853 \pm 0,655$	$4,928 \pm 0,309$	$5,451 \pm 0,546$	$5,747 \pm 0,636$
U	$0,891 \pm 0,110$	$1,458 \pm 0,255$	$1,872 \pm 0,103$	$2,167 \pm 0,352$

Tabelle XI: Relative Elementgehalte in Oder-Biofilmen vom Probennahmepunkt Frankfurt/Oder I mit der absoluten Phosphormenge als Bezugsparameter. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95und n = 6 dar).

Element	t Masse(Element)/Masse(Phosphor) [mg/g]			
	2 Wochen	7 Wochen	12 Wochen	17 Wochen
Al	10357 ± 1524	10728 ± 1145	10916 ± 1303	11394 ± 2191
Si	42275 ± 4512	48722 ± 3993	50969 ± 5838	55254 ± 9155
K	2227 ± 392	2962 ± 422	3114 ± 393	3149 ± 613
Ca	3940 ± 715	7951 ± 967	10442 ± 1568	12907 ± 1567
Ti	$493,8\pm 96,5$	$740,0\pm 142,5$	816,7± 159,6	852,4± 162,6
V	$20,23 \pm 4,18$	$24,57 \pm 3,49$	$28,89 \pm 5,15$	$31,50\pm5,01$
Cr	$19,01 \pm 3,47$	$23,96 \pm 3,30$	$31,15\pm 2,05$	$28,99 \pm 3,35$
Mn	2856 ± 409	4295 ± 438	5165 ± 276	5436 ± 963
Fe	9830 ± 907	14441 ± 2006	17808 ± 2161	20454 ± 1527
Со	$8,055 \pm 1,036$	$8,850 \pm 0,887$	$10,70 \pm 1,18$	$11,92 \pm 2,16$
Ni	$16,60 \pm 1,18$	$23,23 \pm 3,21$	$29,28 \pm 3,52$	$34,42 \pm 4,49$
Cu	$25,43 \pm 4,57$	$33,04\pm5,33$	$44,69 \pm 5,36$	$48,30\pm 3,72$
Zn	$365,7\pm 60,5$	$486,5\pm 47,5$	$512,3\pm 35,5$	574,5± 34,1
As	$20,00\pm 3,77$	$26,99 \pm 3,40$	$30,23 \pm 2,42$	$33,07 \pm 2,89$
Rb	$14,73 \pm 1,92$	$25,14 \pm 4,20$	$28,51 \pm 4,27$	$30,82 \pm 4,40$
Sr	$43,84 \pm 4,17$	$71,28 \pm 10,32$	$83,52 \pm 13,77$	87,50± 13,94
Y	$4,265 \pm 0,709$	$6,561 \pm 1,102$	$8,479 \pm 1,133$	$9,983 \pm 1,696$
Ba	191,6± 16,9	$274,6\pm 44,6$	$315,1\pm 25,0$	$365,8\pm70,9$
W	$4,818 \pm 0,911$	$5,775 \pm 0,873$	$7,124 \pm 1,375$	8,232± 1,428
Hg				
T1	$0,565 \pm 0,082$	$1,309 \pm 0,180$	$1,604 \pm 0,013$	$2,069 \pm 0,146$
Pb	$25,09 \pm 0,85$	$41,62 \pm 6,77$	57,44± 9,31	$62,51\pm7,40$
Bi	$0,424 \pm 0,026$	$0,822 \pm 0,133$	$1,023 \pm 0,067$	$1,303 \pm 0,246$
Th	$3,869 \pm 0,567$	$4,934 \pm 0,439$	$5,411 \pm 0,209$	$5,675 \pm 0,857$
U	$0,924 \pm 0,044$	$1,503 \pm 0,276$	$1,966 \pm 0,209$	$2,142 \pm 0,413$

Tabelle XII: Relative Elementgehalte in Oder-Biofilmen vom Probennahmepunkt Frankfurt/Oder I mit der absoluten Kohlenhydratmenge als Bezugsparameter. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0.95 und n = 6 dar).

Element	t Masse(Element)/Masse(Kohlenhydrate) [mg/g]			
	2 Wochen	7 Wochen	12 Wochen	17 Wochen
Al	$275,2\pm 47,2$	$299,4\pm 38,5$	$309,4\pm 44,4$	$309,1\pm 33,3$
Si	1251 ± 183	1446 ± 133	1440 ± 155	1421 ± 121
K	$58,86 \pm 9,39$	82,12± 7,49	$88,38 \pm 14,40$	$92,44 \pm 12,89$
Ca	119,6± 17,3	$233,2\pm7,6$	$307,5\pm 36,3$	$349,7\pm 18,0$
Ti	$12,98 \pm 1,59$	$20,62 \pm 4,07$	$23,11 \pm 4,57$	$23,66 \pm 3,94$
V	$0,481 \pm 0,044$	$0,685 \pm 0,106$	$0,817 \pm 0,151$	$0,894 \pm 0,154$
Cr	$0,454 \pm 0,081$	$0,660 \pm 0,101$	$0,855 \pm 0,183$	$0,866 \pm 0,047$
Mn	$76,15 \pm 13,92$	$122,4\pm 24,4$	$134,4\pm 11,1$	$146,1\pm 1,0$
Fe	$288,4\pm51,2$	$402,4\pm$ 58,3	$504,5\pm\ 73,4$	$585,1\pm 63,4$
Co	$0,240 \pm 0,029$	$0,254 \pm 0,033$	$0,304 \pm 0,045$	$0,316 \pm 0,060$
Ni	$0,485 \pm 0,060$	$0,651 \pm 0,120$	$0,832 \pm 0,133$	$0,962 \pm 0,062$
Cu	$0,671 \pm 0,092$	$0,916 \pm 0,115$	$1,213 \pm 0,165$	$1,376 \pm 0,134$
Zn	$7,803 \pm 0,784$	$13,59 \pm 1,79$	$14,52 \pm 1,17$	$16,42 \pm 0,93$
As	$0,495 \pm 0,081$	$0,763 \pm 0,114$	$0,862 \pm 0,142$	$0,949 \pm 0,089$
Rb	$0,439 \pm 0,019$	$0,698 \pm 0,103$	$0,805 \pm 0,113$	$0,881 \pm 0,123$
Sr	$1,376 \pm 0,107$	$1,877 \pm 0,255$	$2,315 \pm 0,140$	$2,527 \pm 0,418$
Y	$0,128 \pm 0,008$	$0,180 \pm 0,025$	$0,238 \pm 0,040$	$0,290 \pm 0,049$
Ba	$5,844 \pm 0,360$	$7,607 \pm 0,867$	8,894± 1,574	$10,10\pm 1,57$
W	$0,128 \pm 0,025$	$0,159 \pm 0,023$	$0,188 \pm 0,025$	$0,239 \pm 0,037$
Hg				
T1	$0,020 \pm 0,002$	$0,040 \pm 0,008$	$0,049 \pm 0,001$	$0,063 \pm 0,003$
Pb	$0,\overline{762 \pm 0,053}$	$1,\overline{157\pm 0,178}$	$1,\overline{606\pm 0,268}$	$1,\overline{878\pm 0,167}$
Bi	$0,012 \pm 0,001$	$0,023 \pm 0,003$	$0,029 \pm 0,006$	$0,035 \pm 0,004$
Th	$0,\overline{103\pm 0,019}$	$0,\overline{139\pm\ 0,025}$	$0,\overline{154\pm 0,023}$	$0,\overline{158\pm 0,015}$
U	$0,030 \pm 0,004$	$0,041 \pm 0,005$	$0,055 \pm 0,005$	$0,\overline{061 \pm 0,011}$

Tabelle XIII: Relative Elementgehalte in Oder-Biofilmen vom Probennahmepunkt Frankfurt/Oder II nach einer Wachstumsdauer von sieben Wochen. Als Bezugsparameter wurden die absoluten Schwefel-, Phosphor- bzw. Kohlenhydratmengen der Biofilme verwendet. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95 und n = 6 dar).

Element	m [*] (Element)/m [*] (S)	m [*] (Element)/m [*] (P)	m [*] (Element)/m [*] (KH ^{**})
	[mg/g]	[mg/g]	[mg/g]
Al	10889 ± 1953	10820 ± 2413	$312,1\pm 59,0$
Si	48811 ± 6840	48247 ± 7046	1417 ± 341
K	2911 ± 509	2893 ± 630	84,9± 10,5
Ca	11089 ± 1249	10976 ± 1075	327,4± 57,9
Ti	754,5± 165,8	762,0± 197,1	$20,99 \pm 4,13$
V	$29,02 \pm 4,27$	$28,75 \pm 4,76$	$0,827 \pm 0,133$
Cr	$30,11\pm 4,85$	$30,01 \pm 6,97$	$0,866 \pm 0,106$
Mn	3299 ± 482	3312 ± 509	92,2± 15,1
Fe	17107 ± 2123	17227 ± 2833	477,7± 60,4
Со	$9,363 \pm 0,860$	9,424± 1,030	$0,267 \pm 0,060$
Ni	$27,24 \pm 2,74$	$27,38 \pm 3,50$	$0,759 \pm 0,066$
Cu	$45,85 \pm 8,26$	46,16± 9,56	$1,283 \pm 0,250$
Zn	451,2± 44,7	$453,8\pm 60,8$	$12,62 \pm 1,56$
As	$26,76\pm 3,31$	26,94± 4,32	$0,746 \pm 0,090$
Rb	$32,58 \pm 6,79$	$32,89 \pm 8,13$	$0,903 \pm 0,145$
Sr	84,14± 13,79	83,31± 15,07	$2,418 \pm 0,454$
Y	9,277± 1,732	9,495± 2,001	$0,249 \pm 0,061$
Ba	$345,4\pm 58,9$	$348,9\pm$ 76,4	$9,579 \pm 1,071$
W	$6,526 \pm 1,152$	6,643± 1,376	$0,177 \pm 0,015$
Hg			
T1			
Pb	$56,98\pm 5,34$	57,32± 7,61	$1,593 \pm 0,188$
Bi	$1,007 \pm 0,114$	$0,997 \pm 0,130$	$0,029 \pm 0,004$
Th	$4,856 \pm 0,980$	$\overline{4,957\pm 1,199}$	$0,128 \pm 0,020$
U	$2,359 \pm 0,430$	$2,386 \pm 0,556$	$0,065 \pm 0,012$

*m: Masse

**KH: Kohlenhydrate

Tabelle XIV: Relative Elementgehalte in Oder-Biofilmen vom Probennahmepunkt Schwedt mit der absoluten Schwefelmenge als Bezugsparameter. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95 und n = 6 dar).

