

Untersuchungen zu Exkretion, Transformation und Abbau gelöster organischer Substanz in Flusswasser

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Naturwissenschaften im
Fachbereich Geowissenschaften der Universität Hamburg

vorgelegt von
Lutz Ehrhardt

aus
Hamburg

Hamburg
2005

Als Dissertation angenommen vom Fachbereich Geowissenschaften der Universität
Hamburg

aufgrund der Gutachten von Prof. Dr. K-C. Emeis
und Dr. A. Spitzzy

Hamburg, den 08. Juli 2005

Prof. Dr. H. Schleicher

Dekan des Fachbereichs Geowissenschaften

Mein Dank geht zunächst an Herrn Dr. Alejandro Spitzzy, der die Anregung zu dieser Arbeit gegeben hat. Seine Vorschläge und die stete Diskussionsbereitschaft haben diese Arbeit vorangetrieben. Ebenso möchte ich Herrn Prof. Dr. Kay-Christian Emeis für die Begutachtung der Arbeit danken.

Den Mitarbeitern des Instituts für Biogeochemie und Meereschemie der Universität Hamburg danke ich für die freundliche Aufnahme und die Begleitung bis zuletzt.

Große Teile der Arbeit sind im Institut für Hydrobiologie und Fischereiwissenschaften der Universität Hamburg entstanden. Den Mitarbeiter dieses Instituts danke ich für die „Beherbergung“ eines Chemikers in einer für ihn zunächst ungewohnten biologischen Umgebung. Speziell danke ich Herrn Dr. Marcus Hecker, Herrn Ulf Luth und Frau Ariane Seraphin für die angenehmen „Runden“ in den spärlichen Pausen. Herrn Dr. Rolf Koppelman und Frau Dr. Ute Müller danke ich für die große Hilfe bei biologischen Fragestellungen. Herrn Dr. Martin Kerner danke ich zu guter Letzt für die Einsicht in biologisch-experimentelle Arbeitsweisen.

Ein spezieller Dank gebührt Herrn Dr. Siegmund Ertl, der mich befähigt hat, die Zusammenhänge der Isotopenmessung, die einen großen Teil der Arbeit ausmachen, zu verstehen. Auch Ihm danke ich für die lange Zusammenarbeit und die angenehmen „Arbeitsrunden“.

Danken möchte ich auch Frau Prof. Dr. Petra Mischnick und Herrn Dr. Jürgen Heinrich für die Gelegenheit, die Grundlagen der chemischen Analytik zu vertiefen und mir eine Arbeitsweise zu eigen zu machen, die die Grundlage dieser Arbeit bildet.

Neben den oben genannten Kollegen hat meine Familie, ohne deren Unterstützung schon während des Studiums diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre, einen großen Anteil an meiner wissenschaftlichen Laufbahn. Ganz besonders danke ich meiner Frau Viola für ihre Geduld, gerade in der Endphase der Arbeit, und für die Kraft, die ich aus ihrer Anwesenheit und der meines Sohnes Ruben schöpfen konnte.

Zusammenfassung

Zur Präparation von Kohlendioxid zwecks Bestimmung des Verhältnisses der Kohlenstoffisotope ^{13}C und ^{12}C aus dem DOC einer großen Zahl an Proben wurde ein UV-Dünnschicht-Reaktor um ein Probenaufgabesystem erweitert, das gewährleistet, dass die Proben kontaminationsfrei direkt aus dem Probengebinde in den Reaktor eingebracht werden können. Zusammen mit der anschließenden Reinigung des Kohlendioxids durch Reduktion unerwünschter Nebenprodukte und kryogene Destillation hat sich die UV-Dünnschicht-Oxidation als eine schnelle, zuverlässige und hochempfindliche Methode erwiesen, um eine massenspektrometrische Bestimmung des $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wertes natürlicher Wasserinhaltsstoffe zu ermöglichen.

Mit Hilfe dieser Methode konnte an axenischen Algenkulturen gezeigt werden, dass sich die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte des POC der Biomasse und des gleichzeitig von den Algen abgegebenen DOC im Verlauf des exponentiellen Wachstums deutlich voneinander unterscheiden. Die beobachteten Unterschiede erreichten mit den höchsten Wachstumsraten ihre größten Werte. Berechnungen zur Massendynamik der stabilen Kohlenstoffisotope des durch das Phytoplankton assimilierten Kohlendioxids während der unterschiedlichen Wachstumsphasen geben wertvolle Hinweise auf den Mechanismus der Abgabe organischen Materials durch die Zellen.

In einem weiteren Experiment wurden die abiotische Reaktion von Phytoplanktonexsudaten mit refraktärem Flusswasser-DOM sowie die bakterielle Verfügbarkeit der resultierenden Transformationsprodukte mittels Anreicherung von steril filtriertem Elbe-Wasser mit isotopisch markierten Phytoplanktonexsudaten untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass die Reaktion der Exsudate mit dem refraktären DOM innerhalb weniger Tage abgeschlossen ist. Die Exsudate reagierten vorzugsweise mit der hochmolekularen DOM-Fraktion und wurden anschließend vollständig durch Bakterien metabolisiert, wobei auch niedermolekulares Elbe-DOM abgebaut wurde. Es konnte anhand von Berechnungen, die auf den $\delta^{13}\text{C}$ -Messungen basieren, gezeigt werden, dass die Exsudate veratmet, also zur Energiegewinnung verwendet wurden.

Abstract

For the determination of the ratio of the stable carbon isotopes ^{13}C and ^{12}C an UV-thin-film-reactor was supplied with a sample-application-system to prevent the samples from contaminations. With this system a large number of samples can be prepared in a short time. Combined with subsequent cryogenic cleaning of the carbon dioxide from oxidation by-products the UV-thin-film-oxidation turned out to be a rapid, reliable and highly sensitive method for the determination of the $\delta^{13}\text{C}$ -value of natural carbon contents in freshwaters.

By means of this method it was shown for axenic phytoplankton cultures, that the $\delta^{13}\text{C}$ -values of the POC of the biomass was different from that of the DOC, that was excreted during exponentially growth of the phytoplankton. The observed differences had a maximum at highest growth rate. Calculations of the mass dynamics of the stable carbon isotopes of the assimilated carbon dioxide during the different growth phases gave worthwhile clues about the mechanism of DOC excretion.

In a further experiment, the abiotic transformation of phytoplankton exsudates with refractory freshwater DOM and the microbial availability of the resulting products were examined. Therefore sterile filtrated water of the Elbe river was incubated with isotopic marked phytoplankton exsudates. It was shown, that the reaction of the exsudates with the refractory DOM was completed within a few days. The exsudates reacted predominantly with high molecular weight DOM and were completely metabolised by the bacteria. During this process also low molecular weight DOM was decomposed. Calculations based on the isotopic data suggest that most part of the exsudates were respired and thus used for energy generation.

1. Einleitung	1
1.1 Einführung	1
1.2 Problemstellung und Zielsetzung	2
2. Wissenschaftliche Grundlagen	6
2.1 Die Primärproduktion des Phytoplanktons.....	6
2.1.1 Ablauf der Photosynthese.....	7
2.1.2 Exkretion von DOM durch Phytoplankton	8
2.1.3 Mikrobielle Verfügbarkeit des DOM	9
2.2 Die Summenparameter Kohlenstoffgehalt und $\delta^{13}\text{C}$ -Wert im POM und DOM	10
2.2.1 Der Kohlenstoffgehalt organischer Materie in aquatischen Systemen	11
2.2.2 Das Verhältnis der stabilen Kohlenstoffisotope in organischem Material	12
3. Methodik	18
3.1 Vorbereitung der Arbeitsmittel	18
3.1.1 Reinigung der Probengebinde	18
3.1.2 Reinigung der Arbeitsmittel.....	18
3.2 Probenahmen	19
3.2.1 POC-Proben	19
3.2.2 DOC-Proben	19
3.2.3 DIC-Proben	19
3.3 Tangentiale Ultrafiltration.....	19
3.4 Bestimmung des Kohlenstoffgehaltes	22
3.4.1 Elementaranalyse	22
3.4.2 DOC-Messung	23
3.4.3 DIC-Messung.....	26
3.5 Bestimmung des $\delta^{13}\text{C}$ -Wertes	27
3.5.1 Messverfahren	27
3.5.2 Kryogene Reinigung des Kohlendioxids	27
3.5.3 Präparation von Kohlendioxid aus POM	28
3.5.4 Methodenentwicklung zur Präparation von Kohlendioxid aus DOM mit der UV- Dünnschichtoxidation	29
3.5.4.1 Blindwert	31

3.5.4.2	Präzision und Reproduzierbarkeit der $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Bestimmung	32
3.5.4.3	Memoryeffekt	34
3.5.4.4	Ergebnis	35
3.6	Inkubationsexperimente	36
3.6.1	Batch-Kulturen	36
3.6.2	Durchfluss-Experimente	37
4	Untersuchungen zur Isotopenfraktionierung bei der Exkretion von DOC durch Phytoplankton.....	40
4.1	Experimente zum Vergleich von $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ - und $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werten.....	40
4.2	Ergebnisse der Experimente.....	42
4.3	Diskussion der Ergebnisse	48
5	Abiotische Transformation von Phytoplanktonexkreten mit refraktärem DOM	67
5.1	Experimente zur abiotischen Transformation.....	68
5.1.1	Anreicherung von Elbewasser mit Phytoplanktonexsudaten und abiotische Alterung der Phytoplanktonexsudate	68
5.1.2	Mikrobieller Abbau des DOM	70
5.1.3	Berechnung der $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werte der Molekulargewichtsfractionen nach dem subtraktiven Verfahren.....	71
5.2	Ergebnisse der Experimente	72
5.2.1	Anreicherung von Elbewasser mit Phytoplanktonexsudaten und deren abiotische Alterung.....	72
5.2.2	Mikrobieller Abbau	76
5.3	Diskussion der Ergebnisse	79
5.3.1	Anreicherung von Elbewasser mit Phytoplanktonexsudaten und deren abiotische Alterung.....	79
5.3.2	Mikrobieller Abbau	83
6	Zusammenfassung und Ausblick	90
7	Literaturverzeichnis.....	93
8	Anhang	102

Liste der verwendeten Abkürzungen

DOM	Dissolved organic matter (gelöste organisches Material)
BGE	Bacterial growth efficiency (bakterielle Wachstumseffizienz)
BP	Bakterielle Produktion
BR	Bakterielle Respiration
CF-HTC	Continious-Flow High-Temperature-Combustion
Da	Dalton (Molekulargewichtseinheit; 1Da = 1g/mol)
DIC	Dissolved inorganic carbon (gelöster anorganischer Kohlenstoff)
DOC	Dissolved organic carbon (gelöster organischer Kohlenstoff)
EA-IRMS	Elementaranalytische Isotopenvergleichs-Massenspektrometrie
HMW	High molecular weight (hochmolekular)
KHP	Kaliumhydrogenphthalat (DOC-Standard)
LMW	Low moleucular weight (niedermolekular)
MWCO	Molecular weight cut off (molekulare Trenngrenze)
PDB	PeeDeeBelemnit (Standard für stabile Kohlenstoffisotope)
PEPCO	Phosphoenolpyruvat-Carboxylase
PER	Percent extracellular release
POC	Particulate organic carbon (partikulärer organischer Kohlenstoff)
POM	Particulate organic matter (partikuläres organisches Material)
RUBISCO	Ribulose-Bisphosphat-Carboxylase
TDC	Total dissolved carbon (gesamter gelöster Kohlenstoff)
TEP	Transparente exopolimere Partikel
UV	Ultraviolettes Licht
V-PDB	Vienna PeeDeeBelemnit (Standard für stabile Kohlenstoffisotope)
$\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$	Verhältnis der stabilen Kohlenstoffisotope im DOC
$\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$	Verhältnis der stabilen Kohlenstoffisotope im POC

1 Einleitung

1.1 Einführung

Biogeochemische Stoffkreisläufe:

Die Gesamtmenge der chemischen Elemente auf der Erde ist nahezu konstant. Ihre Verteilung auf die einzelnen Bereiche (Atmosphäre, Hydrosphäre Lithosphäre und Biomasse) und noch mehr die Geschwindigkeiten der Massenübergänge zwischen diesen Bereichen unterliegen aufgrund natürlicher Prozesse und anthropogener Tätigkeit lang- und kurzfristigen Veränderungen. Der biogeochemische Kreislauf eines Elementes beschreibt Menge, Konzentration und chemische Erscheinungsformen des Elementes in den einzelnen Reservoiren. Er bilanziert die Stoffflüsse zwischen den einzelnen Bereichen und charakterisiert die chemischen, biologischen und physikalischen Mechanismen, die dem Stoffübergang zugrunde liegen. Zudem werden die durch natürliche oder anthropogene Stoffflüsse hervorgerufenen Umweltveränderungen und die als natürliche Antwort zu betrachtenden Regulationsmechanismen interpretiert.

Der Kreislauf eines Elementes in den Bereichen der Erdrinde wird von biologischen und chemischen Faktoren wie Anteil des Elementes in der Biomasse, Ablauf von photochemischen Prozessen, Ausmaß von Bioakkumulation und -magnifikation sowie Bildungsbedingungen und Stabilität der Verbindung bestimmt. Aber auch physikalische Faktoren wie die Verteilung zwischen verschiedenen Phasen und das Transportverhalten in biotischen und abiotischen Systemen spielen eine große Rolle.

Der Kohlenstoffkreislauf:

Das Element Kohlenstoff ist an allen dynamischen Prozessen der Biosphäre beteiligt. Sein globaler Kreislauf stellt die Grundbedingung für die Entstehung und Entwicklung des Lebens auf der Erde dar. Zwischen dem Kohlendioxid der Atmosphäre, dem Carbonat, Hydrogencarbonat und gelösten Kohlendioxid der Flüsse, Seen und Meere, den kristallinen Carbonaten der Erdkruste und der ungeheuren Vielfalt organischer Kohlenstoffverbindungen in lebender und toter Biomasse findet ununterbrochen ein Stoffaustausch statt.

Der Kohlenstoff der Atmosphäre liegt in Form von Kohlendioxid vor, das über

Lösungsvorgänge mit der Hydrosphäre und über Atmungs-, Mineralisierungs- und Verbrennungsvorgänge sowie die Photosynthese mit der Biosphäre im dynamischen Gleichgewicht steht.

Durch Photosynthese werden etwa $180 \cdot 10^3 \text{ Mt a}^{-1}$ Biomasse gebildet, annähernd die gleiche Menge wird wieder veratmet bzw. mineralisiert. Kohlendioxid in gasförmiger oder hydratisierter Form ist die Schlüsselsubstanz des sehr intensiven biologischen Kohlenstoffkreislaufes. Die im gepufferten System der Hydrosphäre vornehmlich als HCO_3^- -Ionen gespeicherte Kohlenstoffmenge entspricht dem 60-fachen des atmosphärischen CO_2 -Gehaltes und etwa dem 80-fachen des in lebenden Organismen enthaltenen Kohlenstoffvorrates. Global werden durch anthropogene Energieerzeugung $5,3 \cdot 10^3 \text{ MtC a}^{-1}$ als Kohlendioxid aus fossilen, organischen Ablagerungen remobilisiert.

Die lebende Biomasse der kontinentalen Landfläche ist um zwei Größenordnungen höher als die der Ozeane, obwohl die durch CO_2 -Fixierung erfolgende pflanzliche Primärproduktion in beiden Bereichen vergleichbare Werte annimmt. An der Oberfläche der Ozeane kommt es zu einem Austausch zwischen dem Kohlendioxid in der Gasphase und dem gelösten Kohlendioxid. In der Summe wirken die Ozeane aber als eine CO_2 -Senke. Die Biomasse der Weltmeere besteht hauptsächlich aus kurzlebigen Mikroorganismen (Phytoplankton, Zooplankton), deren organischer Kohlenstoff nach dem Absterben in lösliche, anorganische Kohlenstoffverbindungen umgewandelt wird.

Die Zunahme des CO_2 -Gehaltes der Atmosphäre seit Beginn der Industrialisierung, verursacht durch die anthropogene CO_2 -Produktion und Vernichtung von Biomasse, ist heute zweifelsfrei nachgewiesen. Ihre Auswirkung auf klimatische und ökologische Faktoren kann erst dann sicher beurteilt werden, wenn es gelingt, die komplexen Prozesse des CO_2 -Transfers und der CO_2 -Umwandlung exakter zu beschreiben.

1.2 Problemstellung und Zielsetzung

Dem Verbleib des Kohlenstoffes, der während der Photosynthese durch das Phytoplankton exkretiert wird, kommt bei der Betrachtung der biogeochemischen

Stoffkreisläufe eine besondere Bedeutung zu. Allgemein wird angenommen, dass das DOC eine dynamische Komponente darstellt, die in Wechselwirkung zwischen Geosphäre, Hydrosphäre und Biosphäre steht und das Potential besitzt, den globalen Kohlenstoffzyklus und klimatische Änderungen zu beeinflussen (Rashid 1985).

Der biologische Abbau des DOC erfolgt in aquatischen Lebensräumen hauptsächlich durch heterotrophe Bakterien, die den DOC als Kohlenstoffquelle und zur Energiegewinnung nutzen. Die Verfügbarkeit des DOC für die Bakterien wird durch seine chemische Zusammensetzung und Molekülgröße, aber auch gleichzeitig durch die zur Verfügung stehenden anorganischen Nährstoffe, die Redoxbedingungen, den pH-Wert und die Temperatur im Lebensraum bestimmt. Innerhalb der Gewässer werden große Mengen an DOC durch das Phytoplankton mit einem Anteil von bis zu 55 % an der gesamten Kohlenstoffproduktion exkretiert (Zlotnik und Dubinski 1989).

Die Frage der Nutzung von gelösten Kohlenstoffverbindungen durch Bakterien bearbeitete Tranvik (1990), wobei er das DOC nicht nur chemisch sondern auch physikalisch über die Molekülgröße charakterisierte. Er konnte in Seen mit unterschiedlichem Huminstoffanteil zeigen, dass das Bakterienwachstum im Durchschnitt zu 48 % durch das hochmolekulare DOC (>10000 Da) und nur zu 22 % durch niedermolekulares DOC (<1000 Da) erfolgte. Im Mississippi River Plume beobachteten Gardner et al. (1997) eine enge Verbindung zwischen DOC-Neubildung durch Phytoplankton und einer erhöhten mikrobiellen Verfügbarkeit von hochmolekularem DOC. Sie zeigten, dass in diesem Ökosystem durch die Exkretion von niedermolekularem, stickstoffreichem DOM während der Photosynthese die mikrobielle Nutzung des HM-DOC als Kohlenstoffquelle angeregt wurde. Amon und Benner (1996) zeigten allgemein für marine als auch limnische Systeme, dass die bakteriellen Wachstums- und Atmungsraten mit HM-DOC (> 1000 Da) als Substrat höher sind als mit NM-DOC (< 1000 Da).

Ihre Ergebnisse widersprechen hierbei zunächst der traditionellen Sichtweise, dass kleine Moleküle leichter mikrobiell verfügbar sind als große Moleküle. Da frisch gebildetes DOM, unabhängig von seiner Molekülgröße, bevorzugt mikrobiell verwertet wird (Norrman et al. 1995), nahmen Amon and Benner an, dass es sich bei dem leicht verfügbaren HM-DOC um ein stärker bioreaktives und weniger gealtertes Material als das NM-DOC gehandelt haben musste. Ein schneller Abbau bedeutet

allerdings, dass das HM-DOC entsprechend seiner Nutzung durch Bakterien innerhalb von Stunden oder Tagen nachgeliefert, also neu gebildet werden muss. Eine Quelle für mikrobiell leicht verfügbares HM-DOC könnte in der Exkretion durch Phytoplankton während der Photosynthese liegen, da dabei nicht nur NM-DOC (< 1000 Da) sondern auch HM-DOC (> 10000 Da) freigesetzt wird (Sundh 1992). Weiterhin erfolgt eine Produktion von HM-DOC in natürlichen Planktongemeinschaften durch Bakterien (Heissenberger und Herndl 1994) und heterotrophe Protozoen (Nagata und Kirchman 1992).

Es ist aber auch nicht auszuschließen, dass sich die von Phytoplanktonorganismen gebildeten organischen Verbindungen nach ihrer Freisetzung an bereits vorhandenes DOM anlagern und so hochmolekulare Verbindungen entstehen. Eine solche abiotische Transformation von DOM wurde schon in den 70er Jahren bei der Bildung von Huminstoffen eingehend beschrieben, wobei als hauptsächliche Mechanismen bei einer beginnenden Kondensation die nukleophile Addition von Aminosäuren und Redoxreaktionen der Zucker und Aminosäuren festgestellt wurden (Rashid 1985). Allerdings handelt es sich bei der Huminstoffbildung um langfristige Prozesse, die voraussetzen, dass das kondensierte Material mikrobiell nicht oder nur sehr langsam abgebaut wird. Untersuchungen zur kurzfristigen Alterung von DOC wurden von Keil und Kirchman (1994) durchgeführt. Sie zeigten mit dem Protein Ribulose-1,5-bisphosphat-carboxylase als Modellsubstanz, dass eine Alterung des Materials in sterilem Meerwasser mit einer Herabsetzung seiner mikrobiellen Verfügbarkeit einhergeht, die innerhalb von weniger als 6 Stunden zu beobachten war. Da der Alterungseffekt nur zusammen mit dem natürlich im Meerwasser vorhandenen DOC zu beobachten war, wurde geschlossen, dass eine abiotische Aggregation mit dem vorhandenen DOC stattgefunden haben musste.

Im Rahmen dieser Arbeit soll in Laborversuchen geklärt werden, inwieweit durch Phytoplankton frisch gebildetes DOM abiotisch transformiert wird und dabei hochmolekulare DOM-Verbindungen entstehen, die eine im Vergleich zu den Ausgangssubstanzen erhöhte mikrobielle Verfügbarkeit aufweisen. Dazu sind Versuche mit natürlichem Phytoplankton und Bakterioplankton aus der Elbe als Modellfließgewässer geplant, die, voneinander getrennt, in Bioreaktoren inkubiert werden sollen. Diese Bioreaktoren erlauben einen kontinuierlichen Austausch der gelösten Stoffe, wobei gleichzeitig bestimmte Organismengruppen gezielt

ausgewaschen werden oder im System verbleiben. Durch die Wahl der Bedingungen im Durchflussreaktor kann so eine natürliche Phytoplantongemeinschaft eines Fließgewässers angereichert und inkubiert werden. Während der Inkubation des Phytoplanktons wird unter natürlichen Substrat- und Lichtbedingungen eine Produktion von DOM induziert. Das frisch gebildete DOM wird anschließend zusammen mit dem refraktären DOM aus den Gewässern einer Alterung unterworfen. Dieses gealterte DOM wird wiederum in Inkubationen des Bakterioplanktons auf seine mikrobielle Verfügbarkeit hin untersucht.

Die biotischen und abiotischen Transformationen zwischen niedermolekularen und hochmolekularen DOM-Verbindungen sollen dann an durch Ultrafiltration nach Molekulargewichten getrennten DOM-Fractionen untersucht werden. Zur Verfolgung der Prozesse werden neben den DOC-Konzentrationen auch die Verhältnisse der stabilen Kohlenstoffisotope ^{13}C und ^{12}C von DOC und POC erfasst ($\delta^{13}\text{C}$ -Wert). Dazu soll zunächst die Frage geklärt werden, ob es bei der Exkretion des DOC durch das Phytoplankton zu einer Isotopenfraktionierung kommt, oder der $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wert dem $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Wert der Biomasse entspricht. Dies erfordert die Entwicklung einer schnellen und zuverlässigen Methode der Ermittlung des $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wertes aus der wässrigen Phase.

2 Wissenschaftliche Grundlagen

In der biogeochemischen Forschung wird versucht, die Quellen und Senken verschiedener Elemente wie Kohlenstoff, Stickstoff und Sauerstoff aber auch von Mineralien aufzuzeigen. Dabei wird sowohl belebte als auch unbelebte Materie betrachtet.

Der Kohlenstoff als Hauptbestandteil der belebten Materie nimmt eine bedeutende Stellung bei der Betrachtung von Stoffflüssen in Biosphären ein. In der Hydrosphäre, zu der Meere, Flüsse und Seen gezählt werden, ist die größte Kohlenstoffquelle das im Wasser gelöste Kohlendioxid der Atmosphäre. Der Kohlenstoff wird zunächst durch Primärproduzenten wie Algen und Cyanobakterien zum Aufbau von Biomasse fixiert und über den mikrobiellen Abbau abgestorbener Organismen und organischer Exkrete dem Kohlenstoffkreislauf wieder zugeführt.

Im folgenden sollen die physikalischen, chemischen und biologischen Mechanismen beschrieben werden, die für das Verständnis der Prozesse in aquatischen Systemen nötig sind.

2.1 Die Primärproduktion des Phytoplanktons

Die Photosynthese der Algen hat eine enorme ökologische Bedeutung für den globalen Kohlenstoffkreislauf. Obwohl die Pflanzliche Biomasse auf dem Land mit etwa 560 Gt Kohlenstoff ca. 300 mal größer ist als die Biomasse des Phytoplanktons der Flüsse, Seen und Meere (ca. 1,8 Gt Kohlenstoff) ist, beträgt der Beitrag der Hydrosphäre zur Gesamtnettoprimärproduktion etwa 40 - 50 % (Wilhelm 1999).

Diese vielfach höhere spezifische Produktivität hat ihre Ursache nicht in einer geringeren Limitierung durch Umweltfaktoren im aquatischen Milieu, sondern wird durch einen wesentlich höheren Durchsatz der vorhandenen Biomasse hervorgerufen. So können sich unter optimalen Bedingungen Algen bis zu einmal am Tag teilen und damit enorme Wachstumsleistungen erzielen. Diese hohen spezifischen Wachstumsraten erklären sich damit, dass der über Photosynthese fixierte Kohlenstoff nicht z.B. in Form von Holz gespeichert sondern sofort in produktive Strukturen eingebaut wird, solange noch Nährstoffe vorhanden sind. Sind diese erschöpft, sterben die Zellen ab und sedimentieren oder gehen in inaktive Dauerstadien über. Ein großer Teil des Kohlenstoffs aus der Biomasse der

Primärproduzenten wird aber auch durch mikrobiellen Fraß wieder zu Kohlendioxid remineralisiert und so direkt dem Kohlenstoffkreislauf wieder zugeführt.

Der in der Sedimentationsmasse gebundene Kohlenstoff wird für geologische Zeiträume dem Stoffkreislauf entzogen. Deshalb ist das sedimentierende Phytoplankton eine der wichtigsten Kohlenstoffsinken überhaupt, die für die Stabilisierung des Weltklimas eine kaum zu unterschätzende Bedeutung hat.

2.1.1 Ablauf der Photosynthese

Die Photosynthese der Algen verläuft nach dem selben Prinzip, das für die Pflanzen der Atmosphäre bekannt ist. Nachdem das Kohlendioxid in die Zelle diffundiert ist, wird diese im Calvin-Zyklus, der aus mehreren enzymatischen Reaktionen besteht, fixiert, wobei der Kohlenstoff über Phosphoglycerinsäure (PGA) und Glycerinaldehydphosphat (GAP) letztendlich der Synthese von Kohlenhydraten und anderen Bestandteilen der Zelle bereitgestellt wird (Abbildung 2.1; C₃-Photosyntheseweg).

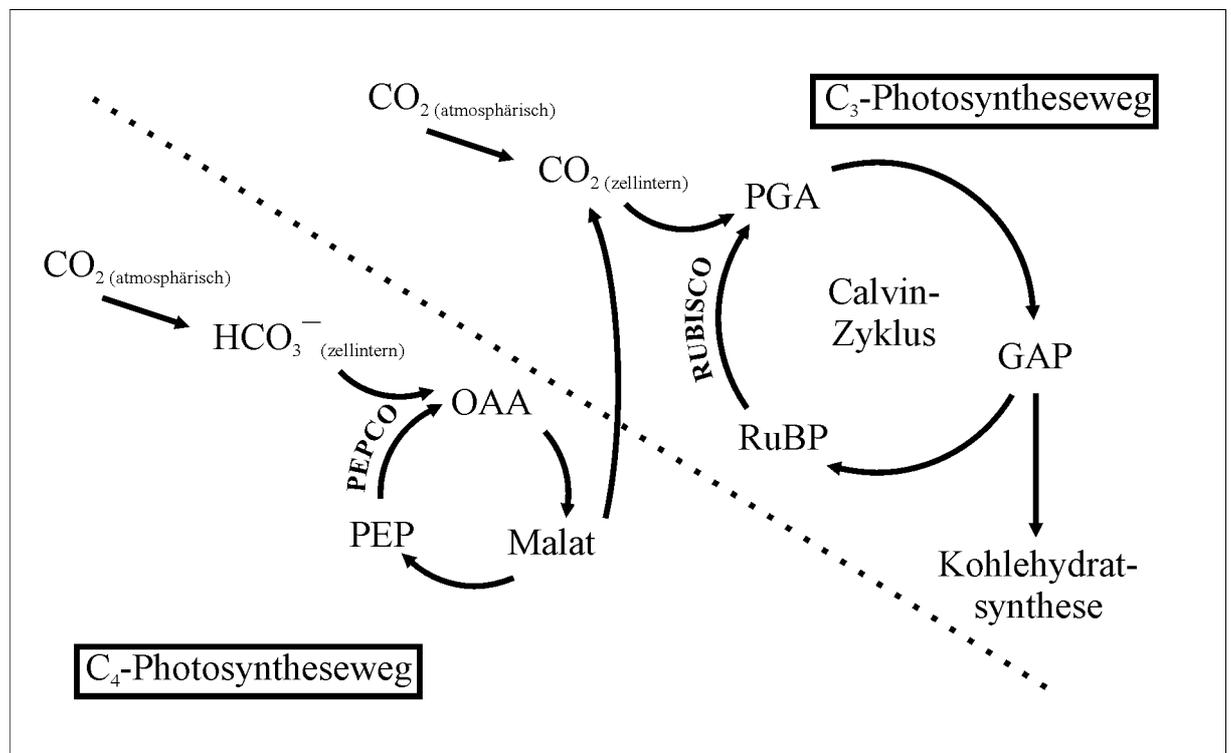


Abbildung 2.1: Schematische Darstellung der C₃- und C₄-Photosynthesewege.

Die Carboxylierung von Ribulosebisphosphat (RuBP) wird durch das Enzym Ribulosebisphosphatcarboxylase (RUBISCO) katalysiert. Das Carboxylierungsprodukt zerfällt sofort in zwei Moleküle Phosphoglycerinsäure, deren

Kohlenstoffgerüst aus 3 Atomen besteht. Daraus leitet sich die Bezeichnung C₃-Pflanze für die Arten ab, die nach diesem Prozess die Kohlenstoff-Fixierung durchführen.

Dagegen verwenden die sogenannten C₄-Pflanzen einen Zweistufen-Prozess, der mit der Carboxylierung von Phosphoenolpyruvat (PEP) durch die Phosphoenolpyruvatcarboxylase (PEPCO) zu Oxalessigsäure (OAA), einer C₄-Verbindung beginnt (Abbildung 2.1; C₄-Photosyntheseweg). Dabei wird von PEPCO nicht Kohlendioxid, sondern Hydrogencarbonat als Substrat verwendet. Im Laufe dieses Prozesses wird durch die Decarboxylierung von Malat das Pyruvat regeneriert und das Kohlendioxid zellintern dem Calvin-Zyklus übergeben.

Bei den CAM-Pflanzen (Crassulacean Acid Metabolism) liegt eine Kombination der Enzymaktivitäten von PEPCO und RUBISCO vor. Während der Nachtstunden wird das Kohlendioxid über PEPCO in Form von OAA gespeichert, und am Tage durch die selbe Enzymreaktion in umgekehrter Reaktionsrichtung dem Calvin-Zyklus zugeführt. Im Gegensatz zum C₄-Metabolismus liegt hier also mehr ein Zweizeiten-Prozess vor. Die Assimilation während der Nachtstunden und die endgültige Fixierung des Kohlendioxids am Tage hat Vorteile in heißen trockenden Gegenden, da am Tage der Wasserverlust über die Stomata der Blätter verhindert werden kann.

2.1.2 Exkretion von DOM durch Phytoplankton

Das Phytoplankton gibt zu einem nicht unerheblichen Teil die aufgebaute Biomasse als gelöste organische Substanz (DOM) in das umgebende Medium ab. Dieses als Exsudat bezeichnetes Material dient heterotrophen Organismen wie Bakterien als Energiequelle, und ist damit ein Bestandteil des Microbial Loop (Iturriaga und Zsolnay 1981, Riemann et al. 1982).

Die Angaben über den Anteil der Exsudate an der durch Photosynthese aufgebauten Biomasse variieren je nach Untersuchung von 3 - 30 % (Fogg 1977, Mague 1980, Lancelot 1984). Es wird aber deutlich, dass in der Exkretion von organischem Material ein Grund für den großen Umsatz von Kohlenstoff in der Hydrosphäre zu sehen ist. Die physiologische Bedeutung der Exsudation ist noch nicht vollständig geklärt. Neben der Abgabe als Ausscheidungsprodukte innerhalb des Stoffwechsels

können die organischen Substanzen ebenso durch „Schwitzen“, d.h. durch Verlust von Material der Zellwand, abgegeben werden.

Fogg (1983) interpretiert die Exkretion als Abgabe überschüssigen Zellmaterials, wenn die Photosyntheserate des Planktons den Bedarf an Kohlenstoff für den Unterhalt des Stoffwechsels übersteigt. Dieser Mechanismus würde aber bedeuten, dass das Mehrangebot an organischer Substanz eine Konkurrenzsituation durch die vermehrte Stimulation des Bakterienwachstums hervorrufen würde (Azam 1983, Bratbak und Thingstad 1985). Gegen eine Ausscheidung von überschüssigem Kohlenstoff spricht auch der Umstand, dass Phytoplankton-Exsudate zu einem großen Teil aus niedermolekularen Verbindungen bestehen, die sehr viele Aminosäuren enthalten. Damit ist der Stickstoffgehalt der Exsudate dementsprechend hoch (Mague 1980, Søndergaard und Schierup 1982).

2.1.3 Mikrobielle Verfügbarkeit des DOM

Die Verfügbarkeit von DOM zur Energiegewinnung für heterotrophe Mikroorganismen ist abhängig von der chemischen Zusammensetzung des DOM sowie der Konzentration anorganischer Nährstoffe und anderen Umweltbedingungen wie Temperatur und pH-Wert. Immer wieder wird aber auch die Molekulargewichtsverteilung und damit die Zusammensetzung der Molekülgrößen des DOM als einer der wichtigsten Faktoren betrachtet. Saunders (1976) formulierte ein Modell, nachdem einfache organische Moleküle innerhalb von Stunden abgebaut werden, während Material höherer Molekulargewichtsgröße das der Exkretion des Phytoplanktons entstammt, einige Tage bis Wochen zum Abbau benötigt. Andere höhermolekulare Teile des DOM benötigen gar Monate oder mehr um abgebaut zu werden.

Tranvik (1990) dagegen untersuchte die Nutzung des DOM durch Bakterien in huminstoffreichen Seen und fand, dass das Bakterienwachstum zu 48 % durch HMW-DOC (>10 kDa) aber nur zu 22 % durch LMW-DOC (<1 kDa) erfolgte. In der Mündungszone des Mississippi zeigten Gardner et al. (1997), dass eine enge Verbindung zwischen der Produktion des Phytoplanktons und der erhöhten mikrobiellen Verfügbarkeit von HMW-DOM zu beobachten ist. Sie fanden, dass in diesem Ökosystem durch die Exkretion von LMW-DOM während der Photosynthese die mikrobielle Nutzung des HMW-DOM angeregt wird. Auch Amon und Benner

(1996) zeigten allgemein für marine als auch limnische Systeme, dass die bakteriellen Wachstums- und Atmungsraten mit HMW-DOM (>1 kDa) als Kohlenstoffquelle höher sind, als mit LMW-DOM.

Da diese Ergebnisse der Auffassung widersprechen, dass LMW-DOM verfügbarer ist für den mikrobiellen Abbau als HMW-DOM, nahmen Amon und Benner an, dass es sich bei dem leichter verfügbaren HMW-DOM um ein stärker bioreaktives und weniger gealtertes Material handelt. Ein schneller Abbau bedeutet allerdings, dass das HMW-DOM entsprechend seiner Nutzung durch die Bakterien innerhalb von Stunden bis Tagen nachgeliefert, also neu gebildet werden muss. Eine solche Quelle bietet nur die Exkretion des Phytoplanktons während der Photosynthese, da dabei nicht nur LMW-DOM sondern auch HMW-DOM freigesetzt wird (Sundh 1992).

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Frage, inwieweit refraktäres DOM durch die Neubildung von Phytoplankton-Exsudaten für den mikrobiellen Abbau aktiviert wird. Dabei soll versucht werden, die Abläufe Exkretion, Alterung und Abbau experimentell voneinander zu trennen, um einen näheren Einblick in die Dynamik des Stoffumsatzes zwischen den verschiedenen Molekulargewichtsfractionen zu erhalten.

Zu diesem Zweck bietet sich die Untersuchung des Kohlenstoffes an, da dieser ubiquitär im DOM vorhanden ist, und neben der Konzentrationsmessung durch die Bestimmung des Verhältnisses der stabilen Isotope ^{13}C und ^{12}C die Möglichkeit bietet, zwischen Material unterschiedlicher Genese zu unterscheiden.

2.2 Die Summenparameter Kohlenstoffgehalt und $\delta^{13}\text{C}$ -Wert im POM und DOM

Natürliche, gelöste Wasserinhaltsstoffe (DOM) zeigen eine kontinuierliche Verteilung der Moleküle bezüglich Masse und Größe. DOM besteht aus Molekülen, die nach der gebräuchlichen Definition (Thurman 1985) einen Filter mit 0,45 μm Porengröße passieren können. Die Definition umfasst keine einheitliche Stoffklasse, sondern ist ein Sammelbegriff für eine Vielzahl von einfachen Molekülen bis zu mehreren 10.000 Dalton großen, komplexen Makromolekülen, die je nach Abstammung und Umweltbedingungen veränderliche chemische Strukturen und Eigenschaften aufweisen (Malcom 1990).

DOM wird mit Methoden der Adsorptionschromatographie nach Sorptions- und

Desorptions-Eigenschaften bei verschiedenen pH-Werten in Stoffklassen unterteilt. Die Unterscheidung beruht auf der Kapazität des nicht ionischen XAD-8 Harzes, organische Moleküle zurückzuhalten. Je nach Elutionsmittel wird eine basische, neutrale oder saure Fraktion unterschieden. Zu der Gruppe der hydrophoben Säuren zählen Huminstoffe, die weiter in Huminsäuren (HA) und Fulvinsäuren (FA) unterteilt werden. Die FA unterscheiden sich von den HA hauptsächlich durch ihre geringere mittlere Molekülgröße sowie durch ihre unterschiedliche Löslichkeit bei Protonierung der sauren funktionellen Gruppen. Beim Ansäuern werden FA und HA zunehmend hydrophober. Bei einem pH-Wert zwischen 1 und 2 bilden die HA einen Niederschlag, während die FA in Lösung bleiben. Als FA werden deshalb die Makromoleküle definiert, die bei pH 2 an XAD-8 Harz adsorbieren und im alkalischen Bereich (pH 13) eluieren (Thurman und Malcolm 1981).

Dem Element Kohlenstoff kommt bei der Betrachtung biogeochemischer Prozesse eine besondere Rolle zu. Neben dem Kohlenstoffgehalt von POM und DOM wird zur Charakterisierung der Wasserinhaltsstoffe immer öfter das Verhältnis der stabilen Kohlenstoffisotope ^{13}C und ^{12}C herangezogen. Dadurch ist man in der Lage, den Weg den der Kohlenstoff innerhalb des Kohlenstoffkreislaufes nimmt aber auch die Genese der Kohlenstoff-Verbindungen zu bestimmen.

2.2.1 Der Kohlenstoffgehalt organischer Materie in aquatischen Systemen

Der größte Teil der in Binnengewässern vorkommenden organischen Substanz ist gelöst. Die Konzentration des gelösten organischen Kohlenstoffs (DOC) liegt in klaren, humusarmen Binnengewässern im Bereich von 2 - 25 mgC/L und steigt mit zunehmender Trophie an. In solchen Gewässern liegt das Verhältnis zwischen gelöstem und partikulärem Kohlenstoff (POC) meist bei 6:1 bis 10:1 (Wetzel 1991). Humose Gewässer haben DOC-Konzentrationen, die etwa eine Zehnerpotenz höher liegen. Quellen des DOC sind Exkretion durch lebende Organismen, die Autolyse sowie der Abbau abgestorbener Organismen sowie der allochtone Eintrag. Die DOC-Konzentrationen, die man im Meer findet sind sehr viel geringer als in den Binnengewässern, und liegen im Bereich von etwa 0.5 mgC/L.

Neben der Konzentration des DOC variiert auch der Kohlenstoffgehalt von DOM und POM. Zwar ist der Kohlenstoff immer das dominierende Element, da aber ebenso Stickstoff, Sauerstoff und Wasserstoff neben weiteren Elementen (S, P, Halogene) in

organischer Substanz zu finden sind, ist der Anteil des Kohlenstoffs an der Gesamtmasse von der chemischen Zusammensetzung des DOM oder POM abhängig.

Elementaranalytische Untersuchungen von Humin- und Fulvinsäuren haben ergeben, dass sich der Kohlenstoffgehalt bei den Fulvinsäuren um einen Wert von 40 - 50 % bewegt, während man bei den Huminsäuren einen Kohlenstoffgehalt von 50 - 60 % gefunden hat (Frimmel und Geywitz 1983). Der Grund des variierenden Kohlenstoffgehaltes ist aber im unterschiedlichen Gehalt an Sauerstoff zu sehen, da das Grundgerüst sowohl der Humin- als auch der Fulvinsäuren aus Kohlenstoff besteht.

