

Institut für Bodenökologie
GSF-Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit

**Einfluss bodenphysikalischer und mikrobiologischer
Faktoren auf das Abbauverhalten der Modellchemikalien
Benazolin-Ethyl und Benzo(a)pyren in Böden und
Methoden zur Steuerung des in-situ-Abbaus**

Jürgen Ruoff

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat)

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. W. Huber

Prüfer der Dissertation: 1. Univ.-Prof. Dr. J. C. Munch

2. Univ.-Prof. Dr. W. Oßwald

Die Dissertation wurde am 13.12.2004 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und Umwelt am 11.04.2005 angenommen.

Danksagung

Die vorliegende Arbeit wurde am Institut für Bodenökologie des GSF-Forschungszentrums für Umwelt und Gesundheit angefertigt. Am Zustandekommen dieser Arbeit hatten viele Menschen Anteil, bei denen ich mich ganz herzlich für die große Unterstützung bedanken möchte:

Bei Herrn Prof. Dr. J.C. Munch möchte ich mich für die Überlassung des Themas, die kritische Durchsicht des Manuskripts und für seine Unterstützung der Arbeit bedanken.

Herrn Prof. Dr. W. Oßwald danke ich für die Erstellung des Zweitgutachtens und Herrn Prof. Dr. W. Huber für den Vorsitz in der Promotionsprüfungskommission.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. R. Schroll für die umfassende Betreuung dieser Arbeit, die große Diskussionsbereitschaft und die unerschöpflichen Anregungen zum wissenschaftlichen Fortgang dieser Arbeit.

Bei der Einarbeitung in die Rückstands-Analytik war mir Herr Dr. Lahanjatis, oft unterstützt durch seine Frau, eine große Hilfe. Herrn Dr. Becher danke ich für die Möglichkeit die pF-WG-Kurven in der Bodenphysik in Weihenstephan durchführen zu können. Bei Herrn Dr. B. Ruth bedanke ich mich für die Unterstützung beim Einsatz und der Betreuung der von ihm entwickelten Messsensoren während der Lysimeterversuche. Frau Sabine Grundmann danke ich für die Diskussionsbereitschaft bei auftretenden Fragen. Für die tatkräftige und unermüdliche Hilfe im Laboralltag und bei der Bearbeitung der Lysimeterversuche bedanke ich mich bei J. Arthofer, K. Zott, sowie allen beteiligten Auszubildenden und Zivildienstleistenden, ohne deren Hilfe die Probenflut kaum zu bewältigen gewesen wäre. Bei Herrn Dr. A. Embacher und Frau K. Görke bedanke ich mich für die Unterstützung bei den Messungen der WEOC-Proben.

Für die hervorragende und freundschaftliche Zusammenarbeit, die immerwährende Diskussionsbereitschaft und die übermittelte Freude an der wissenschaftlichen Arbeit danke ich allen Mitarbeitern der AG Schroll ganz herzlich. Letztlich möchte ich allen übrigen Mitarbeitern des IBOe für die nette Zusammenarbeit und die große Hilfsbereitschaft bei der Bewältigung des Laboralltags danken.