Element	Masse(Element)/Masse(Schwefel) [mg/g]				
	2 Wochen	7 Wochen			
Al	9822 ± 1517	12952 ± 762			
Si	43896 ± 6603	58190 ± 2740			
K	2029 ± 204	2959 ± 314			
Ca	14920 ± 2093	17090 ± 2363			
Ti	$547,9\pm50,7$	863,2± 106,3			
V	$17,79 \pm 2,40$	$27,29 \pm 4,73$			
Cr	$19,79 \pm 3,66$	$31,78\pm 5,25$			
Mn	2565 ± 217	3045 ± 554			
Fe	9040 ± 1044	13781 ± 2475			
Со	$4,712 \pm 1,047$	$6,974 \pm 1,118$			
Ni	$15,24 \pm 1,52$	$20,13 \pm 3,50$			
Cu	$17,41 \pm 2,54$	$20,86 \pm 3,71$			
Zn	$230,5\pm 35,2$	$325,8\pm 64,6$			
As	9,471± 1,376	$13,26 \pm 2,43$			
Rb	$17,99 \pm 2,15$	$27,83 \pm 5,74$			
Sr	$59,38 \pm 8,86$	$66,22 \pm 9,34$			
Y	$5,547 \pm 1,135$	$9,278 \pm 1,416$			
Ba	$159,7\pm 28,6$	$247,5\pm 44,7$			
W	$3,458 \pm 0,557$	$6,646 \pm 0,802$			
Hg					
T1					
Pb	$27,03 \pm 4,00$	$40,28 \pm 8,14$			
Bi	$0,562 \pm 0,064$	$0,894 \pm 0,149$			
Th	$2,726 \pm 0,320$	$4,107 \pm 0,708$			
U	$1,220 \pm 0,207$	$1,988 \pm 0,260$			

Tabelle XV: Relative Elementgehalte in Oder-Biofilmen vom Probennahmepunkt Schwedt mit der absoluten Phosphormenge als Bezugsparameter. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95 und n = 6 dar).

Element	Masse(Element)/Masse(Phosphor)			
	2 Wochen	7 Wochen		
Al	9633± 1173	12911 ± 1458		
Si	43067 ± 5261	58216± 8415		
K	1991 ± 114	2945 ± 373		
Ca	15120 ± 3423	17476 ± 2840		
Ti	$540,0\pm 64,7$	$858,3 \pm 111,5$		
V	$17,76 \pm 2,06$	$27,08 \pm 4,33$		
Cr	$19,74 \pm 3,32$	$31,40 \pm 4,89$		
Mn	2525 ± 250	3002 ± 347		
Fe	9030 ± 883	13640 ± 1962		
Co	$4,758 \pm 0,770$	$7,056 \pm 0,497$		
Ni	$15,23 \pm 1,34$	$19,90 \pm 2,48$		
Cu	$17,38 \pm 2,26$	$21,23 \pm 3,09$		
Zn	$231,1\pm 40,7$	$321,6\pm 46,1$		
As	$9,462 \pm 1,238$	$13,09 \pm 1,75$		
Rb	$17,68 \pm 1,95$	$27,53 \pm 4,68$		
Sr	$59,40 \pm 12,02$	$67,61 \pm 10,39$		
Y	$5,431 \pm 0,815$	9,283± 1,493		
Ba	$159,8\pm 31,8$	$245,0\pm 37,3$		
W	$3,419 \pm 0,693$	$6,606 \pm 0,847$		
Hg				
T1				
Pb	$26,58 \pm 3,82$	$39,82 \pm 6,27$		
Bi	$0,560 \pm 0,0\overline{93}$	$0,908 \pm 0,128$		
Th	$2,741 \pm 0,442$	$4,071 \pm 0,577$		
U	$1,306 \pm 0,369$	$2,158 \pm 0,044$		

Tabelle XVI: Relative Elementgehalte in Oder-Biofilmen vom Probennahmepunkt Schwedt mit der absoluten Kohlenhydratmenge als Bezugsparameter. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95 und n = 6 dar).

Element	Masse(Element)/Masse(Kohlenhydr.) [mg/g]				
	2 Wochen	7 Wochen			
Al	$274,6\pm 49,1$	$361,9\pm 58,3$			
Si	1229 ± 229	1625 ± 237			
K	$56,53 \pm 5,88$	$82,12\pm 10,48$			
Ca	428,4± 34,4	$502,4\pm 45,0$			
Ti	$15,23 \pm 0,81$	$23,89 \pm 2,66$			
V	$0,501 \pm 0,026$	$0,752 \pm 0,088$			
Cr	$0,571 \pm 0,048$	$0,897 \pm 0,099$			
Mn	$71,71 \pm 9,44$	$77,94 \pm 11,57$			
Fe	$253,7\pm 11,5$	$379,9\pm 50,6$			
Co	$0,117 \pm 0,016$	$0,208 \pm 0,048$			
Ni	$0,426 \pm 0,018$	$0,556 \pm 0,083$			
Cu	$0,477 \pm 0,041$	$0,599 \pm 0,135$			
Zn	$6,155 \pm 0,365$	$8,979 \pm 1,383$			
As	$0,262 \pm 0,022$	$0,367 \pm 0,065$			
Rb	$0,499 \pm 0,025$	$0,765 \pm 0,109$			
Sr	$1,658 \pm 0,213$	$1,952 \pm 0,241$			
Y	$0,148 \pm 0,025$	$0,254 \pm 0,022$			
Ba	$4,682 \pm 0,516$	$6,799 \pm 0,656$			
W	$0,097 \pm 0,017$	$0,185 \pm 0,027$			
Hg					
Tl					
Pb	$0,748 \pm 0,048$	$1,108 \pm 0,159$			
Bi	$0,015 \pm 0,002$	$0,025 \pm 0,004$			
Th	$0,076 \pm 0,010$	$0,113 \pm 0,015$			
U	$0,037 \pm 0,003$	$0,056 \pm 0,006$			

Tabelle XVII: Relative Elementgehalte in Elbe-Biofilmen vom Probennahmepunkt Klein Lüben mit der absoluten Schwefelmenge als Bezugsparameter. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95 und n = 6 dar).

Element	t Masse(Element)/Masse(Schwefel) [mg/g]			
	2 Wochen	7 Wochen	12 Wochen	17 Wochen
Al	7271 ± 560	9110 ± 1039	10424 ± 1035	11336 ± 539
Si	27294 ± 4313	36369 ± 4654	40729 ± 6533	43861 ± 3088
K	1752 ± 179	2666 ± 326	3169 ± 442	3602 ± 518
Ca	6563 ± 1091	7484 ± 1032	7639 ± 1490	8054 ± 1547
Ti	$430,6\pm 68,1$	$739,1\pm 128,2$	931,4± 134,5	1066 ± 176
V	$13,30 \pm 1,92$	$24,62 \pm 3,62$	$32,83\pm 5,10$	$39,38 \pm 6,38$
Cr	$15,61 \pm 2,82$	$25,96 \pm 3,76$	$36,65 \pm 7,45$	$45,27 \pm 4,53$
Mn	3896 ± 713	5212 ± 811	6391 ± 498	6936 ± 759
Fe	6535 ± 903	9761 ± 1165	12672 ± 1965	14630 ± 1455
Со	$4,798 \pm 0,537$	$6,669 \pm 1,259$	$8,609 \pm 1,032$	$9,268 \pm 0,119$
Ni	$11,25 \pm 1,12$	$16,85 \pm 2,48$	$22,54 \pm 3,66$	$26,72 \pm 2,63$
Cu	$18,21 \pm 2,11$	$31,04 \pm 2,86$	$39,36\pm 5,92$	$45,51 \pm 6,99$
Zn	$254,2\pm 33,4$	$417,6\pm 62,4$	$511,6\pm 85,8$	$577,1\pm 93,5$
As	$7,969 \pm 1,085$	$12,21 \pm 1,84$	$14,07 \pm 1,83$	$16,55 \pm 2,03$
Rb	$13,97 \pm 1,92$	$25,79 \pm 4,58$	$34,13\pm5,59$	$41,36\pm 5,78$
Sr	$39,17 \pm 6,66$	$58,28 \pm 6,83$	$69,58 \pm 8,02$	$77,73 \pm 11,86$
Y	$3,189 \pm 0,429$	$6,449 \pm 0,968$	$8,649 \pm 1,435$	$10,53 \pm 1,13$
Ba	$130,2\pm 23,3$	$175,4\pm 21,2$	$188,2\pm 25,1$	$207,9\pm 35,7$
W	$4,634 \pm 0,496$	$6,781 \pm 1,109$	$7,639 \pm 0,371$	8,513± 1,464
Hg	$1,275 \pm 0,174$	$2,001 \pm 0,266$	$2,331 \pm 0,441$	$2,631 \pm 0,233$
T1	$1,267 \pm 0,044$	$2,351 \pm 0,280$	$2,965 \pm 0,440$	$3,549 \pm 0,301$
Pb	$25,12\pm 3,28$	$37,11\pm 5,17$	$47,34\pm7,07$	$54,77\pm7,99$
Bi	$0,397 \pm 0,043$	$0,868 \pm 0,113$	$1,130 \pm 0,147$	$1,471 \pm 0,238$
Th	$2,\overline{635\pm 0,494}$	$3,641 \pm 0,499$	$4,341 \pm 0,347$	$4,510 \pm 0,872$
U	$0,944 \pm 0,141$	$1,418 \pm 0,099$	$1,880 \pm 0,277$	$2,214 \pm 0,295$

Tabelle XVIII: Relative Elementgehalte in Elbe-Biofilmen vom Probennahmepunkt Klein Lüben mit der absoluten Phosphormenge als Bezugsparameter. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95 und n = 6 dar).