Betrachtet man sich andere organische Stoffklassen, die sowohl im DOC als auch im POC auftreten, so sind auch hier große Unterschiede im Kohlenstoffgehalt festzustellen. Lipide haben aufgrund ihrer chemischen Natur einen relativ hohen Kohlenstoffgehalt, während er bei Proteinen und Polysacchariden dementsprechend niedriger ist.

2.2.2 Das Verhältnis der stabilen Isotope in organischem Material

Die in der Natur auftretenden Schwankungen des Verhältnisses stabiler Isotope sind in der Regel klein. Die Messung der absoluten Isotopenverhältnisse in einer Probe ist nur selten erforderlich. Daher werden die Isotopenverhältnisse einer Probe relativ zu einem international anerkannten Standard massenspektrometrisch bestimmt und die Differenz in Promille angegeben. Dieses Vorgehen gewährleistet zudem die Vergleichbarkeit der Daten.

$$\delta_{\text{Probe}} = \frac{R_{\text{Probe}} - R_{\text{Standard}}}{R_{\text{Standard}}} \cdot 1000$$

R steht hier für das massenspektrometrisch gemessene Isotopenverhältnis ($^2\text{H}/^1\text{H}$, $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$, $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ etc.) in der Probe bzw. des Standards, wobei die Menge des schwereren Isotopes stets im Zähler steht. Proben mit positiven δ -Werten sind demnach im Vergleich zum Standard mit dem schwereren Isotop angereichert. Negative δ -Werte bedeuten dagegen, dass die Probe im Vergleich zum Standard an

dem schweren Isotop abgereichert sind. Wegen den sich daraus ergebenden geringfügigen Massenunterschiede wird bei Vergleichen oft von „schwereren“ oder „leichteren“ δ -Werten gesprochen.

Für $\delta^{13}\text{C}$ -Messungen wird der Pee Dee Belemnite (PDB) Standard verwendet (Craig 1953), welcher allerdings nicht mehr erhältlich ist (siehe Kapitel 3.5.1). Für Wasserstoff und Sauerstoff findet das Vienna Standard Mean Ocean Water (V-SMOW) (Gonfiantini 1978) und für Stickstoff das Isotopenverhältnis des Luftstickstoffes als Standard Anwendung (Mariotti 1983).

Schwankungen von Isotopenverhältnissen in der Natur entstehen durch die Massenabhängigkeit der Bindungsenergie von Atomen in einem Molekül. Aber auch die Reaktionskonstanten von physikalischen, chemischen und biochemischen Prozessen sind von den Massen der beteiligten Atome und der Bindungsart abhängig. Die Änderungen des Isotopenverhältnisses bei Phasenübergängen oder bei chemischen Reaktionen werden als Isotopenfraktionierung bezeichnet. In natürlichen Systemen treten zwei verschiedene Typen von Isotopenfraktionierungen auf, wobei es sich zum einen um Gleichgewichtsprozesse und zum anderen um kinetische Prozesse handelt.

Isotopengleichgewichte können ebenso wie chemische Gleichgewichte durch Austauschreaktionen beschrieben werden. Der Einfachheit halber werden Isotopenreaktionen so beschrieben, dass nur jeweils die Isotopen eines Elementes in die Reaktionsgleichung aufgenommen werden (Fritz und Fontes 1980, Moser und Rauert 1980). Gleichgewichtsreaktionen zwischen zwei oder mehr Reaktionspartnern sind thermodynamische Prozesse, wobei Hin- und Rückreaktion gleich schnell ablaufen. Wie bei chemischen Reaktionen gilt dabei das Massenwirkungsgesetz. Der Isotopenfraktionierungsfaktor α ist im Isotopengleichgewicht proportional zu der chemischen Gleichgewichtskonstanten k , wobei beide temperaturabhängig sind. Der Fraktionierungsfaktor α zwischen einem Reaktanten A und seinem Reaktionsprodukt B wird definiert als:

$$\alpha_{A/B} = \frac{R_A}{R_B}$$

Mit der Definition des δ -Wertes folgt daraus:

$$\alpha_{A/B} = \frac{(1000 + \delta_A)}{(1000 + \delta_B)}$$

Da der Fraktionierungsfaktor α meist nur wenig von 1 abweicht, wird die Isotopenfraktionierung ε eingeführt. Sie beschreibt die Abweichung vom Gleichgewichtsquotienten ($\alpha = 1$) in Promille:

$$\varepsilon_{A/B} = (\alpha_{A/B} - 1) \cdot 1000$$

Für $\alpha \approx 1$ gilt $(\alpha - 1) \approx \ln(\alpha)$ und es können folgende Gleichungen in guter Näherung verwendet werden:

$$\varepsilon_{A/B} \approx 1000 \cdot \ln(\alpha_{A/B}) \approx \delta_A - \delta_B$$

Für $\delta_A - \delta_B < 10 \text{ ‰}$ ist der Fehler der Näherung kleiner als 0.05 ‰ (Friedman und O'Neil 1977).

Das Ausmaß der Fraktionierung hängt zusätzlich davon ab, ob die Ausgangsstoffe in einem offenen System ständig nachgeliefert werden und daher praktisch unbegrenzt vorhanden sind oder ob in einem geschlossenen System der Vorrat der Ausgangsstoffe ständig abnimmt. In einem offenen System bleibt die isotopische Zusammensetzung der Ausgangsstoffe nahezu konstant, und der Isotopenfraktionierungsfaktor α verändert sich im Laufe der Reaktion nicht. In einem geschlossenen System dagegen verringert sich die Konzentration der Ausgangsstoffe stetig, wobei sich die isotopische Zusammensetzung verändert, da bevorzugt die leichteren Isotope reagieren. Unter der Voraussetzung, dass der Fraktionierungsfaktor während der Reaktion konstant bleibt, können die Isotopenverhältnisse in Form einer Rayleigh-Destillations-Gleichung beschrieben werden (Nakai und Jensen 1964):

$$R_t(A) = R_0(A) \cdot f^{(1-\alpha)}$$

$$R_t(B) = \alpha \cdot R_t(A)$$

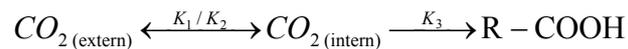
Die Isotopenverhältnisse des Eduktes $R_t(A)$ und des Produktes $R_t(B)$ zum Zeitpunkt t berechnen sich aus dem Isotopenverhältnis des Ausgangsproduktes $R_0(A)$, dem Fraktionierungsfaktor α und dem Faktor f , der den noch verbleibenden Anteil des Ausgangsproduktes angibt.

Für das in Kapitel 4.3 beschriebene Kohlensäure-Gleichgewicht bedeutet dies z.B., dass es während des Lösens des Kohlendioxids und der Gleichgewichtsreaktion zu Hydrogencarbonat und Carbonat zu einer Isotopenfraktionierung kommt. Atmosphärisches CO_2 hat heute einen $\delta^{13}\text{C}$ -Wert von ca. -7‰ bis -8‰ PDB (Deines 1980). Der Fraktionierungseffekt beim Übergang vom atmosphärischen CO_2 in gelöstes CO_2 ($\text{CO}_{2\text{aq}}$) beträgt lediglich 1‰ , während bei der Hydratation im Gleichgewicht Fraktionierungen von $7,9$ bis $10,2\text{‰}$ im Temperaturbereich von 5 bis 25 °C vorkommen (Mook et al. 1974). Deuser und Degens (1967) bestimmten bei Temperaturen von 0 bis 30 °C Isotopenfraktionierungen von $6,8$ bis $9,2\text{‰}$.

Kinetische Fraktionierungseffekte verlaufen in der Regel nur in eine Richtung. Sie hängen von der relativen Geschwindigkeit der chemischen Reaktion für die betroffenen Isotope ab. Ein Gleichgewicht stellt sich im allgemeinen nicht ein. Ein Beispiel hierfür sind biochemische Prozesse (Fritz und Fontes 1980). Bei kinetischen Isotopenprozessen ist generell die Reaktion des leichten Isotopes schneller und wird daher im Reaktionsprodukt angereichert. Biochemische Reaktionen werden von intrazellulär gebildeten Enzymen katalytisch gesteuert. Sie laufen meist über eine Vielzahl von Zwischenstufen mit einer Vielzahl von Sekundärprodukten ab. Dabei können verschiedene Enzyme intra- und extrazellulär beteiligt sein, die jeweils eigene zum Teil gegenläufige Isotopenfraktionierungen verursachen. Daher können für solche Prozesse häufig nur Bereiche für Fraktionierungsfaktoren und Isotopenverhältnisse der daran beteiligten Stoffe angegeben werden.

Kohlendioxid-fixierende Organismen wie Phytoplankton und höhere Pflanzen lagern die Kohlenstoffisotope nicht in dem vorherrschenden Isotopengleichgewicht zwischen gelöstem Kohlendioxid und Hydrogencarbonat ein. Vielmehr führen Aufnahme und Diffusion in die Zelle und die enzymatische Fixierung des Kohlendioxids zu einer Anreicherung von ^{12}C im Organismus.

Nach Park und Epstein (1976) können diese Schritte vereinfacht folgendermaßen dargestellt werden:



Die CO_2 -Aufnahme und die intrazelluläre Diffusion ist ein reversibler Prozess (K_1/K_2) und führt zu einer relativ geringen Fraktionierung von -4 ‰. Dagegen entstehen bei dem irreversiblen Vorgang der CO_2 -fixierenden Carboxylierung (K_3) Isotopenfraktionierungen von -20 bis -40 ‰ (O'Leary 1981).

Bei den drei möglichen Synthesewegen in Pflanzen finden unterschiedliche Isotopenfraktionierungen statt. Während der Fixierung im Calvin-Zyklus bildet sich in einem Kreislauf mit dem Enzym Ribulosebisphosphat-Carboxylase (RUBISCO) Phosphoglycerinsäure (C_3 -Pflanzen; siehe Kapitel 2.2.1), welche über Zwischenstufen Kohlenhydrate liefert. C_3 -Pflanzen zeigen $\delta^{13}C_{POC}$ -Werte von -22 bis -34 ‰ (Descolas-Gros und Fontugne 1985).

Im Gegensatz dazu zeigen die weniger häufigen C_4 -Pflanzen schwerere $\delta^{13}C_{POC}$ -Werte zwischen -9 und -23 ‰ (Rounick und Winterbourn 1986; Schidlowski 1988). Die Carboxylierung erfolgt hier über Phosphoenolpyruvat-Carboxylase (PEPCO), wobei Oxalessigsäure gebildet wird. Nach der Decarboxylierung des Malats tritt das Kohlendioxid in den Calvin-Zyklus ein .

Von geringerer Bedeutung sind CAM-Planzen (CAM, Crassulacean Acid Metabolism), die während der Dunkelzeiten über PEPCO Kohlendioxid aufnehmen, welches tagsüber nach der Decarboxylierung des Phosphoenolpyruvates durch RUBISCO refixiert wird. Es kommt also zu einer Speicherung des Kohlendioxids während der Nacht. Dadurch ist die Pflanze in der Lage, Kohlendioxid-Assimilation und -Fixierung zeitlich zu trennen, was an den trockenen Standorten der Pflanzen einen Vorteil bringt, da tagsüber durch schließen der Stomata die Transpiration verhindert wird. Einige CAM-Pflanzen sind dazu in der Lage, zusätzlich während des Tages C_3 -Zyklus-Photosynthese zu betreiben. Daher zeigen CAM-Pflanzen $\delta^{13}C_{POC}$ -Werte, die im gesamten Bereich von denen der C_3 - und C_4 -Pflanzen liegen.

Die sich der Kohlendioxid-Fixierung anschließenden Synthesewege zum Aufbau der Zelle verursachen je nach Umsatzgeschwindigkeit weitere Isotopenfraktionierungen, so dass sich für einzelne organische Substanzklassen

(Aminosäuren, Kohlenhydrate, Lipide) unterschiedliche $\delta^{13}\text{C}$ -Werte ergeben (Degens 1969).

3 Methodik

3.1 Vorbereitung der Arbeitsmittel

Die zum Teil geringen Kohlenstoffgehalte der Proben erfordern eine sorgfältige Vorbehandlung der Probengebinde und verwendeten Geräte, um eine Kontamination der Proben und Verfälschung der Messergebnisse durch Kohlenstoffanhaftungen und Adsorption der gelösten Bestandteile an den Gefäßwandungen auszuschließen (Kaiser 1990).

3.1.1 Reinigung der Probengebinde

Die einfachste Art, Glasbinde von Kohlenstoffanhaftungen zu befreien, ist das Glühen im Muffelofen bei 500 °C für mindestens 5 h. Diese Prozedur wurde auf sämtliche Glasgeräte, mit denen der Muffelofen beschickt werden konnte, angewendet. Dazu zählen Autosampler-Vials, Brech-Ampullen und Probenflaschen sowie Duranglas-Ampullen für die Feststoff-Verbrennung (siehe Kapitel 3.4.3). Glasfaser- und Aluminiumoxid-Filter wurden vor der Verwendung mit der selben Prozedur gereinigt.

Zuvor wurden die Glasgeräte zur Vermeidung von Adsorptionen an deprotonierten Silanolgruppen des Glases 12 h mit 1 M Salzsäure behandelt und anschließend mit Reinstwasser (MilliQ) gespült und getrocknet.

3.1.2 Reinigung der Arbeitsmittel

Da im Rahmen der Arbeit Maßgeräte wie Vollpipetten und Messzylinder sowie größere Probengebinde (> 250 mL) und Reaktoren verwendet wurden, die aufgrund ihrer Empfindlichkeit und Größe nicht gegläht werden konnten, wurde eine Prozedur entwickelt, die Glasgeräte von Kohlenstoffanhaftungen zu befreien.

Dazu wurden die Geräte 24 h mit 1 M NaOH-Lösung behandelt und anschließend mit Reinstwasser gespült. Die anschließende ebenfalls 24-stündige Behandlung mit 1 M Salzsäure diente wie oben der Protonierung der Silanolgruppen des Glases zur Vermeidung von Adsorptionen an der Glaswand.

Sämtliche Arbeitsmittel wie Schläuche, Kapillare und Pipettenspitzen, die aus Kunststoffen und Edelstahl bestanden, wurden zur Reinigung ausgiebig mit

Reinstwasser gespült. Bei der Auswahl der Kunststoffe wurde auf deren chemische Inertheit (Teflon, PEEK, Tygon) geachtet.

3.2 Probenahmen

3.2.1 POC-Proben

Proben zur Bestimmung des POC und des $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Wertes wurden auf den zur Filtration verwendeten Filtern im Trockenschrank bei 60 °C getrocknet. POM-Trockengewichte wurden durch Differenzbildung zwischen den Brutto- und Nettogewichten der Filter erhalten. Zur Entfernung des PIC wurden die Filter mindestens 12 h in einem Exsikkator über rauchender Salzsäure gelagert. Bis zur Analyse wurden die Filter einzeln in Petrischalen im Exsikkator über Trockenmittel aufbewahrt.

3.2.2 DOC-Proben

Proben zur Bestimmung der DOC-Konzentration wurden den Filtraten entnommen, in 1.5 mL Autosampler-Vials aus Braunglas gefüllt und mit 5 μL o-Phosphorsäure 40% auf pH 2 angesäuert. Die Vials wurden mit einer Schraubkappe mit Teflonseptum verschlossen und bis zur Analyse im Kühlschrank aufbewahrt.

Zur Bestimmung des $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wertes wurden 25 mL der Filtrate in Brech-Ampullen aus Braunglas gefüllt und mit 125 μL o-Phosphorsäure 40% auf pH 2 angesäuert. Die Ampullen wurden abgeschmolzen und bis zur Analyse im Kühlschrank aufbewahrt.

3.2.3 DIC-Proben

Proben zur Bestimmung der DIC-Konzentration wurden nach der Probennahme über einen 0.2 μm Nylon-Spritzenfilter direkt in ein 1.5 mL Autosampler-Vial filtriert und sofort ohne Headspace mit einer Schraubkappe mit Teflon/Silikon-Septum verschlossen. Die Proben wurden innerhalb eines Tages analysiert und bis dahin im Kühlschrank aufbewahrt. Die Ansäuerung auf pH 2 mit 5 μL o-Phosphorsäure 40% erfolgte mit einer Spritze durch das Septum direkt vor der Analyse.

3.3 Tangentiale Ultrafiltration

Um Transformation der Phytoplanktonexkrete mit refraktärem DOM über die

Molekulargewichtsfractionen zu verfolgen, wurden die Proben über eine Tangentiale-Flussfiltration ultrafiltriert. Die Tangentiale-Flussfiltration hat gegenüber der Ultrafiltration in einer Druckzelle den Vorteil, dass das Membranfouling, also das Verlegen der Membranporen durch zurückgehaltene Moleküle, durch das ständige Hinwegströmen des Retentats über die Membranfläche verhindert wird. Dadurch wird die Filtration reproduzierbarer und schneller.

In den hier beschriebenen Versuchen wurde eine Ultrafiltrationsanlage der Firma Pall (Minisetze, Polyethersulfon-(PES)-Membran) verwendet, die mit Filtrationskassetten der MWCO 0,2µm, 5kDa und 1kDa ausgerüstet werden konnte. Durch die schonende Filtration wird die Zellysis der Plankter und Mikroorganismen und somit der Übergang von POM in das DOM verhindert. Die Aufbereitung des Kulturmediums für die Speisung der Durchflussreaktoren (siehe Kapitel 3.6.2) wurde ebenfalls mit Hilfe dieser Filtrationsanlage durchgeführt.

Die aus den Versuchen stammenden Proben der Fraktion [$<0.2\ \mu\text{m}$] wurden zunächst über eine Membran mit einem MWCO von 5 kDa und dieses Filtrat anschließend über eine weitere Membran mit einem MWCO von 1 kDa filtriert. Somit erhält man pro Probe drei Molekulargewichtsfractionen von [$<0.2\ \mu\text{m}$], [$<5\ \text{kDa}$] und [$<1\ \text{kDa}$], die mit den oben beschriebenen Methoden analysiert wurden.

Durch Differenzbildung der oben genannten Molekulargewichtsfractionen erhält man die absoluten Molekulargewichtsfractionen [$<0.2\ \mu\text{m} >5\ \text{kDa}$], [$<5\ \text{kDa} >1\ \text{kDa}$] und [$<1\ \text{kDa}$]. Diese Verfahrensweise der Differenzbildung von Messwerten der Filtrate hat sich gegenüber der Analyse der Retentate bewährt, da es trotz der Tangentialfluss-Technik durch Verschleppung von DOC in eine nachfolgende Probe zu einer Verunreinigung der nachfolgenden Proben kommen kann. Durch die relativ hohen Kohlenstoffgehalte der Frischwasser von ca. 2-6-mgC/L ist man nicht wie im Falle von Meerwasser, das sehr viel geringere DOC-Konzentrationen (ca. 0.5 mgC/L) aufweist, auf eine Anreicherung des DOC angewiesen (Köhler 2003).

Es hat sich als wichtig erwiesen, einer Standardmethode bei der Filtration zu folgen. Wie in Abbildung 3.1 zu sehen ist, stellt sich an der Membran über die Filtrationszeit kein Gleichgewicht der Massen im Permeat und Retentat ein. Vielmehr vollzieht sich der Übergang der Moleküle in das Permeat zum Ende der Filtration hin schneller. Um die gesamte Masse der Moleküle, die kleiner als der MWCO der Membran sind, im

Permeat erfassen zu können, ist man daher gezwungen, das Retentat bis auf das Totvolumen der Filtrationsanlage einzuengen.

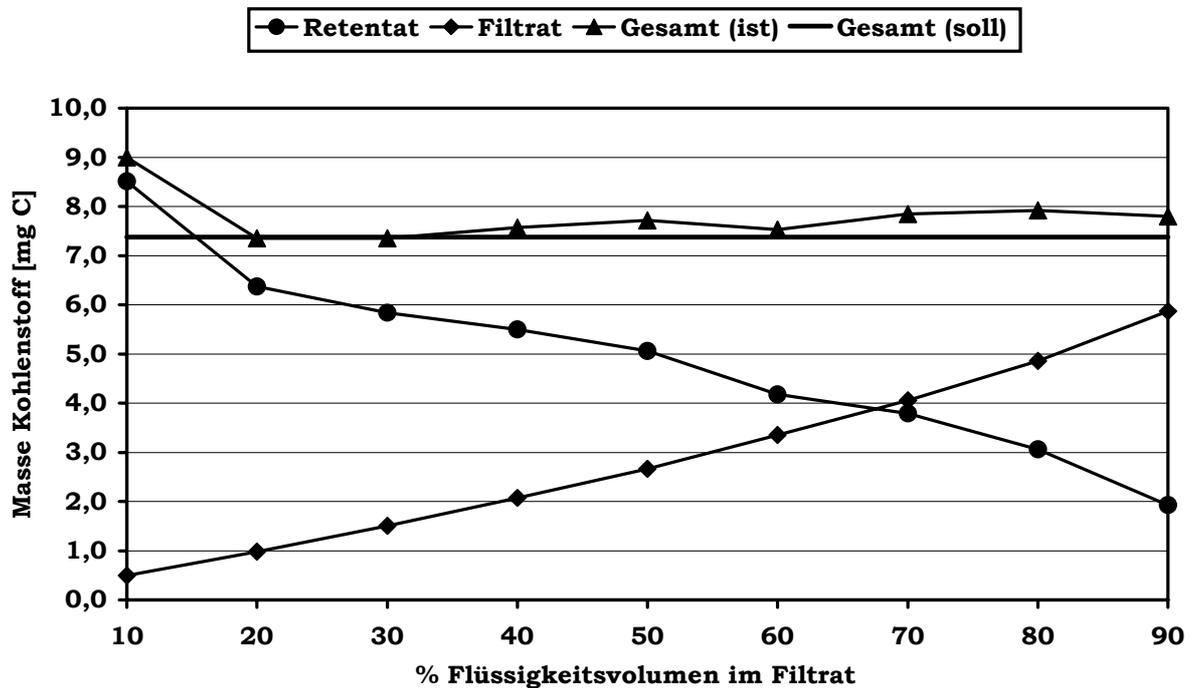


Abbildung 3.1: Massenflüsse vom Retentat zum Permeat über eine Ultrafiltrationsmembran (PES-Membran, Minisette Fa. PALL, MWCO 5 kDa).

Prinzipbedingt verbleibt bei der Tangentialen Ultrafiltration ein Restvolumen der Matrix auf der Retentatseite. Aus diesem Grund wurde die Anlage um einen Retentatbehälter erweitert, der durch seinen geschlossenen Aufbau zum einen gewährleistet, dass die Probe nicht durch die Umgebung kontaminiert und zum anderen das Totvolumen der Filtrationsanlage minimiert wird. Dies wird durch einen Teflonstempel gewährleistet, der den Retentatzylinder nach oben hin abschließt, und so verhindert, dass Umgebungsluft durch die Pumpe angesogen wird (Abbildung 3.2). Durch diese Modifikation konnte das Totvolumen der Retentatseite auf 75 mL verkleinert werden. Da die Anfangs-Volumina der Proben 1 L betragen, können 87 % der Probe auf der Permeatseite der Filtrationsanlage aufgefangen werden. Zu beachten ist, dass durch die Verkleinerung des Volumens um 13 % die im Permeat gemessenen DOC-Konzentrationen um diesen Faktor größer sind, als die reale Konzentration in dieser Fraktion in der Originalprobe. Daher ist es notwendig, sich bei der Berechnung der Verhältnisse des DOC in den Molekulargewichtsfractionen auf den Vergleich der in den Proben gefundenen Massen und nicht der gemessenen

Konzentrationen zu beziehen.

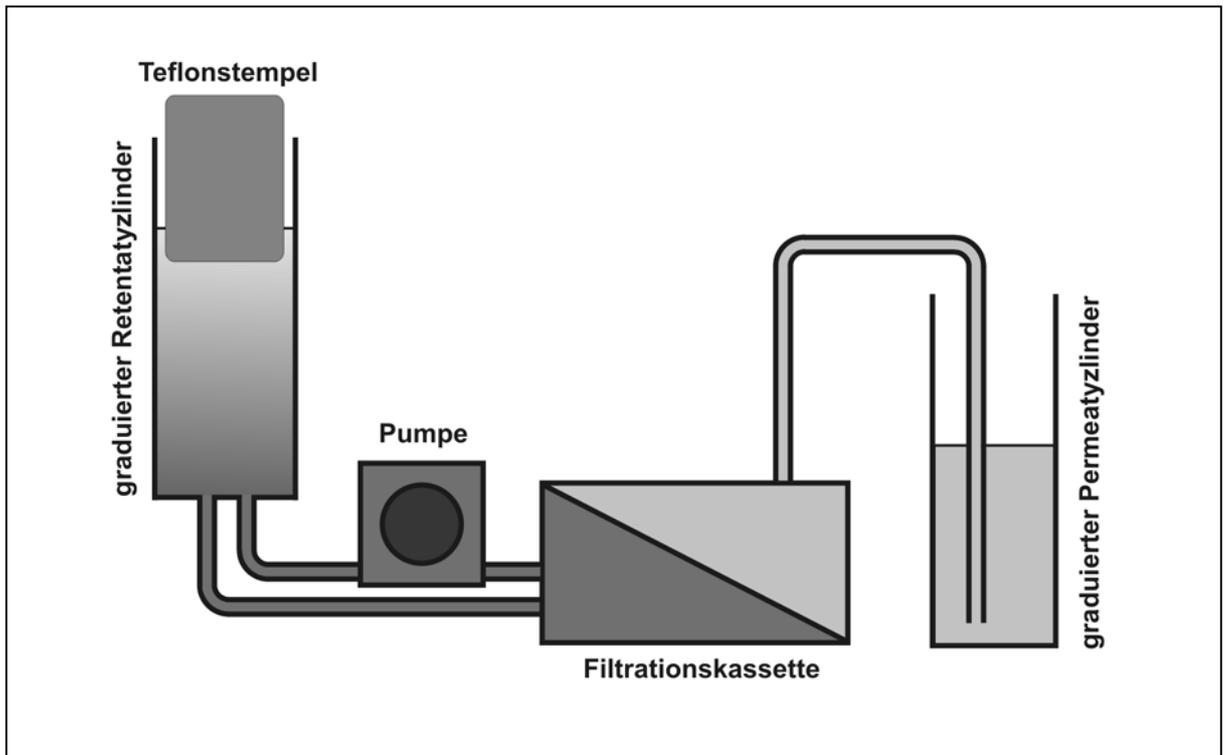


Abbildung 3.2: Schematischer Aufbau der zur Tangentialen Ultrafiltration verwendeten Apparatur.

Bei dem genannten MWCO der Filtrationsmembranen handelt es sich nicht um eine streng definierte Trenngrenze sondern vielmehr um eine Verteilung der Durchlässigkeit der Membran um den MWCO, die von der Struktur und Form der Moleküle und somit von den Inhaltsstoffen der Probe abhängig ist (Ogura 1977). Durch die Anwendung der oben beschriebenen Standardmethode ist die Vergleichbarkeit der Trennungen dennoch gewährleistet, da immer das gleiche Volumen der Proben filtriert wird, wobei durch das definierte Totvolumen der Filtrationsanlage auch das Filtrat ein definiertes Volumen besitzt.

3.4 Bestimmung des Kohlenstoffgehaltes

3.4.1 Elementaranalyse

Als Methode zur Bestimmung des Kohlenstoffgehaltes im POM hat sich die elementaranalytische Untersuchung bewährt. Dazu werden wenige Milligramm organische Substanz, die sich auf einem Filter befinden können, in eine Zinnkapsel eingewogen, und im Analysator bei etwa 1000 °C im Sauerstoffstrom oxidiert. Nach der Reinigung der Verbrennungsgase von unerwünschten Nebenprodukten wie Schwefel- und Halogenverbindungen sowie der Trocknung werden CO₂ und N₂ nach

einer Trennsäule über einen Wärmeleitfähigkeitsdetektor quantifiziert und die Daten gegen einen Sulfanilamid-Standard als %-Gesamtkohlenstoff und %-Gesamtstickstoff protokolliert. Als Analyseneinheit diente ein Nitrogen Analyser 1500 der Firma Carlo Erba.

3.4.2 DOC-Messung

Das Messprinzip bei der Bestimmung der DOC-Konzentration ist bei allen bekannten Verfahren gleich. Das DOC wird dabei nicht direkt vermessen, sondern der im DOM enthaltene Kohlenstoff zunächst zu Kohlendioxid oxidiert, und dieser dann durch einen photometrischen oder Wärmeleitfähigkeitsdetektor in einem Gasstrom quantifiziert (Wölfel 1974). Grundsätzlich unterscheidet man dabei zwischen den nasschemischen (Beattie et al. 1961) und den thermischen Verfahren (Axt 1969, Van Hall 1963). Bei den nasschemischen Verfahren erfolgt die Umsetzung des Kohlenstoffs zu Kohlendioxid durch die Zugabe eines Oxidationsmittels wie Kaliumperoxodisulfat, Kaliumdichromat oder Kaliumpermanganat. Nach der Oxidation wird das in der Reaktionslösung vorhandene Kohlendioxid durch ein Inertgas ausgetrieben.

Dagegen handelt es sich bei den thermischen Verfahren um kontinuierliche Prinzipien. Hierbei wird die Probe in einem Ofen bei ca. 850 °C mittels eines Katalysators oxidiert, und das Kohlendioxid durch einen Gasstrom zur Quantifizierung geleitet (Suzuki 1993).

Die Methode der UV-Oxidation zur Bestimmung der DOC-Konzentration im Frischwasser ist ebenfalls seit langem bekannt. Der Reaktionsmechanismus beruht hierbei auf der photolytischen Spaltung des Wassers in Wasserstoff und Hydroxylradikale als Sauerstoffquelle, die wiederum ihrerseits mit den organischen Wasserinhaltsstoffen reagieren.

Die zunächst entwickelte Batch-Methode (Wölfel 1974) entspricht dabei im Aufbau der nasschemischen Oxidation. Die UV-Strahlungsquelle ist eine Niederdruck-Quecksilberdampf-Lampe, die zwei Wellenlängen mit 254 und 185 nm emittiert. Die Nachteile der Batch-Verfahren liegen in der diskontinuierlichen Probenaufgabe und der langen Analysenzeit, wodurch ein nur geringer Probendurchsatz erreicht wird. Gemein ist allen zuvor beschriebenen Verfahren die zur Probenvorbereitung dazugehörige Entfernung des DIC, der die Messwerte des DOC verfälschen würde.

Dies wird im Allgemeinen durch Ansäuern der Probe auf pH 2 und anschließende Durchleitung eines Inertgases, wodurch das als freies Kohlendioxid vorliegende DIC ausgetrieben wird, bewerkstelligt.

Im Gegensatz dazu vereint die UV-Dünnschicht-Oxidation die Vorteile der UV-Oxidation wie eine niedrige Nachweisgrenze und gute Reproduzierbarkeit mit den Vorzügen einer Online-Bestimmungsmethode. Die ersten Reaktoren dieser Bauart wurden 1980 von der Fa. Gränzel (Karlsruhe) hergestellt und vertrieben. Der Schematische Aufbau des Reaktors und der Peripherie ist in Abbildung 3.3 gezeigt.

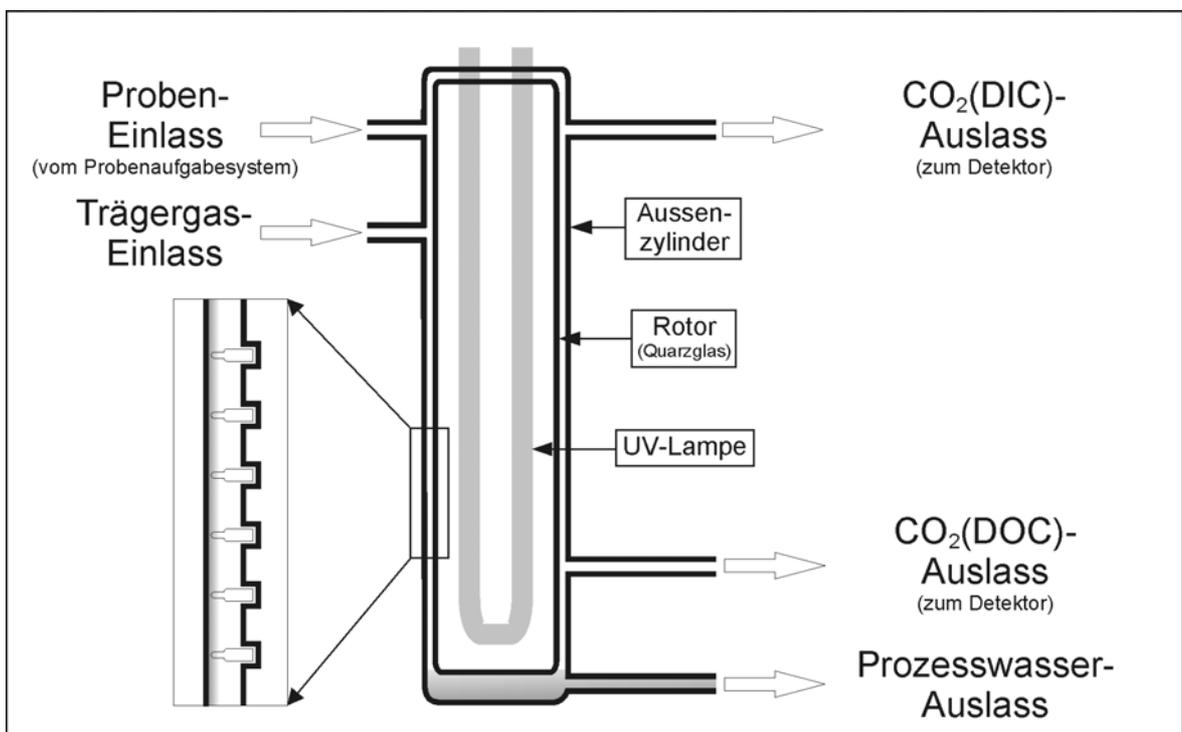


Abbildung 3.3 Schematischer Aufbau des UV-Dünnschicht-Reaktors.

Dabei handelt es sich um eine Modifikation des Original-Reaktors, die eine kontaminationsfreie Probenaufgabe gewährleistet. Der Hauptteil des Reaktors besteht aus einem Rotor von 8 cm Durchmesser, der sich in einem Außenzylinder befindet. Die UV-Lampe befindet sich innerhalb des Rotors, der aus Quarzglas gefertigt ist, so dass die UV-Strahlung durch ihn hindurchdringen kann. Der Reaktor wird beim Betrieb ständig über eine Pumpe mit kohlenstoffarmem Wasser versorgt. Dieses wird mit o-Phosphorsäure auf pH 2 angesäuert und passiert einen Vorratsbehälter, in dem sich eine weitere UV-Lampe befindet, wodurch organische Verunreinigungen oxidiert und durch einen Gasstrom als Kohlendioxid entfernt werden.

Der Flüssigkeitsfilm an der Innenseite des äußeren Zylinders hat je nach eingestelltem Flow der Pumpe eine Dicke von 0.1 bis 0.3 mm und durchläuft eine vertikale Strecke von ca. 40 cm. Dieses Prozesswasser dient zum einen dem Transport der Probe in den Reaktor und zum anderen der Schmierung des Reaktors. Durch Teflonstifte, die in den Rotor eingelassen sind, wird der Flüssigkeitsfilm ständig verrührt, so dass sich die Oberfläche kontinuierlich erneuert. Da die Eindringtiefe von UV-Strahlung im Wasser nur ca. 0.1 mm beträgt (Blume und Güsten 1977), ermöglicht die Verrührung des Flüssigkeitsfilmes eine vollständige Oxidation des organischen Materials im Reaktor.

Das Kohlendioxid, das bei der Oxidation entsteht, wird durch einen Stickstoff-Trägergasstrom aus dem Prozesswasser entfernt. Dieser Gasstrom wird einige Zentimeter unterhalb des Prozesswassers in den Reaktor geleitet und hier in zwei Teilströme aufgespalten. Der obere Teilstrom dient der Entfernung des DIC, da in diesem Teil des Reaktors der Rotor verspiegelt ist, und somit keine UV-Strahlung die Probe erreicht. Der untere Teil des Gasstromes nimmt den Teil des Kohlendioxids auf, der aus der Oxidation des organischen Materials stammt. Da das DIC im Reaktor aus der Probe entfernt wird, vereinfacht sich die Probenvorbereitung, da bei allen anderen Verfahren das DIC vor der Injektion der Probe entfernt werden muss.

Die Gasströme werden getrennt voneinander über eine Wasser- und eine Peltierelement-Kühlung geleitet, wobei das im Reaktor aufgenommene Wasser aus dem Gas kondensiert wird. Nach der Kühlung passieren die Gasströme Flowmeter und Drosselventile, wodurch man in der Lage ist, das Volumen des Trägergases, das den Reaktor in einer Zeiteinheit passiert, getrennt für anorganischen und organischen Anteil des TDC zu regulieren. Bevor die Trägergasströme zur Quantifizierung durch die IR-Detektoren (LI-6252, Fa. Licor) geleitet werden, erfolgt eine weitere Trocknung mittels Absorption des Wassers an Magnesiumperchlorat.

Das Probenaufgabesystem ist der HPLC-Technik nachempfunden und besteht aus einem Autosampler, der über ein 6-Wege-Ventil die Probe aus einer 200 µL-Probenschleife in den Prozesswasser-Strom einbringt. Durch die Online-Entfernung des DIC vor der Oxidation beschränkt sich die Probenvorbereitung auf die Ansäuerung der Probe vor der Injektion auf pH 2.

Mit diesem System ist man in der Lage in einem weiten Konzentrationsbereich DIC- und DOC-Bestimmungen vorzunehmen. Abbildung 3.4 zeigt die Kalibration des Systems in einem Bereich von 0.5 bis 7.8 mgC/L DOC. Injiziert wurden dabei jeweils 200 μ L eines KHP-Standards. Bei einer dreimaligen Injektion jeder Konzentrationsstufe und sechs Kalibrationspunkten erreicht man eine typische Linearität der Kalibrationsgerade von $r^2 > 0.99$. Der Fehler einer Konzentrationsbestimmung bei einer zweimaligen Injektion der Probe beträgt ± 0.1 mgC/L.

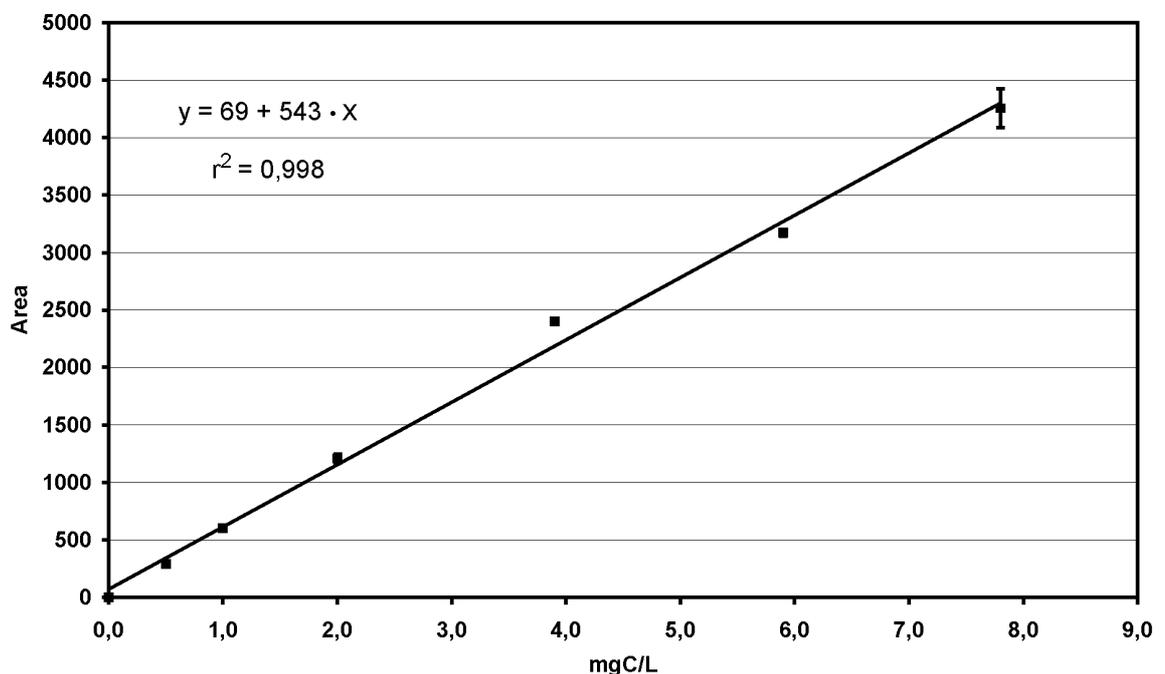


Abbildung 3.4: *Kalibration des UV-Dünnschicht-Reaktors zur DOC-Bestimmung im Konzentrationsbereich 0 - 8 mgC/L.*

3.4.3 DIC-Messung

Die Messung des DIC erfolgte in analoger Weise zur Bestimmung des DOC (siehe Kapitel 3.4.2), wobei der Trägergasstrom des oberen Auslasses des Reaktors zur Quantifizierung durch den IR-Detektor geleitet wurde (Abbildung 3.3). Die Kalibration erfolgte über NaHCO_3 -Standards im Bereich von 0,0 bis 111,5 mgC/L. Die lineare Korrelation der Kalibration betrug typischerweise $r^2 > 0.99$.