Ein ganz besonderer Dank gilt meiner ganzen Familie, insbesondere meiner Lebensgefährtin Frau B. Pérez und meiner Tochter Aitana, da ihre Unterstützung und Aufmunterung sehr zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | EINLEITUNG | 1 |
| 1.1 | Chemikalien in der Umwelt: Woher? Wohin? ...und der Mensch?..... | 2 |
| 1.2 | Chemikalie ist nicht gleich Chemikalie: Warum Modellchemikalien?..... | 3 |
| 1.2.1 | Die Modellchemikalie Benazolin-Ethyl in Umwelt und Boden..... | 3 |
| 1.2.2 | Die Modellchemikalie Benzo(a)pyren in Umwelt und Boden | 4 |
| 1.3 | Das Verhalten von Schadstoffen im Boden..... | 4 |
| 1.4 | Ziele der Arbeit..... | 5 |
| 2 | MATERIAL UND METHODEN..... | 7 |
| 2.1 | Verwendete Böden | 7 |
| 2.1.1 | Die Projektböden für Laborversuche | 7 |
| 2.1.2 | Der Lysimeterboden..... | 9 |
| 2.1.3 | Mit Polyaromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK) kontaminierte Böden..... | 10 |
| 2.1.4 | Aus anderen Untersuchungen bekannter landwirtschaftlich genutzter Boden. | 11 |
| 2.2 | Verwendete Modellchemikalien | 12 |
| 2.2.1 | Das Herbizid Benazolin-Ethyl..... | 12 |
| 2.2.2 | Der polyaromatische Kohlenwasserstoff Benzo(a)pyren (BaP)..... | 13 |
| 2.3 | Laborversuche zur Mineralisierung von ¹⁴C-Benazolin-Ethyl bzw. Benzo(a)pyren in Böden..... | 16 |
| 2.3.1 | Beschreibung des Laborsystems | 16 |
| 2.3.2 | Bestimmung der CO ₂ / ¹⁴ CO ₂ -Abgabe und volatiler ¹⁴ C-markierter Stoffe..... | 17 |
| 2.3.3 | Versuchsvorbereitung und Applikation des Wirkstoffs..... | 17 |
| 2.3.3.1 | Versuchsvorbereitung..... | 17 |
| 2.3.3.2 | Applikation der ¹⁴ C-Modellchemikalie | 18 |
| 2.3.4 | Zugabe eines Bodenzusatzes (z.B. Maisstroh) | 18 |
| 2.3.5 | Untersuchung zum Einfluss der Bodendichte auf den Abbau von ¹⁴ C-Benazolin-Ethyl im Boden Alfi-Con..... | 18 |
| 2.3.6 | Untersuchung des Abbauverhaltens von ¹⁴ C-Benazolin-Ethyl im Boden Incept-Int unter abiotischen Bedingungen..... | 19 |
| 2.4 | Lysimeterstudie zur Mineralisierung von ¹⁴C-Benzo(a)pyren im Boden Kolluv-Int | 20 |
| 2.4.1 | Beschreibung des Lysimetersystems..... | 20 |
| 2.4.2 | Applikation von Benzo(a)pyren..... | 21 |
| 2.4.3 | Quantifizierung der ¹⁴ C-Benzo(a)pyren Mineralisierung und volatiler ¹⁴ C-markierter Stoffe..... | 22 |
| 2.4.3.1 | Quantifizierung volatiler ¹⁴ C-markierter Verbindungen | 23 |
| 2.4.3.2 | Quantifizierung des freigesetzten ¹⁴ CO ₂ | 23 |
| 2.4.4 | Entnahme und Analyse von Bodenproben | 23 |
| 2.5 | Aufbereitung von Bodenproben | 24 |
| 2.5.1 | Bestimmung des Bodenwassergehalts nach Versuchsende..... | 24 |
| 2.5.2 | Bestimmung der mit Kalziumchlorid extrahierbaren ¹⁴ C-Rückstände | 24 |