Element	Masse(Element)/Masse(Phosphor) [mg/g]			
	2 Wochen	7 Wochen	12 Wochen	17 Wochen
Al	7555 ± 746	9428 ± 809	10121 ± 834	11200 ± 849
Si	28223 ± 3972	37744 ± 5174	39521 ± 6124	43355 ± 4274
K	1820 ± 215	2764 ± 341	3073 ± 391	3568 ± 458
Ca	6840 ± 1170	7764 ± 1081	7489 ± 1336	8055 ± 1411
Ti	$440,9\pm75,7$	768,8± 146,5	$902,2\pm 113,7$	$1055,1\pm 151,8$
V	$13,73 \pm 2,52$	25,71± 3,85	$31,81 \pm 4,48$	$39,33\pm 5,51$
Cr	$16,26 \pm 2,39$	$27,18 \pm 3,30$	$35,55 \pm 6,35$	$45,\!43 \pm 4,\!46$
Mn	3948 ± 382	5465 ± 1010	6204 ± 461	6961 ± 775
Fe	6801 ± 1105	10148 ± 1426	12283 ± 1758	14617 ± 1086
Со	$4,923 \pm 0,314$	$7,254 \pm 1,478$	8,446± 1,203	$9,409 \pm 0,153$
Ni	$11,73 \pm 1,75$	$17,47 \pm 2,39$	$21,98 \pm 3,95$	$26,70 \pm 2,00$
Cu	$18,93 \pm 3,11$	$32,25 \pm 3,56$	$38,17\pm 5,29$	$45,46 \pm 6,19$
Zn	$263,8\pm 37,0$	$432,5\pm 58,5$	$498,2\pm 88,4$	577,7± 95,3
As	$8,160 \pm 0,776$	$12,87 \pm 1,67$	$13,67 \pm 1,49$	$16,55 \pm 1,86$
Rb	$14,59 \pm 3,01$	$26,80\pm 5,10$	$32,74\pm5,55$	$41,32\pm 5,00$
Sr	$40,76 \pm 7,71$	$60,57 \pm 8,16$	$68,78 \pm 6,85$	$77,60 \pm 10,03$
Y	$3,314 \pm 0,686$	$6,672 \pm 1,190$	$8,296 \pm 1,474$	$10,54 \pm 1,09$
Ba	$134,9\pm 24,0$	$182,2\pm 23,3$	$184,4\pm 19,6$	$207,4\pm 31,4$
W	$4,746 \pm 0,573$	$7,145 \pm 1,089$	$7,496 \pm 0,772$	8,518± 1,439
Hg	$1,413 \pm 0,266$	$2,081 \pm 0,416$	$2,284 \pm 0,471$	$2,683 \pm 0,218$
T1	$1,144 \pm 0,036$	$2,444 \pm 0,455$	$2,918 \pm 0,325$	$3,619 \pm 0,288$
Pb	$2\overline{6,13\pm 4,05}$	$3\overline{8,44\pm 4,83}$	$4\overline{5,90\pm 5,81}$	$54,80\pm7,96$
Bi	$0,\overline{395 \pm 0,054}$	$0,823 \pm 0,065$	$1,091 \pm 0,135$	$1,473 \pm 0,214$
Th	$2,710 \pm 0,355$	$3,795 \pm 0,636$	$4,241 \pm 0,174$	$4,502 \pm 0,788$
U	$0,970 \pm 0,058$	$1,505 \pm 0,156$	$1,819 \pm 0,278$	$2,203 \pm 0,191$

Tabelle XIX: Relative Elementgehalte in Elbe-Biofilmen vom Probennahmepunkt Klein Lüben mit der absoluten Kohlenhydratmenge als Bezugsparameter. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95 und n = 6 dar).

Element	Masse(Element)/Masse(Kohlenhydrate) [mg/g]			
1	2 Wochen	7 Wochen	12 Wochen	17 Wochen
Al	$205,5\pm 22,3$	$252,4\pm 32,6$	$300,8\pm 64,1$	$307,3\pm 62,7$
Si	769,5± 126,4	1003 ± 102	1219 ± 161	1189 ± 245
K	49,44± 5,61	$73,64 \pm 8,79$	86,90± 11,68	$100,3 \pm 16,4$
Ca	$183,6\pm 34,0$	$206,8\pm 28,1$	$209,9\pm 23,7$	$239,2\pm 35,0$
Ti	$12,04 \pm 1,92$	$20,51 \pm 3,50$	$26,08 \pm 2,97$	$29,42 \pm 3,25$
V	$0,374 \pm 0,062$	$0,680 \pm 0,096$	$0,930 \pm 0,062$	$1,095 \pm 0,159$
Cr	$0,450 \pm 0,075$	$0,809 \pm 0,093$	$1,016 \pm 0,114$	$1,254 \pm 0,147$
Mn	$108,3 \pm 11,8$	$146,1\pm 31,9$	$185,0\pm 36,5$	$193,7\pm 46,2$
Fe	$185,0\pm 31,6$	$270,5\pm 38,6$	$357,9\pm 22,7$	$412,9\pm54,1$
Со	$0,141 \pm 0,016$	$0,194 \pm 0,040$	$0,208 \pm 0,018$	$0,284 \pm 0,023$
Ni	$0,318 \pm 0,045$	$0,468 \pm 0,079$	$0,652 \pm 0,121$	$0,750 \pm 0,106$
Cu	$0,516 \pm 0,087$	$0,860 \pm 0,095$	$1,145 \pm 0,182$	$1,265 \pm 0,237$
Zn	7,172± 1,025	$11,57 \pm 1,85$	14,47± 1,87	$15,79\pm 3,50$
As	$0,224 \pm 0,031$	$0,343 \pm 0,061$	$0,393 \pm 0,034$	$0,459 \pm 0,085$
Rb	$0,396 \pm 0,077$	$0,711 \pm 0,111$	$0,879 \pm 0,085$	$1,151 \pm 0,155$
Sr	$1,111 \pm 0,232$	$1,612 \pm 0,200$	$2,035 \pm 0,126$	$2,159 \pm 0,296$
Y	$0,090 \pm 0,018$	$0,186 \pm 0,039$	$0,243 \pm 0,036$	$0,293 \pm 0,039$
Ba	$3,677 \pm 0,709$	$4,871 \pm 0,742$	$5,203 \pm 0,586$	$5,984 \pm 1,286$
W	$0,131 \pm 0,021$	$0,190 \pm 0,035$	$0,237 \pm 0,038$	$0,233 \pm 0,046$
Hg	$0,038 \pm 0,007$	$0,050 \pm 0,000$	$0,069 \pm 0,014$	$0,083 \pm 0,012$
T1	$0,033 \pm 0,004$	$0,058 \pm 0,002$	$0,092 \pm 0,011$	$0,112 \pm 0,017$
Pb	$0,712 \pm 0,127$	$1,025 \pm 0,129$	$1,319 \pm 0,159$	$1,488 \pm 0,255$
Bi	$0,012 \pm 0,002$	$0,023 \pm 0,002$	$0,027 \pm 0,002$	$0,041 \pm 0,005$
Th	$0,073 \pm 0,010$	$0,102 \pm 0,019$	$0,130 \pm 0,015$	$0,127 \pm 0,028$
U	$0,026 \pm 0,001$	$0,038 \pm 0,006$	$0,051 \pm 0,001$	$0,062 \pm 0,010$

Tabelle XX: Relative Elementgehalte in Elbe-Biofilmen vom Probennahmepunkt Wittenberge mit der absoluten Schwefelmenge als Bezugsparameter. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95 und n = 6 dar).

Element	Masse(Element)/Masse(Schwefel) [mg/g]			
	2 Wochen	7 Wochen	12 Wochen	17 Wochen
Al	6412 ± 460	9977± 761	11867 ± 994	13625 ± 2252
Si	32998 ± 3273	34611 ± 3085	39625 ± 3392	43077 ± 5450
K	1627 ± 44	1934 ± 337	2191 ± 242	2408 ± 365
Ca	5540 ± 176	6902 ± 695	7498 ± 755	8034 ± 1386
Ti	$280,0\pm6,5$	444,6± 105,4	536,1± 79,5	$623,3\pm 115,1$
V	$11,86 \pm 1,58$	$16,84 \pm 2,70$	$22,84 \pm 3,75$	$24,24 \pm 4,07$
Cr		$10,06 \pm 1,20$	$12,21\pm 2,56$	$14,02 \pm 0,44$
Mn	9224 ± 1067	9910± 1649	10533 ± 1892	10625 ± 1508
Fe	7410 ± 443	8752 ± 1469	10169 ± 1410	11080 ± 1928
Со	$11,63 \pm 1,32$	$13,06 \pm 2,44$	$13,49 \pm 2,30$	$13,95 \pm 2,37$
Ni	$12,04 \pm 0,80$	$17,20\pm 2,51$	$20,29 \pm 1,79$	$21,10\pm 3,65$
Cu	$15,63 \pm 0,85$	$20,53 \pm 1,79$	$25,53 \pm 1,10$	$26,97 \pm 2,94$
Zn	$306,7\pm21,1$	$398,1\pm 59,2$	451,6± 57,1	$485,9\pm73,1$
As	$10,09 \pm 1,51$	$14,66 \pm 2,96$	$19,16 \pm 2,46$	$19,90 \pm 3,25$
Rb	$11,54 \pm 0,72$	$15,03 \pm 2,27$	$19,17 \pm 2,00$	$21,23 \pm 2,92$
Sr	$41,46 \pm 2,99$	$50,05 \pm 4,42$	$53,40 \pm 6,76$	$58,27 \pm 10,28$
Y	$3,978 \pm 0,510$	$5,406 \pm 0,685$	$6,585 \pm 1,332$	$6,663 \pm 0,712$
Ba	$173,1\pm 17,7$	$199,7\pm 26,6$	$206,5 \pm 19,4$	$214,7\pm 23,6$
W	$3,958 \pm 0,473$	$6,145 \pm 0,734$	$7,178 \pm 0,841$	$8,506 \pm 0,955$
Hg		$1,929 \pm 0,405$	$2,325 \pm 0,392$	$2,702 \pm 0,285$
T1	$2,322 \pm 0,417$	$3,076 \pm 0,467$	$3,471 \pm 0,516$	$3,788 \pm 0,234$
Pb	$19,91 \pm 2,05$	$26,83 \pm 3,79$	$33,02 \pm 4,93$	$35,88 \pm 7,10$
Bi		$0,531 \pm 0,0\overline{61}$	$0,707 \pm 0,075$	$0,865 \pm 0,1\overline{45}$
Th	$3,585 \pm 0,4\overline{99}$	$5,903 \pm 0,9\overline{15}$	$7,188 \pm 1,023$	$8,261 \pm 1,0\overline{61}$
U			$1,245 \pm 0,124$	$1,448 \pm 0,129$

Tabelle XXI: Relative Elementgehalte in Elbe-Biofilmen vom Probennahmepunkt Wittenberge mit der absoluten Phosphormenge als Bezugsparameter. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95 und n = 6 dar).