3.5 Bestimmung des $\delta^{13}\text{C}$ -Wertes

3.5.1 Messverfahren

Isotopenverhältnisse werden über Massenspektrometer bestimmt, deren Auflösung genügt, um m/z-Verhältnisse aufzulösen die sich um eine Stelle unterscheiden. Da nicht die organischen oder anorganischen Substanzen direkt vermessen werden können, müssen die zu bestimmenden Isotope in ein messbares Gas überführt werden. Für Bestimmung des $\delta^{13}\text{C}$ -Wertes wird der Kohlenstoff im Probenmaterial zu Kohlendioxid oxidiert bzw. im Fall der Bestimmung des $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ -Wertes durch Ansäuern in Kohlendioxid überführt.

Nach der Oxidation wurde das Gas von den Nebenprodukten der Reaktion wie Wasser, Sauerstoff und Stickstoff wie unten (3.5.2) beschrieben gereinigt, und an einem Isotopen-Massenspektrometer MAT 256 der Firma Thermo-Finnigan mit Dual-Inlet vermessen. Alle hier berichteten $\delta^{13}\text{C}$ -Werte beziehen sich auf den internationalen Pee-Dee-Belemnit-Standard (PDB). Da dieser nicht mehr erhältlich ist, wurde als Arbeits-Standard der Standard der Internationalen Atomenergie Behörde in Wien (Vienna-PDB; V-PDB) verwendet, der annähernd identisch mit dem PDB-Standard ist (Ertl 1997).

3.5.2 Kryogene Reinigung des Kohlendioxids

Um das Kohlendioxid, welches bei der Oxidation produziert wird, zur Bestimmung des $\delta^{13}\text{C}$ -Wertes verwenden zu können, muss dieses zunächst von gasförmigen Nebenprodukten wie Wasser, Sauerstoff und Stickstoff getrennt werden. Die Methode, die hier zur Anwendung kommt ist von der Präparation von Kohlendioxid aus Feststoffen bekannt (Boutton 1991a). Es wird dabei eine Vakuum-Linie verwendet, wie sie in Abbildung 3.5 gezeigt ist.

Zu diesem Zweck werden die Verbrennungsgase in die Vakuum-Linie eingeleitet. Werden die Kühlfallen mit flüssigen Stickstoff gekühlt, kondensieren das Wasser und das Kohlendioxid aus. Gase wie Stickstoff, Wasserstoff und Sauerstoff, die nicht oder nur zu einem geringen Anteil kondensieren, werden anschließend durch Evakuieren der Apparatur entfernt. Die verbliebenen Verbrennungsprodukte werden in einer Kühlfalle vereinigt, und diese anschließend mit Aceton, das sich am Gefrierpunkt befindet, auf ca. $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ erwärmt. Dadurch erreicht man eine kryogene Trennung des

Kohlendioxids von den Nebenprodukten. Nach der Kondensation des Kohlendioxids im abgeschlossenen Teil der Apparatur, läßt sich dieses mittels eines Manometers quantifizieren und in eine Ampulle überführen. In dieser Ampulle wird das Kohlendioxid bis zur massenspektrometrischen Analyse aufbewahrt.

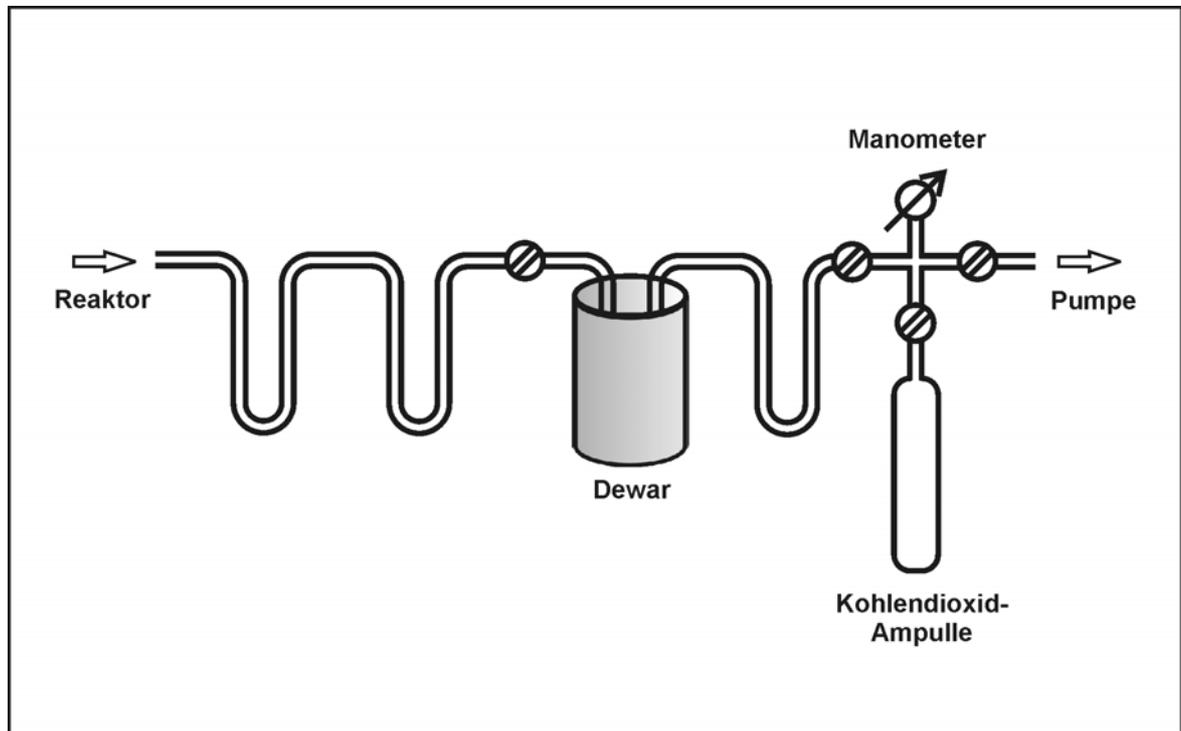


Abbildung 3.5 Schematische Darstellung der bei der $\delta^{13}C_{DOC}$ -Bestimmung zur kryogenen Reinigung des Kohlendioxids verwendeten Apparatur.

Anders als bei der Präparation des Kohlendioxids aus einer Feststoffverbrennung muß das Kohlendioxid bei der Bestimmung des $\delta^{13}C_{DOC}$ -Wertes wie unten beschrieben aus einem fließenden Gasstrom herauspräpariert werden (Kapitel 3.5.4). Aus diesem Grund sind bei der Apparatur zur kryogenen Destillation mehrere Kühlfallen hintereinander angeordnet (Ertl 1997). Dies stellt sicher, dass bis zu 99.99 % des Kohlendioxids aus dem Gasstrom kondensiert werden. Durch eine unvollständige Kondensation des Kohlendioxids würde es zu einer Diskriminierung des $^{12}CO_2$ kommen, wodurch man zu hohe $\delta^{13}C_{DOC}$ -Messwerte erhielte.

3.5.3 Präparation von Kohlendioxid aus POM

Eine einfache und kostengünstige Methode stellt die Verbrennung von POM nach der Trocknung in Duranglas-Ampullen dar (Ertl und Spitzky 2004). Hier wird als Sauerstofflieferant eine Mischung aus Kaliumperoxodisulfat und Silberpermanganat

verwendet. Zuvor wurden wie bei allen Verfahren die anorganischen Kohlenstoffverbindungen durch Behandeln mit Salzsäure oder HCl-Gas entfernt. Die Ampullen wurden über 24 h bei 500 °C geglüht, und das Kohlendioxid nach dem Abkühlen wie in Kapitel 3.5.2 beschrieben von den Nebenprodukten der Verbrennung getrennt.

3.5.4 Methodenentwicklung zur Präparation von Kohlendioxid aus DOM mit der UV-Dünnschichtoxidation

Die Bestimmung des $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wertes aus der flüssigen Phase ist mit einigen Schwierigkeiten wie einer langwierigen Probenvorbereitung und einem großem Probenvolumen verbunden. Da in dem in Kapitel 3.4.2 beschriebenen UV-Dünnschichtreaktor Kohlendioxid aus organischen Wasserinhaltsstoffen produziert wird, muss es prinzipiell möglich sein, dieses Kohlendioxid zur Bestimmung des $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wertes zu verwenden. Zu diesem Zweck wurde der oben beschriebene Reaktor mit einem Probeaufgabesystem erweitert, das gewährleistet, dass die Probe kontaminationsfrei direkt aus dem Probengebinde in den Reaktor eingebracht werden kann (Abbildung 3.6).

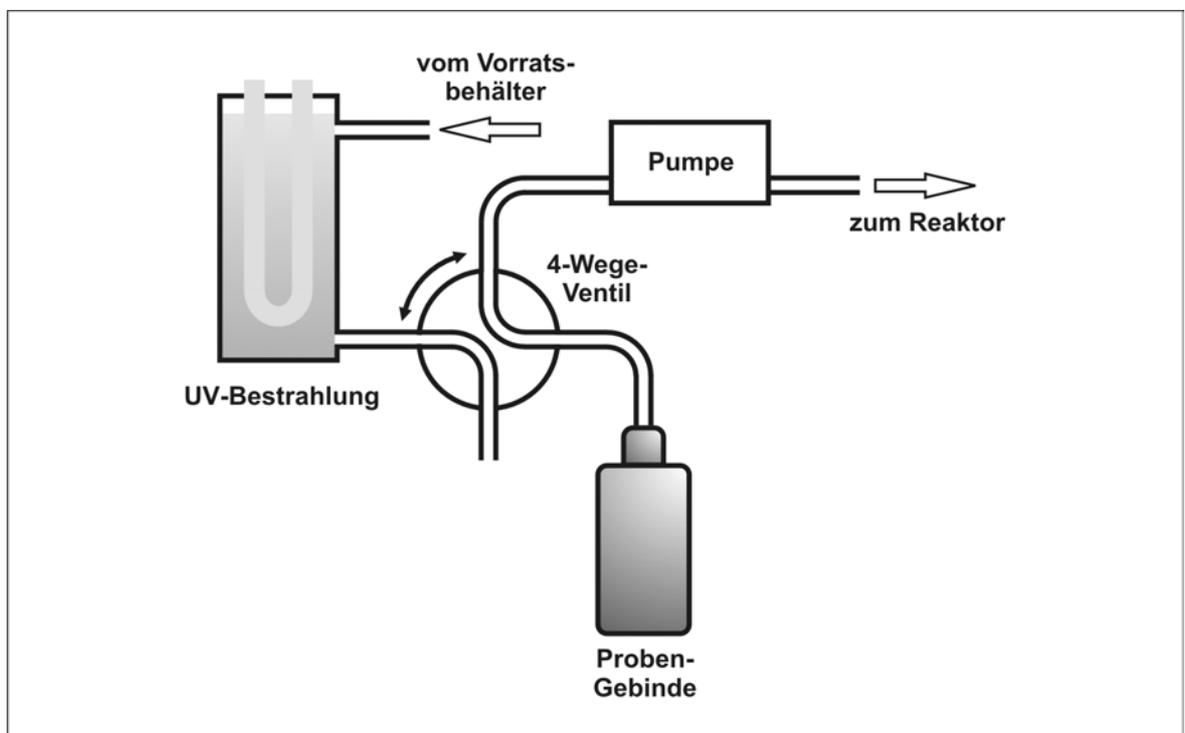


Abbildung 3.6: *Probeaufgabesystem zur Injektion einer DOC-Probe in den Dünnschicht-Reaktor.*

Um mit dem zur Messung des Isotopenverhältnisses verwendeten Massenspektrometer (Thermo-Finnigan MAT 256; Kapitel 3.5.1) einen zuverlässigen Messwert zu erhalten, müssen die Spannungen, die in den Cups der Detektoren erzeugt werden, zwischen 0.5 und 10 V liegen. Die Spannung, die erreicht wird, ist vom Druck des Messgases und damit bei einem vorgegebenen Volumen des Probeaufgabesystems von der Masse des Kohlendioxids im Einlass des Massenspektrometers abhängig. Bei dem verwendeten Probenaufgabesystem bestehend aus Sample-Cracker und Dual-Inlet-System ist eine Masse von ca. 100 µg (8 µmol) Kohlenstoff, was einer Masse von ca. 350 µg Kohlendioxid entspricht, notwendig, um eine Spannung von ca. 2 V in den Cups der Detektoren zu erzeugen. Mit dieser Spannung ist ein $\delta^{13}\text{C}$ -Messwert zu erhalten, dessen Messung einen Fehler von ± 0.1 ‰ PDB besitzt. Bei den zu untersuchenden Frischwasser-Proben liegt die DOC-Konzentration typischerweise in einem Bereich von 5 mgC/L (416 µmolC/L). Um also die oben bestimmte Masse von 350 µg (8.0 µmol) Kohlendioxid zu erhalten, beträgt das nötige Volumen einer DOC-Probe ca. 20 mL.

Es hat sich gezeigt, dass die Kohlendioxid-Konzentration im Trägergas nach 5 min ansteigt. Diese Zeiten sind von dem Inhalt der Probe, bezogen auf Konzentration und Herkunft des DOC, unabhängig. In der entwickelten Standardprozedur der Präparation von Kohlendioxid aus DOC werden nach einem Vorlauf Dewar-Gefäße mit flüssigem Stickstoff unter die Kühlfallen gestellt, womit das Ausfrieren der Reaktionsprodukte beginnt. Nachdem das Probenvolumen restlos in den Reaktor befördert wurde, wird die Vakuum-Linie vom Trägergasstrom abgetrennt und mit der kryogenen Reinigung des Kohlendioxids begonnen.

Betrachtet man den Zeitaufwand der Methode, so verkürzt sich die Präparation einer Probe von der Probenvorbereitung bis zum Vorliegen des meßbaren Kohlendioxids auf etwa eine Stunde. Dies bedeutet gegenüber der Methode des Eindampfens und Dehydratisierens einer DOC-Probe und anschließender Feststoffverbrennung (Kapitel 3.5.3) einen größeren Probendurchsatz. Zudem beträgt das Probenvolumen lediglich 25 mL, gegenüber mehreren 100 mL bei der üblichen Methode. Damit sind Versuche im Labormaßstab mit einer großen Probendichte möglich.

Um eine Bewertung der Tauglichkeit der UV-Dünnschichtoxidation für die Bestimmung des $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wertes vornehmen zu können, muss das Reaktionsprinzip zunächst auf

eine eventuelle Isotopen-Fraktionierung hin untersucht werden. Des Weiteren muss ausgeschlossen werden, dass es bei der Präparation zweier Proben, die sich in ihrem $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wert unterscheiden, zu einem Memoryeffekt kommt. Dies wird durch eine Verschleppung des DOC oder des Kohlendioxids der ersten in die nachfolgende Probe verursacht. Einen weiteren Parameter der Methode stellt der Blindwert dar, der durch den Reaktor produziert wird. Durch Kontamination des Prozesswassers oder der Probe durch die im System vorhandenen Kohlenstoffquellen wie Kunststoffkapillare und Dichtungen, kann dieser Blindwert bei entsprechender Größe die Messungen verfälschen. Ein durch Lecks in den Verbindungen der Vakuumlinie hervorgerufener Blindwert ist aufgrund der geringen Kohlendioxidkonzentration der Luft weniger bedeutungsvoll. Letztendlich wird die Nachweisgrenze durch die Größe des Blindwertes bestimmt.

3.5.4.1 Blindwert

Zur Vermeidung von Kontaminationen, die die Bestimmung des $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wertes durch Hervorrufen eines Blindwertes stören könnten, sind sämtliche Teile des Systems, die mit der Probe oder dem Prozesswasser in Berührung kommen, aus Glas, Edelstahl oder Kunststoffen wie Teflon oder PEEK gefertigt. Diese sind dafür bekannt, extrem wenig organische Verunreinigungen an die Medien abzugeben. Weiterhin wurde, wie in Abbildung 3.6 gezeigt ist, ein Probenaufgabesystem installiert, das verhindert, dass aus der Umgebung des Probenbehältnisses organische Verunreinigungen in den Reaktor transportiert werden können. Wie in Kapitel 3.4.2 bereits beschrieben, muss durch die Trennung von DIC und DOC im Reaktor das DIC der Probe nicht vor der Injektion entfernt werden, so dass die Probe direkt aus dem Gebinde, in der sie gelagert wurde, in den Reaktor eingebracht werden kann. Sollte es dennoch zu einer Kontamination gekommen sein, so ist dieses Probenaufgabesystem durch Rückspülen mit kohlenstoffarmem Wasser leicht zu reinigen.

Zur Bestimmung der Größe des Blindwertes, wurde ohne Probenaufgabe das im Trägergasstrom enthaltene Kohlendioxid in den Kühlfallen ausgefroren. Es wurde also nur das Kohlendioxid herauspräpariert, das zum einen aus der Oxidation von im Prozesswasser verbliebener Organik stammt und zum anderen durch Lecks in den Leitungen in das System gelangt ist. Nach einer Zeit von 1 h hat sich in den Fallen eine Masse von 30 μg Kohlendioxid angesammelt, was einer Kohlenstoffmasse von

8 μg entspricht. Wie oben beschrieben, beträgt die Ausfrierzeit nach der entwickelten Standardmethode 20 min bei einem Probenfluss von 1 mL/min. Damit beträgt der Blindwert für die Präparation einer Probe ca. 2.5 μgC . Aus einer durchschnittlichen Süßwasserprobe mit 5 mgC/L werden ca. 100 μgC zu Kohlendioxid oxidiert. Der $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wert des Kohlendioxids aus dem Blindwert konnte nicht bestimmt werden, da die Masse an ausgefrorenem Kohlendioxid für Bestimmung im Massenspektrometer nicht ausreichte.

Somit liegt der Blindwert in einem Bereich von 2.5 % und stört die Bestimmung des $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wertes nicht. Da zudem der größte Teil des Kohlendioxids bei der Blindwert-Bestimmung aus dem im Prozesswasser verbliebenen Kohlenstoff stammt, dieses aber bei der Bestimmung des $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wertes im Reaktor durch die Probe ersetzt wird, verringert sich der bei der Präparation auftretende Blindwert weiter. Dennoch ist zu empfehlen, zur Absicherung des Qualitätsstandards in regelmäßigen Abständen den Blindwert in der oben beschriebenen Weise zu überprüfen.

3.5.4.2 Präzision und Reproduzierbarkeit der $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Bestimmung

Um die Präzision der UV-Dünnschicht-Oxidation bei der Bestimmung des $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wertes zu überprüfen, wurden ausgesuchte wasserlösliche Modellverbindungen, deren $\delta^{13}\text{C}$ -Wert durch eine Feststoff-Verbrennung (Kapitel 3.5.3) bestimmt wurde, in einer Konzentration von 5 mgC/L nach der oben beschriebenen Methode oxidiert.

Kaliumhydrogenphthalat ist eine Ursubstanz, die zur Kalibration der DOC-Messung verwendet wird. Es hat sich bei einer näheren Untersuchung der Oxidationsleistung des UV-Dünnschicht-Reaktors gezeigt, dass die Wiederfindungsrate bei KHP nahezu 100 % beträgt (Huber 1992, Pape 1998).

Rohr- und Rübenzucker unterscheiden sich nicht in ihrer chemischen Konfiguration (Saccharose). Da die Zuckerrohrpflanze eine C_4 - und die Zuckerrübe eine C_3 -Pflanze ist (Kapitel 2.1.1), unterscheiden sich aber die Biosynthesewege und damit die Fraktionierungen ϵ vom Kohlendioxid zur Biomasse, wodurch sich unterschiedliche $\delta^{13}\text{C}$ -Werte ergeben. Dieser Umstand wird für die Ermittlung des Memoryeffektes der Apparatur (Kapitel 3.5.4.3) genutzt, da eine unterschiedliche Fraktionierung bei der Präparation aufgrund der chemischen Zusammensetzung auszuschließen ist.

Citronensäure besitzt drei Carboxylgruppen, und zeigt an, ob es durch das saure Milieu der Probe zu einer bei organischen Verbindungen leicht auftretenden Decarboxylierung kommt. Dabei werden die im allgemeinen an ^{13}C angereicherten Carboxylgruppen als Kohlendioxid abgespalten, was sich in einem verringerten $\delta^{13}\text{C}$ -Wert zeigen würde.

Als Vertreter der höhermolekularen Naturstoffe wurden Chinidinsulfat und Tannin gewählt. Das Chinidinsulfat ist Stickstoff- und Schwefelhaltig und besitzt eine Struktur, die aus einem aromatischen und einem aliphatischen Teil besteht. Somit repräsentiert diese Verbindung modellhaft natürliche Wasserinhaltsstoffe, die einen starken, aromatischen Charakter mit aliphatischen Anteilen besitzen. Tannin ist ein Gemisch vielfältiger Polyphenole, und in seinem Aufbau damit ebenfalls den Huminstoffen, die einen großen Anteil am DOC ausmachen, ähnlich. Zusätzlich zu den Modellverbindungen wurde der $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wert einer steril filtrierten Elbwasser-Probe sowohl mit der UV-Dünnschicht-Oxidation als auch mit der Continuous-Flow High-Temperature-Combustion (CF-HTC, Spitzzy et al. 2002) bestimmt.

Tabelle 3.1 zeigt die Ergebnisse der Ermittlung der $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werte der oben beschriebenen Modellverbindungen mit der UV-Dünnschicht-Oxidation im Vergleich mit den durch die Feststoffverbrennung erhaltenen $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Werte der reinen Substanzen. Die Konzentrationen der Lösungen betragen 5-6 mgC/L

Tabelle 3.1: *Vergleich der durch die UV-Dünnschicht-Oxidation ermittelten $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werte mit den durch Feststoffverbrennung erhaltenen $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Werte der reinen Modellsubstanzen.*

Modellverbindung	$\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Wert (Feststoffverbrennung) [‰-PDB] $\pm 2\sigma$ (n)	$\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wert (UV-Dünnschicht-Oxidation) [‰-PDB] $\pm 2\sigma$ (n)	Abweichung [‰]
Kaliumhydrogenphthalat	-25,8 \pm 0,2 (2)	-25,7 \pm 0,3 (3)	+0,1
Rohrzucker (Saccharose)	-11,6 \pm 0,4 (9)	-12,4 \pm 0,3 (6)	-0,8
Rübenzucker (Saccharose)	-27,2 \pm 0,1 (5)	-27,4 \pm 0,4 (6)	-0,2
Citronensäure	-25,3 \pm 0,1 (2)	-25,5 \pm 0,2 (3)	-0,2
Chinidinsulfat	-25,1 \pm 0,2 (2)	-25,4 \pm 0,3 (3)	-0,3
Tannin	-27,4 \pm 0,1 (2)	-27,5 \pm 0,2 (3)	-0,1
Elbe <0.2 μm	-28,4 \pm 0,4 (2) (CF-HTC)	-28,1 \pm 0,1 (5)	+0,3

Wie zu erkennen ist, stimmen die Werte sehr gut mit den Sollwerten aus der $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Bestimmung überein. Lediglich der Wert für den Rohrzucker ist um 0.8 ‰ zu niedrig und fällt damit aus den üblichen Abweichungen heraus. Da es sich hierbei um nicht raffinierten braunen Zucker gehandelt hat, ist anzunehmen, dass die in dem Rohrzucker enthaltenen Reststoffe aus dem Produktionsprozess, die die braune Farbe ausmachen, für die Verschiebung verantwortlich sind. Bei der Ansäuerung der Probenlösung kann es zu der oben beschriebenen Decarboxylierung gekommen sein, wodurch der niedrige $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wert zu erklären ist. Gestützt wird diese Annahme durch eine $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Bestimmung mittels der CF-HTC, die ebenfalls einen $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wert von -12.3 ‰ PDB ergab. Hierbei erfolgt die Probenvorbereitung in analoger Weise, so dass auch hier der oben beschriebene Reaktionsmechanismus anzunehmen ist.

Für den ermittelten $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wert der Elbe-Probe gibt es in der Literatur keinen Vergleichswert (Bergemann 2000). Daher wurde das Ergebnis der UV-Dünnschicht-Oxidation mit dem der CF-HTC verglichen. Da auch hier im Rahmen des Fehlers kein Unterschied fest zu stellen ist, kann angenommen werden, dass die Methode für die Bestimmung von $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werten aus dieser Matrix geeignet ist.

Die Reproduzierbarkeit der Methode zeigt sich in dem Fehler der Bestimmungen, der selbst bei einer geringen Zahl an Wiederholungen nicht mehr als ± 0.3 ‰-PDB über dem Fehler der Massenspektrometrischen Bestimmung des $\delta^{13}\text{C}$ -Wertes von ± 0.1 ‰-PDB liegt.

3.5.4.3 Memoryeffekt

Wie schon weiter oben erwähnt, kann es durch Verschleppung des DOC oder des präparierten Kohlendioxids einer Probe in die nächste zu einer Beeinflussung des $\delta^{13}\text{C}$ -Wertes kommen. Dieser Memoryeffekt lässt sich durch sorgfältiges Trennen der Proben und ausreichendes Evakuieren der Vakuum-Linie vor einer Präparation verhindern.

Im Folgenden soll die entwickelte Standardmethode der Präparation von Kohlendioxid mit der UV-Dünnschicht-Oxidation auf einen Memoryeffekt hin untersucht werden. Dazu wurde hintereinander das Kohlendioxid aus mehreren Rohr- und Rübenzuckerproben präpariert. Bei Rohr- als auch bei Rübenzucker handelt es sich

um Saccharose, die aber auf unterschiedlichen Biosynthesewegen durch die Zuckerrohrpflanze und die Zuckerrübe synthetisiert werden (Kapitel 2.1.1). Durch diese Unterschiede der Kohlenstoff-Fixierung ergibt sich der Unterschied in den $\delta^{13}\text{C}$ -Werten (Tabelle 3.1). Dieser Umstand wird zum Test auf einen Memoryeffekt genutzt.

Abbildung 3.7 zeigt das Ergebnis einer zweimaligen Präparation von Kohlendioxid aus Rohrzucker gefolgt von einer ebenfalls zweimaligen Präparation aus Rübenzucker. Dabei wurden die vier Präparationen direkt hintereinander ausgeführt. Es ist zu erkennen, dass sich die so ermittelten $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werte im Rahmen des Fehlers nicht von den zuvor gemessenen $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werten (Tabelle 3.1) unterscheiden. Damit ist der Beweis erbracht, dass bei der angewendeten Standardmethode der Reaktor genügend mit Prozesswasser gespült wird, um Reste einer Probe zu entfernen, und die Vakuum-Linie ausreichend evakuiert werden kann.

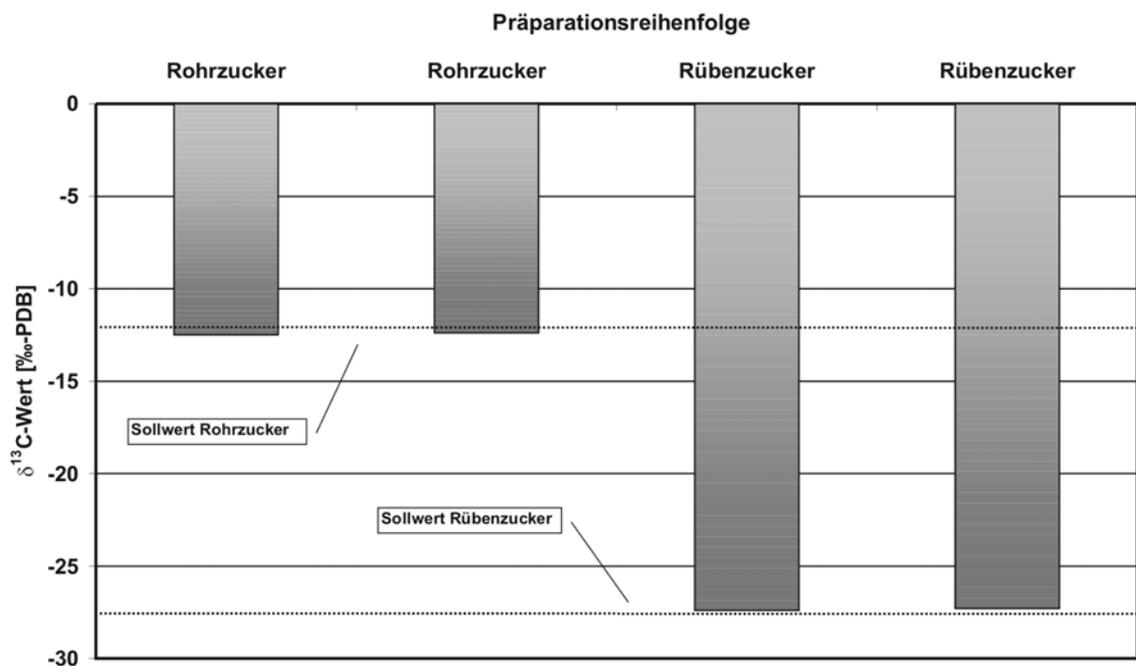


Abbildung 3.7: *Ermittelte $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werte zur Bestimmung des Memory-Effektes der UV-Dünnschicht-Oxidation.*

3.5.4.4 Ergebnis

Die vorliegende Untersuchung der Eignung der UV-Dünnschicht-Oxidation nach Gräntzel hat gezeigt, dass es mit dieser Methode möglich ist, mit einer guten

Präzision und Reproduzierbarkeit Kohlendioxid zur Bestimmung des $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wertes sowohl aus Lösungen von Standard-Substanzen als auch aus einer natürlichen Matrix heraus zu präparieren.

3.6 Inkubationsexperimente

3.6.1 Batch-Kulturen

Die Algenkulturen, die in Kapitel 4 beschrieben sind, wurden in 2 L Duranglasflaschen inkubiert, die mit 1.5 L Kulturmedium gefüllt waren. Nach dem Befüllen der Flaschen mit dem Kulturmedium wurden diese in einem Autoklaven 40 min bei 110 °C sterilisiert. Zur Versorgung der Batch-Kulturen mit Kohlendioxid wurden diese über eine Glaskapillare mit ca. 3 L/min steril filtrierter Luft begast. Über eine zweite Glaskapillare, die in das Kulturmedium hineinreichte und mit einer 50 mL

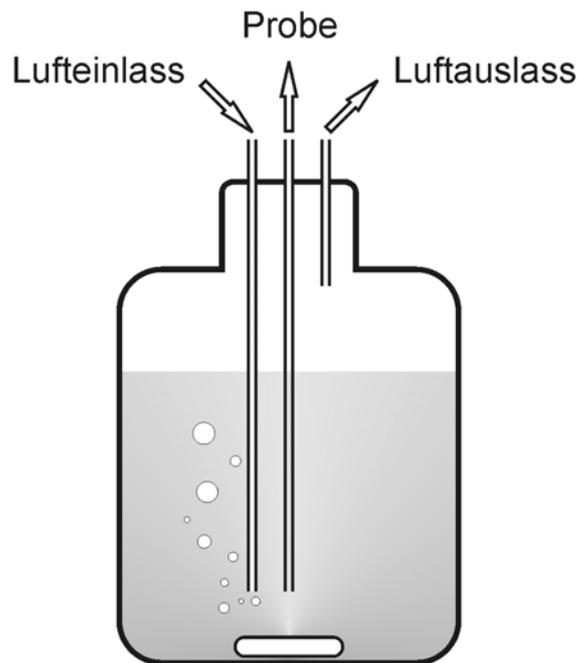


Abbildung 3.8: Schematischer Aufbau der Batch-Kulturen.

PE-Einmalspritze verschlossen war, konnten Proben des Mediums inklusive der suspendierten Phytoplanktonmasse gewonnen werden. Nach der Probennahme wurde die Spritze durch eine neue, sterile ersetzt. Als Luftauslass diente eine dritte Glaskapillare, die wenige Zentimeter unter dem Deckel des Gefäßes endete und mit einem 0.1 μm Nylonfilter verschlossen war. Abbildung 3.8 zeigt den schematischen

Aufbau der Batch-Kulturen.

Die Inokulen wurden in 100 mL Erlenmeyerkolben, die mit je 50 mL sterilisiertem Kulturmedium gefüllt waren herangezüchtet. Nach 10 Tagen wurden unter sterilen Bedingungen jeweils 20 mL des Inokulums pro Kulturansatz in die Kulturflaschen überführt, und die Algen unter leichtem Rühren inkubiert.

Die Proben für die DIC-Messung wurden sofort nach der Probenahme durch Filtration über einen 0.2 μm Spritzenfilter gewonnen. Weitere 2 mL wurden für die pH-Messung in ein Reagenzglas filtriert. Zur Gewinnung der POC und DOC-Proben wurde der restliche Inhalt der Spritze über einen GF/F-Filter (Whatman) bei einem Vakuum von nicht mehr als 0.2 bar filtriert. Der Filtrerrückstand diente der Analyse des POC, während die Analyse des DOC am Filtrat durchgeführt wurde.

3.6.2 Durchfluss-Experimente

Ein Durchflussreaktor, wie er in Abbildung 3.9 gezeigt ist, ist bereits im Rahmen einer Diplomarbeit zur Bestimmung des mikrobiellen Abbaus von DOM aus der Elbe erfolgreich erprobt worden (Eydeler 1998).

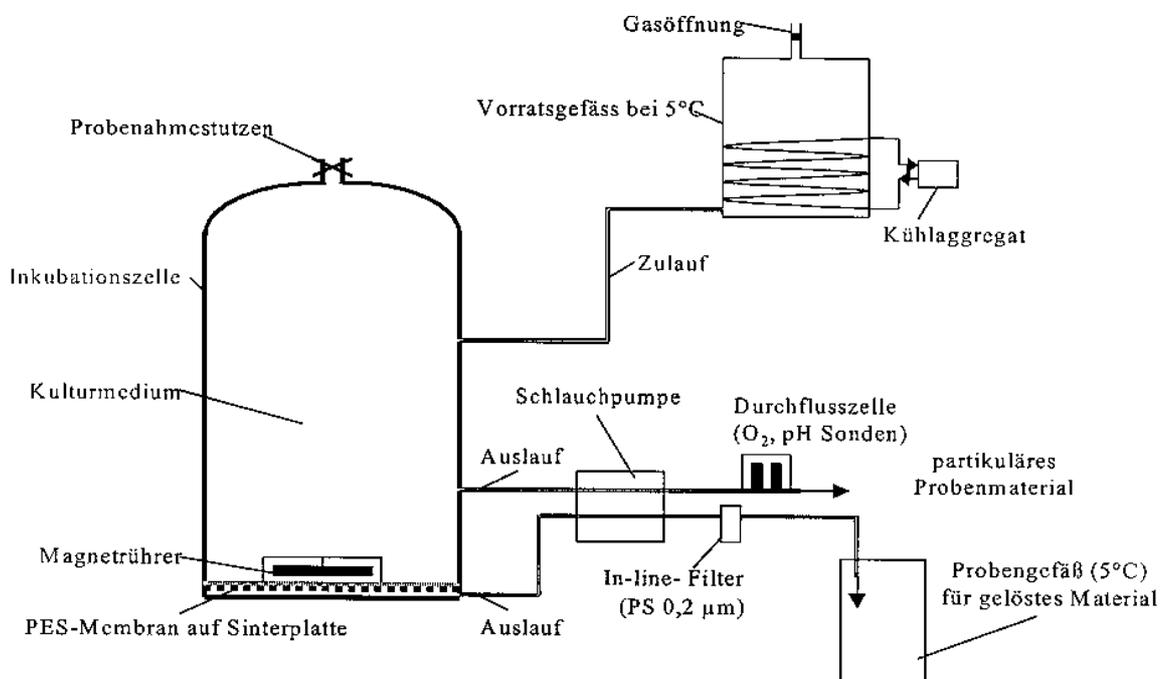


Abbildung 3.9: Schematische Darstellung des Durchflussreaktors.

Die in Abbildung 3.9 gezeigte Anlage wurde in folgenden Punkten gegenüber der oben erwähnten Diplomarbeit (Eydeler 1998) verbessert. Durch den Einsatz einer

PES-Membran (Porengröße 1.2 µm) im Reaktorboden wurde die Fähigkeit zur selektiven Retention des partikulären Materials im Reaktor verbessert. Gleichzeitig wurden Mikroorganismen aus dem Kulturmedium kontinuierlich ausgewaschen. Um diese Organismen vom auslaufenden Kulturmedium zu trennen, wurde bei 5 °C online über eine 0.2 µm Polykarbonatmembran filtriert, und das Filtrat bei 5 °C gesammelt. Eine weitere Änderung betraf die Kühlung des Kulturmediums im Vorratsbehälter auf 5 °C. Diese Maßnahme wurde eingeführt, da Untersuchungen der Gesamtbakterienzahlen mittels DAPI-Färbung ergeben hatten, dass auch steril filtriertes Elbwasser (Tangentiale-Flussfiltration über 0.2 µm-PES-Membranen) Zellzahlen von bis zu 105 Zellen/mL aufwies. Bei den gezählten Bakterien handelte es sich überwiegend um sehr kleine Objekte, bei denen nicht ausgeschlossen werden konnte, dass es sich dabei um abiotisch gebildete große Kolloide handelte. Eventuelle Veränderungen der Kulturlösung im Vorratsbehälter konnten über das Kühlen minimiert werden. In den Phytoplanktonversuchen (siehe Kapitel 5.1.1) betrug das Volumen der Durchflussreaktoren 2 Liter, während für die Bakterienversuche (siehe Kapitel 5.1.2) Reaktoren von 0.8 Liter genutzt wurden.

Als Inokulum für die Phytoplanktonversuche zur Gewinnung von Phytoplanktonexsudaten wurde immer frisches, über ein 125 µm-Sieb gefiltertes Elbwasser aus Tespe (Flusskilometer 580), einer Probestelle kurz oberhalb des Wehres Geesthacht eingesetzt. Material direkt aus dem Elbe Ästuar wurde nicht verwandt, da die Primärproduktion durch das Phytoplankton aufgrund des Lichtklimas im Süßwasserbereich des Ästuars sehr gering ist und damit die dort vorkommenden Phytoplankter in Zahl gering und relativ inaktiv sind.

Um in den Laborexperimenten Phytoplanktonexsudate analog zu denen im Freiland produzieren zu können, wurden die Flüsse in den Zu- und Abläufen am Durchflussreaktor so eingestellt, dass die heterotrophen Planktonorganismen aus dem Reaktorraum ausgewaschen wurden, während die Phytoplankter unter hohen Primärproduktionsraten im Bioreaktor verblieben.

Zur Analyse des DOC wurde dem Auslauf jeweils 1 L entnommen, und zwecks Aufteilung in Molekulargewichtsfractionen ultrafiltriert (Kapitel 3.3). Das Partikuläre Material der Fraktion [>0.2 µm] wurde aus 100 mL Proben direkt aus dem Reaktorraum gewonnen. Zur Filtration des Phytoplanktons dienten GF/F-Filter (Whatman), während die Bakterien durch Filtration über 0.2 µm Aluminiumoxid-Filter

(Whatman) filtriert wurden. Als zusätzliches Monitoring wurde am Auslauf des Reaktors über eine Durchflusszelle der Sauerstoffgehalt und der pH-Wert gemessen (Abbildung 3.9). Nach der Filtration wurden die DOC und POC-Proben wie oben beschrieben analysiert.

4 Untersuchungen zur Isotopenfraktionierung von gelöstem organischen Kohlenstoff durch die Exkretion des Phytoplanktons

Gemeinhin wird angenommen, dass der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des exkretierten DOC dem $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Wert desjenigen Organismus entspricht, der das Material an das umgebende Medium abgegeben hat. Beim ozeanischen DOC mit einem $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wert von -21‰ geht man davon aus, dass es durch das marine Phytoplankton mit einem $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Wert von -22‰ exkretiert wurde (Williams und Gordon 1970; Anderson und Arthur 1983).

Allerdings gibt es - bedingt durch die analytischen Schwierigkeiten (Button 1991b) - nur wenige Untersuchungen zum $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des DOC. Aus diesem Grund ist die oben gemachte Annahme, dass es durch die Exkretion von organischem Material durch Phytoplankton zu keiner Isotopenfraktionierung kommt, bislang nicht durch entsprechende Untersuchungen gestützt worden. Dank der Entwicklung einer Methode, die die Präparation von DOC-Proben zur Ermittlung des $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -wertes extrem vereinfacht (siehe Kapitel 3.5.4), war es im Rahmen dieser Arbeit möglich, eine große Anzahl von POC und DOC-Proben in einem Experiment zur Isotopenfraktionierung bei der Exkretion von organischem Material hinsichtlich ihrer $\delta^{13}\text{C}$ -Werte zu vermessen.

4.1 Experimente zum Vergleich von $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ - und $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Werten

Um die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte von Phytoplanktern und deren Exkreten zu vergleichen, ist es nötig, axenische Monokulturen dieser Phytoplanktonarten zu untersuchen. Dadurch ist man in der Lage, neben der Biomasse auch Proben der Exkrete zu erhalten, die frei vom Background des in natürlichen Gewässern enthaltenen DOC sind. Eine Verfälschung der Messergebnisse durch mikrobiellen Abbau der Exkrete ist in axenischen Kulturen ausgeschlossen.

Als Modellorganismen wurden zwei in der Elbe dominante Grünalgen ausgewählt [*Tetrastrum staurogeniaeforme* (Schröder) Lemmermann und *Coenochloris polycocca* (Korshikov) Hindak (vormals: *Coelastrum microporum* Nägeli in A. Brébisson)]. Beide Arten haben sich in Vorversuchen als gut kultivierbar erwiesen. Als Kulturmedium wurde das Cryptomonas-Medium nach Wright (1979) verwendet, in dem die Vorkulturen der Algen gut angewachsen sind. Tabelle 4.1 zeigt die

Zusammensetzung des Mediums.