| | | |
|-------------|---|-----------|
| 2.5.3 | Bestimmung der mit Aceton extrahierbaren ¹⁴ C-Rückstände von Benazolin-Ethyl | 25 |
| 2.5.4 | Festphasenextraktion zur Aufreinigung der Bodenextrakte von ¹⁴ C-Benazolin-Ethyl | 25 |
| 2.5.5 | HPLC-Analyse der Bodenextrakte von Benazolin-Ethyl..... | 26 |
| 2.5.6 | Bestimmung der mit Kalziumchlorid extrahierbaren ¹⁴ C-Rückstände von Benazolin-Ethyl in der ASE..... | 27 |
| 2.5.7 | Bestimmung der mit Acetonitril/Wasser extrahierbaren ¹⁴ C-Rückstände von Benzo(a)pyren | 27 |
| 2.5.8 | Festphasenextraktion zur Aufreinigung der Bodenextrakte von Benzo(a)pyren.. .. | 28 |
| 2.5.9 | HPLC-Analyse der Bodenextrakte von Benzo(a)pyren | 28 |
| 2.5.10 | HPLC/MS-Analyse der Bodenextrakte von Benzo(a)pyren | 30 |
| 2.5.11 | Quantifizierung der nicht extrahierbaren ¹⁴ C-Rückstände bzw. der ¹⁴ C-Gesamtrückstände..... | 30 |
| 2.6 | Versuche zur Mineralisierung von ¹⁴C-Benzo(a)pyren durch bodenbürtige Mikroorganismen in Bodensuspensionen und Flüssigkulturen..... | 31 |
| 2.6.1 | Verwendete Nährmedien, Standards und Pufferlösungen..... | 31 |
| 2.6.1.1 | Mineralsalz-Medium (MS-Medium) | 31 |
| 2.6.1.2 | Herstellung von festem Nährmedium mit PC-Medium und Pilzmedium | 32 |
| 2.6.1.3 | Weitere Flüssigmedien | 32 |
| 2.6.2 | Mineralisierung von ¹⁴ C-Benzo(a)pyren in Flüssigkulturen | 33 |
| 2.6.2.1 | Versuchsdurchführung | 33 |
| 2.6.2.2 | Bestimmung der ¹⁴ C-Aktivität in Bodensuspensionen und Flüssigkulturen | 34 |
| 2.6.2.3 | Bestimmung der Lebendzellzahl von Mikroorganismen in Bodensuspensionen und Flüssigkulturen..... | 34 |
| 2.6.2.4 | Isolierung von Benzo(a)pyren abbauenden Mikroorganismen..... | 34 |
| 2.7 | Transfer mikrobieller Gemeinschaften zur Steigerung des Abbaus von Benzo(a)pyren in Böden..... | 36 |
| 2.7.1 | Transfer der Mikroorganismen mittels Bodeninokulum (= Modifikation „BI“) | 36 |
| 2.7.2 | Transfer der Mikroorganismen mittels Flüssigkultur (=Modifikation „EC“) .. | 36 |
| 2.7.3 | Transfer der Mikroorganismen als Biofilm (= Modifikation “BF”) | 36 |
| 2.7.4 | Transfer von Mikroorganismen mittels inokuliertem Maisstroh- und Fichtenspan-Substrat (= Modifikationen „MS“ bzw. „FS“) | 37 |
| 2.8 | Bestimmung der mikrobiellen Aktivität in den Projektböden mit Mikrokalorimetrie..... | 38 |
| 2.9 | Charakterisierung des wasserlöslichen organischen Kohlenoffs (WEOC) | 39 |
| 2.10 | Bestimmung bodenphysikalischer Parameter | 41 |
| 2.10.1 | Bestimmung der maximalen Wasserhaltekapazität der Versuchsböden..... | 41 |
| 2.10.2 | Bestimmung der pF-WG-Kurven | 41 |
| 2.10.3 | Bestimmung des Kd-Wertes für ¹⁴ C-Benazolin-Ethyl und Benazolinsäure..... | 42 |