Element	Masse(Element)/Masse(Phosphor) [mg/g]			
	2 Wochen	7 Wochen	12 Wochen	17 Wochen
Al	6349 ± 674	10149 ± 1449	12038 ± 1007	13778 ± 2203
Si	33265 ± 2577	35142 ± 4849	40216 ± 3717	44369 ± 5825
K	1646 ± 108	1958 ± 371	2228 ± 298	2487 ± 428
Ca	5605 ± 398	6980 ± 745	7617 ± 910	8235 ± 1682
Ti	$276,8 \pm 13,4$	$429,8\pm 66,6$	$530,3\pm 67,0$	$628,3\pm 128,8$
V	$11,94 \pm 1,86$	$16,99 \pm 2,54$	$23,20 \pm 4,09$	$24,68 \pm 5,10$
Cr		$9,679 \pm 0,838$	$12,08 \pm 2,37$	$15,07 \pm 1,91$
Mn	9277 ± 545	9886 ± 876	10644 ± 1666	10401 ± 925
Fe	7475 ± 151	8782 ± 886	10306 ± 1343	11246 ± 2061
Co	$11,79 \pm 1,74$	$13,44 \pm 2,82$	$13,72\pm 2,58$	$13,85 \pm 2,75$
Ni	$11,88 \pm 0,66$	$17,12\pm 2,63$	$20,60 \pm 1,93$	$21,42 \pm 3,36$
Cu	$15,43 \pm 0,60$	$20,72 \pm 2,94$	$25,90 \pm 2,21$	$27,51 \pm 4,45$
Zn	$310,9\pm 38,0$	$404,3\pm74,2$	$457,3\pm 48,8$	$441,3\pm70,0$
As	$10,24 \pm 1,89$	$15,02 \pm 2,37$	$19,42 \pm 2,38$	$19,89 \pm 3,17$
Rb	$11,68 \pm 1,07$	$15,01 \pm 2,81$	$18,96 \pm 1,10$	$21,95 \pm 4,44$
Sr	$41,86 \pm 2,79$	$50,52 \pm 3,08$	$54,18\pm7,12$	$60,21 \pm 12,36$
Y	$4,014 \pm 0,496$	$5,464 \pm 0,714$	$6,655 \pm 1,250$	$6,604 \pm 0,638$
Ba	$174,2\pm 8,0$	$202,6\pm 32,2$	$208,9 \pm 10,5$	$216,6\pm 32,8$
W	$4,153 \pm 0,565$	$6,337 \pm 0,815$	$7,255 \pm 0,900$	8,774± 1,453
Hg		$1,838 \pm 0,011$	$2,388 \pm 0,434$	$2,687 \pm 0,013$
T1	$2,506 \pm 0,635$	$3,278 \pm 0,395$	$3,470 \pm 0,634$	$3,860 \pm 0,570$
Pb	$20,06 \pm 1,47$	$27,31 \pm 4,84$	$33,51\pm 5,13$	$34,85 \pm 6,70$
Bi		$0,574 \pm 0,092$	$0,703 \pm 0,100$	$0,878 \pm 0,200$
Th	$3,386 \pm 0,680$	$5,858 \pm 0,649$	$7,226 \pm 0,674$	$8,620 \pm 1,388$
U			$1,259 \pm 0,141$	$1,541 \pm 0,410$

Tabelle XXII: Relative Elementgehalte in Elbe-Biofilmen vom Probennahmepunkt Wittenberge mit der absoluten Kohlenhydratmenge als Bezugsparameter. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95und n = 6 dar).

Element	Masse(Element)/Masse(Kohlenhydrate) [mg/g]			
	2 Wochen	7 Wochen	12 Wochen	17 Wochen
Al	$181,3\pm 24,6$	$280,0\pm 41,1$	$331,2\pm 33,6$	$376,7\pm 68,4$
Si	930,9± 125,2	966,3± 109,1	1110 ± 155	1229 ± 222
Κ	$45,87 \pm 3,78$	$53,70\pm 8,23$	$60,91 \pm 4,67$	$67,64 \pm 10,92$
Ca	$156,2\pm 14,1$	$191,9\pm 13,3$	$208,8\pm 19,1$	$227,6\pm 47,5$
Ti	$7,891 \pm 0,601$	$12,37 \pm 1,92$	$15,70\pm 2,31$	$17,51 \pm 2,10$
V	$0,333 \pm 0,061$	$0,467 \pm 0,052$	$0,631 \pm 0,045$	$0,671 \pm 0,122$
Cr		$0,285 \pm 0,014$	$0,359 \pm 0,085$	$0,395 \pm 0,019$
Mn	$259,1\pm26,5$	$287,0\pm 35,5$	$296,1\pm66,9$	$310,0\pm 62,8$
Fe	$208,5\pm 15,2$	$242,8\pm 31,2$	$281,9\pm 24,1$	$306,5\pm 54,3$
Co	$0,327 \pm 0,033$	$0,381 \pm 0,069$	$0,385 \pm 0,041$	$0,424 \pm 0,109$
Ni	$0,338 \pm 0,019$	$0,475 \pm 0,086$	$0,565 \pm 0,048$	$0,604 \pm 0,114$
Cu	$0,440 \pm 0,027$	$0,585 \pm 0,057$	$0,706 \pm 0,076$	$0,750 \pm 0,129$
Zn	$8,632 \pm 0,702$	$11,19\pm 2,24$	$12,60 \pm 1,69$	$12,18 \pm 2,74$
As	$0,283 \pm 0,035$	$0,417 \pm 0,088$	$0,534 \pm 0,066$	$0,554 \pm 0,121$
Rb	$0,326 \pm 0,041$	$0,412 \pm 0,048$	$0,561 \pm 0,046$	$0,548 \pm 0,080$
Sr	$1,170 \pm 0,141$	$1,395 \pm 0,116$	$1,481 \pm 0,106$	$1,602 \pm 0,269$
Y	$0,110 \pm 0,016$	$0,151 \pm 0,019$	$0,181 \pm 0,033$	$0,189 \pm 0,030$
Ba	$4,873 \pm 0,552$	$5,609 \pm 1,031$	$5,764 \pm 0,623$	$5,959 \pm 1,114$
W	$0,112 \pm 0,018$	$0,175 \pm 0,026$	$0,210 \pm 0,032$	$0,254 \pm 0,045$
Hg		$0,055 \pm 0,008$	$0,066 \pm 0,016$	$0,082 \pm 0,011$
T1	$0,063 \pm 0,015$	$0,084 \pm 0,001$	$0,096 \pm 0,023$	$0,107 \pm 0,015$
Pb	$0,561 \pm 0,072$	$0,753 \pm 0,125$	$0,918 \pm 0,115$	$0,980 \pm 0,141$
Bi		$0,015 \pm 0,004$	$0,020 \pm 0,002$	$0,024 \pm 0,003$
Th	$0,\overline{098 \pm 0,015}$	$0,\overline{162 \pm 0,028}$	$0,\overline{209\pm 0,032}$	$0,\overline{243 \pm 0,037}$
U			$0,036 \pm 0,004$	$0,043 \pm 0,001$

Tabelle XXIII: Relative Elementgehalte in Elbe-Biofilmen vom Probennahmepunkt Viehle mit der absoluten Schwefelmenge als Bezugsparameter. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95 und n = 6 dar).

Element	Masse(Element)/Masse(Schwefel) [mg/g]			
	2 Wochen	7 Wochen	12 Wochen	17 Wochen
Al	5842 ± 348	8063 ± 988	9022 ± 944	9980± 1304
Si	16624 ± 833	27508 ± 3957	31104 ± 4763	34410 ± 3923
K	977,6± 74,6	1608 ± 211	2028 ± 350	2181 ± 254
Ca	5791 ± 426	10690 ± 1930	12424 ± 1803	16230 ± 2604
Ti	$212,4\pm 18,5$	$385,5\pm 48,9$	$517,7\pm 81,4$	$572,1\pm 93,7$
V	$8,164 \pm 0,962$	$12,22 \pm 1,93$	$16,40\pm 2,50$	$19,29 \pm 2,58$
Cr	$8,465 \pm 1,027$	$13,58 \pm 2,36$	$16,38 \pm 3,38$	$18,80\pm 3,42$
Mn	2311 ± 332	4498 ± 758	5789 ± 890	7276 ± 727
Fe	3944 ± 283	6304 ± 873	7794 ± 1234	8542 ± 1211
Со	8,458± 1,581	$10,64 \pm 1,89$	$11,85 \pm 2,05$	$12,36\pm 2,30$
Ni	$12,22 \pm 1,41$	$15,83 \pm 2,24$	$17,72 \pm 2,49$	$18,52\pm 3,31$
Cu	$13,72 \pm 2,59$	$18,92 \pm 2,24$	$22,46 \pm 2,56$	$24,44 \pm 2,73$
Zn	$200,5\pm 35,5$	$263,9\pm 43,6$	$332,7\pm 29,0$	$380,2\pm 35,2$
As	$8,263 \pm 0,858$	$10,96 \pm 1,81$	$11,36 \pm 1,03$	$14,14\pm 2,07$
Rb	$9,099 \pm 0,895$	$13,41 \pm 2,03$	$16,39 \pm 2,66$	$17,87 \pm 2,97$
Sr	$28,70 \pm 1,70$	$46,67\pm7,18$	$53,14 \pm 4,81$	$65,97 \pm 6,95$
Y	$2,260 \pm 0,305$	$4,089 \pm 0,643$	$5,021 \pm 0,520$	$5,679 \pm 0,750$
Ba	89,45± 16,55	$130,9\pm 17,8$	$144,8\pm 11,0$	$178,2\pm 28,8$
W	$3,625 \pm 0,672$	$4,780 \pm 0,833$	$6,272 \pm 0,457$	$7,253 \pm 0,963$
Hg		$1,397 \pm 0,084$	$1,892 \pm 0,139$	$2,310 \pm 0,226$
T1		$2,127 \pm 0,179$	$2,698 \pm 0,312$	$3,144 \pm 0,340$
Pb	$15,07 \pm 1,56$	$19,26 \pm 3,21$	$24,83 \pm 3,78$	$25,79 \pm 4,16$
Bi		$0,656 \pm 0,092$	$0,824 \pm 0,147$	$0,958 \pm 0,159$
Th	$2,\overline{461 \pm 0,3}\overline{64}$	$3,813 \pm 0,692$	$4,892 \pm 0,597$	$5,704 \pm 0,754$
U		$1,580 \pm 0,183$	$1,795 \pm 0,080$	$1,912 \pm 0,171$
Tabelle XXIV: Relative Elementgehalte in Elbe-Biofilmen vom Probennahmepunkt Viehle mit der absoluten Phosphormenge als Bezugsparameter. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95 und n = 6 dar).