Tabelle 4.1: *Zusammensetzung des Kulturmediums nach Wright (1979)*

Nährstoff	Konzentration [mg/L]
Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O	68,5
NaNO ₃	75,3
K ₂ HPO ₄	5,2
MgSO ₄ · 7H ₂ O	27,1
NaHCO ₃	100,8
NaSiO ₃ · 9H ₂ O	21,2
NaCl	23,5
Na ₂ EDTA	1,9
FeCl ₃	2,4
CuSO ₄ · 5H ₂ O	0,02
ZnCl ₂	0,02
H ₃ BO ₃	0,5
MnCl ₂ · 4H ₂ O	0,3
CoCl ₂ · 6H ₂ O	0,04
NaMoO ₄ · 2H ₂ O	0,02
Thiamin	0,2
Biotin	1,0 [µg/L]
Vit. B ₁₂ Cyanocobalamin	1,0 [µg/L]

Das Kulturmedium enthält durch die Zugabe von Na-EDTA, das zur Komplexbildung des Eisens nötig ist, bereits Spuren von DOC. Da dessen Konzentration jedoch bei 0,6 mgC/L liegt, ist ein Einfluss bei der Bestimmung des phytoplanktonbürtigen DOC vernachlässigbar. Die im Experiment bestimmten DOC- und $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werte wurden um diesen und den durch das Inokulum hervorgerufenen Blindwert korrigiert.

Die Algen wurden wie in Kapitel 3.6.1 beschrieben in 2 L Duranglasflaschen inkubiert, die mit 1,5 L Kulturmedium gefüllt waren. Zur Versorgung der Batch-Kulturen mit Kohlendioxid wurden diese über eine Glaskapillare mit ca. 3 L/min steril filtrierter Luft begast. Über eine zweite Glaskapillare, die in das Kulturmedium hineinreichte, konnten mittels steriler PE-Einmalspritzen Proben des Mediums inklusive der suspendierten Phytoplanktonmasse entnommen werden. Als Luftauslass diente eine dritte Glaskapillare, die wenige Zentimeter unter dem Deckel des Gefäßes endete und mit einem 0,1 µm Nylonfilter verschlossen war.

Die Inokulen wurden in zwei 100 mL Erlenmeyerkolben, die mit je 50 mL sterilisiertem Kulturmedium gefüllt waren herangezüchtet. Die Kulturen stammten von der Algensammlung der Georg-August-Universität, Göttingen (Kultur Nr.: 45.81 respektive 217-1b). Nach 10 Tagen wurden unter sterilen Bedingungen jeweils 20 mL des Inokulums pro Kulturansatz in die Kulturflaschen überführt, und die Algen unter leichtem Rühren inkubiert. Um den Einfluss der Wachstumsrate auf die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte zu untersuchen wurden je zwei Ansätze mit unterschiedlichen Lichtstärken (20 μE und 90 μE) bestrahlt. Die Temperatur des Mediums wurde bei 25 °C gehalten. Nach dem Überführen des Inokulums wurden je 50 mL Probe von jedem Ansatz zur Bestimmung der Startsituation und der Blindwerte entnommen. Weitere Proben von je 50 mL wurden im Abstand von zwei bis vier Tagen je nach Fortschritt des Wachstums entnommen. In Tabelle 4.2 sind die Startbedingungen der Kulturen noch einmal zusammengestellt.

Tabelle 4.2: *Aufstellung der Startbedingungen in den Kulturen*

Kultur	<i>Tetrastrum s.</i>		<i>Coenochloris p.</i>	
	20 μE	90 μE	20 μE	90 μE
Lichtstärke				
Temperatur [°C]	25	25	25	25
pH	7,4	7,4	7,4	7,4
DOC [mgC L ⁻¹]	1,4	1,1	1,5	2,5
DIC [mgC L ⁻¹]	7,9	7,9	7,9	7,9
POC [mgC L ⁻¹]	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.

Die Proben für die Bestimmung der Konzentrationen und $\delta^{13}\text{C}$ -Werte von POC und DOC sowie des pH-Wertes und der DIC-Konzentration wurden wie in Kapitel 3.2 beschrieben jeder Kultur entnommen, vorbereitet und vermessen.

4.2 Ergebnisse der Experimente

Abbildung 4.1 zeigt den Verlauf der Wachstums der oben beschriebenen Kulturen anhand der Zunahme der POM-Trockenmasse pro Liter Kulturvolumen. Wie zu erkennen ist, zeigen die Kulturen den klassischen Wachstumsverlauf einer Algenpopulation in Batchkulturen (Fogg 1977): Eine kurze Initialphase langsamen Wachstums (Lag-Phase) gefolgt von der Phase logarithmischen Wachstums (Log-Phase), die in der stationären Wachstumsphase endet. Die Kulturen wurden bis zur stationären Wachstumsphase verfolgt, da danach durch das vermehrte Absterben der Zellen nicht mehr auszuschließen ist, dass Zellinhalte in das Medium

übergehen und die Messergebnisse verfälschen.

Wie zu erwarten, sind bei erhöhter Lichtintensität größere Wachstumsraten zu beobachten als bei niedrigerer Lichteinstrahlung. Auch die Dauer des Experimentes, d.h. die Zeit bis zum Auftreten der stationären Wachstumsphase wird durch das Lichtangebot bestimmt. Zwischen den Ansätzen von *Tetrastrum s.* und *Coenochloris p.* bei gleichem Lichtangebot sind allerdings keine großen Unterschiede in Wachstumsrate und Dauer des Versuches zu erkennen, so dass hier eine gute Vergleichbarkeit der Daten gegeben ist.

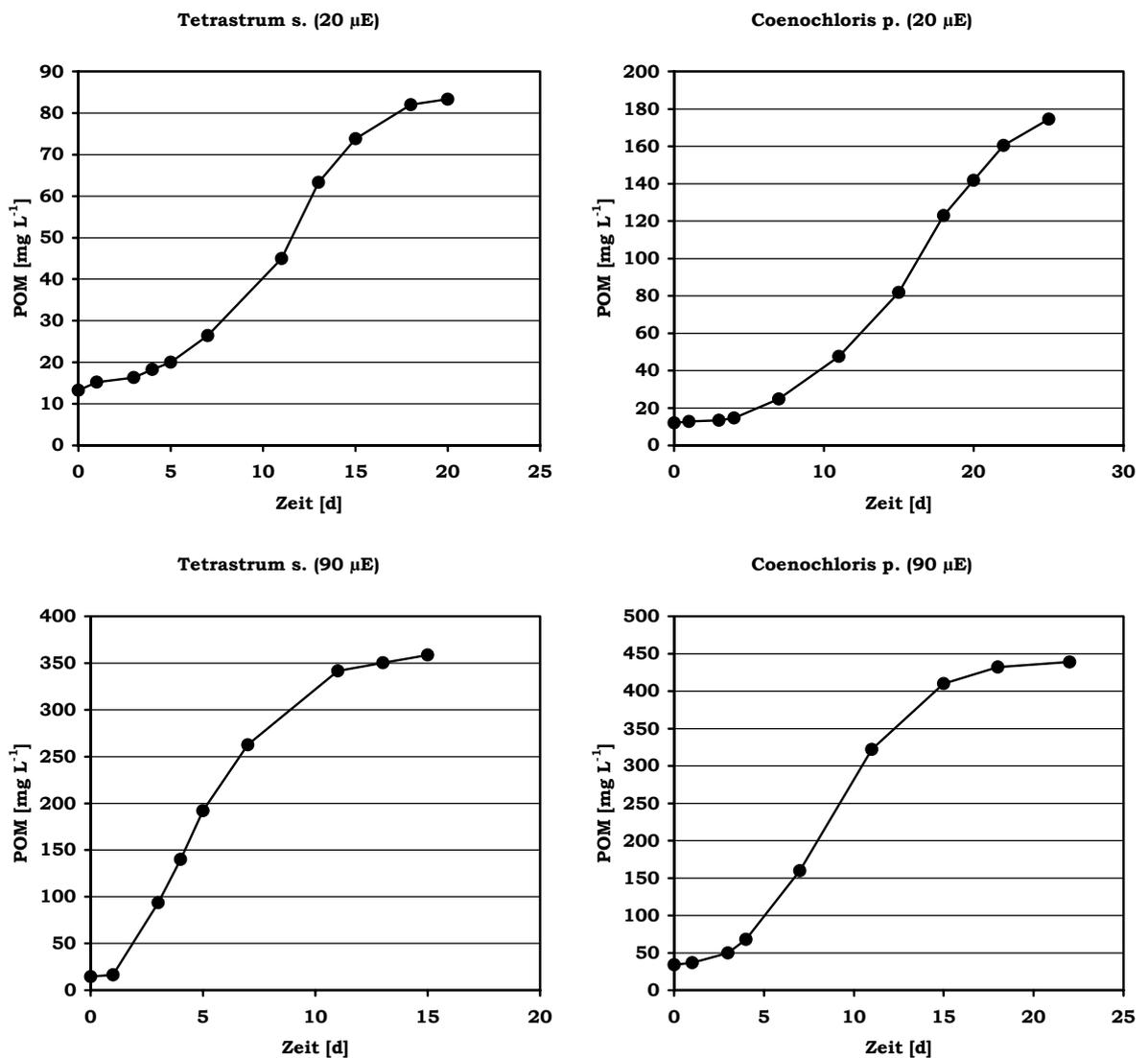


Abbildung 4.1: Verlauf des Kulturwachstums anhand der Zunahme der POM-Trockenmasse pro Liter Kulturvolumen.

Die unterschiedlichen Wachstumsphasen werden ebenfalls gut durch den Verlauf des elementaranalytisch bestimmten organischen Kohlenstoffgehaltes der

POM-Trockenmassen dokumentiert (Abbildung 4.2). Während der Anfangsphase des Wachstums beträgt der organische Kohlenstoffgehalt 10 % in allen Kulturen und steigt danach auf Werte von 31 % bei *Coenochloris p.* (20 μ E) bis 53 % bei *Tetrastrum s.* (90 μ E) an. Dies spiegelt die Art der aufgebauten Biomasse wider: Während der ersten Wachstumsphasen dominiert die Proteinsynthese, wobei Proteine durch ihren Gehalt an Stickstoff einen geringeren Kohlenstoffgehalt aufweisen als Speichersubstanzen wie Polysaccharide und Fettsäuren, die zum Ende der Wachstumsphasen vermehrt von den Zellen eingebaut werden. Parsons (1961) hat die chemische Zusammensetzung von Phytoplanktonzellen während ihrer exponentiellen Wachstumsphase untersucht, und fand einen Kohlenhydrat-Gehalt, der von 6 bis 37 % reichte.

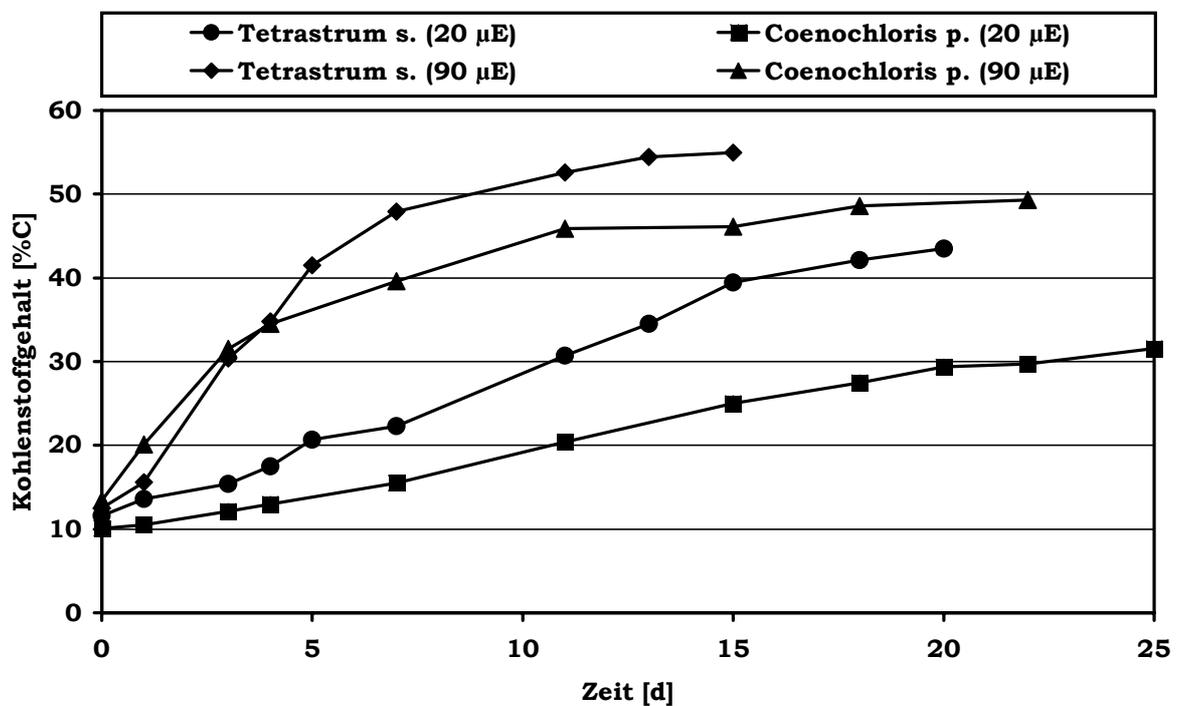


Abbildung 4.2: Verlauf des Kohlenstoffgehaltes der POM-Trockenmassen.

Angewendet auf die Trockenmasse pro Volumeneinheit des Kulturmediums ergibt der Kohlenstoffgehalt der Trockenmasse den POC-Gehalt in der Algenkultur. Wie in Abbildung 4.3 gezeigt, wird der Verlauf der Kurven dadurch nicht verändert. Zusätzlich zum Verlauf des Wachstums lässt sich nun die POC-Zunahme in den Kulturen pro Zeiteinheit darstellen. Dabei ist noch einmal zu erkennen, dass die Kulturen von *Tetrastrum s.* und *Coenochloris p.* bei gleicher Lichteinstrahlung POC-Zunahmen in gleichen Größenordnungen zeigen.

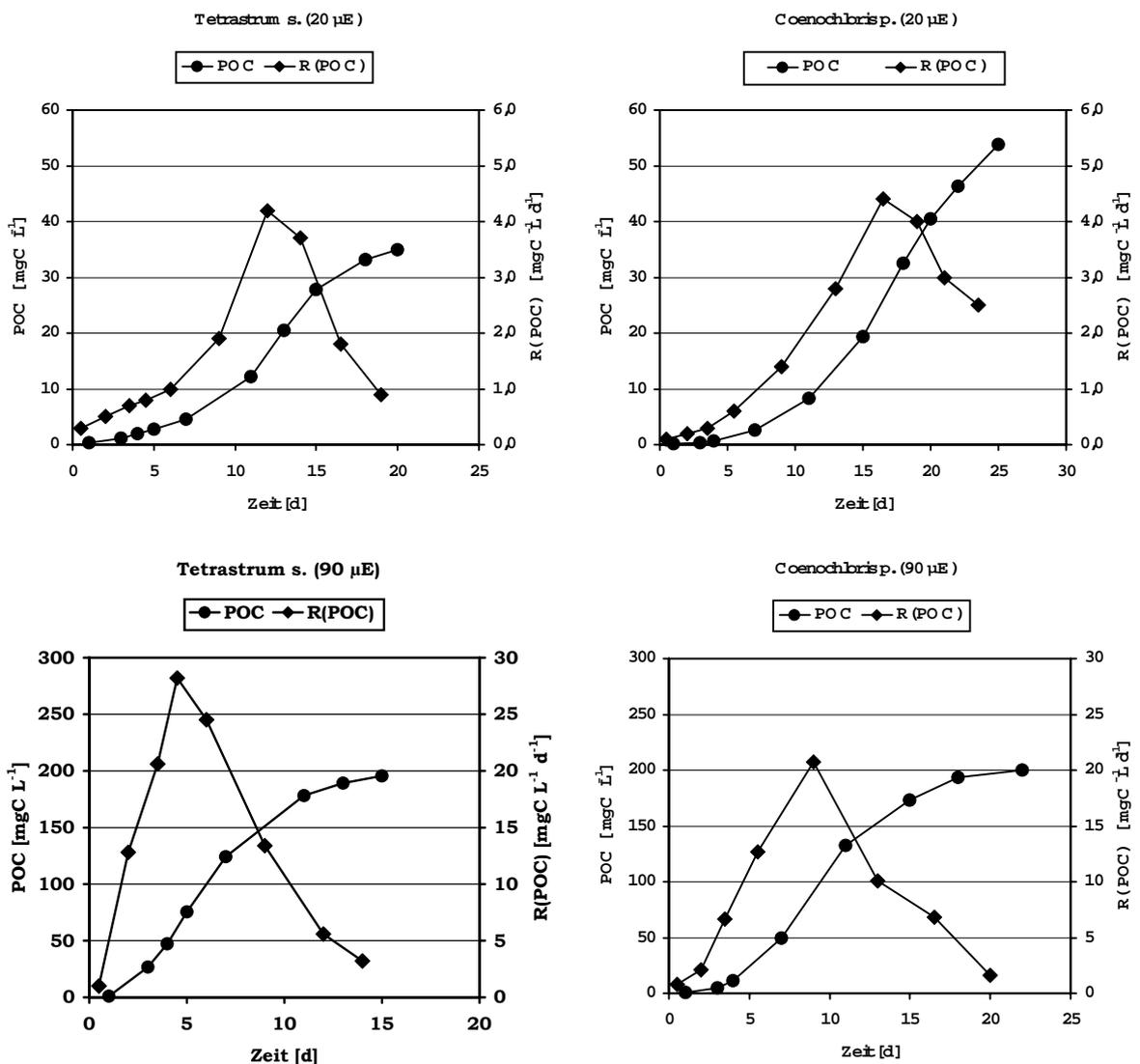


Abbildung 4.3: Wachstumsverlauf der Algenkulturen bezogen auf den POC-Gehalt und die daraus berechneten Zunahme des POC pro Zeiteinheit.

Zusätzlich zum POC wurde die DOC-Konzentration im Kulturmedium bestimmt (Abbildung 4.4). Hier ist zu erkennen, dass während den Wachstumsphasen des POC Exkretion von organischem Material stattgefunden hat. Die DOC-Konzentrationen im Medium zeigen wie die Wachstumskurven einen sigmoiden

Verlauf, auch wenn dieser bei *Coenochloris p.* (20 μE) nicht sehr ausgeprägt ist. Die Maxima der Zunahmeraten des DOC fallen aber stets mit dem Auftreten der Maxima der POC-Zunahmeraten zusammen.

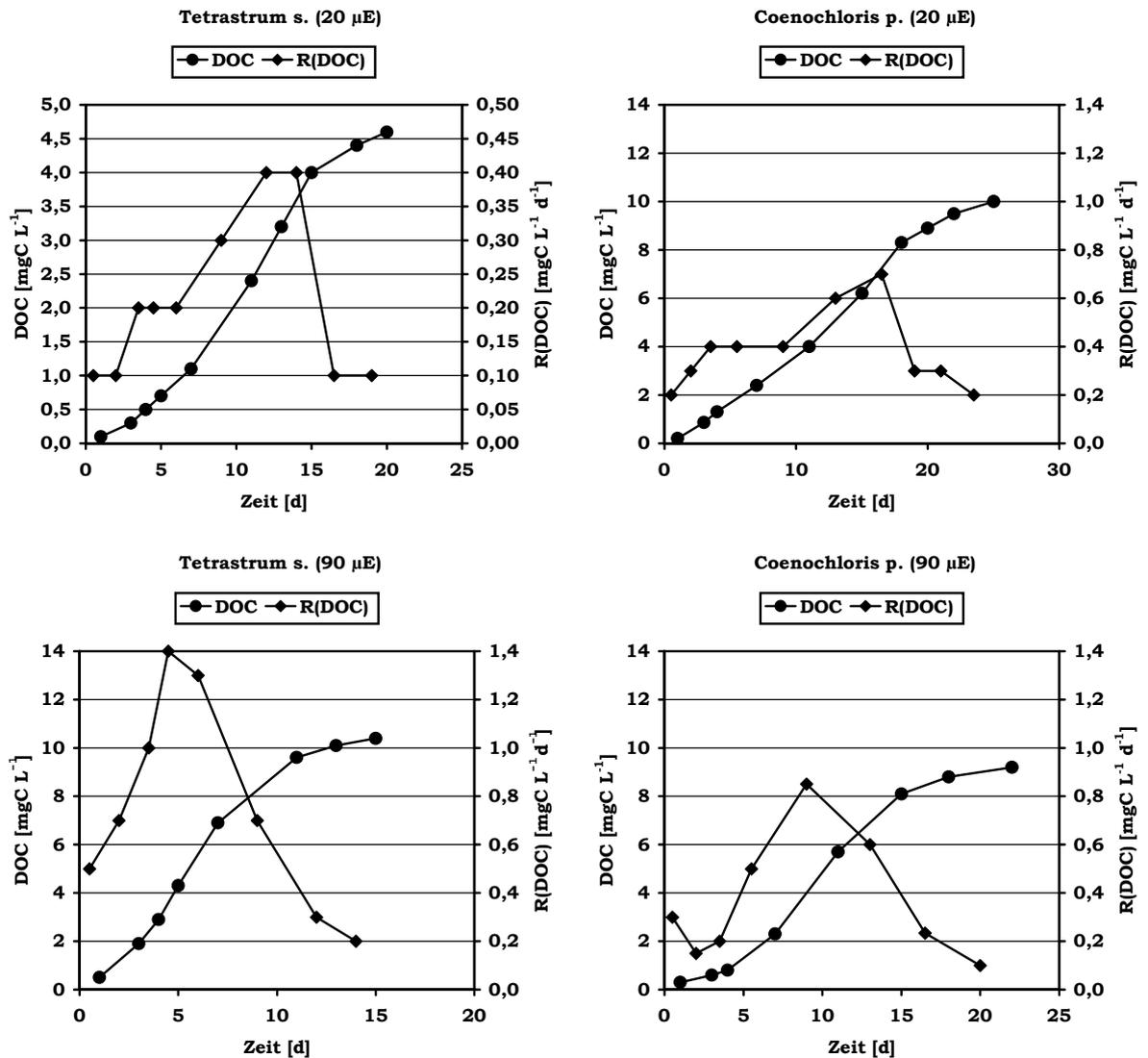


Abbildung 4.4: Verlauf der DOC-Messwerte und der daraus berechneten Zunahme an DOC pro Zeiteinheit.

In Abbildung 4.5 sind die zu den POC-Wachstumskurven und DOC-Konzentrationsverläufen gemessenen $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ - und $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werte aufgezeigt. Dabei sind die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte um die Blindwerte, die vom Inokulum und dem im Medium initial vorhandenen DOC hervorgerufen werden, korrigiert.

Die Algenkulturen, die bei 20 μE gewachsen sind, zeigen niedrige $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Werte von -28,6 (*Tetrastrum s.*) und -30,1 ‰ (*Coenochloris p.*) bei Beginn des Experimentes. Während des Wachstums steigen die $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Werte auf -25,8 ‰ im Falle von

Tetrastrum s. und -26.6‰ bei *Coenochloris p.* an. Nach dem Abfallen der Wachstumsrate nach 12 (*Tetrastrum s.*) bzw. 16 Tagen (*Coenochloris p.*) Versuchsdauer fallen die $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Werte wieder ab, und nähern sich Werten von -26.3‰ respektive -28.3‰ .

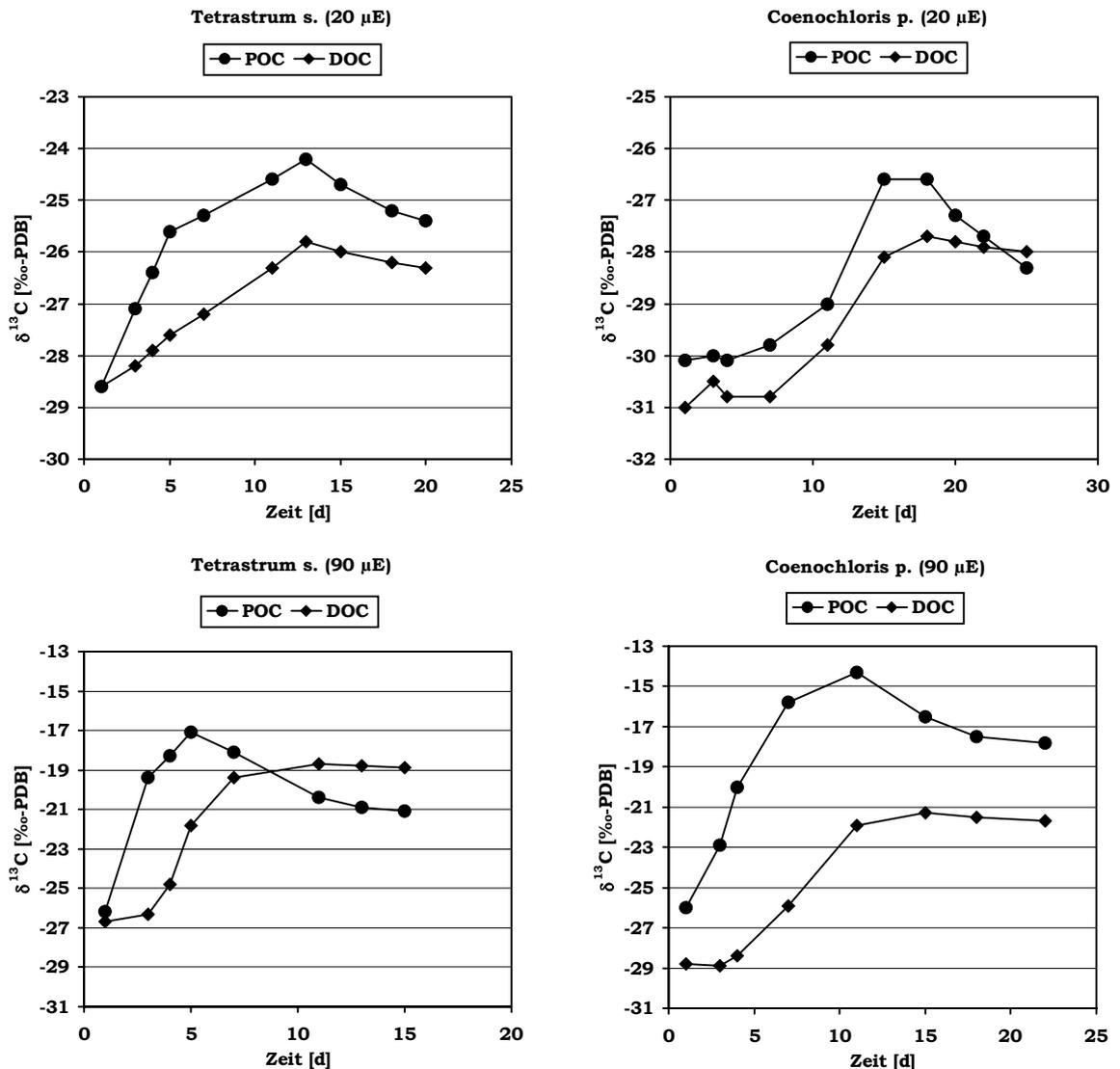


Abbildung 4.5: Verläufe der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte von POC und DOC in den Kulturen.

Die $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werte korrespondieren gut mit dem Verlauf der $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Werte. Der Unterschied zwischen den $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ - und $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werten ist nicht größer als 1.7‰ (*Tetrastrum s.*; 11 d) respektive 1.5‰ (*Coenochloris p.*; 15 d), und liegt damit 0.7 und 0.5‰ über dem zweifachen Fehler der Messung ($2\sigma = 1.0\text{‰}$). Diese maximalen Unterschiede fallen zusammen mit den größten Wachstumsraten. Zu kleineren Wachstumsraten gegen Ende des Experimentes hin nähern sich die $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ - und $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werte der Kulturen an, und erreichen bei *Coenochloris p.* gleiche Werte.

Im Falle der Algenkulturen, die bei einer Lichtstärke von 90 μE gewachsen sind, ist ein stärkerer Anstieg der $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Werte zu erkennen. Die $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Werte bei Beginn des Experimentes liegen bei -26.2 ‰ (*Tetrastrum s.*) und -26.0 ‰ (*Coenochloris p.*). Im Laufe des Experimentes ist allerdings ein Anstieg der $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Werte auf -17.1 ‰ (*Tetrastrum s.*) und -14.3 ‰ (*Coenochloris p.*) zu verzeichnen. Die beobachteten Anstiege der $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Werte liegen hier also bei 9.1 ‰ bzw. 11.7 ‰ und sind damit sehr viel größer als bei einer Lichtstärke von 20 μE . Auch hier fällt die größte Wachstumsrate (5 d bei *Tetrastrum s.* und 9 d bei *Coenochloris p.*) zeitlich mit den schwersten gemessenen $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Werten zusammen.

Im Vergleich der $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ - und $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werte sind größere Unterschiede zu erkennen als bei den Kulturen mit niedriger Wachstumsrate. Deutlich ist ein maximaler Unterschied von gemessenen $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ - und $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werten von 6.9 ‰ (*Tetrastrum s.*) und 10.1 ‰ (*Coenochloris p.*) zu erkennen. Zu kleineren Wachstumsraten hin, sinkt der Unterschied auf wenige Promille, und kehrt sich im Falle von *Tetrastrum s.* sogar um.

4.3 Diskussion der Ergebnisse

Der physiologische Mechanismus der DOM-Exkretion durch Phytoplankton ist bislang nicht endgültig verstanden. Dennoch haben sich zwei Ansätze zur Erklärung des Mechanismus durchgesetzt. Das „Überschuss-Modell“ geht davon aus, dass unter optimalem Lichtangebot aber Nährstofflimitierung die Kohlenstofffixierung den eigentlichen Kohlenstoffbedarf der Zellen übersteigt. Der Überschuss an organischem Material wird dann an das umgebende Medium abgegeben (Fogg 1983, Wood und Van Valen 1990). Diese Hypothese wird durch einen hohen percent extracellular release (PER) von DOC, die bei hoher Lichtstärke und geringer Nährstoffdichte beobachtet wurden, gestützt (Lancelot 1983, Obernosterer und Herndl 1995). Das Modell wurde vor allem zur Erklärung der Produktion von Glykolat, einem Produkt der Photorespiration, die während gesteigerter Photosyntheseaktivität bei erhöhtem Photonenfluss zunimmt, herangezogen (Fogg 1983, Al-Hasan und Fogg 1987, Beardall 1989). Die Exkretion anderer Komponenten wie Kohlehydrate wird dadurch aber nicht erklärt (Nagata 2000).

Ein weiteres Modell, das zur Erklärung der Exkretion durch Phytoplankton herangezogen wird ist das „Verlust-Modell“, welches von einer passiven Permeation

des DOM durch die Zellmembran aufgrund eines steilen Konzentrationsgradienten niedermolekularen DOMs ausgeht (Bjørnsen 1988). Dieses Modell wird durch Untersuchungen gestützt, die eine gleichmäßige Abgabe organischen Materials auch während Hell-Dunkel-Phasen ergaben (Mague et al. 1980).

Die oben beschriebenen Experimente zeigen, dass die höchsten Raten der DOC-Zunahme mit den höchsten Wachstumsraten in den Kulturen zusammenfallen (Abbildungen 4.3 und 4.4). Dieses Ergebnis stimmt gut mit denen von Goldman et al. (1992) und Biddanda und Benner (1997) überein, die den Verlauf der DOC-Exkretion durch marines Phytoplankton untersuchten, und ebenfalls eine positive Korrelation zwischen der Wachstumsrate und dem Verlust der Zellen an organischer Substanz beobachteten. Die Korrelation von POC-Wachstumsrate und DOC-Zunahmerate verdeutlicht Abbildung 4.6. Außer für *Tetrastrum s.* (20 μE) ergeben sich Steigungen in engen Grenzen von 0.035 bis 0.043 mit guten linearen Korrelationen. Eine verstärkte metabolische Aktivität ist also direkt mit einer erhöhten Abgabe an POM in das umgebene Medium gekoppelt.

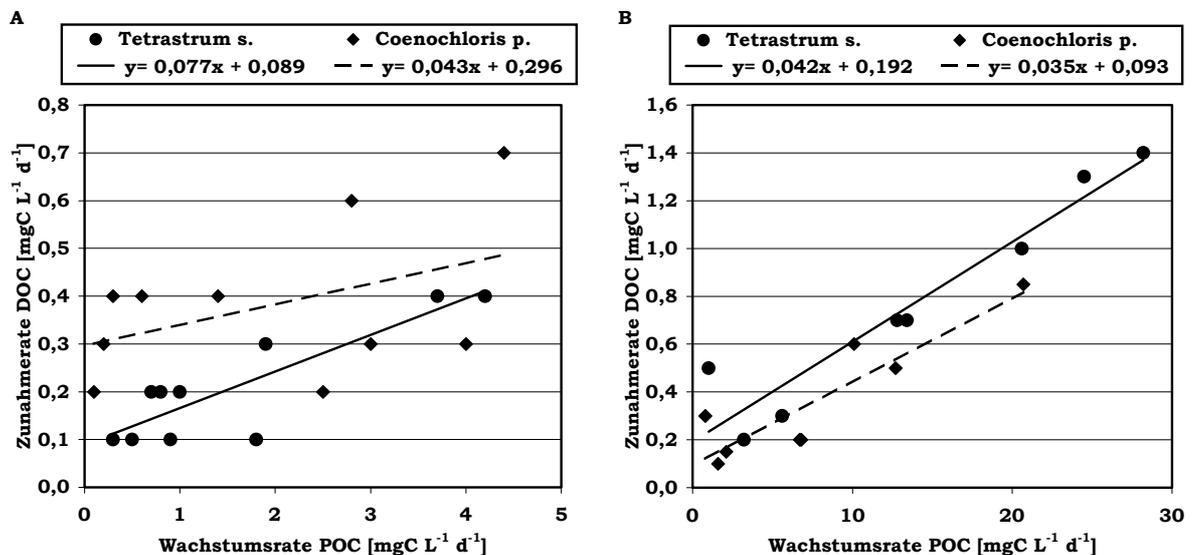


Abbildung 4.6: Korrelation zwischen der Wachstumsrate ausgedrückt durch die Zunahme an POC und der DOC-Zunahmerate. A: 20 μE ; B: 90 μE

Auch bei der Kohlenstofffixierung lässt sich ein eindeutiger Zusammenhang zwischen der Wachstumsphase und der Isotopenfraktionierung erkennen. Im Gegensatz zum Vergleich der Verläufe der POC- und DOC-Konzentrationen, deren Maxima zeitlich zusammenfallen (Abbildung 4.6), zeigt der Vergleich der $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ - und $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werte eine Phasenverschiebung, die im Falle von *Tetrastrum s.* (90 μE) ca. 6 d und bei *Coenochloris p.* (90 μE) ca. 7 d beträgt (Abbildung 4.5). Dies stützt

die Annahme, dass der Exkretion organischen Materials eine Stoffwechsellätigkeit vorangeht, da die Isotopensignale des POC erst einige Tage später im DOC erscheinen. Dies bedeutet, dass der neu fixierte Kohlenstoff erst die metabolischen Prozesse im Organismus der Alge durchlaufen muss, ehe er an das umgebende Medium abgegeben wird.

Hier zeigt sich, dass aus der Bestimmung der Verhältnisse der stabilen Kohlenstoffisotope wertvolle Informationen gewonnen werden können, da es möglich ist, durch eine Markierung den zeitlichen Ablauf von der Fixierung über die Metabolisierung des Kohlenstoffs in einem Organismus bis zu seiner Exkretion aufzulösen. Die oben erwähnte Phasenverschiebung von Fixierung und Exkretion des Kohlenstoffs ist aus der reinen Betrachtung der Konzentrations-Verläufe nicht zu erkennen.

Endgültig kann aber auch hier der Mechanismus der Exkretion nicht geklärt werden, da sowohl bei dem „Überschuss-Modell“ als auch dem „Verlust-Modell“ angenommen wird, dass Stoffwechselaktivitäten der Exkretion vorangehen. Die Ergebnisse der Experimente geben aber einen wertvollen Hinweis auf die Umstände der Exkretion. Das „Überschuss-Modell“ geht davon aus, dass die Alge durch eine Stickstofflimitierung gezwungen ist, den durch das Lichtangebot fixierten Kohlenstoff durch Exkretion in das umgebende Medium aus dem Stoffwechsel zu entfernen. In den oben beschriebenen Experimenten beträgt die größte beobachtete POC-Masse etwa 200 mgC (*Coenochloris p.* 90 μ E; Abbildung 4.3). Legt man ein C/N-Verhältnis des Phytoplanktons von 6 zugrunde, ergibt sich eine maximale Stickstoffmasse des POM von ca. 33 mgN. Da die DIN-Masse im Kulturmedium beim Start der Experimente 44 mgN betrug, kann es während des Wachstums der Algen nicht zu einer Stickstofflimitierung gekommen sein. Damit scheidet in diesem Experiment das „Überschuss-Modell“ als Hauptmechanismus der Exkretion vom DOM durch Phytoplankton aus.

Für das „Verlust-Modell“ als dominierender Exkretions-Mechanismus spricht zudem auch die Zeitspanne zwischen der Assimilation und der Exkretion des Kohlenstoffs, die im Bereich von Tagen liegt, da zumindest eine verstärkte Exkretion durch einen höheren Anteil der Photorespiration und der damit verbundenen Synthese von Glycolat (Fogg 1983, Al-Hasan und Fogg 1977) als Hauptursache ausgeschlossen werden kann. Zum anderen zeigen die PER der Kulturen (Tabelle 4.3) gerade bei

den Kulturen mit hohen Wachstumsraten geringe Werte von ca. 5 %, wodurch deutlich wird, dass der größte Teil des fixierten DIC zum Aufbau von Biomasse genutzt und nicht als Überschuss exkretiert wird.

Tabelle 4.3: *PER* während der Wachstumsphase der Kulturen.

Kultur		<i>Tetrastrum s.</i>		<i>Coenochloris p.</i>	
Lichtstärke		20 μ E	90 μ E	20 μ E	90 μ E
Tag	1	33,3	50,0	20,0	37,5
	3	20,0	5,5	15,0	7,1
	4	28,6	4,9	13,3	3,0
	5	25,0	5,0	-	-
	7	20,0	5,3	66,7	3,9
	11	15,8	5,2	28,6	4,1
	13	9,5	5,4	-	-
	15	10,8	6,3	21,4	5,9
	18	15,6	-	15,9	3,4
	20	11,1	-	17,4	-
	22	-	-	10,0	6,2
	25	-	-	8,0	-

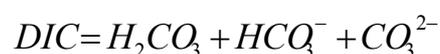
Auffällig sind die für Grünalgen extrem schweren $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Werte in der Phase größter photosynthetischer Aktivität (*Tetrastrum s.* und *Coenochloris p.* (90 μ E); Abbildung 4.5). Bislang wird berichtet, dass die Isotopen-Fraktionierung ε (siehe Kapitel 2.2.2) der Kohlenstofffixierung höherer C_3 -Pflanzen 29 ‰ beträgt. Genaue Daten für RUBISCO von Grünalgen sind bislang nicht verfügbar, es kann aber angenommen werden, dass die Fraktionierung im Bereich von 20 bis 30 ‰ liegt (Goericke et al. 1994). Da der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des aquatischen Kohlendioxids, dem Substrat für RUBISCO, bei einer Temperatur von 25 °C -8.6 ‰ beträgt (Clark und Fritz 1997), sind für Primärproduzenten, die den Kohlenstoff aus dieser Quelle assimilieren, $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Werte von -28 bis -38 ‰ zu erwarten. Da bei den beschriebenen Kulturen durch die Belüftung eine ständige Nachführung von Kohlendioxid erfolgt, handelt es sich um ein offenes Rayleigh-System. Damit ist eine Verschiebung des $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Wertes zu größeren Werten hin durch eine Akkumulation von ^{13}C im Medium ausgeschlossen (siehe Kapitel 2.2.2).

Die oben gezeigten Unterschiede im $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Wert der kultivierten Algen bei

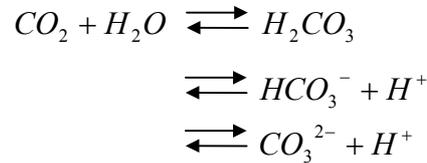
verschiedenen Lichtstärken scheinen durch die variierenden Wachstumsraten hervorgerufen zu werden. Johnston und Raven (1992) haben den Einfluss von Wachstumsraten auf die $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Werte von *Phaeodactylum tricornutum* untersucht. Dazu ließen sie Batch-Kulturen der Alge unter verschiedenen Belüftungssituationen, d.h. bei unterschiedlichen DIC-Konzentrationen wachsen. Auch hier konnten Unterschiede im $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Wert beobachtet werden. Anders als bei den oben beschriebenen Experimenten aber zeigten die Kulturen mit den größten Wachstumsraten unveränderte $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Werte von -23,6 ‰, während die $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Werte der Kulturen, die Kohlenstoff limitiert waren, auf bis zu -12,3 ‰ anstiegen.