| | | |
|-------------|--|-----------|
| 2.10.4 | Selektive Porenwassergewinnung zur Bestimmung des in-situ-Verteilungskoeffizient IPC (In-situ Partitioning Coefficient) von Benazolin-Ethyl und Benazolinsäure | 43 |
| 2.11 | Statistische Auswertung..... | 47 |
| 2.12 | Abschätzung der Adsorption von Benazolin im Boden mit dem Modell von TRAPP & MATTHIES (1996)..... | 48 |
| 3 | ERGEBNISSE ZUM ABBAU VON BENAZOLIN | 49 |
| 3.1 | Abbauverhalten von ¹⁴C-Benazolin-Ethyl in fünf landwirtschaftlichen Böden bei unterschiedlicher Bodenfeuchte..... | 49 |
| 3.1.1 | Mineralisierung bei unterschiedlichem Wassergehalt | 49 |
| 3.1.2 | Die Bodenatmung während des Bioabbauersuchs mit ¹⁴ C-Benazolin-Ethyl | 52 |
| 3.1.3 | Extrahierbarkeit von Benazolin-Ethyl-Rückständen mit Kalziumchlorid (CaCl ₂) und Aceton in Böden | 54 |
| 3.1.4 | Metabolitenmuster der Kalziumchlorid- (CaCl ₂) und Aceton-Extrakte der inkubierten Böden | 56 |
| 3.1.5 | Abbau von Benazolin-Ethyl und Bildung von nicht extrahierbaren Rückständen (NER) in Böden..... | 59 |
| 3.1.6 | Massenbilanzen von ¹⁴ C-Benazolin-Ethyl in den Böden..... | 60 |
| 3.2 | Abbau von ¹⁴C-Benazolin-Ethyl in Böden bei unterschiedlichen Wassergehalten mit Strohzugabe..... | 62 |
| 3.2.1 | ¹⁴ C-Benazolin-Ethyl-Mineralisierung mit und ohne Strohzugabe..... | 62 |
| 3.2.2 | Einfluss der Strohzugabe auf mit Kalziumchlorid und Aceton extrahierbare Rückstände von Benazolin-Ethyl | 65 |
| 3.2.3 | Einfluss der Strohzugabe auf extrahierbares ¹⁴ C-Benazolin-Ethyl und dessen Metabolite | 66 |
| 3.2.4 | Bildung nicht extrahierbarer Rückstände | 67 |
| 3.3 | Wasserlöslicher organischer Kohlenstoff (WEOC) und das Abbauverhalten von ¹⁴C-Benazolin-Ethyl..... | 68 |
| 3.4 | Abbauverhalten von ¹⁴C-Benazolin-Ethyl unter abiotischen Bedingungen im Boden Incept-Int..... | 69 |
| 3.5 | Die Wasserspannung in den Böden..... | 70 |
| 3.6 | Verhalten von ¹⁴C-Benazolin-Ethyl im Boden Alfi-Con bei unterschiedlicher Lagerungsdichte | 72 |
| 3.7 | Kd-Wert und In-situ-Verteilungskoeffizient (IPC) von ¹⁴C-Benazolin-Ethyl und ¹⁴C-Benazolinsäure bei unterschiedlicher Bodenfeuchte..... | 74 |
| 3.7.1 | Messung des Kd-Wertes von Benazolin-Ethyl und Benazolinsäure in Böden | 74 |
| 3.7.2 | Abschätzung des Kd Wertes von Benazolin-Ethyl und Benazolinsäure mit Modellrechnungen nach TRAPP & MATTHIES (1996) | 74 |
| 3.7.3 | Bestimmung des In-situ-Verteilungskoeffizienten (IPC)..... | 75 |
| 3.7.4 | Der In-situ-Verteilungskoeffizient von Benazolin-Ethyl und Benazolinsäure in Böden | 76 |
| 4 | ERGEBNISSE ZUR STEUERUNG DES ABBAUS VON BENZO(A)PYREN..... | 80 |
| 4.1 | Identifikation von unbekanntem Metaboliten im Massenspektrometer..... | 80 |