Element	Masse(Element)/Masse(Phosphor) [mg/g]					
	2 Wochen	7 Wochen	12 Wochen	17 Wochen		
Al	5582 ± 308	7952± 1239	8981± 752	9742 ± 975		
Si	16626 ± 1651	27086 ± 4350	30922 ± 4006	33946 ± 3358		
K	975,3± 81,7	1598 ± 167	2019 ± 330	2157 ± 272		
Ca	5783 ± 535	10702 ± 1981	11992 ± 2090	15975 ± 2672		
Ti	213,0± 31,3	$378,6\pm 49,9$	$513,2\pm 80,8$	$566,1\pm 101,1$		
V	8,131± 0,869	$12,08 \pm 2,03$	$16,37\pm 2,71$	$19,09 \pm 2,79$		
Cr	$8,830 \pm 0,791$	$13,39 \pm 1,77$	$16,29 \pm 2,80$	$18,82 \pm 1,36$		
Mn	2206 ± 312	4391 ± 673	5606 ± 699	7228 ± 413		
Fe	3936 ± 327	6260 ± 653	7778 ± 1315	8459± 1344		
Со	8,204± 1,494	$10,43 \pm 1,25$	$11,46 \pm 1,68$	$12,13 \pm 1,88$		
Ni	$12,22 \pm 1,76$	$15,69 \pm 1,35$	$17,67 \pm 2,49$	$18,29 \pm 3,17$		
Cu	$13,57 \pm 1,66$	$18,81 \pm 1,77$	$22,40 \pm 2,64$	$24,10\pm 2,17$		
Zn	$190,5\pm 22,2$	$251,7\pm 29,5$	$331,3\pm 21,8$	$379,3 \pm 42,9$		
As	$7,877 \pm 0,484$	$10,86 \pm 1,30$	$11,32 \pm 0,97$	$14,00 \pm 1,83$		
Rb	9,109± 1,288	$13,32\pm 2,23$	$16,31 \pm 3,13$	$17,74 \pm 3,23$		
Sr	$28,61 \pm 1,51$	$46,64 \pm 8,00$	$53,13 \pm 6,10$	$65,10\pm 6,29$		
Y	$2,312 \pm 0,422$	$3,996 \pm 0,736$	$4,918 \pm 0,406$	$5,636 \pm 0,927$		
Ba	89,93± 11,91	$129,7\pm 9,7$	$144,2\pm6,7$	$175,1\pm 21,3$		
W	$3,673 \pm 0,567$	$4,694 \pm 0,566$	$6,262 \pm 0,482$	$7,174 \pm 0,776$		
Hg		$1,410 \pm 0,206$	$1,820 \pm 0,202$	$2,432 \pm 0,368$		
T1		$2,131 \pm 0,157$	$2,614 \pm 0,080$	$3,309 \pm 0,533$		
Pb	$15,03 \pm 2,57$	$19,10\pm 2,32$	$24,29\pm 3,16$	$2\overline{5,84\pm4,64}$		
Bi		$0,665 \pm 0,0\overline{17}$	$0,811 \pm 0,0\overline{93}$	$0,972 \pm 0,185$		
Th	$2,344 \pm 0,262$	$3,787 \pm 0,606$	$4,865 \pm 0,4\overline{62}$	$5,656 \pm 0,728$		
U		$1,434 \pm 0,221$	$1,776 \pm 0,068$	$1,895 \pm 0,247$		

Tabelle XXV: Relative Elementgehalte in Elbe-Biofilmen vom Probennahmepunkt Viehle mit der absoluten Kohlenhydratmenge als Bezugsparameter. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95 und n = 6 dar).

Element	Masse(Element)/Masse(Kohlenhydrate) [mg/g]					
	2 Wochen	7 Wochen	12 Wochen	17 Wochen		
Al	$163,1\pm 16,8$	$227,5\pm 30,6$	$254,1\pm 12,1$	$280,3\pm 37,5$		
Si	$468,3\pm60,4$	774,1± 103,9	872,1± 67,7	976,1± 109,0		
K	$27,46 \pm 3,11$	$45,28 \pm 4,35$	$56,68 \pm 4,00$	$62,30\pm7,76$		
Ca	$162,8\pm 19,5$	$302,5\pm65,7$	$363,4\pm 95,5$	$450,7\pm71,4$		
Ti	$5,990 \pm 0,951$	$10,84 \pm 1,34$	$14,05 \pm 1,13$	$16,54 \pm 2,54$		
V	$0,228 \pm 0,016$	$0,341 \pm 0,045$	$0,459 \pm 0,025$	$0,540 \pm 0,082$		
Cr	$0,247 \pm 0,029$	$0,384 \pm 0,052$	$0,440 \pm 0,104$	$0,544 \pm 0,088$		
Mn	$64,32 \pm 9,74$	$126,6\pm 17,6$	$159,6\pm 29,4$	$203,4\pm 21,3$		
Fe	$110,9\pm 13,0$	$177,3 \pm 15,5$	$218,3 \pm 14,4$	243,4± 39,4		
Со	$0,243 \pm 0,045$	$0,295 \pm 0,038$	$0,325 \pm 0,054$	$0,346 \pm 0,072$		
Ni	$0,345 \pm 0,060$	$0,445 \pm 0,038$	$0,500 \pm 0,059$	$0,506 \pm 0,095$		
Cu	$0,383 \pm 0,057$	$0,533 \pm 0,043$	$0,632 \pm 0,030$	$0,693 \pm 0,081$		
Zn	$5,507 \pm 0,670$	$7,180 \pm 0,817$	$9,399 \pm 0,757$	$10,904 \pm 0,927$		
As	$0,230 \pm 0,017$	$0,308 \pm 0,034$	$0,321 \pm 0,033$	$0,399 \pm 0,063$		
Rb	$0,256 \pm 0,041$	$0,374 \pm 0,055$	$0,445 \pm 0,045$	$0,523 \pm 0,078$		
Sr	$0,807 \pm 0,093$	$1,308 \pm 0,235$	$1,555 \pm 0,291$	$1,854 \pm 0,213$		
Y	$0,066 \pm 0,010$	$0,113 \pm 0,018$	$0,143 \pm 0,010$	$0,156 \pm 0,020$		
Ba	$2,520 \pm 0,452$	$3,689 \pm 0,408$	$4,120 \pm 0,608$	$5,056 \pm 0,848$		
W	$0,106 \pm 0,020$	$0,133 \pm 0,017$	$0,183 \pm 0,029$	$0,205 \pm 0,028$		
Hg		$0,040 \pm 0,003$	$0,050 \pm 0,004$	$0,065 \pm 0,010$		
T1		$0,061 \pm 0,007$	$0,083 \pm 0,003$	$0,089 \pm 0,015$		
Pb	$0,411 \pm 0,051$	$0,541 \pm 0,060$	$0,702 \pm 0,038$	$0,695 \pm 0,097$		
Bi		$0,018 \pm 0,001$	$0,\overline{023\pm 0,003}$	$0,027 \pm 0,004$		
Th	$0,068 \pm 0,008$	$0,108 \pm 0,019$	$0,138 \pm 0,017$	$0,161 \pm 0,023$		
U		$0,\overline{041 \pm 0,003}$	$0,052 \pm 0,006$	$0,053 \pm 0,004$		

Tabelle XXVI: Relative Elementgehalte in Elbe-Biofilmen vom Probennahmepunkt Tespe mit der absoluten Schwefelmenge als Bezugsparameter. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95 und n = 6 dar).

Element	Masse(Element)/Masse(Schwefel) [mg/g]					
	2 Wochen	7 Wochen	12 Wochen	17 Wochen		
Al	9245 ± 1215	9369 ± 1064	9646 ± 1240	9976± 1350		
Si	33305 ± 5663	35321± 3447	36439 ± 5582	36652 ± 3733		
K	1928 ± 329	2392 ± 214	2540 ± 414	2655 ± 318		
Ca	14492 ± 2164	22728 ± 3465	28274 ± 4162	31734 ± 5993		
Ti	$455,1\pm79,7$	$575,1\pm 65,8$	$625,8\pm 97,0$	$686,2\pm 104,9$		
V	$12,38 \pm 1,77$	$20,04 \pm 3,09$	$22,44 \pm 2,46$	$24,76 \pm 3,46$		
Cr	$18,94 \pm 3,62$	$28,71 \pm 4,65$	$35,24 \pm 3,49$	$39,70 \pm 3,24$		
Mn	2147 ± 205	3552 ± 629	4507 ± 235	5115 ± 761		
Fe	5015 ± 724	7452 ± 1102	8410± 1364	10088 ± 1482		
Со	$5,055 \pm 0,687$	9,483± 1,259	$12,09 \pm 1,14$	$14,21 \pm 2,88$		
Ni	$10,17 \pm 1,05$	$20,54 \pm 3,69$	$23,61 \pm 4,06$	$28,65 \pm 0,43$		
Cu	$16,40 \pm 1,62$	$29,23 \pm 4,15$	$32,37 \pm 4,13$	$37,23 \pm 3,14$		
Zn	$251,2\pm 25,8$	$350,1\pm54,4$	$462,6\pm 81,8$	478,6± 73,0		
As	$5,976 \pm 0,997$	9,884± 1,413	$12,28 \pm 2,09$	$13,84 \pm 1,88$		
Rb	$14,18 \pm 2,44$	$20,92 \pm 3,40$	$25,90 \pm 3,97$	$29,40 \pm 4,65$		
Sr	90,76± 11,89	$110,1\pm 19,8$	$119,9\pm 9,3$	$126,4\pm 15,0$		
Y	$4,769 \pm 0,941$	$6,820 \pm 0,866$	$8,540 \pm 1,686$	9,579± 1,482		
Ba	$91,62 \pm 14,74$	$135,3\pm 22,6$	$152,0\pm 24,4$	$181,4\pm 18,7$		
W	$4,321 \pm 0,705$	8,180± 1,435	9,191± 1,104	$11,373 \pm 1,021$		
Hg			$0,889 \pm 0,151$	$0,954 \pm 0,175$		
T1						
Pb	$18,47 \pm 1,82$	$32,58 \pm 4,34$	$39,83 \pm 5,99$	$45,56\pm 5,34$		
Bi	$0,772 \pm 0,084$	$0,979 \pm 0,162$	$1,103 \pm 0,150$	$1,163 \pm 0,075$		
Th	$2,566 \pm 0,195$	$3,595 \pm 0,665$	$3,933 \pm 0,622$	$4,694 \pm 0,456$		
U	$0,842 \pm 0,050$	$1,336 \pm 0,254$	$1,629 \pm 0,241$	$1,868 \pm 0,064$		