Neben dem Enzym RUBISCO findet sich in Chlorophyceen auch das Carboxylierungsenzym PEPCO (Descolas-Gros und Fontugne 1990, Glover 1989), einer β -Carboxylase welche Hydrogencarbonat (HCO_3^-) als Substrat verwendet. Johnston und Raven (1992) haben die Verschiebung der $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Werte der β -Carboxylaseaktivität von PEPCO, einem Enzym, das für die Fixierung von Kohlendioxid im Hatch-Slack-Zyklus der C_4 -Pflanzen verantwortlich ist, bei verminderter DIC-Konzentration zugeschrieben. Johnston und Raven (1992) haben zwar die DIC-Konzentration nicht aber den pH-Wert in den Batch-Kulturen bestimmt, womit keine Information über die Zusammensetzung des DIC bezüglich des Kohlensäuregleichgewichts vorliegt. Durch die Konsumption von anorganischem Kohlenstoff durch Phytoplankton kommt es aber zu einer Verschiebung des pH-Wertes, wenn das freie Kohlendioxid schneller assimiliert wird als es durch den Lösungsprozess aus der Luft und das Kohlensäuregleichgewicht nachgebildet werden kann. Zwar ist die Gleichgewichtseinstellung zwischen Hydrogencarbonat und freier Kohlensäure eine schnelle Reaktion, die Dehydratisierung zu freiem Kohlendioxid ist hier aber der Geschwindigkeit bestimmende Schritt (Kohl und Nicklisch 1988).

Die Summe aller anorganischer Kohlenstoff-Verbindungen wird als DIC (Dissolved Inorganic Carbon) bezeichnet. Darin enthalten ist die Menge des gelösten freien ($\text{CO}_2_{\text{g, aq}}$) und des hydratisierten (H_2CO_3) Kohlendioxids, die als freie Kohlensäure bezeichnet wird.



Die verschiedenen anorganischen Kohlenstoff-Verbindungen sind durch Gleichgewichtsbeziehungen miteinander verknüpft:



Das gesamte System der anorganischen Kohlenstoff-Verbindungen lässt sich durch wenige Reaktionsgleichungen, der Autoprotolyse des Wassers (K_W), der Hydratation des Kohlendioxids (K_H) sowie der ersten (K_1) und zweiten (K_2) Dissoziationsstufe der Kohlensäure, beschreiben.

$$\begin{aligned} K_W &= [\text{H}^+] \cdot [\text{OH}^-] \\ K_H &= \frac{[\text{H}_2\text{CO}_3]}{[\text{CO}_2] \cdot [\text{H}_2\text{O}]} \\ K_1 &= \frac{[\text{H}^+] \cdot [\text{HCO}_3^-]}{[\text{H}_2\text{CO}_3]} \\ K_2 &= \frac{[\text{H}^+] \cdot [\text{CO}_3^{2-}]}{[\text{HCO}_3^-]} \end{aligned}$$

Zu beachten ist, dass ab einer Gesamtionenkonzentration von 100 mg/L die Ionenstärke J des Mediums so groß ist, dass anstatt der Konzentrationen die Aktivitäten in die Gleichungen eingesetzt werden müssen (Freier 1978), wobei für ein- (γ_1) und zweiwertige (γ_2) Ionen gilt:

$$\begin{aligned} J &= 0,5 \cdot \sum_1^i c_i \cdot z_i^2 \\ \log \gamma_1 &= -0,5 \cdot \sqrt{J} \\ \log \gamma_2 &= -2 \cdot \sqrt{J} \end{aligned}$$

Daraus folgt, dass man bei Kenntnis des pH-Wertes und der DIC-Konzentration die Konzentrationen von freier Kohlensäure, Hydrogencarbonat-Ionen und Carbonat-Ionen errechnen kann.

Wie schon erwähnt, gelten diese Gleichgewichtsbeziehungen nur bei geringen Ionen-Konzentrationen von weniger als 100 mg/L. In den meisten natürlichen Gewässern liegt die Ionen-Konzentration allerdings sehr viel höher, so dass es nötig wird, die genaue Zusammensetzung des Mediums hinsichtlich der Ionen-Konzentrationen und -Spezies zu kennen. Schon Frischwasser erreichen teilweise Ionenstärken von 2 mmol/L, während Meerwasser sogar eine Ionenstärke von 700 mmol/L aufweist. Abbildung 4.7 zeigt die Veränderung der Konzentrationsverhältnisse von Kohlendioxid, Hydrogencarbonat und Carbonat in Abhängigkeit vom pH-Wert bei unterschiedlichen Ionenstärken. Es wird deutlich, dass schon ab einem pH-Wert des Mediums von 8.5 kein freies Kohlendioxid mehr vorliegt, und als anorganische Kohlenstoff-Verbindung hauptsächlich Hydrogencarbonat zu finden ist.

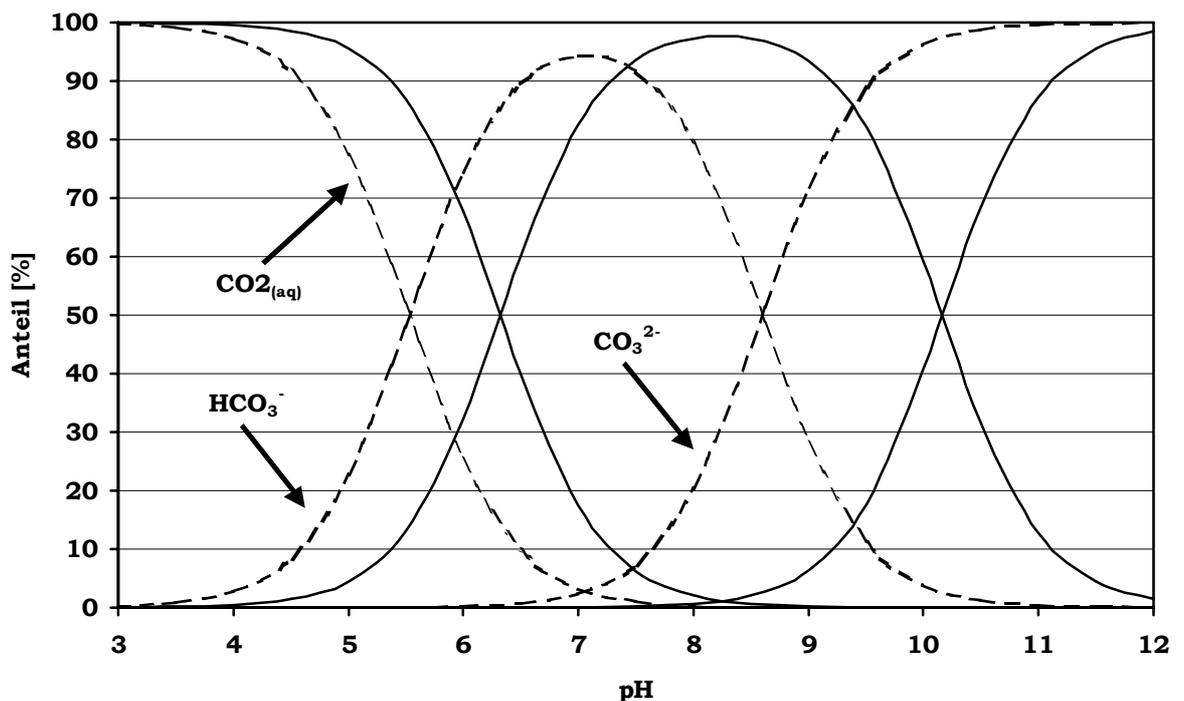


Abbildung 4.7: *Verhältnisse von freiem Kohlendioxid, Hydrogencarbonat und Carbonat in Abhängigkeit vom pH für Süß- (durchgezogen) und Meerwasser (gestrichelt).*

Die Fraktionierung ε von PEPCO liegt bei 2 ‰ gegen HCO_3^- (Goericke et al. 1994), das bei 25 °C einen $\delta^{13}\text{C}$ -Wert von 0.4 ‰ besitzt (Clark und Fritz 1997), womit die schwereren $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Werte der Kulturen von *Tetrastrum s.* (90 μE) und *Coenochloris p.* (90 μE) erklärbar sind. Die Fraktionierung von PEPCO ist pH-abhängig, da auch Fraktionierungen von 0.9 und -2.7 ‰ bei pH = 9.0 respektive 10.0 beobachtet

wurden (O'Leary et al. 1981). Beardall et al. (1976) und zuletzt Reinfelder et al. (2000) sowie Tortell und Morel (2002) haben gezeigt, dass einige Phytoplanktonarten in der Lage sind, anorganischen Kohlenstoff über die Aufnahme von Hydrogencarbonat und einen C₄-Metabolismus zu fixieren.

Dagegen fanden Rost et al. (2002), bei der Beobachtung des $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Wertes der Diatomee *Emiliana huxleyi*, die unter verschiedenen Licht-Dunkel-Zyklen wuchs, eine positive Korrelation zwischen der Wachstumsrate und der Isotopenfraktionierung der Kohlenstofffixierung. Sowohl Rost et al. (2002) wie auch Cassar et al. (2002), die *Phaeodactylum tricornutum* untersuchten, betonen aber, dass ihre Ergebnisse aufgrund großer Variabilitäten entlang der taxonomischen Gruppen und Kulturbedingungen nicht ohne weiteres auf andere Stämme oder natürliche Populationen übertragen werden können.

In Abbildung 4.8 sind die für die Kulturen von *Tetrastrum s.* und *Coenochloris p.* bei 20 und 90 μE Lichtstärke die pH-Werte im Verlauf des Experimentes dargestellt. Es ist zu erkennen, dass die pH-Werte bei hohen Photosyntheseraten bei Werten über 9.5 liegen (*Tetrastrum s.* (90 μE): 5 d; *Coenochloris p.* (90 μE): 12 d). Verschiebt sich

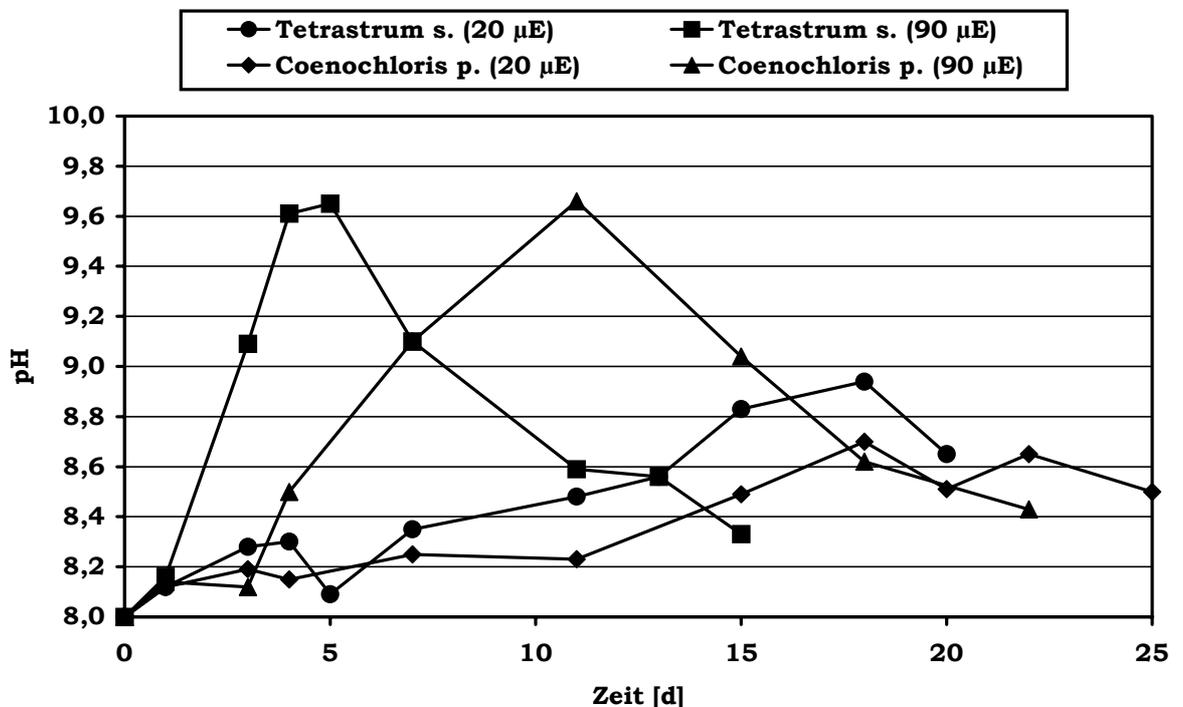


Abbildung 4.8: Zeitlicher Verlauf der pH-Werte des Kulturmediums während der Inkubation von *Tetrastrum s.* und *Coenochloris p.* bei Lichtintensitäten von 20 und 90 μE .

der pH-Wert des Mediums zu diesen Werten, so liegt nach dem Kohlensäuregleichgewicht kein freies Kohlendioxid mehr sondern Hydrogencarbonat neben einem steigenden Anteil an Carbonat vor (Abbildung 4.7). In diesem Fall ist es den Algen also nur möglich, Hydrogencarbonat als anorganische Kohlenstoff-Quelle zu verwenden.

Eine Limitierung des anorganischen Kohlenstoffs, wie durch Johnston und Raven (1992) beobachtet, gab es dabei nicht, da ein höherer pH-Wert eine größere Löslichkeit von Kohlendioxid in dem Medium bedeutet. Dies verdeutlicht auch Abbildung 4.9, in der die gemessenen DIC-Konzentrationen gegen die jeweiligen pH-Werte aufgetragen sind. Der Abfall der DIC-Messwerte bei pH-Werten größer 9.0 (Abbildung 4.9B) ist dabei auffällig, und kann dem Ausfallen fester Carbonate

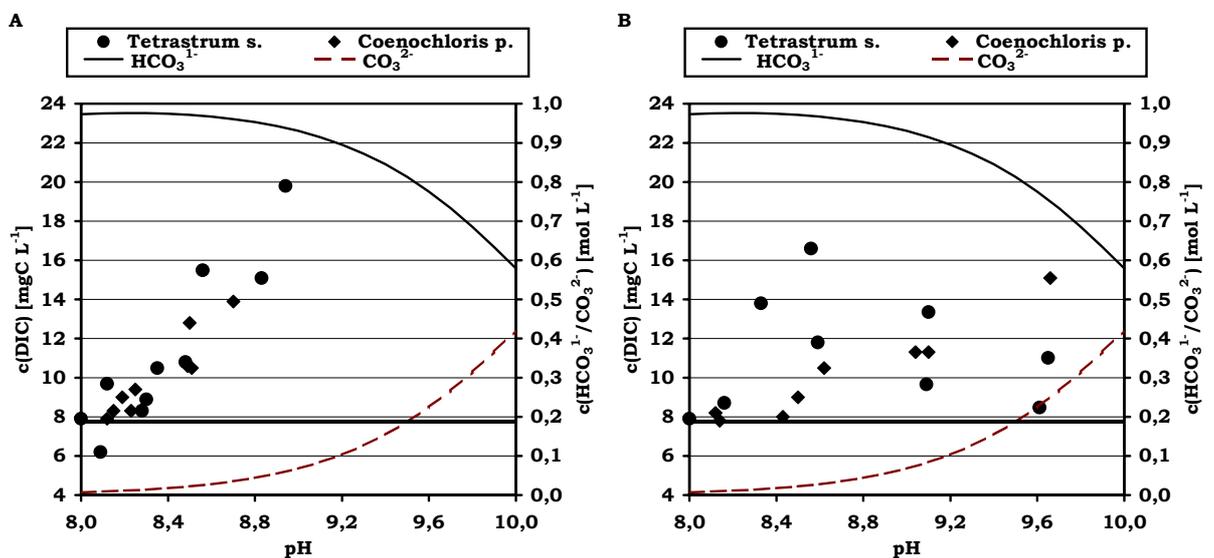


Abbildung 4.9: Zusammenhang von beobachteten pH-Werten und DIC-Konzentrationen. A: 20µE; B: 90µE. Eingezeichnet ist die DIC-Konzentration bei Start des Experimentes von 7.9 mgC/L (siehe Tabelle 4.2).

zugeschrieben werden, die bei der Filtration zwecks Probenvorbereitung (siehe Kapitel 3.4.2) aus dem Medium entfernt wurden. Zur Verdeutlichung ist der Anteil von Hydrogencarbonat und Carbonat eingezeichnet. Wie zu erkennen ist, sinkt der DIC-Messwert analog zur Abnahme von Hydrogencarbonat und der damit verbundenen Zunahme des Carbonatanteils im Medium. Dies bedeutet, dass den Algen ab einem pH-Wert von etwa 9.0 weniger anorganischer Kohlenstoff zur Verfügung stand. Die DIC-Messwerte sinken aber nicht unter 8.0 mgC/L, so dass es zu keiner Kohlenstofflimitierung gekommen ist. Diese Ergebnisse decken sich mit denen von Fry und Wainright (1991) und Reinfelder et al. (2000), die eine Erhöhung der

$\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Werte von Algenkulturen beobachtet, diese aber nicht mit der Konzentration des aquatischen Kohlendioxids korrelieren konnten. Vielmehr fanden sie eine vermehrte Aufnahme der Algen von Hydrogencarbonat, das über PEPCO dem Stoffwechsel zugeführt wird. Reinfelder et. al (2000) schlossen auch die Dehydratisierung von Hydrogencarbonat durch externe Carboanhydrasen als Aufnahmemechanismus aus, und wurden von Tortell und Morel (2002) bestätigt. Durch die Dehydratisierung, die durch die Carboanhydrase katalysiert wird, tritt eine Isotopenfraktionierung von 10.1 ‰ auf (Riebesell und Wolf-Gladrow 1995), so dass die relative Anreicherung an ^{13}C des Hydrogencarbonates gegenüber dem freien Kohlendioxid wieder neutralisiert wird. Dieser Mechanismus hätte keine ^{13}C -Anreicherung in der Biomasse zur Folge.

Trotz der Unsicherheit in der Literatur über die Nutzung anorganischer Kohlenstoffquellen (Rost et al. 2003) durch Phytoplankter ist anzunehmen, dass die beobachtete Verschiebung der $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Werte zu schwereren Werten hin im Rahmen dieser Arbeit durch eine verstärkte β -Carboxylaseaktivität hervorgerufen wird, da

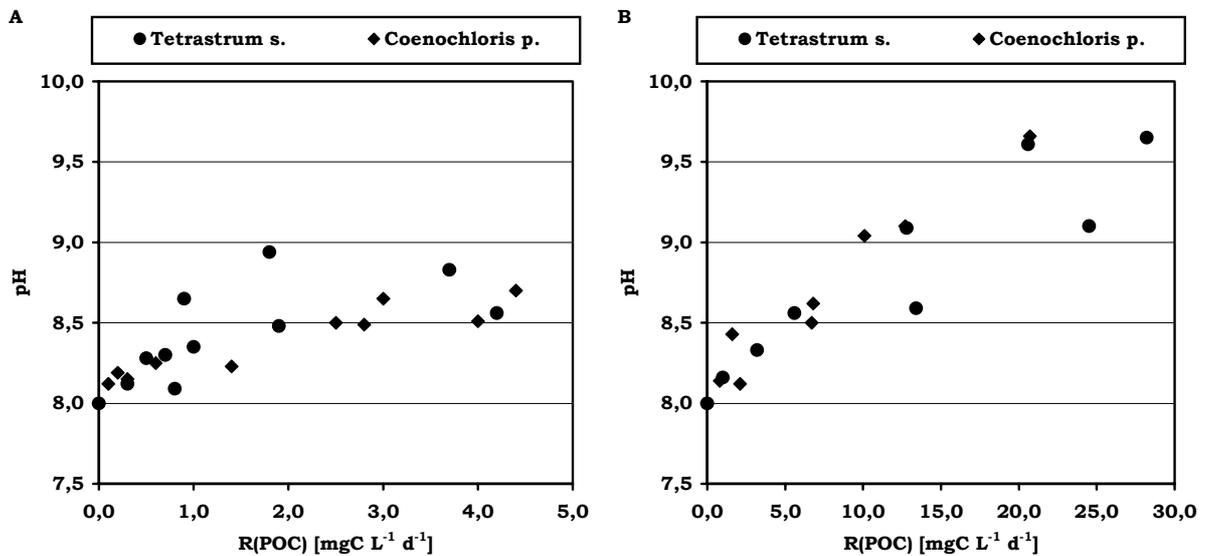


Abbildung 4.10: Zusammenhang von beobachteten pH-Werten und POC-Wachstumsraten. A: 20 μE ; B: 90 μE

etwa ab einem pH-Wert von 9.0 lediglich Hydrogencarbonat zur Assimilation zur Verfügung steht. Dies gilt insbesondere für hohe Photosyntheseraten, da durch das Kohlensäuregleichgewicht nicht genügend freies Kohlendioxid nachgebildet werden kann. Dies verdeutlicht noch einmal Abbildung 4.10, in der pH-Wert gegen die Wachstumsraten ausgedrückt als Zunahme von POC in den Kulturen aufgetragen ist.

Um abschätzen zu können, inwieweit PEPCO zur Fixierung von Kohlenstoff während der Photosynthese verwendet wird, ist es nötig die $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Werte nach der Zeit zu differenzieren, um den $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Wert der neu aufgebauten Biomasse zwischen den Zeitpunkten t_n und t_{n-1} und damit den mittleren $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des fixierten Kohlenstoffs zu bestimmen. Dies kann aber nicht durch einfache Differenzbildung der $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Werte geschehen, da von der Masse M zum Zeitpunkt t_n ($M(t_n)$) mit dem $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Wert $\delta(t_n)$ nicht alleine der $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Wert $\delta(t_{n-1})$ abgezogen werden kann. Wie aus Gleichung 4.1 ersichtlich ist, setzt sich der $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Wert der Biomasse zum Zeitpunkt t_n ($\delta(t_n)$) nicht nur aus $\delta(t_{n-1})$ und $\delta(\Delta t)$ zusammen, sondern auch aus den Massen $M(t_{n-1})$ und $M(\Delta t)$ also der POC-Masse, die zwischen t_n und t_{n-1} aufgebaut wurde. Durch Auflösen der Gleichung nach $\delta(\Delta t)$ erhält man Gleichung 4.2. Durch Bestimmen der Kohlenstoff-Masse und des $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -wertes des POM zweier aufeinander folgender Proben, sind alle Parameter bekannt, um $\delta(\Delta t)$ berechnen zu können.

$$\delta(t_n) = \delta(t_{n-1}) \cdot \frac{M(t_{n-1})}{M(t_n)} + \delta(\Delta t) \cdot \frac{M(\Delta t)}{M(t_n)} \quad (4.1)$$

$$\delta(\Delta t) = \left[\delta(t_n) - \delta(t_{n-1}) \cdot \frac{M(t_{n-1})}{M(t_n)} \right] \cdot \frac{M(t_n)}{M(\Delta t)} \quad (4.2)$$

Die so ermittelten Werte für $\delta(\Delta t)$ sind in Abbildung 4.11 für die $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Werte des Experimentes aufgetragen. Es ist zu erkennen, dass die so berechneten $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Werte zum Zeitpunkt t schwerere Werte annehmen als wenn nur die $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Werte der akkumulierten Biomasse $\delta(t_n)$ betrachtet werden. Somit ist auch der Anteil des durch PEPCO fixierten Kohlenstoffs größer, als bislang angenommen wurde.

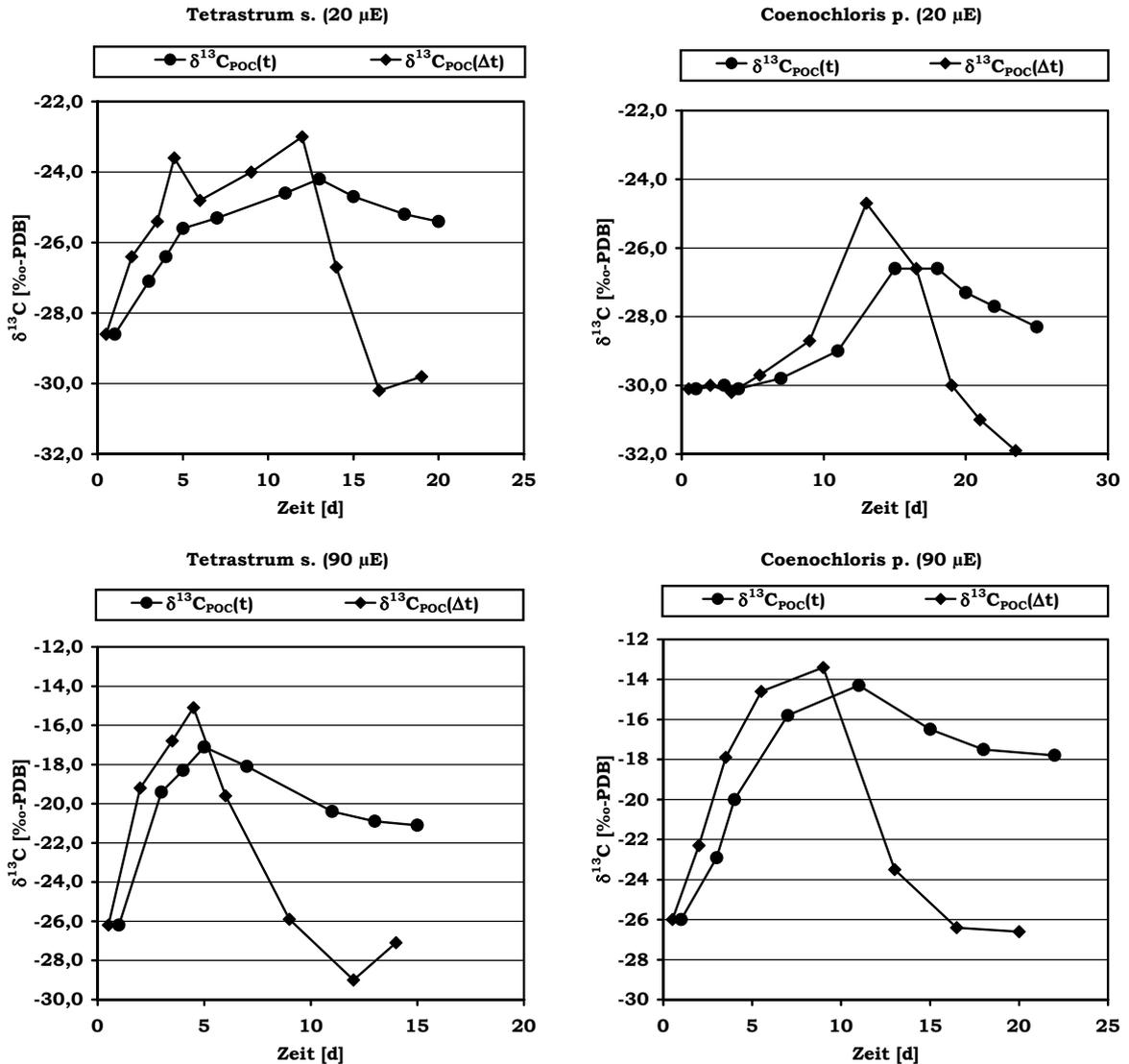


Abbildung 4.11: Verläufe der $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ und $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}(\Delta t)$ -Werte der Kulturen nach Gleichung 4.2.

Hat man die $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Werte zu den jeweiligen Zeitpunkten der Probenahmen nach diesem Verfahren bestimmt, lässt sich sehr viel genauer eine eventuelle Kohlenstoff-Fraktionierung bei der Exkretion von organischem Material durch Algen im Zeitverlauf bestimmen. Dazu müssen die $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werte ebenfalls dieser Prozedur unterworfen werden. Abbildung 4.12 zeigt den Verlauf der $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}(t)$ - und $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}(\Delta t)$ -Werte der Kulturen. Auch hier ist zu erkennen, dass die Isotopenverhältnisse schwerere δ -Werte annehmen, als bei der Betrachtung der $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werte des akkumulierten DOC.

Wie schon oben erwähnt, korrelieren die schwersten $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ - und $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werte mit den größten Wachstumsraten. Um die Korrelation zwischen den Werten zu

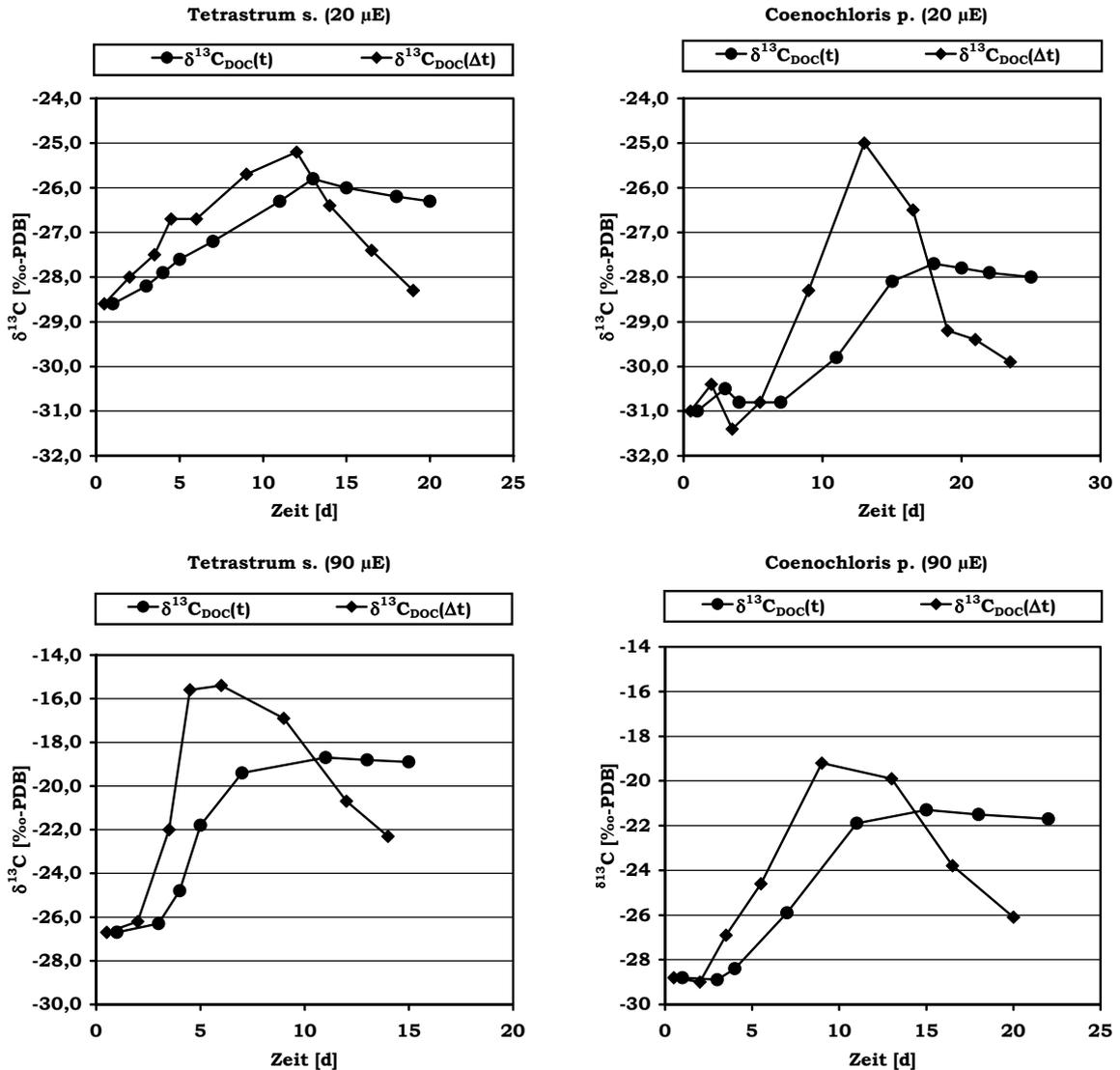


Abbildung 4.12: Verläufe der $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ und $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}(\Delta t)$ -Werte der Kulturen nach Gleichung 4.2.

charakterisieren ist es nötig, diese in ein Diagramm einzutragen. Stellvertretend für alle Ansätze zeigt dies Abbildung 4.13 für die $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}(\Delta t)$ -Werte von *Tetrastrum s.* (90 μE). Die Auftragung der $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Werte gegen die Wachstumsrate der übrigen Kulturen zeigen vergleichbare Ergebnisse.

Wie zu erkennen ist, kann den Werten nur eine schlechte lineare Korrelation zugeordnet werden. Dennoch scheinen die $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}(\Delta t)$ -Werte linear mit den Wachstumsraten anzusteigen. Es ist auffällig, dass die $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}(\Delta t)$ -Werte, die der Phase steigender Wachstumsrate zuzuordnen sind, größer sind, als diejenigen, die während der Phase fallender Wachstumsraten gemessen wurden. Zur Verdeutlichung sind die Werte in Abbildung 4.13 graphisch unterschieden worden. Anscheinend handelt es sich bei der Auftragung der $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}(\Delta t)$ -Werte gegen die

Wachstumsrate um einen Kreisprozess, der mit beginnendem Wachstum schwerere $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}(\Delta t)$ -Werte zeigt, als bei Einschwenken der Kultur in die stationäre Wachstumsphase. Um dies zu verifizieren sind aus Abbildung 4.13 allerdings nicht genügend Werte vorhanden, um eine sichere Aussage zu treffen. Zu diesem Zweck müssen die Werte des Verlaufs der $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}(\Delta t)$ -Werte und der Wachstumsraten interpoliert werden. Am Beispiel von *Tetrastrum s.* (90 μE) soll gezeigt werden, auf welchem Wege die interpolierten Werte erhalten werden können.

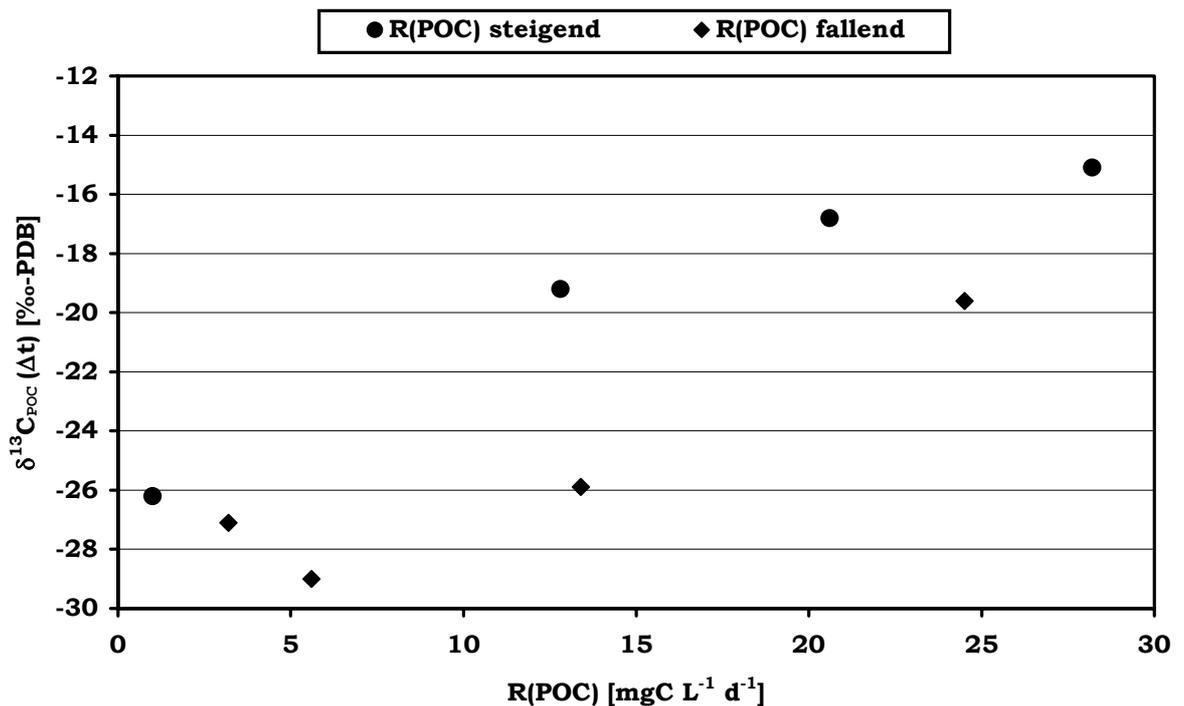


Abbildung 4.13: Korrelation zwischen der Wachstumsrate und dem $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}(\Delta t)$ -Wert der Kultur *Tetrastrum s.* (90 μE).

Die interpolierten Wachstumsraten lassen sich durch Anlegen einer sigmoiden Funktion an die Messwerte des POC-Gehaltes in der Kultur und Ableiten dieser Funktion nach der Zeit erhalten. Es hat sich als vorteilhaft erwiesen, eine universelle Arcustangensfunktion, wie sie Gleichung 4.3 zeigt, zur Beschreibung der Lag-Log-Phase des Wachstums von *Tetrastrum s.* (90 μE) zu verwenden, wenn für x die Zeit und für y der POC-Gehalt in der Kultur eingesetzt wird. Zum einen wird ein Korrelationskoeffizient von $r > 0.999$ erreicht, zum anderen bildet die Ableitung der Arcustangensfunktion nach der Zeit, die die Wachstumsrate beschreibt (Gleichung 4.4), eine einfache Funktion, was wiederum den Fehler der Berechnung begrenzt.

$$y = a + b \cdot \arctan(c + d \cdot x) \quad (4.3)$$

$$\frac{dy}{dx} = \frac{b \cdot d}{1 + (c + d \cdot x)^2} \quad (4.4)$$

Den Verlauf der an die POC-Werte von *Tetrastrum* s. (90 μ E) angelegten Arcustangensfunktion und die Korrelation ihrer Ableitung mit den berechneten Wachstumsraten zeigt Abbildung 4.14. Die berechneten Parameter aller Kulturen, die durch Curve-Fitting mit dem Programm Curve-Expert (© 1995-2001 Daniel Hyams; mit freundlicher Genehmigung) ermittelt wurden, können dem Anhang entnommen werden.

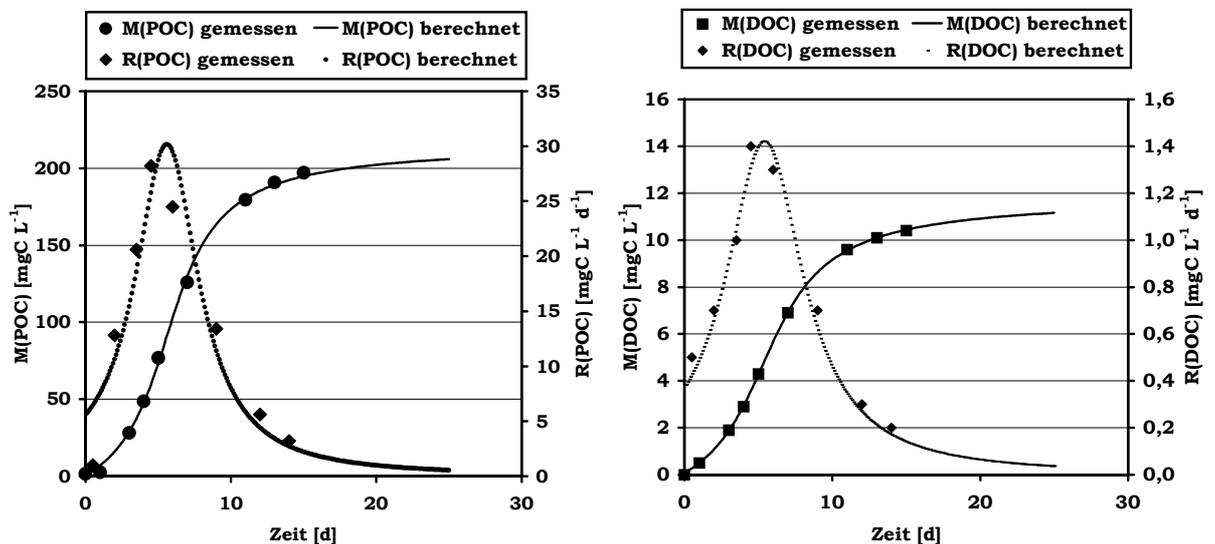


Abbildung 4.14: Korrelation zwischen den gemessenen und den nach den Gleichungen 4.3 und 4.4 berechneten POC- und DOC-Werten sowie der Wachstumsraten der Kultur *Tetrastrum* s. (90 μ E).