| | | |
|------------|---|------------|
| 4.2 | Das Abbauverhalten von ¹⁴C-Benzo(a)pyren in Böden | 83 |
| 4.2.1 | Mineralisierung von ¹⁴ C-Benzo(a)pyren in Agrarböden bei 40 % WHK..... | 83 |
| 4.2.2 | Extrahierbare und nicht extrahierbare Rückstände von ¹⁴ C-Benzo(a)pyren in Böden | 83 |
| 4.2.3 | Die Metabolitenmuster der Bodenextrakte..... | 85 |
| 4.3 | Das Abbauverhalten von ¹⁴C-Benzo(a)pyren in den Böden Alfi-Con und Incept-Int bei unterschiedlicher Bodenfeuchte | 87 |
| 4.4 | Versuche zur Steuerung des Abbaus von ¹⁴C-Benzo(a)pyren mit Bodeninokulum und Tensiden in Böden | 89 |
| 4.4.1 | Die Mineralisierung | 89 |
| 4.4.2 | Lösungsmittel extrahierbare (LER) und nicht extrahierbare (NER) Rückständen von ¹⁴ C-Benzo(a)pyren bei den Steuerungsversuchen | 92 |
| 4.5 | Versuche zum Abbau von Benzo(a)pyren in Flüssigkulturen mit Mineralsalzmedium | 94 |
| 4.6 | Versuche zur Isolierung von Benzo(a)pyren abbauenden Mikroorganismen .. | 96 |
| 4.6.1 | Isolierung durch Substratinokulation | 96 |
| 4.6.2 | Isolierung über Agarplatten | 96 |
| 4.7 | Steuerung des Abbaus von Benzo(a)pyren mit Mikroorganismen aus Flüssigkulturen | 98 |
| 4.8 | Die Suche nach weiteren Flüssigmedien für Erhaltungskulturen von Mikroorganismen - Gesellschaften für den Abbau von Benzo(a)pyren | 102 |
| 4.9 | Lysimeterstudie zum Verhalten von Benzo(a)pyren und zur Steuerung dessen Abbaus im Boden Kolluv-Int | 104 |
| 4.9.1 | Alterung von Benzo(a)pyren im Lysimeterboden Kolluv-Int | 104 |
| 4.9.2 | Einfluss von Bodenfeuchte und Temperatur auf den Abbau von Benzo(a)pyren im Lysimeterboden Kolluv-Int..... | 105 |
| 4.9.3 | Steuerung des Abbaus von Benzo(a)pyren im Lysimeterboden Kolluv-Int .. | 106 |
| 5 | DISKUSSION EINES ABBAUS VON BENAZOLIN-ETHYL IN BÖDEN | 109 |
| 5.1 | Abbau von Benazolin-Ethyl in Böden | 109 |
| 5.1.1 | Der Abbauweg von Benazolin-Ethyl und die Abbauaktivität in den Böden.. | 109 |
| 5.1.2 | Zusammenhang zwischen Mineralisierung und nicht extrahierbaren Rückständen von ¹⁴ C-Benazolin-Ethyl..... | 113 |
| 5.1.3 | Zusammenhang zwischen Mineralisierung und extrahierbaren Rückständen von ¹⁴ C-Benazolin-Ethyl..... | 115 |
| 5.2 | Bodenphysikalische Indikatoren für das Verhalten von Benazolin-Ethyl in Böden | 117 |
| 5.2.1 | Der Kd-Wert bzw. die Sorption von Benazolin-Ethyl und Benazolinsäure in den Projektböden..... | 117 |
| 5.2.2 | Der in-situ Verteilungskoeffizienten IPC (in-situ Partitioning Coefficient) als Indikator für die Verfügbarkeit von ¹⁴ C-Benazolin-Ethyl und -säure..... | 119 |
| 5.2.3 | Zusammenhang zwischen Wasserspannung in den Böden und Abbau von Benazolin-Ethyl..... | 122 |
| 5.2.4 | Weitere Bodenfaktoren als Indikatoren für den Abbau von Benazolin-Ethyl | 127 |