Tabelle XXVII: Relative Elementgehalte in Elbe-Biofilmen vom Probennahmepunkt Tespe mit der absoluten Phosphormenge als Bezugsparameter. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95 und n = 6 dar).

Element	Masse(Element)/Masse(Phosphor) [mg/g]						
	2 Wochen	7 Wochen	12 Wochen	17 Wochen			
Al	9388± 1151	9681± 1356	9918± 1576	10107 ± 1368			
Si	34168 ± 4318	36399 ± 3603	37775 ± 8708	37258 ± 4015			
K	1960 ± 332	2438 ± 174	2595 ± 457	2698 ± 331			
Ca	14765 ± 2536	22578 ± 2616	28717 ± 3293	32189 ± 6414			
Ti	$466,0\pm 59,7$	$590,4\pm 43,3$	$637,5\pm 92,6$	$697,5\pm108,8$			
V	$12,75 \pm 1,65$	$20,56 \pm 2,50$	$24,01 \pm 2,46$	$25,15\pm 3,51$			
Cr	$19,83 \pm 3,36$	$28,31\pm 5,90$	$36,04 \pm 1,33$	$40,37\pm 2,42$			
Mn	2221 ± 283	3590 ± 674	4299 ± 69	5187 ± 833			
Fe	5106 ± 786	7591 ± 1008	8643 ± 1048	10250 ± 1521			
Со	$4,778 \pm 0,720$	9,719± 1,543	$11,53 \pm 0,77$	$14,57 \pm 3,11$			
Ni	$10,39 \pm 1,66$	$21,20\pm 3,94$	$23,62 \pm 2,97$	$29,18 \pm 0,89$			
Cu	$16,68 \pm 1,83$	$30,08 \pm 3,96$	$33,05 \pm 4,56$	$37,85 \pm 3,54$			
Zn	255,8± 31,9	$366,7\pm60,0$	$457,7\pm60,5$	$486,4\pm75,2$			
As	$6,079 \pm 1,063$	$10,24 \pm 1,57$	$12,28 \pm 1,28$	$14,10\pm 1,96$			
Rb	$14,59 \pm 2,25$	$21,27 \pm 2,94$	$27,16\pm5,09$	$29,83 \pm 4,55$			
Sr	$92,35 \pm 13,45$	$112,2\pm 10,0$	$124,9\pm 8,3$	$128,1\pm 16,0$			
Y	$4,905 \pm 0,686$	$6,908 \pm 1,210$	8,610± 1,222	$9,713 \pm 1,503$			
Ba	93,42± 16,36	$140,1\pm 23,6$	$158,1\pm 19,3$	$184,2\pm 19,3$			
W	$4,344 \pm 0,827$	$8,265 \pm 1,368$	$9,589 \pm 0,677$	$11,59 \pm 1,20$			
Hg			$0,910 \pm 0,070$	$0,977 \pm 0,189$			
T1							
Pb	$18,81 \pm 2,23$	$33,46 \pm 3,63$	$41,46\pm 5,24$	$46,32\pm5,77$			
Bi	$0,764 \pm 0,101$	$0,980 \pm 0,112$	$1,134 \pm 0,192$	$1,184 \pm 0,059$			
Th	$2,\overline{487\pm 0,189}$	$3,403 \pm 0,4\overline{66}$	$4,045 \pm 0,417$	$4,752 \pm 0,416$			
U	$0,895 \pm 0,035$	$1,352 \pm 0,272$	$1,635 \pm 0,011$	$1,904 \pm 0,104$			

Tabelle XXVIII: Relative Elementgehalte in Elbe-Biofilmen vom Probennahmepunkt Tespe mit der absoluten Kohlenhydratmenge als Bezugsparameter. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall der t-Verteilung für P = 0,95 und n = 6 dar).

Element	Masse(Element)/Masse(Kohlenhydrate) [mg/g]					
	2 Wochen	7 Wochen	12 Wochen	17 Wochen		
Al	$261,5\pm\ 28,5$	$264,8\pm 43,3$	$305,5\pm\ 35,4$	$281,5\pm 40,6$		
Si	938,3± 142,6	994,7± 111,6	1147 ± 173	1021 ± 132		
K	$54,39 \pm 7,18$	$67,00 \pm 10,62$	$71,66 \pm 9,67$	$76,07 \pm 9,03$		
Ca	$410,4\pm 57,7$	$665,7\pm 91,8$	768,4± 136,8	891,5± 49,2		
Ti	$12,63 \pm 1,69$	$16,28 \pm 2,77$	$16,97 \pm 2,30$	$19,44 \pm 3,19$		
V	$0,348 \pm 0,037$	$0,564 \pm 0,092$	$0,660 \pm 0,077$	$0,715 \pm 0,087$		
Cr	$0,528 \pm 0,064$	$0,849 \pm 0,210$	$0,946 \pm 0,133$	$1,120 \pm 0,158$		
Mn	$61,06 \pm 9,25$	94,91± 15,65	$116,9\pm 26,0$	$144,3\pm 3,3$		
Fe	$141,5\pm 14,4$	$189,1\pm 35,5$	$231,4\pm 29,3$	$293,7\pm 31,5$		
Со	$0,146 \pm 0,013$	$0,257 \pm 0,047$	$0,358 \pm 0,060$	$0,401 \pm 0,099$		
Ni	$0,289 \pm 0,037$	$0,576 \pm 0,098$	$0,672 \pm 0,119$	$0,795 \pm 0,032$		
Cu	$0,464 \pm 0,027$	$0,826 \pm 0,145$	$0,886 \pm 0,135$	$1,048 \pm 0,055$		
Zn	$7,107 \pm 0,538$	$9,795 \pm 0,964$	$11,95 \pm 1,79$	$13,66 \pm 1,66$		
As	$0,168 \pm 0,018$	$0,275 \pm 0,046$	$0,312 \pm 0,035$	$0,383 \pm 0,059$		
Rb	$0,398 \pm 0,045$	$0,614 \pm 0,123$	$0,691 \pm 0,124$	$0,906 \pm 0,171$		
Sr	$2,568 \pm 0,295$	$3,106 \pm 0,636$	$3,453 \pm 0,600$	$3,909 \pm 0,989$		
Y	$0,137 \pm 0,019$	$0,209 \pm 0,040$	$0,221 \pm 0,026$	$0,271 \pm 0,040$		
Ba	$2,591 \pm 0,366$	$3,770 \pm 0,764$	$4,949 \pm 0,707$	$4,934 \pm 0,482$		
W	$0,121 \pm 0,018$	$0,226 \pm 0,048$	$0,253 \pm 0,040$	$0,305 \pm 0,025$		
Hg			$0,029 \pm 0,003$	$0,025 \pm 0,005$		
T1						
Pb	$0,\overline{523 \pm 0,037}$	$0,\overline{920\pm 0,158}$	$0,\overline{954 \pm 0,089}$	$1,\overline{254\pm 0,166}$		
Bi	$0,021 \pm 0,003$	$0,027 \pm 0,005$	$0,032 \pm 0,008$	$0,031 \pm 0,003$		
Th	$0,073 \pm 0,008$	$0,\overline{098\pm 0,018}$	$0,\overline{110\pm 0,015}$	$0,\overline{116\pm 0,006}$		
U	$0,023 \pm 0,002$	$0,036 \pm 0,007$	$0,043 \pm 0,002$	$0,051 \pm 0,001$		