Wie schon weiter oben erwähnt, lassen sich die $\delta^{13}\text{C}(\Delta t)$ -Werte nicht durch Differenzieren der gemessenen $\delta^{13}\text{C}$ -Werte nach der Zeit erhalten. Zudem sind die Verläufe der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte, wie sie in Abbildung 4.5 gezeigt sind, nicht durch eine einfache Funktionen interpolierbar. Das Problem kann gelöst werden, indem man die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte von POC und DOC durch die Massen von ^{13}C und ^{12}C ausdrückt. In Kapitel 2.2.2 sind die Grundlagen der Berechnung der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte aus dem Isotopenverhältnis von ^{13}C und ^{12}C besprochen worden. Aus der Definition des δ -Wertes (Gleichung 2.1) ist ersichtlich, dass hieraus das Isotopenverhältnis R von ^{13}C zu ^{12}C in einer Probe berechnet werden kann (Gleichung 4.5).

$$R_{SA} = \frac{^{13}\text{C}}{^{12}\text{C}} = \left[\frac{\delta^{13}\text{C}}{1000} + 1 \right] \cdot R_{PDB} \quad (4.5)$$

Mit dem Isotopenverhältnis R ist die Fraktion F einer Probe durch Gleichung 4.6 verbunden. Aus dieser Definition geht hervor, dass F den Anteil von ^{13}C an der Gesamt-Kohlenstoffmasse angibt. Wird dieser Wert in Gleichung 4.7 eingesetzt, lässt sich die absolute Masse ^{13}C [$M(\text{PO}^{13}\text{C})$] durch Multiplikation mit den gemessenen Kohlenstoff-Massen $M(\text{POC})$ in der Kultur bestimmen. Durch Differenzbildung ist ebenfalls die absolute Masse ^{12}C [$M(\text{PO}^{12}\text{C})$] in der Kultur bekannt (Gleichung 4.8).

$$F = \frac{^{13}\text{C}}{^{13}\text{C} + ^{12}\text{C}} = \frac{R_{SA}}{R_{SA} + 1} \quad (4.6)$$

$$M(\text{PO}^{13}\text{C}) = F \cdot M(\text{POC}) \quad (4.7)$$

$$M(\text{PO}^{12}\text{C}) = M(\text{POC}) - M(\text{PO}^{13}\text{C}) \quad (4.8)$$

Wie in Abbildung 4.15 zu erkennen ist, hat man damit die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte durch Auftrennung der Massen $M(^{13}\text{C})$ und $M(^{12}\text{C})$ direkt mit dem Wachstum und der Wachstumsrate einer Kultur verbunden. Nun ist es möglich, getrennt für ^{13}C und ^{12}C Verlauf und Zunahmeraten anhand der Gleichungen 4.3 und 4.4 zu interpolieren. Als Beispiel sind die interpolierten Verläufe von PO^{13}C und PO^{12}C der Kultur *Tetrastrum*

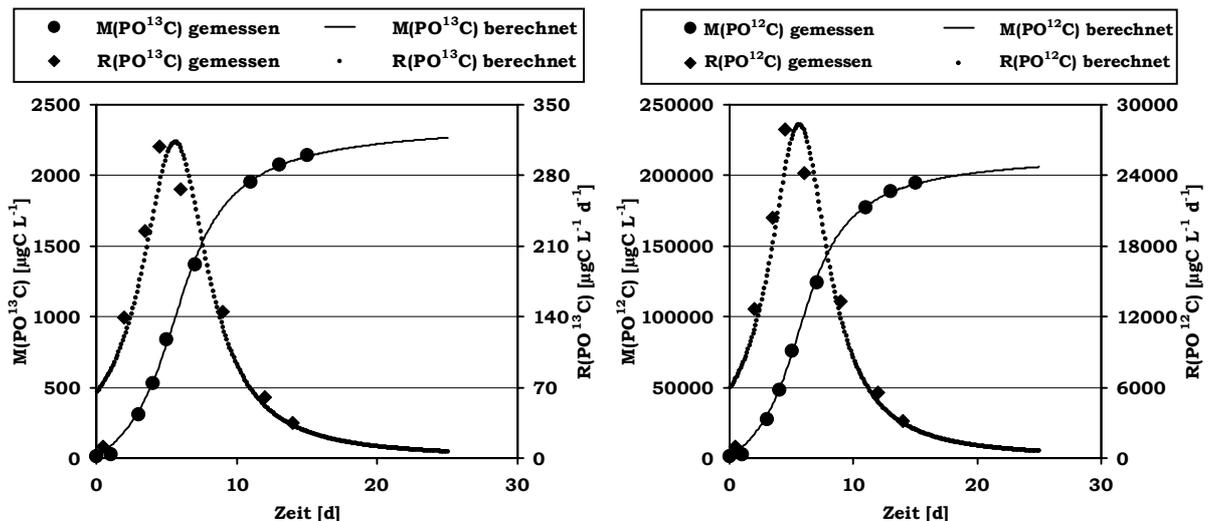


Abbildung 4.15: Interpolation der PO^{13}C - und PO^{12}C -Werte sowie der dazugehörigen Zunahmeraten von *Tetrastrum* s. ($90\mu\text{E}$).

s. (90 μE) gezeigt.

Die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte lassen sich nun aus den so erhaltenen PO^{13}C - und PO^{12}C -Werte sowie der Zunahmeraten berechnen, und der Verlauf der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte interpoliert darstellen (Abbildung 4.16). Ebenfalls in Abbildung 4.16 ist das Ergebnis der Berechnung der $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werte für *Tetrastrum* s. (90 μE) gezeigt, wobei wiederum eine gute Übereinstimmung von Experiment und Berechnung erreicht wird. Damit ist der Beweis erbracht, dass dieses Verfahren zur Interpolation von $\delta^{13}\text{C}$ -Werten geeignet ist. Die Werte der berechneten Parameter der Arcustangens-Funktion für die Interpolation von $M(\text{POC}/\text{DOC})$ sowie der Isotopenmassen für die übrigen Kulturen sind dem Anhang zu entnehmen.

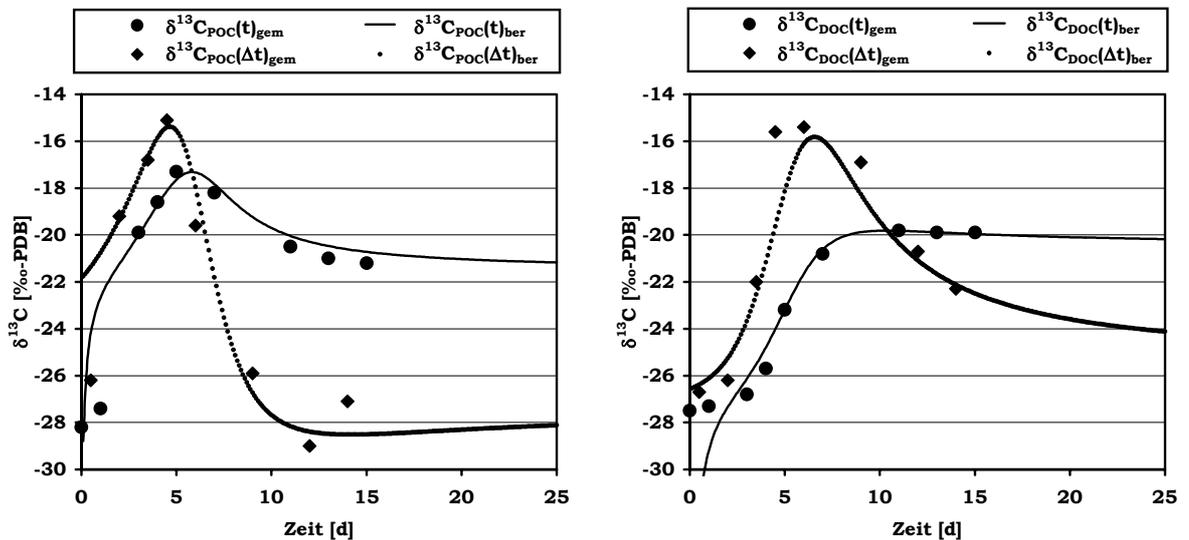


Abbildung 4.16: Ergebnis der Interpolation der $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ - und $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werte von *Tetrastrum* s. (90 μE).

Die so erhaltenen Wertetabellen der Wachstumsraten und der $\delta^{13}\text{C}(\Delta t)$ -Werte für POC und DOC lassen sich nun gegeneinander auftragen, was in Abbildung 4.17 für *Tetrastrum* s. (90 μE) zu sehen ist. In der Tat zeigt die Auftragung der POC-Wachstumsraten gegen die $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}(\Delta t)$ -Werte einen Kreisprozess, da während der Phasen steigenden Wachstums die PEPCO-Aktivität größer ist, und die Biomasse somit höhere $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Werte zeigt, als in der Phase sinkenden Wachstums.

Dies ist dadurch zu erklären, dass zum schnelleren Aufbau von Biomasse während steigender Wachstumsraten wesentlich mehr Kohlendioxid in einer Zeiteinheit zu

fixieren ist, als in den Phasen, in denen das Wachstum abnimmt. Dadurch kommt es zu einer größeren Verknappung an freiem Kohlendioxid, das, wie weiter oben schon erwähnt, kinetisch bedingt nicht so schnell aus dem Kohlensäuregleichgewicht nachgebildet werden kann, wie es durch das Phytoplankton assimiliert wird. Der zum Aufbau von Biomasse benötigte Kohlenstoff wird deshalb über PEPCO aus Hydrogencarbonat gewonnen. Sinken die Wachstumsraten, so ist auch das Kohlensäuregleichgewicht in der Lage, vermehrt freies Kohlendioxid nachzuliefern, so dass die PEPCO-Aktivität kleiner ist als bei steigenden Wachstumsraten.

Wie in Abbildung 4.17 für *Tetrastrum s.* (90 μ E) zu erkennen ist, liegen die Kurven der $\delta^{13}\text{C}(\Delta t)$ -Werte für POC und DOC bei gleichen Wachstumsraten innerhalb des Fehlers übereinander. Dies ist zunächst nicht mit den Ergebnissen aus Abbildung 4.6 zu vereinbaren, da hier gezeigt wurde, dass der Anstieg der $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werte dem der $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Werte mit einigen Tagen Verzögerung folgt. Betrachtet man die Kurven aus Abbildung 4.17 allerdings genauer, so erkennt man, dass der Verlauf der $\delta^{13}\text{C}(\Delta t)$ -Werte von steigenden zu fallenden Wachstumsraten gegensinnig ist. Während die $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}(\Delta t)$ -Werte im Uhrzeigersinn verlaufen, zeigen die $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}(\Delta t)$ -Werte einen Verlauf gegen den Uhrzeigersinn. Hier wird also der Befund aus Abbildung 4.6 sogar bestätigt, der zeigt, dass die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte von POC und DOC nicht den gleichen zeitlichen Verlauf zeigen wohl aber sich zum Ende der Lag-Log-Phase hin angleichen. Dieser Befund wird durch die Berechnungen für die anderen Kulturen

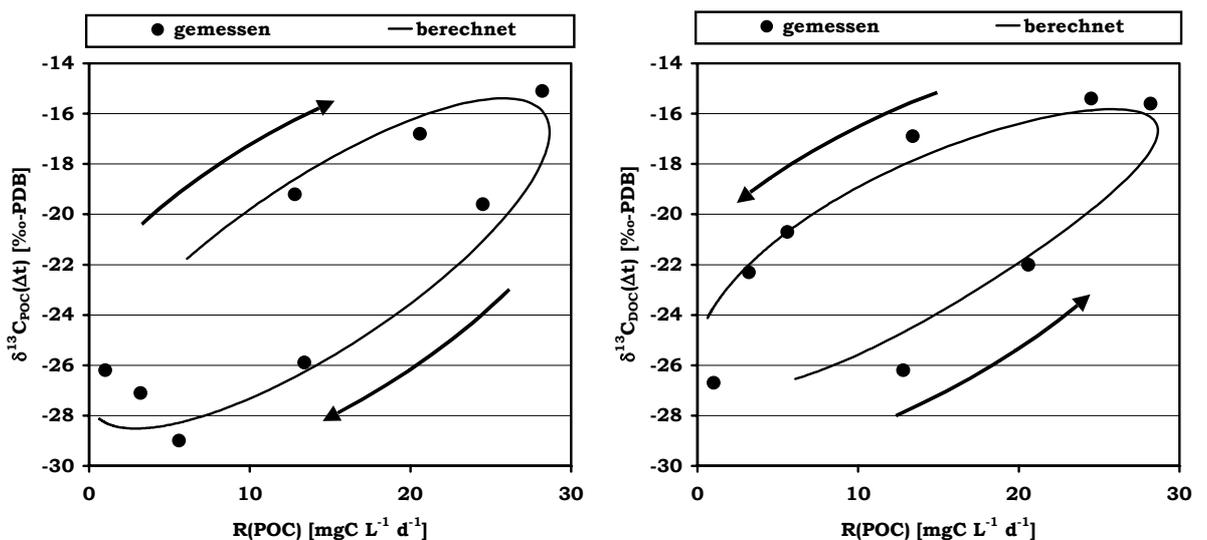


Abbildung 4.17: Korrelation der berechneten $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}(\Delta t)$ - und $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}(\Delta t)$ -Werte mit den POC-Wachstumsraten (siehe Text).

bestätigt. Die Abbildungen für die Kulturen *Tetrastrum* s. (20 μ E) und *Coenochloris* p. (20 μ E) sowie (90 μ E) sind dem Anhang zu entnehmen.

Damit ist bewiesen, dass die Annahme der fraktionierungsfreien Exkretion organischen Materials durch Phytoplankter richtig ist. Dennoch konnte gezeigt werden, dass es bei einer isotopischen Beobachtung der Lag-Log-Phase sehr wohl zu einer Verschiebung der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte von POC und DOC kommen kann. Es ist also zu fordern, dass in Experimenten dieser Art durch die genaue Beobachtung des pH-Wertes eine Abschätzung der zeitlichen isotopischen Verschiebung der $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ - und $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werte zueinander vorgenommen wird.

Eine Relevanz dieser Befunde ist zudem für Experimente im Freiland gegeben. Abbildung 4.18 zeigt den Verlauf des pH-Wertes während des Jahres 2000 in der Elbe, gemessen in Schnackenburg (Flusskilometer 474). Wie zu erkennen ist, steigen die pH-Werte während der Algenblüten, die Anfang Mai und im August/September ihr Maximum durchlaufen, auf Werte von pH = 9,0 an. Es ist also anzunehmen, dass es hier zum einen zu einer Erhöhung der $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Werte des Phytoplanktons gekommen ist, während die $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werte des frisch exkretierten DOC mit einigen Tagen Verzögerung folgen. Diese Annahme muss allerdings noch durch Experimente bestätigt werden.

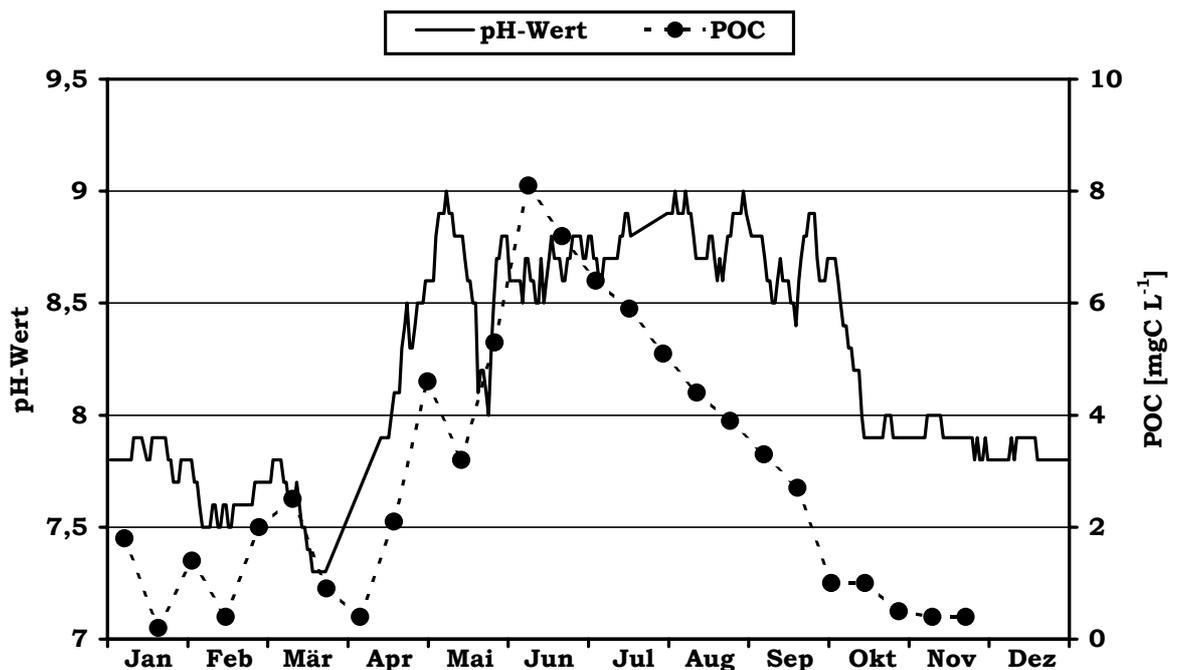


Abbildung 4.18: Verlauf des pH-Wertes und des POC in der Elbe gemessen in Schnackenburg im Jahr 2000 (ARGE-Elbe).

5 Abiotische Transformation von Phytoplanktonexkreten mit refraktärem DOM

Die Populationen innerhalb einer Lebensgemeinschaft sind durch ein Netzwerk von Interaktionen miteinander verbunden. Die wichtigsten Interaktionen sind dabei trophischer Natur, d.h. es geht um „Fressen“ und „Gefressenwerden“. Im Bezug auf die Verbindungen innerhalb einer Lebensgemeinschaft dominierte zunächst die einfache Vorstellung der Nahrungskette. Pflanzen (Primärproduzenten) werden von Pflanzenfressern (Primärkonsumenten oder Sekundärproduzenten) gefressen, welche wiederum von Fleischfressern (Sekundärkonsumenten) gefressen werden. In diesem Konzept kam den Bakterien die Aufgabe der Destruenten, also der Remineralisierung der toten organischen Substanz, zu. Die einzelnen Glieder der Nahrungskette entsprechen in einer an Energie und Stofftransport orientierten „trophischen Ebene“.

Abgesehen von einigen extrem artenarmen Lebensräumen ist das Bild der Nahrungskette aber zu einfach. Vor allem filtrierende Organismen, darunter viele herbivore Zooplankter, selektieren ihr Futter viel stärker nach der Größe als nach der trophischen Rolle. Wenn Daphnia einen Phytoplankter frisst, nimmt sie die Stellung eines Primärkonsumenten ein. Frisst sie aber einen phytoplanktonfressenden Zooflagellaten, ist sie ein Sekundärkonsument. Dadurch ist aber die Zuordnung zu einer bestimmten Stufe in der Nahrungskette nicht mehr eindeutig. An die Stelle der Nahrungskette tritt hier das komplexere Bild des Nahrungsnetzes.

Zu bemerken ist, dass von allen Komponenten eines solchen Nahrungsnetzes organische Substanz zu den Bakterien fließt. Dabei handelt es sich aber nicht nur um Fressen und Töten lebender Organismen, sondern auch um die Verwertung von Exkreten und abgestorbenem Material (Detritus). Die Bakterien dienen ihrerseits wieder Protozoen und an sich herbivoren Zooplanktern als Nahrung, bringen aber durch die Veratmung der gelösten organischen Substanz zu Kohlendioxid eine zirkuläre Komponente in das Nahrungsnetz hinein. Dieser Stoff- und Energietransfer ist erst in den letzten Jahren unter dem Namen „Microbial Loop“ zu einem wichtigen Thema der ökologischen Forschung geworden (Azam et al. 1983).

In Laborexperimenten soll der Frage nachgegangen werden, inwieweit durch

Phytoplankton frisch gebildetes DOM abiotisch transformiert wird und dabei hochmolekulare Verbindungen entstehen, die eine im Vergleich zu den organischen Ausgangssubstanzen erhöhte mikrobielle Verfügbarkeit aufweisen.

5.1 Experimente zur abiotischen Transformation

Im Gegensatz zu den Experimenten in Kapitel 4 wurden für die oben genannte Fragestellung Durchflussreaktoren verwendet. Die üblichen Inkubationsmethoden im Batch oder Chemostat hätten den Nachteil, dass es im Batch schnell zu einer Substratlimitierung gekommen wäre, während im Chemostaten das Wachstum nicht ausgereicht hätte, um eine vollständige Auswaschung der Bakterien zu verhindern. Weitere Vorteile einer Inkubation im Durchflussreaktor liegen darin, dass aufgrund des kontinuierlichen Austausches des wässrigen Mediums und der darin gelösten Inhaltsstoffe eine Akkumulation von Stoffwechselendprodukten und eine abiotische Transformation des DOM weitgehend auszuschließen sind. Ein Durchflussreaktor, wie er in Abbildung 3.9 gezeigt ist, wurde bereits im Rahmen einer Diplomarbeit zur Bestimmung des bakteriellen Abbaus von DOM aus der Elbe erfolgreich erprobt (Eydeler 1998).

Um die oben erwähnte zeitliche und räumliche Trennung der Vorgänge Phytoplanktonexkretion, Transformation des DOM und mikrobieller Abbau des DOM zu erreichen, wurde zunächst steril filtriertes Elbwasser mit den Exsudaten der in der Elbe vorherrschenden Phytoplanktonarten angereichert. Im Anschluss an die Alterung des DOM im Medium wurde in einem weiteren Ansatz der mikrobielle Abbau des DOM durchgeführt. Die Verfolgung des DOM über die Molekulargewichtsfractionen erfolgt über Trennung mittels Ultrafiltration.

5.1.1 Anreicherung von Elbwasser mit Phytoplanktonexsudaten und deren abiotische Alterung

Die in Abbildung 3.9 gezeigte Anlage wurde in folgenden Punkten gegenüber der oben erwähnten Diplomarbeit (Eydeler 1998) verbessert. Durch den Einsatz einer PES-Membran (Porengröße 1.2 µm) im Reaktorboden wurde die Fähigkeit zur selektiven Retention des partikulären Materials im Reaktor verbessert. Gleichzeitig wurden Mikroorganismen aus dem Kulturmedium kontinuierlich ausgewaschen. Um diese Organismen vom auslaufenden Kulturmedium zu trennen, wurde bei 5 °C online über eine 0.2 µm Polykarbonatmembran filtriert, und das Filtrat bei 5 °C

gesammelt. Eine weitere Änderung betraf die Kühlung des Kulturmediums im Vorratsbehälter auf 5 °C. Diese Maßnahme wurde eingeführt, da Untersuchungen der Gesamtbakterienzahlen mittels DAPI-Färbung ergeben hatten, dass auch steril filtriertes Elbwasser (Tangentiale-Flussfiltration über 0.16 µm-PES-Membranen) Zellzahlen von bis zu 105 Zellen/mL aufwies. Bei den gezählten Bakterien handelte es sich überwiegend um sehr kleine Objekte, bei denen nicht ausgeschlossen werden konnte, dass es sich dabei um abiotisch gebildete große Kolloide handelte. Eventuelle Veränderungen der Kulturlösung im Vorratsbehälter konnten über das Kühlen minimiert werden.

Als Inokulum für die Phytoplanktonversuche zur Gewinnung von Phytoplanktonexsudaten wurde immer frisches, über ein 125 µm-Sieb gefiltertes Elbwasser aus Tespe (Flusskilometer 580), einer Probestelle kurz oberhalb des Wehres Geesthacht eingesetzt. Material direkt aus dem Elbe-Ästuar wurde nicht verwandt, da die Primärproduktion durch das Phytoplankton aufgrund des Lichtklimas im Süßwasserbereich des Ästuars sehr gering ist und damit die dort vorkommenden Phytoplankter in Zahl gering und relativ inaktiv sind.

Um in den Laborexperimenten Phytoplanktonexsudate analog zu denen im Freiland produzieren zu können, wurden die Flüsse in den Zu- und Abläufen am Durchflussreaktor so eingestellt, dass die heterotrophen Planktonorganismen aus dem Reaktorraum ausgewaschen wurden, während die Phytoplankter unter hohen Primärproduktionsraten im Bioreaktor verblieben. Zur Analyse der Proben wurde dem Auslauf jeweils 1 L entnommen, und zwecks Aufteilung in Molekulargewichtsfractionen ultrafiltriert. Als zusätzliches Monitoring wurde am Auslauf des Reaktors, der zur Gewinnung des partikulären Probenmaterials verwendet wurde, über eine Durchflusszelle der Sauerstoffgehalt und der pH-Wert gemessen (Abbildung 3.9).

Um in dem folgenden Experiment eine Erhöhung des pH-Wertes zu vermeiden (siehe Kapitel 4) wurden schon vor der Inkubation der Algen Vorkehrungen getroffen, die einen Einfluss des Algenwachstums auf das Kohlensäuregleichgewicht verhinderten. Allerdings wurde auf eine Zugabe von festem Natriumhydrogencarbonat verzichtet. Vielmehr wurde das Kulturmedium im Vorratsbehälter mit synthetischer Luft (Stickstoff/Sauerstoff-Gemisch 80/20 vol%), der 5 vol% Kohlendioxid beigemischt war, begast.

Die Anreicherung des in der Elbe vorhandenen DOC mit dem von den Algen exkretierten DOC wurde nicht mit einer Reinkultur sondern der natürlichen Phytoplanktongemeinschaft im Filtrat < 125 µm einer Wasserprobe, entnommen bei Tespe (Flusskilometer 580; Tabelle 5.1), als Inokulum durchgeführt. Der Versuchsaufbau ist in Kapitel 3.6.2 (Abbildung 3.11) beschrieben, wobei das mit künstlicher Luft begaste und bei 5 °C gelagerte Kulturmedium mit einem Fluss von jeweils 0.25 mL/min zwei Durchflussreaktoren mit einem Volumen von 2 L passierte. Die Temperatur in den Reaktoren betrug 18 °C und der Lichtfluss 110 µE ohne Tag/Nacht-Zyklus. Auch der Abfluss der Reaktoren wurde sofort nach der Filtration über einen In-Line-Filter (PES-Membran) der Porengröße 0.2 µm auf 5 °C gekühlt. Der Abfluss wurde über 18 Tage gesammelt, so dass etwa 13 L des mit Algenexsudaten angereicherten Kulturmediums gewonnen werden konnten. Tabelle 5.1 zeigt die Zusammensetzung der Algensuspension bei Beginn des Experimentes und bei dessen Ende.

Tabelle 5.1: *Veränderung der Algenzusammensetzung während der Inkubation im Durchflussreaktor bei 18 °C.*

Algenzusammensetzung (Start)	Algenzusammensetzung (Ende)
Dominant: Kleine zentrische Diatomeen Subdominant: <i>Melosira sp.</i> ; <i>Nitzschia sp.</i> ; <i>Eutetramorus sp.</i> ; <i>Oocystris lacustris</i> ; <i>Actinastrum sp.</i> ; <i>Scenedesmus spp.</i> ; <i>Micractinium sp.</i> ; <i>Chodatella sp.</i> ; <i>Merismopedia sp.</i>	Dominant: <i>Coccale spec.</i> ; autotrophe picoplankter; <i>Scenedesmus spp.</i> ; <i>Limnothrix redekei</i> ; <i>Fragilaria sp.</i> Subdominant: <i>Actinastrum sp.</i> ; <i>Tetraedron minimum</i> ; <i>Monoraphidium sp.</i> ; <i>Dictyosphaerium sp.</i> ; kleine zentrische Diatomeen

Für die Laboruntersuchungen zur abiotischen Kondensation wurde wie oben beschrieben bis zum Ende der Phytoplanktoninkubationen das Kulturmedium aus zwei parallelen Ansätzen unmittelbar nach seiner Passage durch die Bioreaktoren online filtriert (0.2 µm) und bei 5 °C gesammelt. Dieses Wasser wurde zur abiotischen Alterung unter mäßigem Rühren (Magnetrührer) im Dunkeln bei 18 °C über 5 Tage inkubiert. Am Ende der Alterung wurde dem Ansatz 1 L Wasser zur Analyse entnommen. Auch diese Probe wurde anschließend ultrafiltriert und von den so gewonnenen Proben die DOC-Konzentration und der $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wert bestimmt.

5.1.2 Mikrobieller Abbau des DOM

Als Inokulum für die Bakterieninkubation diente die natürliche mikrobielle

Gemeinschaft der Elbe, die aus dem Filtrat einer 5 µm Filtration von Elbwasser (Neumühlen, Flusskilometer 627) gewonnen wurde. Das Inokulum wurde in die schon oben und in Kapitel 3.6.2 beschriebenen Bioreaktoren (Volumen 0.8 L) eingebracht und bei 18°C und Dunkelheit im Durchfluss inkubiert. Um ein Ausspülen der Mikroorganismen zu verhindern, wurde am Boden des Reaktors eine 0.2 µm Filtermembran eingesetzt.

Zum Vergleich des bakteriellen Abbaus des angereicherten DOC mit dem des Originalmediums (Kulturmedium der Algeninkubation Kapitel 5.1.1) wurden zwei parallele Versuche in der oben beschriebenen Weise durchgeführt. Ein Reaktor wurde dabei mit dem angereicherten Medium der andere mit dem Originalmedium als Kulturmedium betrieben. Der Fluss durch die Reaktoren betrug jeweils 0.42 mL/min. Die Durchführung der Inkubationen entsprach im Weiteren der Versuchsbeschreibung in Kapitel 5.1.1. Die Abläufe wurden für jede Probenahme getrennt gesammelt, und ein Volumen von 1 L wie bei den vorangegangenen Versuchsteilen ultrafiltriert. Auch an den so gewonnenen Proben wurden die DOC-Konzentration und der $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wert bestimmt.

5.1.3 Berechnung der $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werte der Molekulargewichtsfractionen nach dem subtraktiven Verfahren.

Im Gegensatz zu den Konzentrationen können die $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werte der Molekulargewichtsfractionen nicht durch einfache Subtraktion gebildet werden, da sich die Isotopensignale nach Formel (5.1) zusammensetzen.

Zur Berechnung des $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wertes einer Molekulargewichtsfraction muss daher neben den $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werten der Filtrate auch die Massen des DOC bekannt sein. Statt der Masse kann aber auch die DOC-Konzentration eingesetzt werden, wenn sich die Konzentration auf das selbe Volumen bezieht. Die $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werte der Molekulargewichtsfractionen werden im Folgenden nach Formel (5.2) berechnet, die durch Umformen von Formel (5.1) erhalten wird, wobei mit den Indizes a und b jeweils aufeinander folgende Filtrate ($a \rightarrow b$) und mit A und B die Molekulargewichtsfractionen ($A > B$) bezeichnet werden.

$$\delta_a = \delta_A \cdot \frac{M(A)}{M(a)} + \delta_b \cdot \frac{M(b)}{M(a)} \quad (5.1)$$

$$\delta_A = \left[\delta_a - \delta_b \cdot \frac{M(b)}{M(a)} \right] \cdot \frac{M(a)}{M(A)} \quad (5.2)$$

So erhält man z.B. den $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wert der Molekulargewichtsfraction [$<0.2 \mu\text{m} >5 \text{kDa}$] δ_A , indem man für δ_a und δ_b die gemessenen $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werte und für $M(a)$ und $M(b)$ die gemessenen DOC-Massen der Filtrate [$<0.2 \mu\text{m}$] und [$<5 \text{kDa}$] einsetzt. $M(A)$ ist die DOC-Masse in der Molekulargewichtsfraction [$<0.2 \mu\text{m} >5 \text{kDa}$] und wird durch Subtraktion der Massen $M(a)$ und $M(b)$ erhalten.

5.2 Ergebnisse der Experimente

5.2.1 Anreicherung von Elbwasser mit Phytoplanktonexsudaten und deren abiotische Alterung

In Abbildung 5.1 ist das Ergebnis der DOC-Anreicherung und Alterung gezeigt. Im Originalmedium betrug die Konzentration des Gesamt-DOC 6.2 mgC/L. Durch die Inkubation der Algen in dem Medium konnte die DOC-Konzentration auf 6.8 mgC/L gesteigert werden. In dem Auslauf der Reaktoren entstammen also 0.6 mgC/L oder etwa 9 % des DOC der Exkretion des Phytoplanktons.

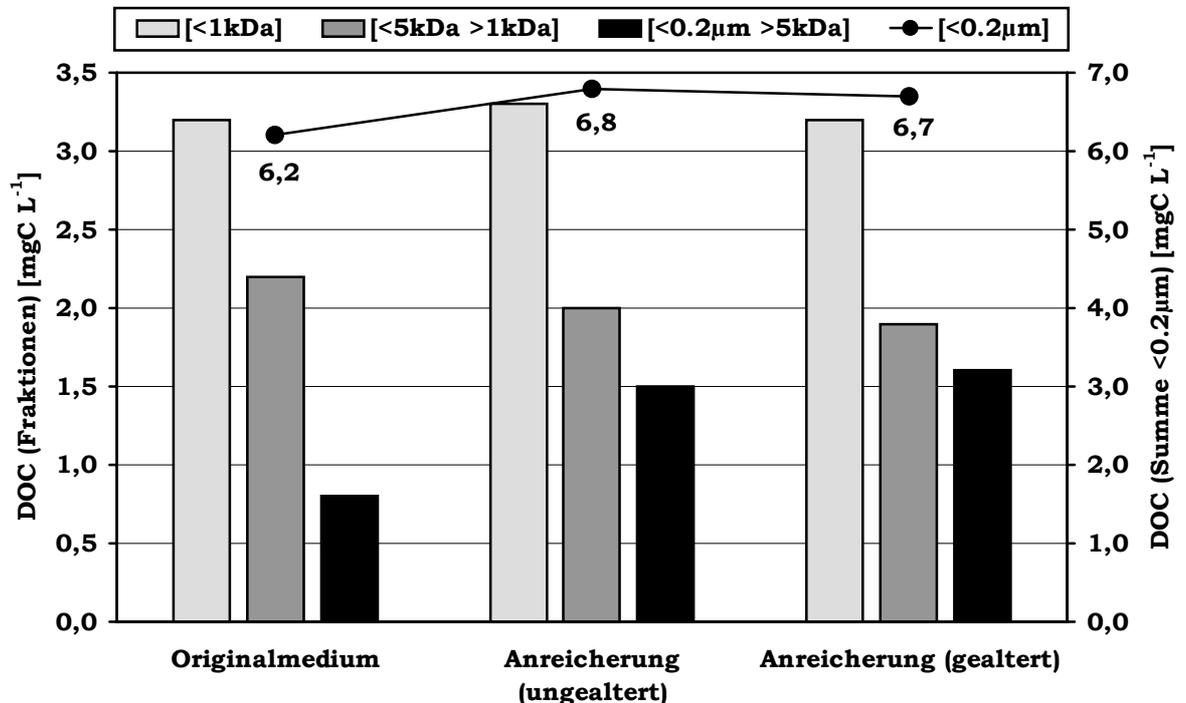


Abbildung 5.1: DOC-Konzentrationen im Originalmedium sowie nach der Anreicherung und Alterung. Gezeigt sind die DOC-Konzentrationen in den einzelnen Molekulargewichtsfractionen und in der Summe [$<0.2 \mu\text{m}$].

Abbildung 5.1 zeigt weiterhin, dass es während der Anreicherung zu einem geringen Anstieg der DOC-Konzentration in der Fraktion [<1 kDa] um 0.3 mgC/L oder 10% gekommen ist. Während bei der Fraktion [<5 kDa >1 kDa] eine Abnahme der DOC-Konzentration um ebenfalls 0.3 mgC/L zu erkennen ist, zeigt die Fraktion [<0.2 μ m >5 kDa] die größte DOC-Zunahme. Hier steigt die Konzentration des DOC von 0.8 auf 1.5 mgC/L; es handelt sich also um eine Zunahme auf das Doppelte der ursprünglichen DOC-Konzentration. Von diesem Befund aus ist anzunehmen, dass sich die Phytoplanktonexsudate vollständig in der Fraktion [<0.2 μ m >5 kDa] befinden, da die Konzentrationszunahmen der übrigen Fraktionen im Bereich des Fehlers der DOC-Bestimmung ($2\sigma = 0.2$ mgC/L) liegen.

Vergleicht man die DOC-Konzentrationen in den Molekulargewichtsfractionen vor und nach der Alterung der frischen Phytoplanktonexsudate, so lässt sich keine Veränderung erkennen. Es kann daher davon ausgegangen werden, dass es während der Alterung des angereicherten DOM zu keiner Transformation gekommen ist. Dies ist dadurch bedingt, dass bei einem Fluss des Kulturmediums von 0.25 mL/min und einem Volumen des Reaktors von 2 L die durchschnittliche Verweilzeit des DOM im Durchflussreaktor während der Inkubation mehr als 5 Tage beträgt. Es ist also schon im Durchflussreaktor zu einer Transformation des Phytoplanktonexsudates mit dem refraktären DOM gekommen, die nach der Passage des Reaktors abgeschlossen war. Somit kann nach der Alterung keine Veränderung im Verhältnis der Molekulargewichtsfractionen beobachtet werden.

Abbildung 5.2 zeigt den Verlauf des pH-Wertes und des $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Wertes der Algensuspension während der Anreicherung des refraktären Elbe-DOC mit den Phytoplanktonexsudaten. Es ist zu erkennen, dass die Maßnahme zur Vermeidung des pH-Anstieges erfolgreich war. Gleichzeitig zeigt das $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Signal der Algensuspension extrem niedrige Werte von im Mittel -43.3‰ . Dies ist dadurch zu erklären, dass das Kohlendioxid, welches in der künstlichen Luft enthalten war, einen $\delta^{13}\text{C}$ -Wert von -22‰ besaß. Da die Isotopen-Fraktionierung der Kohlendioxidfixierung durch RUBISCO (Kapitel 2.2.2) stets gleich ist, wird der $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Wert der Biomasse durch den $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des angebotenen Substrates bestimmt. Die Untersuchungen in Kapitel 4 haben gezeigt, dass der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des durch das Phytoplankton exkretierten DOC dem des POC entspricht. Da der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert des DOC im Originalmedium -27.5‰ beträgt (siehe Abbildung 5.3), unterscheidet sich das exkretierte DOC sich in seinem $\delta^{13}\text{C}$ -Wert von dem DOC im Originalmedium um etwa 16‰ . Durch diese Markierung ist es möglich, das frische Phytoplanktonexsudat durch sein Isotopensignal von dem refraktären Hintergrund zu unterscheiden.

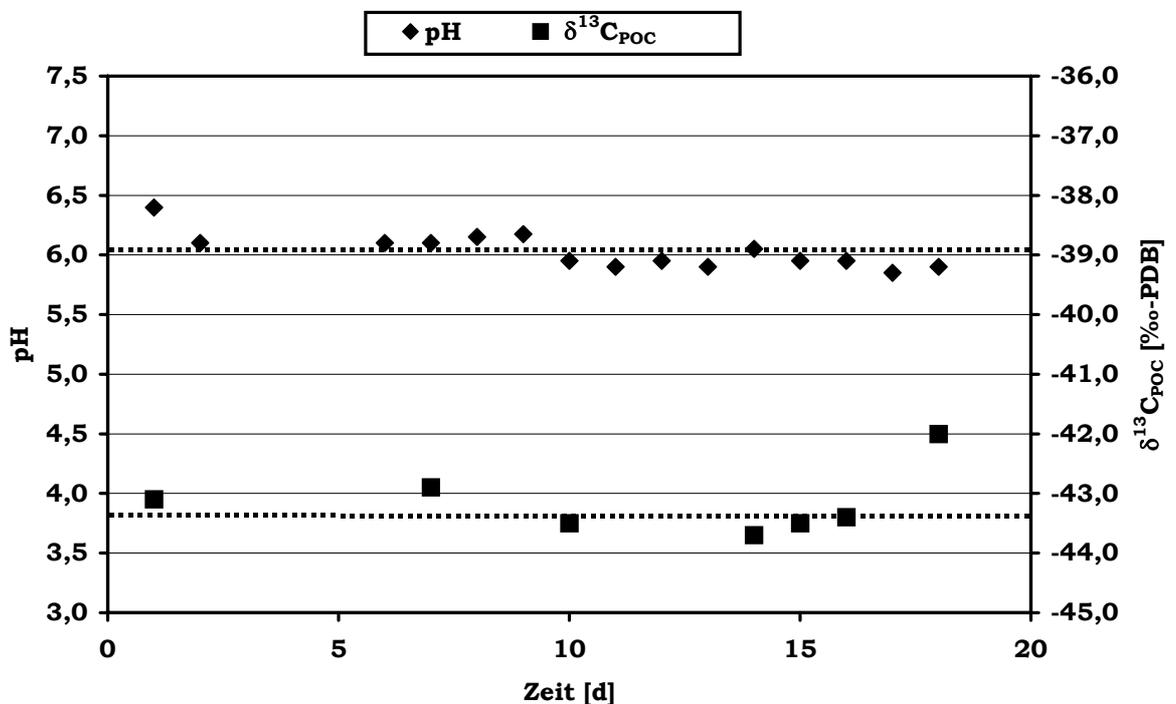


Abbildung 5.2: Verlauf des pH-Wertes und der $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Werte der Algenbiomasse während der Anreicherung von Elbwasser mit Phytoplanktonexkreten.

Das Ergebnis der Isotopenmessungen während der Anreicherung mit Phytoplanktonexsudaten und der abiotischen Alterung ist in Abbildung 5.3 dargestellt. Zunächst erkennt man eine Verringerung des $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wertes in der Summe [$<0.2 \mu\text{m}$] von -27.6‰ auf -28.5‰ . Nach der Alterung beträgt dieser -28.6‰ . Der gleichbleibende $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wert nach der Alterung war zu erwarten, da es sich um ein geschlossenes System gehandelt hat, und kann als Kontrolle herangezogen werden, um eine Kontamination während der Alterung auszuschließen. Auffällig ist die Erniedrigung des $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wertes der Fraktionen [$<0.2 \mu\text{m} >5 \text{kDa}$] und [$<5 \text{kDa} >1 \text{kDa}$] während der Anreicherung (Alterung) von -29.0‰ auf -30.6‰ (-30.4‰) respektive von -28.4‰ auf -30.4‰ (-30.7‰), während der $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wert der Fraktion [$<1 \text{kDa}$] gleich bleibt. Hier wird deutlich, dass sich entgegen des Befundes aus der Konzentrationsmessung (Abbildung 5.1) Phytoplanktonexsudate sowohl in der Fraktion [$<0.2 \mu\text{m} >5 \text{kDa}$] auch in der Fraktion [$<5 \text{kDa} >1 \text{kDa}$] befinden müssen, die durch ihren $\delta^{13}\text{C}$ -Wert von -43.3‰ (s.o.) den $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wert dieser Fraktionen erniedrigen.