| | | |
|------------|---|------------|
| 5.2.5 | Einfluss der Bodendichte auf den Abbau von Benazolin-Ethyl | 128 |
| 5.3 | Mikrobiologische Indikatoren für das Abbauverhalten von Benazolin-Ethyl in Böden | 130 |
| 5.3.1 | Nachweis des biotischen Abbaus von Benazolin-Ethyl am Boden Incept-Int130 | |
| 5.3.2 | Förderung des Abbaus von Benazolin-Ethyl durch Strohzugabe in Böden .. | 130 |
| 5.4 | Erkenntnisse zum Verhalten von Benazolin in Böden | 131 |
| 6 | DISKUSSION ZU EINER STEUERUNG DES ABBAUS VON BENZO(A)PYREN . | 132 |
| 6.1 | Toxikologische Bewertung der Metabolite..... | 132 |
| 6.2 | Der Abbau von Benzo(a)pyren in Böden beeinflusst durch bodenphysikalische Faktoren..... | 133 |
| 6.3 | Bewertung der Methoden zur Steuerung des Abbaus von Benzo(a)pyren in Böden | 135 |
| 6.4 | Bewertung der Steuerung des Abbaus von Benzo(a)pyren mit mikrobiologische Methoden..... | 138 |
| 6.5 | Erkenntnisse zum Verhalten von Benzo(a)pyren im Boden..... | 141 |
| 7 | ZUSAMMENFASSUNG | 142 |
| 8 | LITERATURVERZEICHNIS | 145 |
| 9 | ANHANG..... | 156 |
| 9.1 | T-Test | 156 |
| 9.1.1 | T-Tests für Benazolin-Ethyl | 157 |
| 9.1.2 | T-Tests für Benzo(a)pyren..... | 163 |
| 9.2 | Weitere Tabellen zu Benazolin-Ethyl..... | 167 |
| 9.3 | Ausgewählte Chromatogramme..... | 169 |
| 9.3.1 | Ausgewählte Chromatogramme von Benazolin-Ethyl und seiner Metabolite | 169 |
| 9.3.2 | Ausgewählte Chromatogramme von Benzo(a)pyren und seiner Metabolite.. | 172 |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|-------------------|--|
| ADI | Accepted daily intake |
| AER | Aceton extrahierbare Rückstände (Benazolin-Ethyl) |
| AntiBaP | Anti-7,8-dihydroxy-9,10-epoxy-7,8,9,10 tetrahydrobenzo(a)pyren |
| Appl. | Applizierten |
| ASE | Accelerated Solvent Extraction |
| BaP | Benzo(a)pyren |
| B.-Ethyl | Benazolin-Ethyl |
| B.-Säure | Benazolinsäure |
| CER | Kalziumchlorid extrahierbare Rückstände |
| EDB | Ethylenglycolmonobuthylether : Ethanolamin im Verhältnis 1 : 1 |
| EMME | Ethylenglyconmonomethylether |
| FK (A), (B)... | Flüssigkultur der Stufe "A", "B" usw. |
| HIX | Humifikationsindex |
| HPLC | High Perfomance Liquid Chromatography |
| KBE | Koloniebildende Einheit von Mikroorganismen |
| LER | Lösungsmittel extrahierbare Rückstände (Benzo(a)pyren) |
| Modifikation „BF“ | Steuerung mittels Biofilm |
| Modifikation „BI“ | Steuerung mittels Bodeninokulum |
| Modifikation „EC“ | Steuerung mittels Flüssigkultur-Inokulum |
| Modifikation „FS“ | Steuerung mittels inokuliertem Fichtenspan-Substrat |
| Modifikation „MS“ | Steuerung mittels inokuliertem Maisstroh-Substrat |
| MS | Massenspektrometer |
| NER | Nicht extrahierbare Rückstände |
| PAK | Polyaromatischer Kohlenwasserstoff |
| SIM | Selected Ion Massspectrum |
| SPE | Solid Phase Extraction |
| TS | Trockensubstanz |
| Vgl. | Vergleiche |
| WEOC | Water extractable organic carbon |
| WG | gravimetrischer Wassergehalt |
| WHK | Maximale Wasserhaltekapazität |