Element	t Konzentration [µg/L]					
	Wroclaw	Bystrzyca	Brzeg Dolny	Schwedt		
Al	$77,25 \pm 7,42$	$43,59 \pm 3,82$	$35,65 \pm 3,21$	$41,16\pm 3,85$		
K	8152 ± 696	5826 ± 515	6178 ± 549	6306 ± 548		
Ca	45674± 3135	54419± 4752	45231 ± 3748	65560 ± 6281		
Ti	$9,135 \pm 0,852$	$4,513 \pm 0,388$	$5,018 \pm 0,472$	$6,021 \pm 0,407$		
V	$5,470 \pm 0,410$	$2,405 \pm 0,196$	$1,276 \pm 0,108$	$1,343 \pm 0,125$		
Cr	$9,525 \pm 0,788$		$3,118 \pm 0,297$	$4,621 \pm 0,420$		
Mn	$65,50\pm 5,23$	$115,6\pm 5,3$	$57,38 \pm 4,39$	$10,60 \pm 0,94$		
Fe	$175,6\pm 15,8$	$69,7\pm5,3$	$112,5\pm 9,9$	$144,3\pm 12,9$		
Co	$3,434 \pm 0,311$	$10,46 \pm 0,81$	$2,683 \pm 0,241$	$1,424 \pm 0,136$		
Ni	$4,547 \pm 0,350$	$9,725 \pm 0,715$	$3,864 \pm 0,357$	$2,760 \pm 0,210$		
Cu	$4,694 \pm 0,313$	$5,364 \pm 0,516$	$5,894 \pm 0,562$	$3,889 \pm 0,325$		
Zn	$54,91 \pm 3,96$	$75,17\pm 6,57$	$38,63 \pm 3,19$	$34,31 \pm 2,83$		
As	$1,163 \pm 0,104$	$1,778 \pm 0,154$	$1,138 \pm 0,098$	$0,663 \pm 0,057$		
Rb	$19,96 \pm 1,59$	$4,907 \pm 0,414$	$7,624 \pm 0,698$	$9,881 \pm 0,680$		
Sr	$295,7\pm 25,2$	$270,4\pm 45,9$	$259,8\pm 21,7$	$223,6\pm 17,9$		
Y	$8,687 \pm 0,640$	$2,819 \pm 0,259$	$3,912 \pm 0,284$	$3,870 \pm 0,350$		
Ba	$69,61 \pm 5,38$	$96,07 \pm 8,36$	$45,28 \pm 3,87$	$43,36\pm 3,59$		
W	$0,832 \pm 0,081$	$0,947 \pm 0,092$	$0,686 \pm 0,064$	$0,721 \pm 0,072$		
Hg						
T1	$0,030 \pm 0,003$	$0,211 \pm 0,014$	$0,011 \pm 0,001$	0,040 0,003		
Pb	$2,949 \pm 0,241$	$1,009 \pm 0,087$	$2,073 \pm 0,184$	$1,867 \pm 0,151$		
Bi	$0,037 \pm 0,003$	$0,005 \pm 0,001$	$0,019 \pm 0,002$	$0,014 \pm 0,001$		
Th	$1,011 \pm 0,076$	$0,925 \pm 0,085$	$0,784 \pm 0,072$	$0,574 \pm 0,053$		
U	$0,547 \pm 0,047$		$0,511 \pm 0,048$	$0,432 \pm 0,039$		

Tabelle XXIX: Elementkonzentrationen in Wasserproben der Oder. Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=32 (bzw. n=16für Schwedt) dar.

Tabelle XXX: Elementkonzentrationen in Wasserproben der Oder. Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=32 (bzw. n=8für Frankfurt/Oder II) dar.

Element	Konzentration [µg/L]				
	Frankfurt/Oder I	Frankfurt/Oder II			
Al	$27,25 \pm 2,31$	$27,43 \pm 2,43$			
K	5639 ± 431	5549 ± 516			
Ca	63072 ± 4033	71296 ± 5620			
Ti	$5,476 \pm 0,397$	$5,481 \pm 0,498$			
V	$1,215 \pm 0,110$	$1,527 \pm 0,126$			
Cr	$3,007 \pm 0,253$	$3,614 \pm 0,315$			
Mn	$41,19 \pm 3,06$	$38,48 \pm 2,25$			
Fe	$154,9\pm 13,7$	$178,4\pm 14,3$			
Со	$1,813 \pm 0,142$	$1,955 \pm 0,200$			
Ni	$3,812 \pm 0,328$	$4,548 \pm 0,422$			
Cu	$8,052 \pm 0,712$	$10,71 \pm 0,97$			
Zn	$45,87 \pm 3,84$	44,31± 4,13			
As	$1,547 \pm 0,132$	$1,436 \pm 0,129$			
Rb	$10,34 \pm 0,91$	$14,19 \pm 1,16$			
Sr	$252,4\pm 19,6$	$308,9\pm 24,7$			
Y	$3,949 \pm 0,193$	$4,164 \pm 0,323$			
Ba	$48,72 \pm 3,91$	$55,51 \pm 5,21$			
W	$0,648 \pm 0,063$	$0,653 \pm 0,064$			
Hg					
T1	$0,069 \pm 0,006$	$0,051 \pm 0,005$			
Pb	$3,174 \pm 0,291$	$3,810 \pm 0,357$			
Bi	$0,015 \pm 0,001$	$0,014 \pm 0,001$			
Th	$0,584 \pm 0,0\overline{53}$	$0,597 \pm 0,061$			
U	$0,455 \pm 0,037$	$0,492 \pm 0,0\overline{45}$			

Element	Konzentration [µg/L]						
	Klein Lüben	Wittenberge	Viehle	Tespe			
Al	$30,57 \pm 3,19$	$39,60 \pm 3,41$	$24,43 \pm 2,04$	$25,29 \pm 2,06$			
K	6433 ± 561	5586 ± 461	5165 ± 451	5988 ± 532			
Ca	47569 ± 4132	53957 ± 4993	62346 ± 5978	71725 ± 6917			
Ti	$8,797 \pm 0,709$	$7,306 \pm 0,654$	$7,794 \pm 0,476$	$8,192 \pm 0,768$			
V	$4,412 \pm 0,286$	$2,535 \pm 0,218$	$1,243 \pm 0,081$	$2,908 \pm 0,203$			
Cr	$7,895 \pm 0,637$	$1,615 \pm 0,120$	$3,098 \pm 0,260$	$6,323 \pm 0,564$			
Mn	$20,57 \pm 1,49$	$38,32 \pm 3,28$	$19,42 \pm 1,45$	$12,34 \pm 1,04$			
Fe	83,16± 7,28	$71,80\pm 6,02$	$54,21 \pm 4,11$	$68,28\pm5,09$			
Со	$1,756 \pm 0,144$	$2,579 \pm 0,242$	$1,870 \pm 0,176$	$2,626 \pm 0,209$			
Ni	$3,695 \pm 0,296$	$3,162 \pm 0,249$	$2,772 \pm 0,235$	$4,182 \pm 0,311$			
Cu	$7,675 \pm 0,364$	$7,119 \pm 0,448$	$6,863 \pm 0,446$	$7,426 \pm 0,648$			
Zn	$64,42 \pm 4,77$	$56,18 \pm 4,54$	$45,02 \pm 3,27$	$54,02 \pm 3,94$			
As	$1,052 \pm 0,095$	$1,520 \pm 0,137$	$0,973 \pm 0,084$	$0,865 \pm 0,073$			
Rb	$10,37 \pm 0,88$	$7,548 \pm 0,725$	$5,434 \pm 0,363$	$8,334 \pm 0,775$			
Sr	$285,3 \pm 20,5$	$265,1\pm 22,8$	$274,2\pm 17,3$	$398,8\pm 38,0$			
Y	$3,980 \pm 0,263$	$2,818 \pm 0,245$	$2,047 \pm 0,159$	$4,017 \pm 0,360$			
Ba	$28,45 \pm 2,68$	$35,40 \pm 3,38$	$17,34 \pm 1,23$	$24,21 \pm 2,13$			
W	$0,813 \pm 0,077$	$0,741 \pm 0,072$	$0,613 \pm 0,059$	$0,857 \pm 0,082$			
Hg							
T1	$0,020 \pm 0,002$	$0,022 \pm 0,002$	$0,023 \pm 0,001$	$0,017 \pm 0,001$			
Pb	$2,755 \pm 0,135$	$2,348 \pm 0,214$	$1,974 \pm 0,179$	$2,618 \pm 0,198$			
Bi	$0,023 \pm 0,002$	$0,007 \pm 0,001$	$0,012 \pm 0,002$	$0,013 \pm 0,001$			
Th	$0,\overline{477\pm 0,042}$	$0,928 \pm 0,089$	$0,546 \pm 0,054$	$0,410 \pm 0,043$			
U	$0,\overline{426\pm 0,040}$	$0,333 \pm 0,022$	$0,412 \pm 0,037$	$0,340 \pm 0,030$			

Tabelle XXXI: Elementkonzentrationen in Wasserproben der Elbe. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=32 dar).

Tabelle XXXII:	Element	gehalte in	Oder-Sch	iwebs	toffen.	Die	angege	ebenen	Schw	an-
kungsbreiten ste	ellen das	Vertrauen	sintervall	für H	P=0,95	und	<i>n</i> =32	(bzw.	n=16	für
Schwedt) dar.										

Element	Elementgehalt [µg/g]						
	Wroclaw	Bystrzyca	Brzeg Dolny	Schwedt			
Al	56393 ± 5087	35229 ± 2480	31172 ± 2517	31689 ± 2704			
K	15364 ± 853	5724 ± 474	8699 ± 757	9063 ± 601			
Ca	12634 ± 820	22804 ± 1588	12184 ± 984	40026 ± 1621			
Ti	2974 ± 149	1273 ± 80	1389 ± 105	1635 ± 122			
V	$129,8\pm 10,3$	$87,51 \pm 6,46$	$69,72 \pm 4,28$	$73,74\pm 5,18$			
Cr	$152,9\pm 12,5$	$1,344 \pm 0,094$	$68,71\pm5,36$	$84,16\pm7,00$			
Mn	8081 ± 530	44082 ± 2098	6835 ± 417	2713 ± 161			
Fe	54218 ± 3746	21380 ± 1047	31459 ± 2408	32744 ± 2594			
Co	$60,76 \pm 4,83$	$142,2\pm 8,8$	$42,76 \pm 2,87$	$17,83 \pm 1,13$			
Ni	84,33± 6,39	$121,1\pm 6,5$	$73,15 \pm 4,19$	$54,16\pm 2,06$			
Cu	$77,51 \pm 0,88$	$93,10\pm6,07$	$95,30\pm7,40$	$56,14 \pm 2,22$			
Zn	1429 ± 55	1949 ± 148	1126 ± 68	981,2± 76,1			
As	$55,14 \pm 3,19$	85,15± 5,87	$53,84 \pm 4,26$	$31,11 \pm 1,89$			
Rb	$144,2\pm 8,4$	$62,24 \pm 4,18$	$65,36 \pm 3,97$	$75,10\pm5,98$			
Sr	$224,8\pm 19,7$	$160,0\pm7,1$	$189,3 \pm 13,5$	$148,4\pm 12,3$			
Y	$48,05 \pm 3,00$	$11,34 \pm 0,92$	$19,26 \pm 1,63$	$26,49 \pm 1,54$			
Ba	1633 ± 111	3280 ± 286	1037 ± 71	823,7± 45,5			
W	$31,53 \pm 0,25$	$43,53 \pm 2,35$	$16,10\pm 1,17$	$17,39 \pm 0,14$			
Hg							
T1	$2,731 \pm 0,157$	$8,143 \pm 0,746$	$2,849 \pm 0,170$				
Pb	$128,5\pm 8,2$	$53,81 \pm 4,42$	$114,5\pm 9,8$	$101,7\pm5,0$			
Bi	$2,822 \pm 0,1\overline{50}$		$1,458 \pm 0,1\overline{38}$	$1,268 \pm 0,137$			
Th	$13,24 \pm 1,18$	$15,27 \pm 0,95$	$10,13 \pm 0,98$	$6,247 \pm 0,5\overline{38}$			
U	$3,670 \pm 0,1\overline{39}$		$3,217 \pm 0,283$	$2,607 \pm 0,232$			

Tabelle XXXIII: Elementgehalte in Oder-Schwebstoffen. Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=32 (bzw. n=8 für Frankfurt/Oder II) dar.