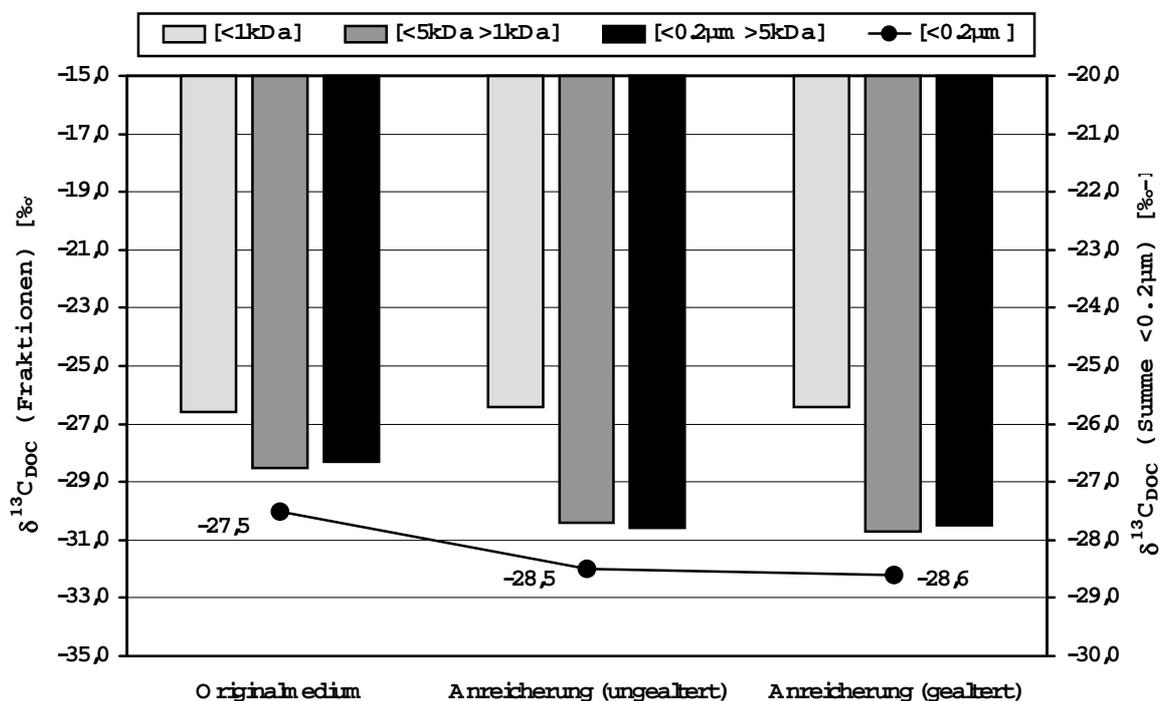


Abbildung 5.3: $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werte im Originalmedium sowie nach der Anreicherung und Alterung. Gezeigt sind die $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werte in den einzelnen Molekulargewichtsfractionen und in der Summe [$<0.2 \mu\text{m}$].

Wie auch die Konzentrationsmessungen zeigt die Darstellung der $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werte der

Molekulargewichtsfractionen, dass die Alterung der Exsudate mit dem refraktären DOM sich bereits im Bioreaktor vollzieht, und nach der Passage bei der Probenahme beendet gewesen ist.

5.2.2 Mikrobieller Abbau des DOM

Im folgenden Experiment wird der mikrobielle Abbau des DOM, der sich an die oben beschriebene Anreicherung und Alterung anschließt, mit Hilfe der DOC-Konzentrationen und $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werte der Molekulargewichtsfractionen beschrieben. Zu beachten ist hierbei, dass es sich bei den Proben um Untermengen des gesamten durch den Bioreaktor gelaufenen Volumens handelt. Das bedeutet, es werden im Folgenden jeweils die Volumina betrachtet, die im angegebenen Zeitraum den Reaktor passiert haben. Wie in Kapitel 5.1.2 beschrieben, wurde neben dem angereicherten Medium zum Vergleich auch das Originalmedium der Algeninkubation dem bakteriellen Abbau unterzogen. Somit ist man in der Lage, den Einfluss der Algenexsudate auf die Dynamik des Abbaus darzustellen.

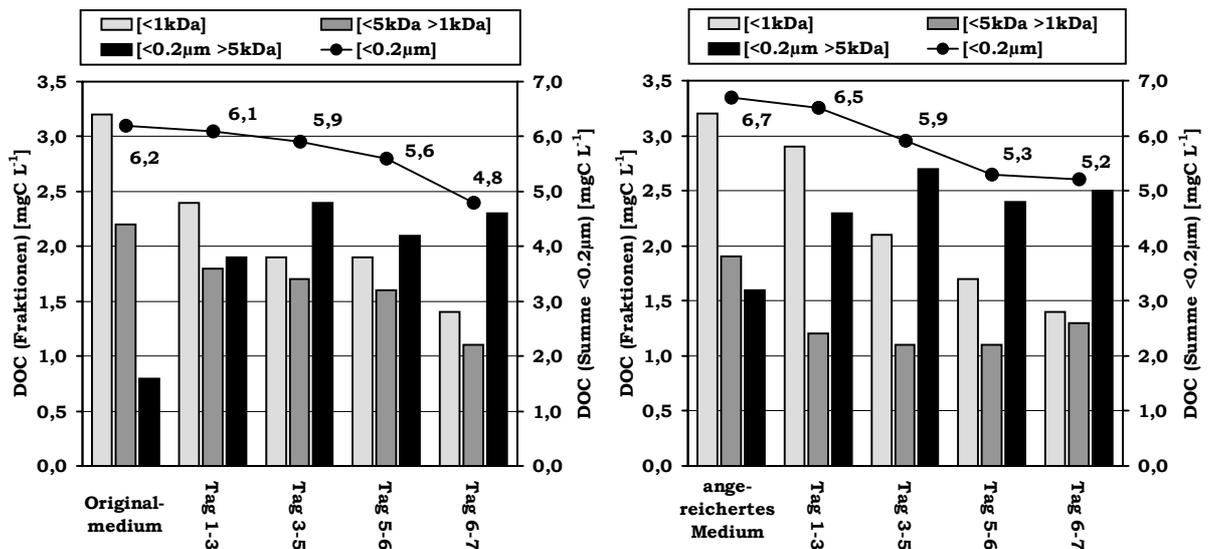


Abbildung 5.4: *Verlauf der DOC-Konzentrationen in der Summe [$<0.2\ \mu\text{m}$] und in den Molekulargewichtsfractionen des Abbaus des Original- und des mit Phytoplanktonexsudaten angereicherten Mediums.*

Abbildung 5.4 zeigt den Verlauf der DOC-Konzentrationen in den Molekulargewichtsfractionen und der Summe [$<0.2\ \mu\text{m}$] während des Abbaus des Originalmediums und des angereicherten Mediums. Wie zu erwarten, ist die DOC-Konzentration der Summe im Ablauf geringer als im Zulauf, dessen DOC-Konzentration 6.2 mgC/L respektive 6.7 mg beträgt.

Auffällig ist aber der mit der Zeit steigende Abbau des DOC. Beim Abbau des Originalmediums ist die DOC-Konzentration im Ablauf am Tag 3-5 mit 5.9 mgC/L nur 0.3 mgC/L geringer als im Zulauf. Die DOC-Konzentration sinkt im Ablauf am Ende des Experimentes auf 4.8 mgC/L und die DOC-Zehrung damit auf 1.4 mgC/L. Dieser beobachtete Anstieg der DOC-Zehrung lässt darauf schließen, dass die Bakteriendichte in den Reaktoren entgegen des eigentlichen Versuchsdesigns nicht konstant sondern ansteigend war. Auch die Sauerstoffzehrung (Tabelle 5.2) ist ansteigend, und unterstützt damit diese Annahme.

Der größte Abbau ist dabei schon von Beginn des Experimentes an in der Fraktion [<1 kDa] zu beobachten, deren Zehrung bei der ersten Probenahme 0.8 mgC/L beträgt, und zum Ende des Experimentes auf 1.8 mgC/L ansteigt. Eine während des Experimentes steigende DOC-Zehrung ist auch in der Fraktion [<5 kDa >1 kDa] zu beobachten, die von 0.4 mgC/L auf 1.1 mgC/L gegenüber der Konzentration im Originalmedium anwächst. Der insgesamt jedoch langsamer ansteigende Abbau des DOC der Summe [$<0.2 \mu\text{m}$] wird dabei durch den auffälligen Anstieg der DOC-Konzentration in der Fraktion [$<0.2 \mu\text{m} >5$ kDa] verursacht, deren Werte 1.1 mgC/L bis 1.6 mgC/L höher liegen als im Originalmedium.

Der Abbau des angereicherten Mediums zeigt einen ähnlichen Verlauf wie der des Originalmediums. Bei insgesamt sinkenden DOC-Konzentrationen in der Summe [$<0.2 \mu\text{m}$] ist eine Zunahme der Fraktion [$<0.2 \mu\text{m} >5$ kDa] zu beobachten, während die DOC-Konzentrationen der Fraktionen [<5 kDa >1 kDa] und [<1 kDa] sinken. Im Vergleich mit dem Abbau des Originalmediums ist zu erkennen, dass die DOC-Zehrung der Fraktion [<5 kDa >1 kDa] nicht während des Experimentes steigt, sondern schon bei der ersten Probenahme 0.7 mgC/L beträgt. Die Fraktionen [$<0.2 \mu\text{m} >5$ kDa] und [<1 kDa] zeigen aber einen Verlauf, der dem ersten Experiment entspricht, so dass eine sinkende DOC-Konzentration der Summe [$<0.2 \mu\text{m}$] resultiert, die schneller abfällt als beim Abbau des Originalmediums.

In Abbildung 5.5 ist die Auswertung der $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werte für die eben beschriebenen Experimente gezeigt. Der $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wert der Summe [$<0.2 \mu\text{m}$] zeigt während des Abbaus des Originalmediums innerhalb des Fehlers keine Veränderung. Dieser Befund wird durch die $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werte der Molekulargewichtsfractionen bestätigt, die ebenfalls keine Veränderung innerhalb des Fehlers erkennen lassen. Die

$\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werte im angereicherten Medium sind wie in Kapitel 5.2.1 ausgeführt von denen des Originalmediums verschieden, und zeigen in den Fraktionen [$<0.2\ \mu\text{m} >5\ \text{kDa}$] und [$<5\ \text{kDa} >1\ \text{kDa}$] sowie in der Summe [$<0.2\ \mu\text{m}$] leichtere Werte. Während des Abbaus kommt es zu einer Vergrößerung des $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wertes der Summe [$<0.2\ \mu\text{m}$], der stetig von $-28.6\ \text{‰}$ auf $-27.8\ \text{‰}$ ansteigt. Im Verlauf des Abbaus steigen die $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werte der Fraktionen [$<0.2\ \mu\text{m} >5\ \text{kDa}$] und [$<5\ \text{kDa} >1\ \text{kDa}$] stetig an, und erreichen zum Ende des Experimentes wieder die Werte, die im Originalmedium vorgelegen haben. Der Anstieg des $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wertes der Fraktion [$<0.2\ \mu\text{m} >5\ \text{kDa}$] verläuft dabei zunächst schneller, während der

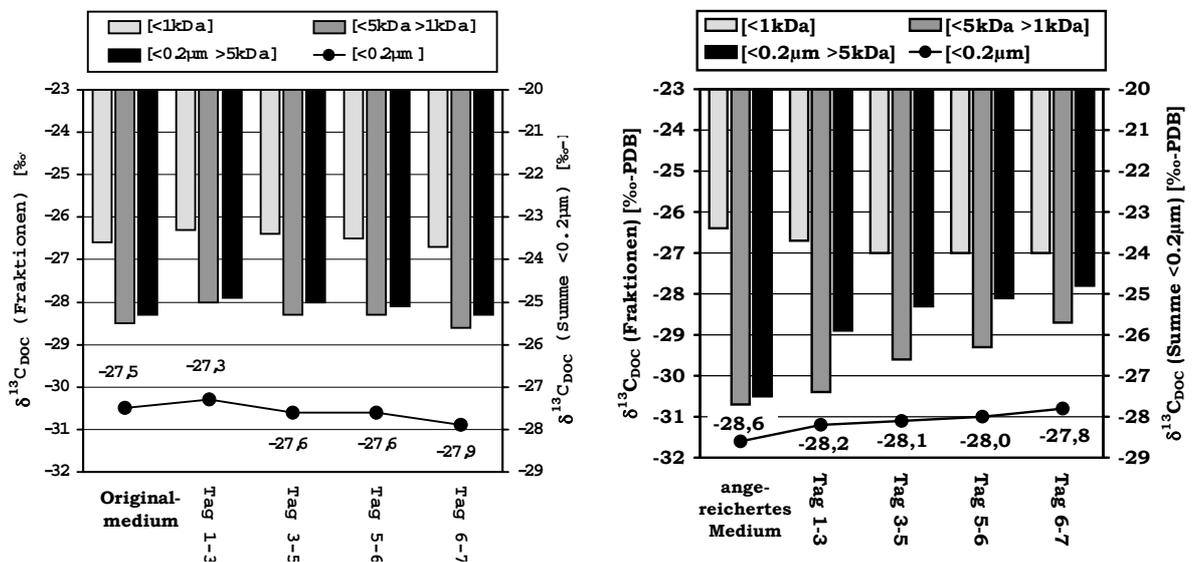


Abbildung 5.5: Verlauf der $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werte in der Summe [$<0.2\ \mu\text{m}$] und in den Molekulargewichtsfractionen des Abbaus des Original- und des mit Phytoplanktonexsudaten angereicherten Mediums.

$\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wert-Anstieg der Fraktion [$<5\ \text{kDa} >1\ \text{kDa}$] gleichbleibend ist. Der $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wert der Fraktion [$<1\ \text{kDa}$] sinkt um insgesamt $1\ \text{‰}$. Die Veränderungen bleiben damit aber innerhalb des Fehlers und sind somit nicht signifikant.

Zusätzlich zu den $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werten wurde der $\delta^{13}\text{C}$ -Wert der Fraktion [$>0.2\ \mu\text{m}$] bestimmt. Damit kann der Anteil des von den Algen exkretierten DOC, der zum Aufbau von Biomasse verwendet wird, bestimmt werden. Wie der Verlauf des $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Wertes der Fraktionen [$>0.2\ \mu\text{m}$] in Tabelle 5.2 zeigt, findet sich hier das Isotopensignal der Phytoplanktonexsudate im angereicherten Medium durch eine Verringerung des $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Wertes wieder. Des weiteren ist in Tabelle die beobachtete Sauerstoffzehrung aufgeführt, wobei die Sauerstoffzehrung im angereicherten

Medium schneller ansteigt und zu höheren Werten führt als im Originalmedium. Die Sauerstoffzehrung ist ein Maß für die Produktion von Kohlendioxid durch die Bakterien, wobei im allgemeinen angenommen wird, dass sich die Umsetzung des Sauerstoffs zu Kohlendioxid im Verhältniss 1:1 vollzieht (Amon und Benner 1996).

Tabelle 5.2: *Daten der Sauerstoffzehrung und der $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Werte während des bakteriellen Abbaus des Original- und des angereicherten Mediums.*

Probe	Originalmedium		Angereichertes Medium	
	Sauerstoffzehrung [mgO ₂ /d]	$\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Wert [‰-PDB]	Sauerstoffzehrung [mgO ₂ /d]	$\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Wert [‰-PDB]
Tag 1-3	0.4	-27.5	0.4	-26.9
Tag 3-5	0.4	-27.4	1.2	-29.8
Tag 5-6	0.8	-27.8	1.3	-29.4
Tag 6-7	1.3	-27.2	1.5	-29.7

5.3 Diskussion der Ergebnisse

5.3.1 Anreicherung von Elbwasser mit Phytoplanktonexsudaten und deren abiotische Alterung

Die Verteilung des DOC auf die Molekulargewichtsfractionen im Originalmedium zeigt, dass etwa die Hälfte (3.2 mgC/L) des DOC in der Fraktion [<1 kDa] zu finden ist (Abbildung 5.1). Ludwig (1997) fand, dass sich 47 % des Elbe-DOC in der Fraktion [<1 kDa] befinden. Weiterhin fand Ludwig (1997), dass sich weitere 40 % des Elbe-DOC in der Fraktion [<10 kDa >1 kDa] und 13 % in der Fraktion [<0.45 μm >10 kDa] befinden. Auch wenn die Trenngrenzen der Filtrationen anders gewählt wurden als in den oben beschriebenen Experimenten, stimmen die gemessenen Werte des Anreicherungs-Experimentes gut mit denen von Ludwig (1997) überein.

Wie schon in Kapitel 5.2.1 ausgeführt, zeigt nach der Anreicherung des Mediums mit Phytoplanktonexsudaten lediglich die Fraktion [<0.2 μm >5 kDa] einen signifikanten Anstieg der DOC-Konzentration. Die Konzentration in der Fraktion [<5 kDa >1 kDa] sinkt leicht, während die Konzentration in der Fraktion [<1 kDa] um den Wert im Originalmedium schwankt. Die Betrachtung der DOC-Konzentrationen zeigt also, dass sich die gesamten Phytoplanktonexkrete in der Fraktion [<0.2 μm >5 kDa] befinden. Dies ändert sich aufgrund des Design des Experimentes auch nicht nach der Inkubation zwecks Alterung. Über die genauen Massenflüsse gibt die

Auswertung der Änderung der $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werte während der Anreicherung einen näheren Einblick.

In Abbildung 5.3 ist zu erkennen, dass wie zu erwarten der $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wert der Summe [$<0.2 \mu\text{m}$] sinkt, da die in das Medium abgegebenen Exkrete nach Kapitel 4 einen $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wert aufweisen, der dem der Biomasse entspricht. Wie in Kapitel 5.2.1 ausgeführt beträgt der $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Wert des Phytoplanktons -43.3‰ . Der Zusammenhang zwischen der Masse des exkretierten DOC und der $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wert-Erniedrigung der Summe wird durch Berechnung des Sollwertes des $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wert-Erniedrigung verdeutlicht.

Sind der $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wert und die Masse der Exkrete bekannt, kann der Sollwert der $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wert-Erniedrigung nach

$$\delta_{\text{Summe}} = \delta_{\text{Original}} \cdot \frac{\text{DOC}_{\text{Original}}}{\text{DOC}_{\text{Summe}}} + \delta_{\text{Exkret}} \cdot \frac{\text{DOC}_{\text{Exkret}}}{\text{DOC}_{\text{Summe}}} \quad (5.3)$$

berechnet werden. Anstatt der Massen können hier die Konzentrationen eingesetzt werden, da sich diese auf das selbe Volumen beziehen. Die Rechnung ergibt einen Sollwert von -29.0‰ und stimmt somit gut mit dem gemessenen Wert von -28.6‰ überein.

Auffällig ist bei der Betrachtung des Verlaufes der $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werte der Molekulargewichtsfractionen die Erniedrigung der $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werte der Fraktionen [$<0.2 \mu\text{m} >5 \text{ kDa}$] und [$<5 \text{ kDa} >1 \text{ kDa}$], deren Werte nach der Anreicherung von -29.0‰ auf -30.6‰ respektive von -28.4‰ auf -30.4‰ (30.4‰ bzw. -30.7‰ nach der Alterung) fallen, während der $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wert der Fraktion [$<1 \text{ kDa}$] nahezu gleich bleibt. Werden die bekannten Daten zur Überprüfung in Gleichung (5.3) eingesetzt, so errechnet sich ein Sollwert für den $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wert der Summe aus den Fraktionen [$<0.2 \mu\text{m} >5 \text{ kDa}$] und [$<5 \text{ kDa} >1 \text{ kDa}$] von -30.3‰ , der sehr gut mit dem gefundenen $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wert von -30.5‰ übereinstimmt. Es ist also anzunehmen, dass sich das Exsudat des Phytoplanktons in den beiden oberen Molekulargewichtsfractionen wiederfindet, obwohl nach der Massenverteilung eine Abnahme der Fraktion [$<5 \text{ kDa} >1 \text{ kDa}$] zu beobachten ist (Abbildung 5.1).

Die Berechnung des $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wertes der Fraktion [$<0.2 \mu\text{m} >5 \text{kDa}$] nach Gleichung (5.3) unter der Voraussetzung, dass die Erhöhung der Konzentration um 0.7 mgC/L nur durch das Phytoplanktonexkret ($\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wert -43.5 ‰) hervorgerufen wird, ergibt einen Sollwert von -35.8 ‰ . Der gemessene Wert ist mit -30.6 ‰ allerdings höher, so dass es während der Transformation zu einem Massenaustausch zwischen den Fraktionen [$<0.2 \mu\text{m} >5 \text{kDa}$] und [$<5 \text{kDa} >1 \text{kDa}$] gekommen sein muss. Dadurch ist die Erniedrigung des $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wertes der Fraktion [$<5 \text{kDa} >1 \text{kDa}$] zu erklären, die nach der Auswertung der Konzentrationen scheinbar kein Phytoplanktonexkret enthält. Dieser Prozess wird erst deutlich, wenn man neben den Konzentrationen auch die $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werte der Fraktionen bestimmt.

Löst man Gleichung (5.3) nach $\text{DOC}_{\text{Exkret}}$ auf, und setzt die bekannten Parameter ein, so ist der nach der Berechnung zu erwartende Anteil an dem Phytoplanktonexkret in der Fraktion [$<0.2 \mu\text{m} >5 \text{kDa}$] gleich 0.5 mgC/L , was weniger ist als die beobachtete Konzentrationszunahme von 0.7 mgC/L in dieser Fraktion. Dementsprechend müssten sich 0.2 mgC/L des Phytoplanktonexkretes in der Fraktion [$<5 \text{kDa} >1 \text{kDa}$] wiederfinden. Da deren Konzentration aber während der Anreicherung um insgesamt 0.2 mgC/L gesunken ist, stammen voraussichtlich 0.4 mgC/L der Fraktion [$<0.2 \mu\text{m} >5 \text{kDa}$] aus dem Original-DOM der Fraktion [$<5 \text{kDa} >1 \text{kDa}$]. Dies addiert sich nach der Theorie zu einem Gesamtzuwachs der Fraktion [$<0.2 \mu\text{m} >5 \text{kDa}$] von 0.9 mgC/L , was gut innerhalb des Fehlers mit den gefundenen 0.7 mgC/L übereinstimmt. Die Rechnung wurde vereinfacht, da der Unterschied der $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werte der Fraktionen [$<0.2 \mu\text{m} >5 \text{kDa}$] und [$<5 \text{kDa} >1 \text{kDa}$] im Originalmedium von 0.6 ‰ nicht berücksichtigt wurde. Abbildung 5.6 verdeutlicht noch einmal die Massenflüsse zwischen den Fraktionen während der Anreicherung und Alterung.

Die offensichtlich einseitige Zunahme der Fraktion [$<0.2 \mu\text{m} >5 \text{kDa}$] bestehend aus Phytoplanktonexkret und Material aus der Fraktion [$<5 \text{kDa} >1 \text{kDa}$] lässt den Schluss zu, dass sich die Phytoplanktonexkrete zunächst zu einem großen Teil in der Fraktion [$<5 \text{kDa} >1 \text{kDa}$] befunden haben. Durch diesen Vorgang ist es zu einer Aktivierung des refraktären DOM gekommen, was zu einer Aggregation des DOM der Fraktion [$<5 \text{kDa} >1 \text{kDa}$] mit sich selber oder aber mit Material der Fraktion [$<0.2 \mu\text{m} >5 \text{kDa}$] geführt hat.

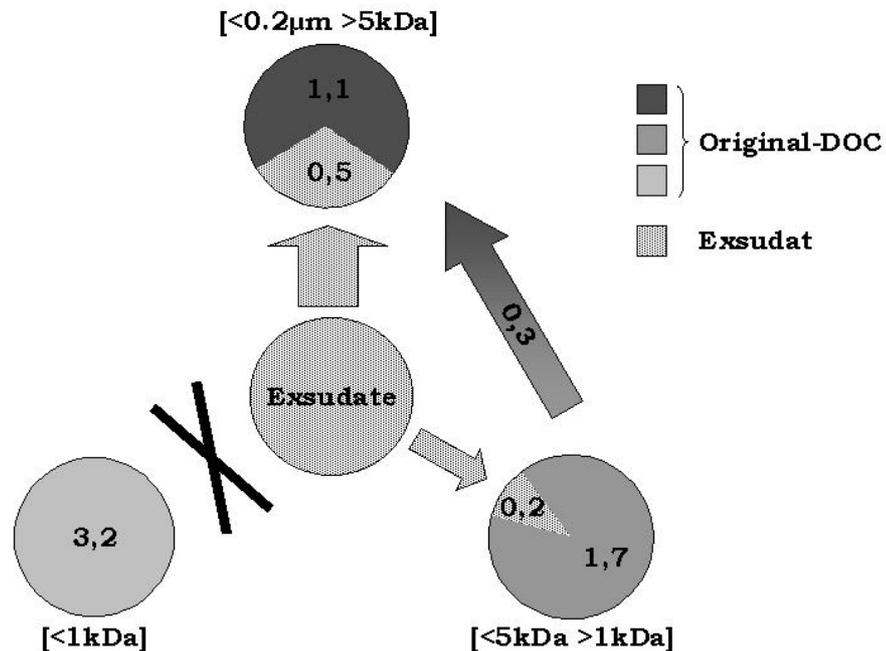


Abbildung 5.6: *Berechnete Massenflüsse in mgC/L während der Anreicherung und Alterung zwischen den Fraktionen [$<0.2 \mu\text{m}$ $>5 \text{kDa}$] und [$<5 \text{kDa}$ $>1 \text{kDa}$] sowie die Aufteilung des Phytoplanktonexsudats auf die Fraktionen.*

Die in der Literatur berichteten Größenverteilungen von Phytoplanktonexkreten reichen von $<700 \text{ Da}$ (Maurin et al. 1997) bis zu mehreren tausend Dalton (Hoagland et al. 1993). Es kann davon ausgegangen werden, dass in einer natürlichen Umgebung die Molekulargewichtsverteilung von exkretiertem DOC nicht statisch ist, sondern einer Veränderung unterliegt, deren Dynamik von den im Medium vorhandenen organischen und anorganischen Substanzen abhängig ist. Eine Übersicht über exopolymere Substanzen als precursor für Transparente Exopolymere Partikel (TEP) gibt Passow (2002). Die oben beschriebenen Ergebnisse zeigen, dass die Aggregation von DOC einer Molekulargewichtsfraction mit sich selber oder aber mit DOC anderer Molekulargewichtsfractionen zur Bildung größerer Moleküle beiträgt. Innerhalb der beobachteten Fraktionen [$<0.2 \mu\text{m}$] kommt es aber nicht zu einer Bildung von TEP [$>0.2 \mu\text{m}$], da die Masse des DOC während der Alterung in den beobachteten Grenzen nicht abnimmt.

Kerner et al. (2003) haben gezeigt, dass die abiotische Transformation von DOM kleinerer Molekulargewichtsfractionen zu Mikropartikeln auch größer 2 µm durch Phytoplanktonexsudate beschleunigt wird, diese aber nicht an der Aggregation teilhaben. Es kann daher nicht ausgeschlossen werden, dass sich TEP oder Mikropartikel [$>0.2 \mu\text{m}$] während der Anreicherung des Originalmediums mit Phytoplanktonexsudaten gebildet haben, welche aber aus dem Medium durch die Filtration nach der Passage der Reaktoren entfernt wurden. Die oben gemachten Berechnungen zeigen, dass ein Teil der Exsudate in die Molekulargewichtsfraction [$<5 \text{ kDa} >1 \text{ kDa}$] fallen, und von dort ein Massenfluss zu größeren Molekulargewichtsfractionen stattfindet, was die Ergebnisse von Kerner et al. (2003) bestätigt.

5.3.2 Mikrobieller Abbau

Die qualitativen Aspekte des natürlichen DOC, die für die bakterielle Energetik von Bedeutung sind, sind schwer zu beschreiben (Connolly et al. 1992, Vallino et al. 1996). Einen guten Ansatz bietet die Berechnung der bakteriellen Wachstumseffizienz (Bacterial Growth Efficiency, BGE). Die Experimente, die sich mit dem Abbau gelöster organischer Substanzen verschiedener Molekulargewichtsfractionen beschäftigen, zeigen unterschiedliche Ergebnisse bezüglich der BGE (Meyer et al. 1987, Tranvik 1990, Tulong et al. 1992, Amon und Benner 1996, Middelboe und Søndergaard 1995). Diese können eher durch die verschiedenen C:N-Verhältnisse der Molekulargewichtsfractionen als durch qualitative Unterschiede des DOC erklärt werden. Del Giorgio und Cole (1998) zeigten in einer Zusammenfassung, dass die BGE von organischem Detritus kleiner als 0.3 ist, ungeachtet der Herkunft des Materials.

Zur Berechnung der BGE aus der Masse der bakteriellen Produktion BP und der bakteriellen Respiration BR nach der Gleichung $BGE = BP / (BP + BR)$ wurden die Daten der Sauerstoffzehrung aus dem oben beschriebenen Experiment (siehe Tabelle 5.2) in Respirationsraten bezogen auf den Kohlenstoff umgerechnet. Die bakterielle Produktion konnte aufgrund des Versuchsaufbaus nicht direkt bestimmt werden, da das Design des Experimentes es vorgesehen hat, durch einen Ablauf die Bakteriendichte im Reaktor konstant zu halten (siehe Kapitel 3.6.2). Somit entzieht sich die aus dem Reaktor abgeleitete Bakterienmasse der Bestimmung. Dennoch ist man in der Lage, durch Bilanzierung der Kohlenstoffmassen des DOC im Ablauf und

der Respiration gegen die Masse des DOC im Zulauf, die bakterielle Produktion zu berechnen. Die aufbereiteten Daten und die daraus berechnete BGE sind in Tabelle 5.3 aufgeführt.

Tabelle 5.3: *Aus der bakteriellen Produktion (BP) und der bakteriellen Respiration (BR) berechnete BGE (siehe Text) der mikrobiellen Kulturen.*

Probe	Originalmedium			Angereichertes Medium		
	BP [mgC/d]	BR [mgC/d]	BGE	BP [mgC/d]	BR [mgC/d]	BGE
Tag 1-3	-0.1	0.3	-0.50	-0.1	0.3	-0.50
Tag 3-5	0.1	0.3	0.25	0.6	0.9	0.40
Tag 5-6	0.4	0.6	0.40	0.8	1.0	0.44
Tag 6-7	0.9	1.0	0.47	0.8	1.1	0.42

Wie aus der Tabelle zu entnehmen ist, liegen die Werte für die BGE der Versuche zwischen 0.25 und 0.47, wobei die Daten der ersten Probenahmen inkonsistent sind. Hier zeigt sich die Grenze der Berechnungsmethode der bakteriellen Produktion (BP), da die Kohlenstoffzehrung, die durch Differenzbildung der DOC-Werte von Zu- und Ablauf des Reaktors gewonnen wird, innerhalb des Fehlers der Konzentrationsmessung liegt. Daher ist auch der Wert der 2. Probenahme für das Originalmedium unsicher. Die weiteren Werte liegen in einem engen Bereich von 0.4 bis 0.47, und stimmen gut mit Del Giorgio und Cole (2000) überein, die die in der Literatur bekannten BGE aufgelistet und für Flussmündungen eine Mittelwert von 0.37 fanden. Die BGE für ozeanische und Küstengewässer lagen mit 0.15 und 0.27 niedriger, was del Giorgio und Cole (2000) der unterschiedlich großen bakteriellen Produktion zuschrieben, da die bakterielle Respiration durchaus gleiche Werte ergab.

Del Giorgio und Cole (2000) schlossen, dass die Streuung der bakteriellen Produktion die Fähigkeit der Bakterien widerspiegelt, Katabolismus und Anabolismus unabhängig voneinander zu steuern, um unter unterschiedlichen Umständen maximales Überleben oder Wachstum zu gewährleisten. Die BGE von 0.4 und größer der oben beschriebenen Experimente sind also den guten Lebensbedingungen in den Reaktoren zuzuschreiben. Es ist zu beachten, dass es bei der Übertragung der Ergebnisse der Experimente auf das Freiland mit weniger günstigen Wachstumsbedingungen zu einer anderen Molekulargewichtsverteilung

kommen kann. Dennoch geben die Ergebnisse einen guten Einblick in die Dynamik zwischen frischem und refraktärem DOM beim bakteriellen Abbau.

Aus Abbildung 5.4 lassen sich zwei Befunde ableiten. Die Fraktionen [<1 kDa] und [<5 kDa >1 kDa] zeigen einen Abbau, während es bei der Fraktion [$<0.2 \mu\text{m}$ >5 kDa] zu einer Zunahme der DOC-Konzentration kommt. Es kann aber nicht ausgeschlossen werden, dass es auch in letzterer Fraktion zu einem Abbau durch Bakterien kommt, da eine Exkretion von DOM durch die Bakterien einen Abbau überdecken würde. Die Abgabe exopolimerer Substanzen (EPS) durch Mikroorganismen ist in diversen Publikationen beschrieben (Decho 1990, Costerton 1999, Ogawa et al. 2001, Nagata et al. 2003). Darüber hinaus ist es möglich, dass es zu einer Aktivierung des DOM der Fraktion [<1 kDa] kommt, so dass es durch Aggregation mit sich selber oder dem DOM der Fraktionen [<5 kDa >1 kDa] oder [$<0.2 \mu\text{m}$ >5 kDa] gekommen ist, wodurch eine Zunahme der Fraktion [$<0.2 \mu\text{m}$ >5 kDa] zu beobachten wäre.

Die Vorstellungen über die Bioverfügbarkeit unterschiedlicher Molekulargewichtsfractionen gehen in der Literatur auseinander. Frühere und auch in näherer Vergangenheit beschriebene Modelle (Saunders 1976; Azam und Hodson 1977; Münster und Chróst 1990) gehen davon aus, dass vornehmlich DOM der Fraktion [<1 kDa] (LMW-DOM) durch Bakterien abgebaut wird, und dass die Bioverfügbarkeit mit steigender Molekülgröße abnimmt. Dagegen beobachteten sowohl Hedges et al. (1994) als auch Amon und Benner (1996) einen gegenteiligen Zusammenhang zwischen Molekülgröße und Bioverfügbarkeit. Das „size-reactivity continuum“ Modell von Amon und Benner (1996) geht davon aus, dass frisches Phytoplankton-Material die höchste Bioverfügbarkeit aufweist, und dessen physikalische Größe während des bakteriellen Abbaus geringer wird, so dass das beim Abbau entstehende LMW-DOM refraktär ist. Sowohl Amon und Benner (1996) als auch Hedges et al. (1993) beschreiben die Bioverfügbarkeit von DOM in Abhängigkeit des Grads der biotischen und abiotischen Veränderung. So erwies sich HMW-DOM (>1 kDa] aus dem Amazonas als weniger reaktiv als das HMW-DOM einer Phytoplankton-Blüte, da das Material aus dem Amazonas einer größeren Veränderung unterworfen war.

Die Ergebnisse der Versuche in dieser Arbeit zeigen, dass es sowohl in den LMW- als auch den HMW-Fractionen des DOM zu einem bakteriellen Abbau kommt. Der

Vergleich der Konzentrationen und $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werte der Molekulargewichtsfractionen von Original- und angereichertem Medium (Abbildung 5.1 und 5.3) zeigt, dass sich nach Anreicherung und Alterung das von dem Phytoplankton exkretierte DOM in den Fraktionen [$<0.2 \mu\text{m} >5 \text{kDa}$] und [$<5 \text{kDa} >1 \text{kDa}$] (HMW-DOM) wiederfindet, während die Fraktion [$<1 \text{kDa}$] (LMW-DOM) kein Phytoplankton-Exsudat enthält. Dennoch kommt es zu einem Abbau sowohl von LMW- als auch HMW-DOM, also des frischen als auch des aus dem Originalmedium stammenden DOM.

Aus Tabelle 5.2 (Kapitel 5.2.2) ist ersichtlich, dass es während des Abbaus des angereicherten Mediums zu einer Erniedrigung der $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Werte der Fraktion [$>0.2 \mu\text{m}$], die um ca. 3 ‰ auf Werte um -30 ‰ fallen, kommt. Es kann davon ausgegangen werden, dass diese Erniedrigung durch den Konsum des frischen Phytoplankton-Exsudates hervorgerufen wird, da zum Vergleich der $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Wert der Fraktion [$>0.2 \mu\text{m}$] beim Abbau des Originalmediums keine Erniedrigung zeigt, die Aufnahme von DOM durch Bakterien also fraktionierungsfrei ist. Gleichung (5.4) stellt eine Variante der Gleichung (5.3) dar, wobei die Indizes für Original durch refraktär ersetzt wurden. Setzt man $M_{\text{ref}} = M_{\text{POC}} - M_{\text{exs}}$ ein und löst nach M_{exs} auf, erhält man Gleichung (5.5). Dadurch kann die Masse des von den Bakterien inkorporierten DOC, das aus dem Pool des frischen Phytoplankton-Exsudates stammt, bestimmt werden. Durch die oben gemachte Vereinfachung ist M_{ref} ebenfalls bekannt.

$$\delta_{\text{POC}} \cdot M_{\text{POC}} = \delta_{\text{exs}} \cdot M_{\text{exs}} + \delta_{\text{ref}} \cdot M_{\text{ref}} \quad (5.4)$$

$$M_{\text{exs}} = M_{\text{POC}} \cdot \frac{\delta_{\text{POC}} - \delta_{\text{ref}}}{\delta_{\text{exs}} - \delta_{\text{ref}}} \quad (5.5)$$

Die berechneten Werte geben darüber Auskunft, zu welchem Anteil das von dem Phytoplankton in das Kulturmedium abgegebene Exsudat von den Bakterien inkorporiert wurde. Da zur Berechnung der bakteriellen Produktion (BP), also M_{POC} in Gleichung (5.4) und (5.5), eine Bilanz aus der DOC-Zufuhr und der Summe aus DOC-Abfuhr und bakterieller Respiration (BR) herangezogen wurde, kann auch der Anteil des durch die Bakterien veratmeten DOC, der aus dem frischen Exsudat stammt, bestimmt werden.

Tabelle 5.4: *Berechnung der Anteile von refraktärem und exkretiertem DOC an der Kohlenstoffmasse der Bakterien nach Gleichung (5.4) und (5.5).*

$\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ [‰-PDB]	$\delta^{13}\text{C}_{\text{exs}}$ [‰-PDB]	$\delta^{13}\text{C}_{\text{ref}}$ [‰-PDB]	M_{POC} [mgC/d]	M_{exs} [mgC/d]	M_{ref} [mgC/d]	$M_{\text{exs}} / M_{\text{POC}}$ [%]
-26.9	-43.3	-27.5	-0.10	0.00	-0.10	0.0
-29.8			0.60	0.09	0.51	15.0
-29.4			0.80	0.10	0.70	12.5
-29.7			0.80	0.11	0.69	13.8

Wie aus Tabelle 5.4 zu entnehmen ist, stammt nur ein geringer Teil von 12.5 bis 15.0 % der Bakterienmasse aus dem Phytoplankton-Exsudat. Diese Werte können aber nur einen Anhaltspunkt für den Anteil des Exsudates am POC geben, da für $\delta^{13}\text{C}_{\text{ref}}$ der $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wert der Fraktion [$<0.2 \mu\text{m}$] des Originalmediums eingesetzt wurde. Wie aus Abbildung 5.5 hervorgeht, unterscheiden sich die $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werte der Molekulargewichtsfractionen aber schon ohne eine Anreicherung um etwa 2 ‰. Eine weitere Unsicherheit ergibt sich aus der Tatsache, dass es während der Aufnahme von DOC von einer trophischen Stufe zur anderen zu einer Anreicherung von ^{13}C im konsumierenden Organismus kommt, was zum einen durch eine vermehrte Abatmung von $^{12}\text{CO}_2$ zum anderen aber durch eine Präferenz der Aufnahme von ^{13}C -Komponenten erklärt werden kann (Michener und Schell 1994). Dadurch würden sich die oben einzusetzenden $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Werte jeweils um 1 ‰ verringern, was dazu führt, dass sich die Werte für den Anteil des frischen Exsudates an der Bakterienmasse auf Werte von 18.4 % bis 20.9 % vergrößern. Es wird aber deutlich, dass der größte Anteil an der Kohlenstoffmasse der Bakterien aus dem refraktären Teil des DOC stammt.

Baines und Pace (1991) fanden, dass die Exkretion von DOM durch Phytoplankton linear zur Primärproduktion ansteigt. Sie errechneten, dass im Mittel 13 % der primär fixierten Kohlenstoffmasse vom Phytoplankton als DOM abgegeben werden. Dieser Wert erwies sich als vom aquatischen System unabhängig. Zusammen mit den Daten von Cole et al. (1988) sowie Ducklow und Carlson (1992), die fanden, dass 40 - 50 % der Primärproduktion von Bakterien konsumiert werden, schlussfolgerte Nagata (2000), dass zwei Drittel des bakteriellen Kohlenstoffbedarfs aus anderen Quellen als dem direkten Phytoplanktonexsudat stammen müssen.

Während der exponentiellen Wachstumsphase tendieren Phytoplankter zur Akkumulation von Kohlenhydraten (Myklestad 1989). Zwischen der exponentiellen und der stationären sowie während der stationären Wachstumsphase gibt das Phytoplankton diese Kohlenhydrate in großer Menge in Form von Polysacchariden an das umgebende Medium ab (Ittekkot et al. 1981; Myklestad et al. 1989, Biddanda und Benner 1997, Meon und Kirchman 2001, Wetz und Wheeler 2003). Während der oben beschriebenen Experimente konnte das Isotopensignal der Algen in den Fraktionen [>1 kDa] nachgewiesen werden, in denen sich auch die Polysaccharide befinden. Da das Isotopensignal nach dem Abbau durch die Bakterien nicht mehr im DOM nachgewiesen werden kann, und der Anteil an Phytoplanktonexsudat im POC der Bakterien nicht größer ist als 20 %, muss davon ausgegangen werden, dass der größte Teil der Exsudate, bestehend aus leicht zu metabolisierenden Kohlenhydraten, durch die Bakterien veratmet wurde (Abbildung 5.7).