1 Einleitung

In der modernen Welt spielen Chemikalien eine immer wichtigere Rolle. Diese werden zum einen absichtlich, wie etwa Pestizide (z.B. Benazolin-Ethyl) in der Landwirtschaft, oder unabsichtlich, als unerwünschte Nebenprodukte, wie etwa Polyaromatische Kohlenwasserstoffe (z.B. Benzo(a)pyren) bei Verbrennungsprozessen, in die Umwelt gebracht. So oder so bedeuten sie eine Belastung für die Umwelt und damit auch den Menschen.

Beim Verhalten von schädlichen Chemikalien in der Umwelt kommt dem Boden eine zentrale Bedeutung zu. Zum einen ist er eine wichtige Senke für Schadstoffe. Zum anderen spielt er als Überschneidungs- und Durchdringungsbereich von Atmosphäre, Biosphäre, Lithosphäre und Hydrosphäre (Abbildung 1.1) eine entscheidende Rolle bei Umlagerungs- und Umformungsprozessen insbesondere von organischen Chemikalien.

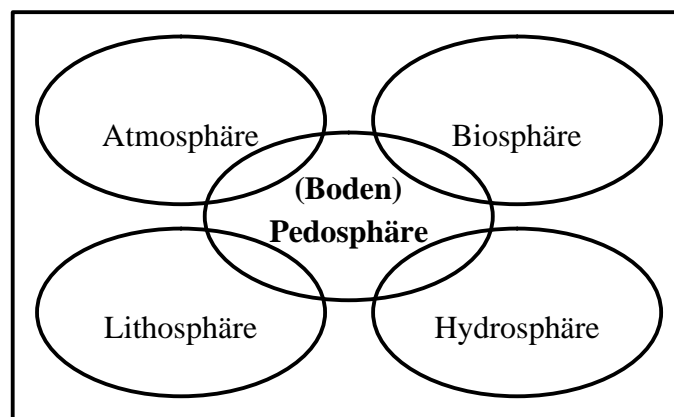


Abbildung 1.1: Der Boden bzw. die Pedosphäre als Überschneidungs- und Durchdringungsbereich zwischen Atmosphäre, Biosphäre, Lithosphäre und Hydrosphäre (frei nach SCHWEDT 1996).

Das Verständnis über das Abbauverhalten von Chemikalien in Böden ist sehr wichtig, denn nur so können Methoden erarbeitet werden um steuernd in die entscheidenden Prozesse einzugreifen. Außerdem ist dieses Verständnis Voraussetzung um den Boden, die ihn umgebenden und durchdringenden Bereiche und nicht zuletzt den Menschen vor Beeinträchtigungen zu schützen.

Natürlich geht es in erster Linie um den Schutz des Menschen, aber auch der Boden als solcher ist durch das Bundesbodenschutzgesetz von 1998 (Bundesregierung 1998) geschützt, wo es in § 1 heißt:

„Zweck dieses Gesetzes ist es, nachhaltig die Funktionen des Bodens zu sichern oder wiederherzustellen. Hierzu sind schädliche Bodenveränderungen abzuwehren, [...]. Bei Einwirkungen auf den Boden sollen Beeinträchtigungen seiner natürlichen Funktionen [...] vermieden werden.“

Als natürliche Funktionen des Bodens gelten hierbei:

- „Lebensgrundlage und Lebensraum für Menschen, Tiere, Pflanzen und Bodenorganismen,“
- „Bestandteil des Naturhaushalts, insbesondere mit seinen Wasser- und Nährstoffkreisläufen,“
- „Abbau-, Ausgleichs- und Aufbaumedium für stoffliche Einwirkungen auf Grund der Filter-, Puffer- und Stoffumwandlungseigenschaften, insbesondere auch zum Schutz des Grundwassers.“