Element	Elementgehalt [µg/g]				
	Frankfurt/Oder I	Frankfurt/Oder II			
Al	27780 ± 1779	27806 ± 1257			
K	8109 ± 596	8164 ± 520			
Ca	30170 ± 2581	42284 ± 2837			
Ti	1444 ± 105	1438 ± 93			
V	$64,11 \pm 4,40$	$86,06 \pm 6,77$			
Cr	$59,59 \pm 2,46$	$78,58 \pm 3,77$			
Mn	6354 ± 501	6225 ± 561			
Fe	36467 ± 2915	43392 ± 2339			
Со	$25,47 \pm 1,23$	$24,89 \pm 1,25$			
Ni	$77,28 \pm 3,36$	88,94± 4,77			
Cu	$124,8\pm 9,4$	$169,3 \pm 11,2$			
Zn	1157 ± 69	1211 ± 74			
As	$72,84 \pm 6,68$	$71,51 \pm 4,42$			
Rb	$67,13\pm5,99$	88,94± 7,26			
Sr	$181,3\pm 16,0$	$219,0\pm 14,5$			
Y	$21,37 \pm 1,69$	$27,55 \pm 1,74$			
Ba	988,0± 79,1	1186 ± 84			
W	$17,18 \pm 1,47$	$18,74 \pm 1,39$			
Hg					
T1	$2,304 \pm 0,216$	$1,133 \pm 0,101$			
Pb	$132,4\pm 11,2$	$209,0\pm 14,5$			
Bi	$1,236 \pm 0,093$	$1,350\pm0,106$			
Th	$8,593 \pm 0,741$	$8,947 \pm 0,693$			
U	$1,866 \pm 0,153$	$2,598 \pm 0,208$			

Element	Elementgehalt [µg/g]						
	Klein Lüben	Wittenberge	Viehle	Tespe			
Al	22864 ± 1933	25348 ± 1459	23987 ± 897	21843 ± 1254			
K	9939 ± 883	4912 ± 411	4429 ± 386	6166 ± 600			
Ca	21640 ± 1444	22260 ± 1953	32185 ± 1682	61506 ± 4274			
Ti	2876 ± 120	2115 ± 179	2264 ± 187	2202 ± 113			
V	$96,30 \pm 3,79$	$85,76\pm6,80$	$65,95 \pm 4,07$	$73,27 \pm 4,13$			
Cr	$119,7\pm 10,5$	$37,13 \pm 2,95$	$69,79 \pm 5,85$	$117,6\pm 8,3$			
Mn	3425 ± 285	4587 ± 288	2902 ± 176	2862 ± 176			
Fe	33741 ± 2318	22352 ± 1804	20568 ± 1226	21436 ± 1042			
Со	$20,10\pm 1,29$	$36,42 \pm 1,44$	$45,72\pm 2,37$	42,47± 3,25			
Ni	$73,28 \pm 4,59$	$70,16 \pm 4,04$	$64,35 \pm 2,76$	$81,59 \pm 6,55$			
Cu	$114,3\pm 8,6$	$108,0\pm 9,6$	$107,4\pm 9,6$	$112,7\pm 9,1$			
Zn	1507 ± 65	1422 ± 115	1324 ± 96	1402 ± 65			
As	$44,81 \pm 4,13$	$72,87 \pm 4,37$	$45,63 \pm 3,29$	$40,74 \pm 3,36$			
Rb	$104,0\pm 3,3$	$65,74 \pm 4,43$	$67,57 \pm 3,54$	83,41± 4,57			
Sr	$216,1\pm 14,9$	$177,8\pm 13,8$	$198,9\pm 12,6$	$365,0\pm 15,6$			
Y	$25,08 \pm 1,92$	$11,59 \pm 0,90$	$9,965 \pm 0,664$	$29,23 \pm 2,11$			
Ba	$675,7\pm 48,3$	$693,2\pm 51,8$	$606,2\pm 53,9$	$612,6\pm 26,5$			
W	$23,85 \pm 1,21$	$13,11 \pm 1,07$	$24,30 \pm 1,46$	$35,18 \pm 1,98$			
Hg							
T1	$4,613 \pm 0,257$	$6,513 \pm 0,409$	$2,312 \pm 0,104$				
Pb	$143,1\pm 12,6$	$123,5\pm 11,6$	$104,7\pm 9,1$	$136,3 \pm 11,8$			
Bi	$1,278 \pm 0,132$	$1,270 \pm 0,125$	$1,197 \pm 0,093$	$1,012 \pm 0,081$			
Th	$9,783 \pm 1,107$	$12,37 \pm 0,96$	$10,19 \pm 0,92$	8,046± 0,626			
U	$1,858 \pm 0,168$	$1,106 \pm 0,105$	$1,977 \pm 0,216$	$1,383 \pm 0,151$			

Tabelle XXXIV: Elementgehalte in Elbe-Schwebstoffen. (Die angegebenen Schwankungsbreiten stellen das Vertrauensintervall für P=0,95 und n=32 dar).

Lebenslauf

Birgit Runge

geboren am 19.04.1969 in Hamburg ledig

Schulausbildung	
1975 – 1979	Grundschule Brödermannsweg in Hamburg
1979 – 1989	Heilwig-Gymnasium in Hamburg
Schulabschluss	Allgemeine Hochschulreife
Berufsausbildung	
08/1989 - 07/1991	Staatliche Gewerbeschule für Chemie, Pharmazie und Agrarwirtschaft in Hamburg
Berufsabschluss	Staatlich geprüfte chemisch-technische Assistentin
Hochschulausbildung	
10/1991 - 04/1998	Studium der Chemie an der Universität Hamburg mit Wahlpflichtfach Biochemie
07/1997 - 04/1998	Diplomarbeit: »Analytische Charakterisierung des
	Verhaltens von Schwermetallen in Biofilmen«
Hochschulabschluss	Diplom-Chemikerin
09/1998 - 03/2004	Promotionsstudium an der Universität Hamburg
Berufstätigkeit	
10/1997 - 04/1998	Studentische Hilfskraft im Fachbereich Chemie der Universität Hamburg
10/1998 - 03/2002	Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Institut für Anorganische und Angewandte Chemie der Universität Hamburg als
	Assistentin im Grundpraktikum der anorganischen und analytischen Chemie
seit 04/2002	Lehrbeauftragte im chemischen Praktikum für Medizin- und
5511 0 1/2002	Zahnmedizinstudenten am Fachbereich Chemie der Universität Hamburg

Publikationsliste

Veröffentlichungen:

- S. Abbadi, B. Anders, K. Behrens, M. Cichon, B. Clausen, T. Kinzel, A. Knöchel, A.-K. Meyer, F. Miller, B. Runge, S. Staub, Y. Tambo, IOP-TP 5 "Humic Acids" (BMBF 02WT-9709), In: A.-K. Meyer (Ed.), *The International Odra Project (IOP) Annual Report 1998 (2nd Interim Report),* ISBN 3-924330-26-3, Eigenverlag der Universität Hamburg (1999).
- S. Abbadi, B. Anders, K. Behrens, M. Cichon, B. Clausen, D. Eifler, T. Kinzel, A. Knöchel, A.-K. Meyer, F. Miller, B. Runge, S. Staub, Y. Tambo, The Behaviour of Heavy Metals, Organometallic Compounds as well as Humic Fractions of the Odra System IOP-TP 5 "Huminstoffe" (BMBF 02WT-9709), In: A.-K. Meyer (Ed.): *The International Odra Project (IOP) Annual Report 1999 (3rd Interim Report)*, Eigenverlag der Universität Hamburg (2000).
- S. Abbadi, B. Anders, K. Behrens, M. Cichon, B. Clausen, D. Eifler, J. Feuerborn, W. Herdering, T. Kinzel, A. Knöchel, U. Kristandt, A.-K. Meyer, F. Miller, H. Potgeter, B. Runge, S. Staub, Y. Tambo, N. Taraschewski, Verhalten von Schwermetallen und Organometallverbindungen in Schwebstoffen, Sedimenten, Biofilmen und Huminfraktionen des Odersystems Schlussbericht zum Teilprojekt 5 des Internationalen Oderprojekt (02WT-9709), ISBN 3-924330-55-7, Eigenverlag der Universität Hamburg (2001).

Posterbeiträge:

- T. Kinzel, K. Behrens, B. Clausen, A. Knöchel, A.-K. Meyer, F. Miller, B. Runge, L. Poprawski, The Pollution of the Warta River with Heavy Metals in 1998 (Präsentiert auf der International Conference on Heavy Metals in the Environment, USA, vom 6. bis 10. August 2000 in Michigan, USA).
- T. Kinzel, K. Behrens, B. Clausen, A. Knöchel, A.-K. Meyer, F. Miller, B. Runge, L. Poprawski, The Pollution of the Warta River with Heavy Metals (Präsentiert auf dem Fifth International Symposium and Exhibition of Environmental Contamination in Central and Eastern Europe, Prag, Tschechien im September 2000).
- T. Kinzel, K. Behrens, B. Clausen, A. Knöchel, A.-K. Meyer, F. Miller, B. Runge, L. Poprawski, Die Schwermetallsituation in der Warthe (Präsentiert auf der ANAKON 2001 vom 4. bis 7.4.2001 in Konstanz).

Hiermit erkläre ich, die vorliegende Arbeit selbständig und nur mit den angegebenen Hilfsmitteln angefertigt zu haben. Es handelt sich um meinen ersten Promotionsversuch.

Hamburg, den 31. Januar 2004

B. Runge