Dies bedeutet ebenfalls, dass während der Experimente bis zu 80 % der Kohlenstoffmasse der Bakterien aus anderen Quellen als den Exsudaten stammen

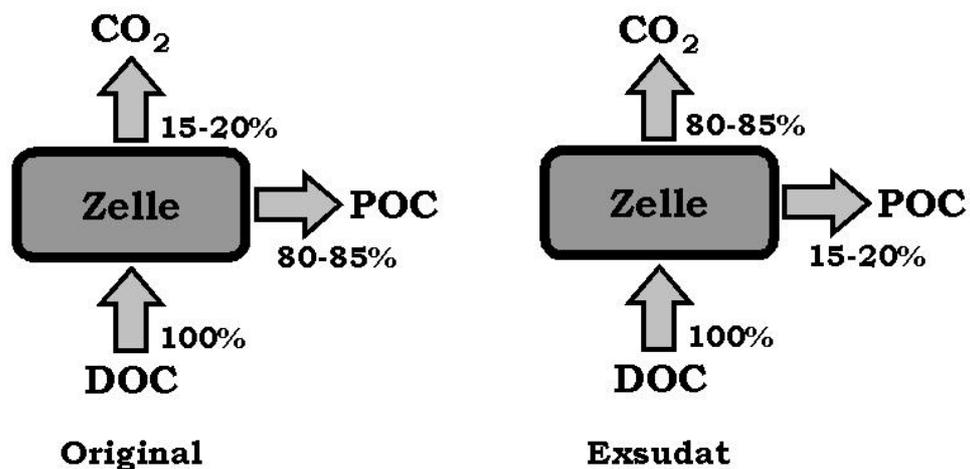


Abbildung 5.7: Massenflüsse von Original-DOM und Exsudaten beim mikrobiellen Abbau.

muss. Abbildung 5.4 zeigt, dass das DOM der Fraktion [<1 kDa] den größten Abbau durch die Bakterien erfährt. Da das DOM des Originalmediums nicht markiert ist, kann die geringfügige Verkleinerung des $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Wertes (Tabelle 5.4) nur durch eine vermehrte Inkorporation des Original-DOM aller Fraktionen, insbesondere aber der Fraktion [<1 kDa] erklärt werden. Dies steht im Gegensatz zum „size-reactivity

continuum“ Modell von Amon und Benner (1996), die fanden, dass marines LMW-DOM der größten Veränderung unterliegt und daher eine geringe Bioverfügbarkeit aufweist. Neuere Untersuchungen von Fischer et al. (2002) ergaben, dass das DOC im Sediment der Spree ungeachtet des Molekulargewichtes von Bakterien metabolisiert wurde. Fischer et al. (2002) schlussfolgerten daraus, dass die Bioverfügbarkeit von DOC nicht allein durch die molekulare Größe sondern vor allem durch den Gehalt an spezifischen funktionellen Gruppen und deren sterische Verfügbarkeit für Bakterien im DOM bestimmt wird. Nicht ausgeschlossen werden kann aber die Hypothese von Amon und Benner (1996), welche von Nagata et al. (2003) bestätigt wurde, dass das Alter und damit der Fortschritt des Abbaus des DOC die Bioverfügbarkeit bestimmt. Mit den Ergebnissen dieser Arbeit und denen von Fischer et al. (2002) ergibt sich ein Bild, nachdem das „size-reactivity continuum“ Modell für den marinen Bereich anwendbar ist, nicht aber für Frischwasser-DOC, dessen LMW-DOC ebenfalls von Bakterien abgebaut wird, und somit jünger zu sein scheint als marines LMW-DOC.

6 Zusammenfassung

Die Bestimmung des $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wertes aus der flüssigen Phase ist mit einigen Schwierigkeiten wie einer langwierigen Probenvorbereitung und einem großen Probenvolumen verbunden. Für die Bearbeitung der Fragestellungen und die damit verbundene Probendichte von $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Proben war es nötig, eine schnelle Präparationsmethode für Kohlendioxid aus DOC zu entwickeln. Die aus der Bestimmung von DOC-Konzentrationen im Frischwasser bekannte UV-Dünnschicht-Oxidation wurde auf ihre Tauglichkeit hin überprüft, Kohlendioxid aus organischen Wasserinhaltsstoffen zur Bestimmung des $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Wertes zu gewinnen.

Zu diesem Zweck wurde der UV-Dünnschicht-Reaktor mit einem Probenaufgabesystem erweitert, das gewährleistet, dass die Proben kontaminationsfrei direkt aus dem Probengebinde in den Reaktor eingebracht werden können. Zusammen mit der anschließenden Reinigung der gasförmigen Oxidationsprodukte durch Reduktion unerwünschter Nebenprodukte und kryogene Destillation hat sich die UV-Dünnschicht-Oxidation als eine zuverlässige, präzise und hochempfindliche Methode erwiesen.

Die grundlegende Frage, ob es bei der Exkretion von DOC durch Phytoplankton zu einer Isotopenfraktionierung kommt, wurde anhand von Monokulturen ausgewählter Algen untersucht. Von axenischen Kulturen, die mit unterschiedlichen Lichtstärken bestrahlt wurden, sind $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ - und $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werte im Medium bestimmt und miteinander verglichen worden. Dabei kam es in allen Fällen zu einem Anstieg sowohl der $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ - als auch der $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werte um bis zu 12 ‰. Der Grund für die Verschiebung der Isotopen-Fraktionierung bei der Kohlenstofffixierung ist in einem Anstieg des pH-Werts der Kulturen zu sehen. Dadurch kommt es zu einer Verschiebung des Kohlensäuregleichgewichtes hin zum Hydrogencarbonat. Der hohe Bedarf an anorganischem Kohlenstoff während der exponentiellen Wachstumsphase kann dann nur durch eine verstärkte Aktivität der β -Carboxylase PEPCO gedeckt werden, die Hydrogencarbonat als Substrat bevorzugt. Diese zeigt eine um 10 ‰ geringere Fraktionierung bei der Kohlenstofffixierung als das unter üblichen Bedingungen aktive Enzym RUBISCO.

Durch die Messung der $\delta^{13}\text{C}$ -Werte und der dadurch beobachteten Verschiebung der Verläufe von $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ - und $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}$ -Werten während der Versuche konnte eine

zeitliche Verzögerung zwischen der Fixierung des anorganischen Kohlenstoffs also dem Aufbau der Biomasse und der Exkretion als DOC, die im Bereich von Tagen liegt, erkannt werden. Diese Verzögerung lässt Rückschlüsse auf den Mechanismus der Exkretion zu, die durch die reine Betrachtung der Kohlenstoff-Massen und -Konzentration nicht möglich sind.

Es wurde eine Berechnungsmethode entwickelt, die es gestattet, durch Separation der ^{13}C - und ^{12}C -Massenzunahmen den Verlauf der $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}$ -Werte zu interpolieren. Durch diese Berechnungen konnte eindeutig gezeigt werden, dass nach einer vorübergehenden Fraktionierung zwischen POC und DOC während der logarithmischen Wachstumsphase, POC und DOC nach Erreichen der stationären Phase isotopisch identisch sind.

In einem weiteren Experiment wurden die abiotische Reaktion von Phytoplanktonexsudaten mit refraktärem Flusswasser-DOM sowie die bakterielle Verfügbarkeit der resultierenden Transformationsprodukte mittels Anreicherung von steril filtriertem Elbe-Wasser mit isotopisch markierten Phytoplanktonexsudaten untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass die Reaktion der Exsudate mit dem refraktären DOM innerhalb weniger Tage abgeschlossen ist. Die Exsudate reagierten mit der hochmolekularen DOM-Fraktion und wurden anschließend vollständig durch Bakterien metabolisiert, wobei auch niedermolekulares Elbe-DOM abgebaut wurde. Es konnte mit Hilfe der $\delta^{13}\text{C}$ -Messungen gezeigt werden, dass die Exsudate veratmet, also zur Energiegewinnung verwendet wurden.

Der Vergleich mit Literaturdaten früherer Arbeiten, die sich vorwiegend mit der mikrobiellen Verfügbarkeit von DOM in marinen Systemen beschäftigen, zeigt, dass die LMW-Fraktion des DOM nicht oder nur zu einem kleinen Anteil von Bakterien abgebaut wurden. Die Ergebnisse dieser Arbeit machen aber deutlich, dass ein großer Anteil des LMW-DOM zum Aufbau von Biomasse durch die Bakterien verwendet wird. Daraus lassen sich Rückschlüsse hinsichtlich der unterschiedlichen Qualität des DOM von Fluss- und Meerwasser ziehen. Während marines LMW-DOM durch sein großes Alter und die damit verbundenen Abbauprozesse einen stärkeren refraktären Charakter aufweist, ist die LMW-DOM Fraktion der Flüsse für Mikroorganismen verfügbar, und bleibt somit im Kohlenstoffkreislauf.

Ausblick:

Methodisch ist die Frage interessant, ob die Methode der UV-Dünnschicht-Oxidation auch auf natürliche Wasserinhaltsstoffe in anderen Matrices wie Meerwasser anwendbar ist. Aber auch die Oxidierbarkeit von nicht natürlichen Kohlenstoffquellen wie Pestizide und Herbizide muss im weiteren geklärt werden, um die Dynamik von anthropogenen Giften mit natürlichem DOM und POM untersuchen zu können.

Auf dem Gebiet der Phytoplanktonexsudate müssen die Ergebnisse dieser Arbeit auf andere Phytoplankton-Arten wie Diatomeen aber auch auf andere Spezies, die organische Substanzen exkretieren, wie Bakterien und höhere Pflanzen übertragen werden. Dazu ist es nötig weitere Versuche zum Mechanismus der Exkretion und der Dynamik von Exsudaten auf die beschriebene Weise auszuwerten.

7) Literaturverzeichnis

Al-Hasan, R.H. und Fogg, G.E. (1987): Glycollate concentrations in relation to hydrography in Liverpool Bay. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 37: 305-307.

Amon, R.M.W. und Benner, R., (1996): Bacterial utilization of different size classes of dissolved organic matter. *Limnol. Oceanogr.* 41: 41-51.

Anderson, T.F. und Arthur, M.A.(1983): Stable isotopes of oxygen and carbon and their application to sedimentologic and paleoenvironmental problems. In: M.A. Arthur: Stable isotopes in sedimentary geology. Society of Economic Paleontologists and Mineralogists, Tulsa, Oklahoma. 1-151.

Axt, G. (1969): Ein Gerät zur kontinuierlichen Messung des organischen Kohlenstoffs in Trinkwasser- und Abwasserbereichen. *Vom Wasser* 36: 328-339.

Azam, F und Hodson, F.E. (1977): Size distribution and activity of marine microheterotrophs. *Limnol. Oceanogr.* 10: 492-501.

Azam, F. (1983): The ecological role of water-column microbes in the sea. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 10: 257.

Baines, S.B. und Pace M.L., (1991): The production of dissolved organic matter by phytoplankton and its importance to bacteria: Patterns across marine and freshwater systems. *Limnol. Oceanogr.* 36: 1078-1090.

Beardall, J., Mukerji, D., Glover H.E., Morris, und Morris, I. (1976): The path of carbon in photosynthesis by marine phytoplankton. *Journal of Phycology* 12: 409-417.

Beardall, J. (1989): Photosynthesis and Photorespiration in marine Phytoplankton. *Aquat. Bot.* 34: 105-130.

Beattie, J., Bricker, C. und Garvin, D. (1961): Photolytic determination of trace amounts of organic material in water. *Anal. Chem.* 33: 1890-1892.

Bergemann, M. (2000): ARGE-Elbe: Persönliche Mitteilung.

Biddanda, B. und Benner, R. (1997): Carbon, nitrogen and carbohydrate fluxes during the production of particulate and dissolved organic matter by marine phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.* 42: 506-518.

Bjørnsen, P.K. (1988): Phytoplankton exudation of organic matter: Why do healthy cells do it? *Limnol. Oceanogr.* 33: 151-154.

Blume, H. und Güsten, H. (1977): Ultraviolette Strahlung. Walter de Gruyter, Berlin.

Boutton, T.W. (1991a): Stable carbon isotope ratios of natural materials: I. Sample preparation and mass spectrometric analysis. In: D. Coleman: Carbon isotope techniques. Academic Press inc., San Diego, CA. 155-171.

- Boutton, T.W. (1991b):** Stable carbon isotope ratios of natural materials: II. Atmospheric, terrestrial, marine and freshwater environments. In: D.C. Coleman: Carbon isotope techniques. Academic Press Inc., San Diego, CA. 173-185
- Bratbak, G. und Thingstad, T.F. (1985):** Phytoplankton-bacteria interactions: An apparent paradox? Analysis of a model with both competition and commensalism. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 25: 23-30.
- Buchanan, D.L. und Corcoran, B.J. (1957):** Sealed tube combustions for the determination of carbon-14 and total carbon. *Anal. Chem.* 31: 1635-1638.
- Cassar, N., Laws, E.A., Popp, B.N. und Wright, R.T. (1989):** Sources of inorganic carbon in a strain of *Phaeodactylum tricornutum*. *Limnol. Oceanogr.* 47: 1192-1197.
- Chen, W. und Wangersky, P.J. (1993):** HTC-analysis of DOC Produced in phytoplankton cultures. *Mar. Chem.* 41: 161-171.
- Clark, I.D. und Fritz, P. (1997):** Environmental isotopes in hydrogeology. Lewis Publ., Boca Raton.
- Coffin, R.B., Fry, B., Peterson, B.J. und Wright, R.T. (1989):** Carbon isotopic compositions of estuarine bacteria. *Limnol. Oceanogr.* 34: 1305-1310.
- Cole, J.J., Findlay, S. und Pace, M.L. (1988):** Bacterial production in fresh and saltwater ecosystems: A cross-system overview. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 43: 1-10.
- Collins, W. (1977):** An automated photochemical method for the determination of dissolved organic carbon in sea and estuarine waters. *Mar. Chem.* 5: 123-141.
- Connolly, J.P., Coffin, R.B. und Landeck, R.E. (1992):** Modeling carbon utilization by bacteria in natural water systems. In: C. Hurst: Modeling the Metabolic and Physiologic Activities of Microorganisms. Wiley, New York. 249-276.
- Costerton, J.W. (1999):** The role of bacterial exopolysaccharides in nature and disease. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 22: 551-563.
- Craig, H. (1953):** The geochemistry of the stable carbon isotopes. *Geochim. Cosmochim. Acta* 3: 53-92.
- Decho, A.W. (1990):** Microbial exopolymer secretions in ocean environments: Their role(s) in food web and marine processes. *Oceanography and Marine Biology Annual Review* 28: 73-153.
- Degens, E.T. (1969):** Biogeochemistry of stable carbon isotopes. In: G. Eglinton: Organic geochemistry. M.T.J. Murphy, Springer, New York. 304-329.
- Deines, P. (1980):** The isotopic composition of reduced organic carbon. In: P. Fritz, J.C. Fontes: Handbook of environmental geochemistry. Elsevier, New York. 329-406.
- Del Giorgio, P.A. und Cole, J.J. (1998):** Bacterial growth efficiency in natural aquatic systems. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 29: 503-541.

- Del Giorgio, P.A und Cole, J.J. (2000):** Bacterial energetics and growth efficiency. In: D.L. Kirchman: *Microbial Ecology of the Oceans*. Wiley, New York, 289-325.
- Descolas-Gros, C. und Fontugne, M.R. (1985):** Carbon fixation in marine phytoplankton: Carboxylase activities and stable carbon-isotope ratios. *Mar. Biol.* 87: 1-6.
- Descolas-Gros, C. und Fontugne, M.R. (1990):** Stable carbon isotope fractionation by marine phytoplankton during photosynthesis. *Plant, Cell and Environment* 13: 217-218.
- Deuser, W.G. und Degens, E.T. (1967):** Carbon isotope fractionation in the system CO₂(gas)-CO₂(aqueous)-HCO₃⁻(aqueous). *Nature* 215: 1033-1035.
- Ducklow, H.W. und Carlson, C.A. (1992):** Oceanic bacterial production. *Adv. Microb. Ecol.* 12: 113-181.
- Eadie, B.J. und Jeffrey, L.M. Sacket, W.M. (1978):** Some observations on the stable carbon isotope composition of dissolved and particulate organic carbon in the marine environment. *Geochim. Cosmochim. Acta* 42: 1265-1269.
- Engel, M.H. und Maynard, R.J. (1989):** Preparation of organic matter for stable carbon isotope analysis by sealed tube combustion: A cautionary note. *Anal. Chem.* 61: 1996-1998.
- Ertl, S. J. (1997):** Herkunftsbestimmung organischer Schadstoffe durch Untersuchung des natürlichen Isotopengehaltes. Diss. Techn. Univers.München.
- Ertl, S. und Spitzky, A. (2004):** Low temperature sealed tube combustion of gaseous, liquid and solid compounds for ¹³C/¹²C-ratio and ¹⁴C analysis. *Isot. Environm. Health Studies* 40: 163-170.
- Eydeler, I. (1998):** Untersuchungen zur mikrobiellen Verfügbarkeit von gelösten organischen Verbindungen im Elbe-Ästuar. Diplomarbeit Fachbereich Biologie, Universität Hamburg.
- Fischer, H., Sachse, A., Steinberg, C.E.W. und Pusch, M. (2002):** Differential retention and utilization of dissolved organic carbon by bacteria in river sediments. *Limnol. Oceanogr.* 47: 1702-1711.
- Fogg, G.E. (1977):** Excretion of organic matter by phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.* 22: 576-577.
- Fogg, G.E. (1983):** The ecological significance of extracellular products of phytoplankton photosynthesis. *Bot. Mar.* 26: 3-14.
- Frazer, J.W. und Crawford, R. (1963):** Modification in the simultaneous determination of carbon, hydrogen, and nitrogen. *Mikrochim. Acta* 3: 561-566.
- Freier, R.K. (1978):** Wässrige Lösungen. Daten für anorganische und organische Verbindungen. Walter de Gruyter, Berlin.

- Friedman, I. und O'Neil, J.R. (1977):** Compilation of stable isotope fractionation factors of geochemical interest. U.S. Geological Survey, Professional Paper, Washington, D.C.
- Frimmel, F.H. und Geywitz, J. (1983):** Zur koordinativen Bindung von Metallionen an Gewässerhuminstoffe. *Fresenius Z. Anal. Chem.* 316: 582-588.
- Fritz, P. und Fontes, J.-C. (1980):** Handbook of Environmental Isotope Geochemistry. Elsevier, New-York.
- Fry, B. und Wainright, S.C. (1991):** Diatom sources of ¹³C-rich carbon in marine food webs. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 76: 149-157.
- Gardner, W.S. (1997):** Effects of natural light on nitrogen cycling rates in the Mississippi River Plume. *Limnol. Oceanogr.* 42: 273-281.
- Glover, H.E. (1989):** Ribulosebiphosphate carboxylase/oxygenase in marine organisms. *International reviews of cytology* 115: 67-138.
- Goericke, R., Montoya, J.P. und Fry, B. (1994):** Physiology of isotopic fractionation in algae and cyanobacteria. In: K. Lajtha, R.H. Michener: Stable isotopes in ecology and environmental science. Blackwell, Oxford.
- Goldman, J.C., Hansell, D.A., Dennet, M.R. (1992):** Chemical characterization of three large oceanic diatoms: Potential impact on water column chemistry. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 88: 257-270.
- Gonfiantini, R. (1978):** Standards for stable isotope measurements in natural compounds. *Nature* 271: 534-536.
- Hedges, J.I., Bergamaschi, B.A. und Benner, R. (1993):** Comparative analyses of DOC and DON in natural waters. *Mar. Chem.* 41: 121-134.
- Heissenberger, A. und Herndl, G.J. (1994):** Formation of high molecular weight material by free living bacteria. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 111: 129-135.
- Hoagland, K., Rosowski, J., Gretz, M. und Roemaer, S. (1993):** Diatom extracellular polymeric substances: Function, fine structure, chemistry and physiology. *Journal of Phycology.* 29: 537-566.
- Huber, A.S. und Frimmel, F.H. (1991):** Flow injection analysis of organic and inorganic carbon in the low-ppb range. *Anal. Chem.* 63: 2122-2130.
- Huber, S. A. (1992):** Entwicklung und Einsatz eines Analyseverbundsystems zur chromatographischen Charakterisierung natürlicher organischer Wasserinhaltsstoffe. Diss. Universität Karlsruhe.
- Ittekkot, V., Brockmann, U., Michaelis, W. und Degens, E. (1981):** Dissolved free and combined carbohydrates during a phytoplankton bloom in the northern North Sea. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 4: 299-305.
- Iturriaga, R. und Zsolnay, A. (1981):** Transformation of some dissolved organic compounds by a natural heterotrophic population. *Mar. Biol.* 62: 125-129.

- Johnston, A.M. und Raven, J.A. (1992):** Effect of aeration rates on growth rates and natural abundance $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratio of *Phaeodactylum tricornutum*. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 87: 295-300.
- Keil, R.G. und Kirchman, D.L. (1994):** Abiotic transformation of labile protein to refractory protein in sea water. *Mar. Chem.* 45: 187-196.
- Kerner, M., Hohenberg, H., Ertl, S., Reckermann, M. und Spitzzy, A. (2003):** Self-organization of dissolved organic matter to micelle-like microparticles in river water. *Nature* 422: 150-154.
- Kerr, R.A. und Quinn, J.G. (1980):** Chemical comparison of dissolved organic matter isolated from different oceanic environments. *Mar. Chem.* 8: 217-229.
- Köhler, H. (2003):** Untersuchungen zu Transport, Beschaffenheit und Transformation von DOM in sibirischen Ästuaren. Dissertation, Fachbereich Geowissenschaften, Universität Hamburg.
- Kohl, J.-G. und Nicklisch, A. (1988):** Ökophysiologie der Algen: Wachstum und Ressourcennutzung. Fischer, Stuttgart.
- Lancelot, C. (1983):** Factors effecting phytoplankton extracellular release in the Southern Bight of the North Sea. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 12: 115-121.
- Lancelot, C. (1984):** Extracellular release of small and large molecules by phytoplankton in the southern bight of the North Sea. *Estuarine Coastal Shelf Sci.* 18: 65-77.
- Ludwig, U. (1997):** Application of ultrafiltration for characterization of the DOC of Elbe River Water. *Acta hydrochim. hydrobiol.* 25: 71-78.
- Mague, T.H. (1980):** Extracellular release of carbon by marine phytoplankton: A physiological approach. *Limnol. Oceanogr.* 25: 262-279.
- Malcolm, R.L. (1990):** The uniqueness of humic substances in each of soil, stream and marine environments. *Anal. Chim. Acta* 232: 19-30.
- Mariotti, A. (1983):** Atmospheric nitrogen is a reliable standard for natural abundance ^{15}N measurements. *Nature* 303: 685-687.
- Maurin, N. (1997):** Phytoplanktonic excretion and bacterial assimilation in an oligomesotrophic lake: Molecular weight fractionation. *Journal of Plankton Research* 19: 1045-1068.
- Menzel, D.W. und Vaccaro, R.F. (1964):** Measurements of dissolved organic and particulate carbon in seawater. *Limnol. Oceanogr.* 9: 138-142.
- Meon, B. und Kirchman, D.L. (2001):** Dynamics and molecular composition of dissolved organic material during experimental phytoplankton blooms. *Mar. Chem.* 75: 185-199.
- Meyer, J.L., Edwards, R.T. und Risley, R. (1987):** Bacterial growth on dissolved organic carbon from a blackwater river. *Microb. Ecol.* 13: 13-29.

Michener, R.H. und Schell, D.M. (1994): Stable isotope ratios in as tracers in marine aquatic food webs. In: K. Lajtha, R.H. Michener: Stable isotopes in ecology and environmental science. Blackwell 138-157.

Middelboe, M. und Søndergaard, M. (1995): Concentration and bacterial utilization of sub-micron particles and dissolved organic carbon in lakes and a coastal area. *Arch. Hydrobiol.* 133: 129-147.

Mook, W.G., Bommerson, J.C und Staverman, W.H. (1974): Carbon isotope fractionation between dissolved bicarbonate and gaseous carbon dioxide. *Earth Planet. Sci. Lett.* 22: 169-176.

Moser, H. und Rauert W., (1980): Isotopenmethoden in der Hydrologie. Borntraeger, Berlin-Stuttgart.

Münster, U. und Chróst R.J., (1990): Origin composition and microbial utilization of dissolved organic matter. In: J. Overbeck und R.J. Chróst: Aquatic microbial ecology. Biochemical and molecular approaches. Springer 8-46.

Myklestad, S., Holm-Hansen, O., Vårum, K.M. und Volcani, B.E. (1989): Rates of release of extracellular amino acids and carbohydrates from the marine diatom *Chaetoceros affinis*. *J. Plankton Res.* 11: 763-773.

Nagata, T. (2000): Produktion mechanisms of dissolved organic matter. In: D.L. Kirchman: Microbial ecology of the oceans. Wiley, New York. 121-152.

Nagata, T. und Kirchman, D.L. (1992): Release of dissolved organic matter by heterotrophic protozoa: Implications for microbial food webs. *Arch. Hydrobiol.* 35: 99-109.

Nagata, T., Meon, B. und Kirchman D.L. (2003): Production of refractory dissolved organic matter by bacteria. *Limnol. Oceanogr.* 48: 745-754.

Nakai, N. und Jensen, M.L. (1964): The kinetic isotope effect in bacterial reduction and oxidation of sulfur. *Geochim. Cosmochim. Acta* 28: 1893-1912.

Norrman, B. (1995): Production and utilization of dissolved organic carbon during an experimental diatom bloom. *Limnol. Oceanogr.* 40: 898-907

Obernosterer, I. und Herndl, G.J. (1995): Phytoplankton extracellular release and bacterial growth: Dependence on the inorganic N:P ratio. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 116: 247-257

Ogawa, H., Amagai, Y., Koike, L., Kaiser, K. und Benner, R. (2001): Production of refractory dissolved organic matter by bacteria. *Science* 292: 917-920.

Ogura, N. (1977): High molecular weight organic matter in sea water. *Mar. Chem.* 5: 535-549.

O'Leary, M.H. (1981): Carbon isotope fractionation in plants. *Phytochemistry* 20: 553-567.

- Pape, T. (1998):** Charakterisierung aquatischer Huminstoffe eines Hamburger Grundwassers. Diplomarbeit Fachbereich Geowissenschaften Universität Hamburg.
- Park, R. und Epstein, S. (1976):** Carbon isotope fractionation during photosynthesis. *Geochim. Cosmochim. Acta* 40: 309-312.
- Parsons, T.R., Stephens, A., Strickland, J.D.H. (1961):** On the chemical composition of eleven species of marine phytoplankters. *J. Fish. Res. Bd. Can.* 18: 1001-1016.
- Passow, U. (2002):** Transparent exopolymer particles (TEP) in aquatic environments. *Progr. Oceanogr.* 55: 287-333.
- Rashid, M.A. (1985):** Geochemistry of Marine Humic Compounds. Springer, New York.
- Reinfelder, J.R., Kraepiel, A.M.L. und Morel, F.M.M. (2000):** Unicellular C4-Photosynthesis in a marine diatom. *Nature* 407: 996-999.
- Riebesell, U. und Wolf-Gladrow, D. (1995):** Growth limits on phytoplankton. *Nature* 373: 373.
- Riemann, B. (1982):** Carbon metabolism during a diatom bloom in eutrophic Lake Mossø. *Int. Revue ges. Hydrobiol. Hydrogr.* 67: 145-185.
- Rost, B., Zondervan, I., Riebesell, U. (2002):** Light-dependent carbon isotope fractionation in the coccolithophorid *Emiliania huxleyi*. *Limnol. Oceanogr.* 47: 120-128.
- Rost, B., Riebesell, U., Burkhardt, S. und Sültemeyer, D. (2003):** Carbon acquisition of bloom-forming marine phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.* 48: 55-67.
- Rounick, J.S. und Winterbourn, M.J. (1986):** Measuring ^{13}C to ^{12}C ratios can help tracing carbon pathways. *Bioscience* 36: 171-177.
- Saunders, G. (1976):** Decomposition in fresh water. In: J. Anderson und A. MacFadyen: The role of terrestrial and aquatic organisms in decomposition processes. Blackwell 341-374.
- Schidlowski, M. (1988):** A 3.800-million-year isotopic record of life from carbon sedimentary rocks. *Nature* 333: 313-318.
- Sharp, J.H. (1973):** Total organic carbon in seawater - comparison of measurements using persulfate oxidation and high temperature combustion *Marine Chemistry* 1: 211-229.
- Sharp, J.H. (1997):** Marine dissolved organic carbon: Are the older values correct? *Marine Chemistry* 56: 265-277.
- Søndergaard, M. und Schierup H.-H., (1982):** Release of extracellular organic carbon during a diatom bloom in Lake Mossø: Molecular weight fractionation. *Freshwater Biol.* 12: 313-320.

- Spitzky, A., Ertl, S.J., Ehrhardt, L. (2002):** Unveröffentlichte Ergebnisse.
- Stuiver, M., Burk, R. und Quay, P. (1984):** $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ratios in tree rings and the transfer of biospheric carbon to the atmosphere *J. Geophys. Res.* 89: 1731-1748.
- Sundh, I. (1992):** Biochemical composition of dissolved organic carbon derived from phytoplankton and used by heterotrophic bacteria. *Appl. Environm. Microb.* 58: 2938-2947.
- Suzuki, Y. (1993):** On the measurements of DOC and DON in seawater *Marine Chemistry* 41: 287-289.
- Thurman, E.M. und Malcolm, R.L. (1981):** Preparative Isolation of aquatic humic substances. *Environ. Sci. and Tech.* 15: 463-466.
- Thurman, E.M. (1985):** Organic geochemistry of natural waters. Nijhoff/Junk, Dordrecht.
- Tortell, P.D und Morel, F.M.M. (2002):** Sources of inorganic carbon for phytoplankton in the eastern subtropical and equatorial pacific ocean. *Limnol. Oceanogr.* 47: 1012-1022.
- Tranvik, L.J. (1990):** Bacterioplankton growth on fractions of dissolved organic carbon of different molecular weights from humic and clear waters. *Appl. Environm. Microbiol.* 56: 1672-1677.
- Tulonen, T., Salonen, K. und Arvola, L. (1991):** Limnological Analyses. Springer, New York.
- Tulonen, T., Salonen, K. und Arvola, R. (1992):** Effects of different molecular weight fractions of dissolved organic matter on the growth of bacteria, algae and protozoa from a highly humic lake. *Hydrobiologica* 229: 239-252.
- Vallino, J.J., Hopkinson, C.S. und Hobbie, J.E. (1996):** Modeling bacterial utilization of dissolved organic matter: Optimization replaces Monod growth kinetics. *Limnol. Oceanogr.* 41: 1591-1609.
- Van Hall, C.E., Safranko, J. und Strenger, V.A. (1963):** Rapid method for the determination of organic substances in aqueous solutions. *Anal. Chem.* 35: 315-319.
- Wetz, S.M. und Wheeler, P.A. (2003):** Production and partitioning of organic matter during simulated phytoplankton blooms. *Limnol. Oceanogr.* 48: 1808-1817.
- Wetzel, R.G. und Likens, G.E. (1991):** Limnological analysis. Springer, New York.
- Wilhelm, C.(1999):** Photosynthese der Algen. In: D.P. Häder: Photosynthese. Thieme, Stuttgart.
- Williams, P.M. und Gordon, L.I. (1970):** Carbon-13:carbon-12 ratios in dissolved and particulate organic matter in the sea. *Deep-Sea Res.* 17: 19-27.

Wölfel, P. und Sontheimer, H. (1974): Ein neues Verfahren zur Bestimmung von organisch gebundenem Kohlenstoff in Wasser durch photochemische Oxidation. *Vom Wasser* 43: 315-325.

Wood, A.M. und van Valen, L.M. (1990): Paradox lost? On the release of energy rich compounds by phytoplankton. *Mar. Microb. Food Webs* 4: 103-116.

Zlotnik, I. und Dubinsky, Z. (1989): The effect of light and temperature on DOC excretion by phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.* 34: 831-839.

8) Anhang

A) In Kapitel 4.3 durch Curve-Fitting ermittelte Parameter der Interpolation von $PO^{13}C$, $PO^{12}C$, $DO^{13}C$ und $DO^{12}C$ -Verläufen sowie der aus der Ableitung nach der Zeit ermittelten Zunahmeraten

Massenverläufe: $y = a + b \cdot \arctan(c + d \cdot x)$ mit: $y = M(t)$ und $x = t$

Zunahmeraten: $\frac{dy}{dx} = \frac{b \cdot d}{1 + (c + d \cdot x)^2}$

M(POC)				
Kultur	Parameter			
	a	b	c	d
<i>Tetrastrum s.</i> (20 µE)	2,429	2,224	-1,909	0,176
<i>Coenochloris p.</i> (20 µE)	30,816	23,167	-3,620	0,208
<i>Tetrastrum s.</i> (90 µE)	90,910	80,136	-2,108	0,377
<i>Coenochloris p.</i> (90 µE)	95,238	75,655	-3,162	0,339

M(P ¹³ OC)				
Kultur	Parameter			
	a	b	c	d
<i>Tetrastrum s.</i> (20 µE)	26,262	24,298	-1,875	0,173
<i>Coenochloris p.</i> (20 µE)	332,63	249,88	-3,628	0,208
<i>Tetrastrum s.</i> (90 µE)	992,68	893,76	-1,966	0,350
<i>Coenochloris p.</i> (90 µE)	1038,99	825,88	-3,165	0,340

M(P ¹² OC)				
Kultur	Parameter			
	a	b	c	d
<i>Tetrastrum s.</i> (20 µE)	2400,45	2224,02	-1,870	0,172
<i>Coenochloris p.</i> (20 µE)	30483,57	22917,06	-3,620	0,208
<i>Tetrastrum s.</i> (90 µE)	9022,51	8132,31	-1,960	0,349
<i>Coenochloris p.</i> (90 µE)	94153,76	74928,99	-3,150	0,338

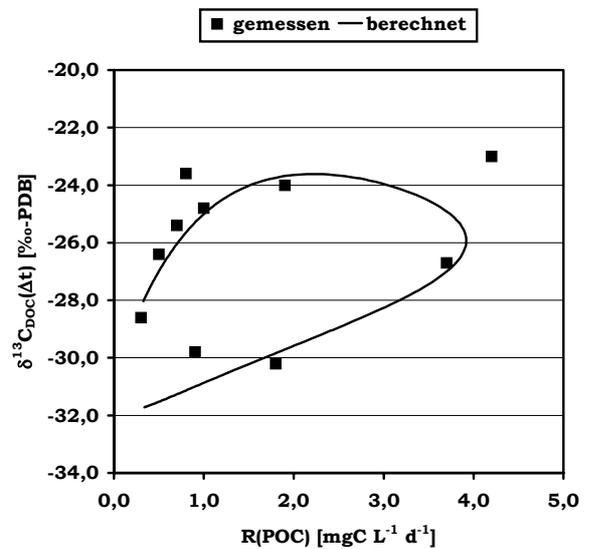
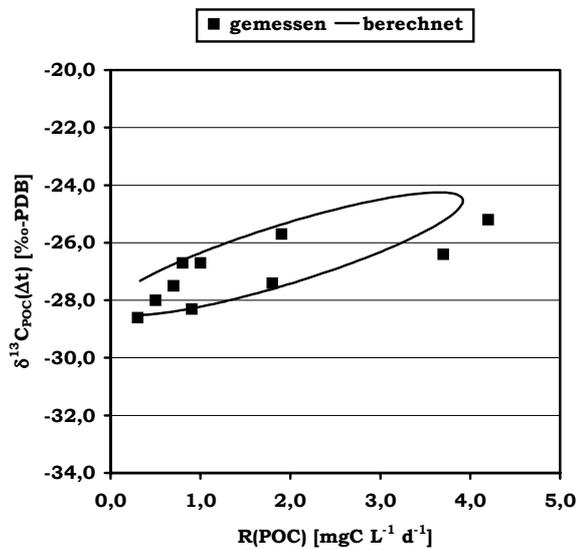
M(DOC)				
Kultur	Parameter			
	a	b	c	d
<i>Tetrastrum s.</i> (20 µE)	20,290	14,843	-3,337	0,264
<i>Coenochloris p.</i> (20 µE)	5,258	6,165	-1,142	0,089
<i>Tetrastrum s.</i> (90 µE)	4,759	4,541	-1,675	0,313
<i>Coenochloris p.</i> (90 µE)	4,501	3,853	-2,331	0,242

M(D ¹³ OC)				
Kultur	Parameter			
	a	b	c	d
<i>Tetrastrum s.</i> (20 µE)	219,246	160,500	-3,342	0,265
<i>Coenochloris p.</i> (20 µE)	56,795	67,077	-1,129	0,088
<i>Tetrastrum s.</i> (90 µE)	51,882	49,395	-1,686	0,314
<i>Coenochloris p.</i> (90 µE)	48,865	41,988	-2,319	0,240

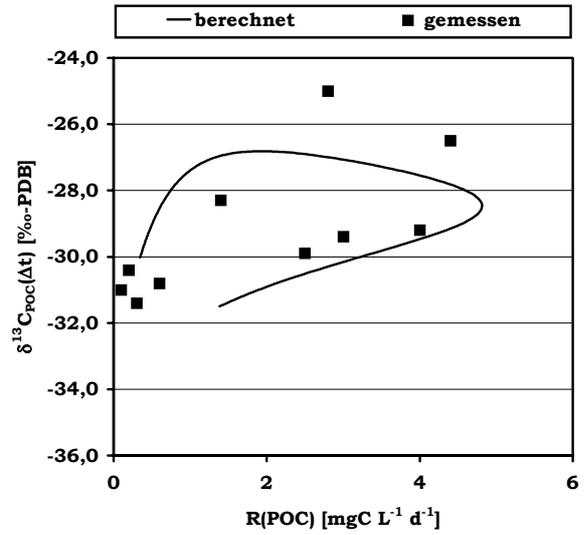
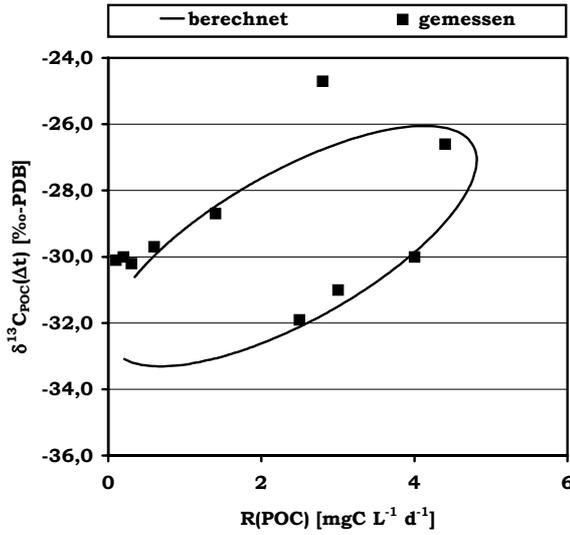
M(D ¹² OC)				
Kultur	Parameter			
	a	b	c	d
<i>Tetrastrum s.</i> (20 µE)	20071,40	14670,00	-3,337	0,264
<i>Coenochloris p.</i> (20 µE)	5197,45	6156,64	-1,126	0,088
<i>Tetrastrum s.</i> (90 µE)	4706,86	4491,68	-1,675	0,313
<i>Coenochloris p.</i> (90 µE)	4447,44	3828,79	-2,306	0,239

B) Abbildungen der aus den Gleichungen und Parametern des Anhangs A erzeugten Korrelationen der $\delta^{13}\text{C}_{\text{POC}}(\Delta t)$ - und $\delta^{13}\text{C}_{\text{DOC}}(\Delta t)$ -Werte mit der Wachstumsrate $R(\text{POC})$

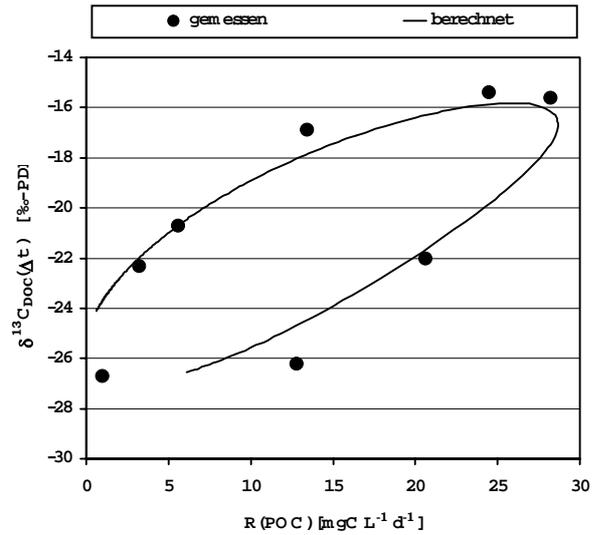
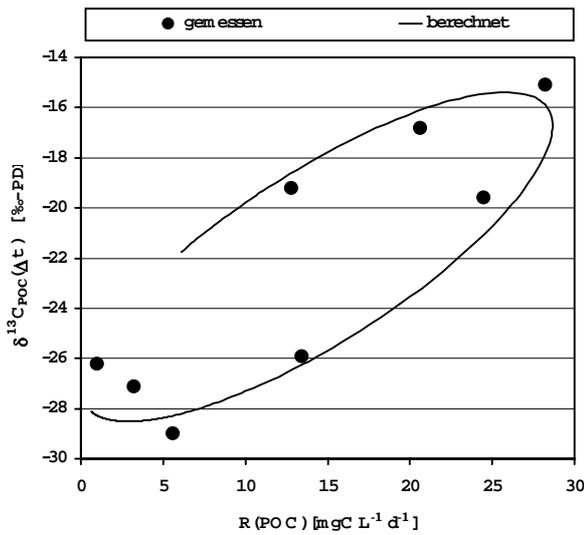
***Tetrastrum s.* (20µE)**



***Coenochloris p.* (20µE)**



***Tetrastrum s.* (90µE)**



***Coenochloris p.* (90µE)**