1.1 Chemikalien in der Umwelt: Woher? Wohin? ...und der Mensch?

Schlagwörter wie „saurer Regen“, „Ozonloch“, „Eutrophierung der Gewässer“, usw. gehen seit einigen Jahren immer wieder durch die Presse. Ursache hierfür sind schädliche Chemikalien, die auf unterschiedlichste Weise in die Umwelt gelangen und dort transportiert, umgeformt und abgelagert werden. Die Verursacher von „saurem Regen“ (z.B. Schwefel- und Stickoxide), „Ozonloch“ (Photooxidanten wie z.B. Stickstoffoxide oder Fluor-Chlor-Kohlenwasserstoffe, FCKW) und weitere anorganische (z.B. Schwermetalle) und organische Schadstoffe (z.B. Polyaromatische Kohlenwasserstoffe wie das Benzo(a)pyren) kommen hauptsächlich aus Industrie, Verkehr und anderen Verbrennungsprozessen (SCHWEDT 1996, SCHACHTSCHABEL et al. 1992 und Umweltlexikon online 2003). Die weit verbreiteten Emissionsquellen für Polyaromatische Kohlenwasserstoffe (PAKs) wie etwa Industrie, Hausbrand und Verkehr, sowie der Ferntransport, der mehrere hundert Kilometern weit reichen kann, haben ein diffuses, Landschaftsübergreifendes Ablagerungsgebiet (Depositionsgebiet) zur Folge (Abbildung 1.2).

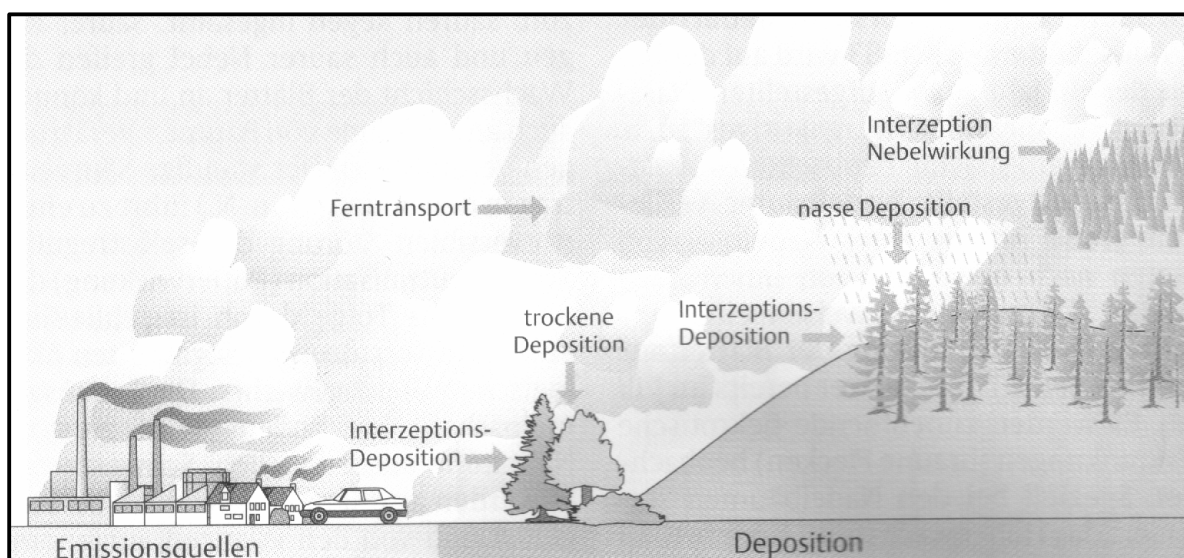


Abbildung 1.2: Emission, Transport und Deposition von PAK, saurem Regen und anderen Schadstoffen (aus SCHWEDT 1996)

Anders sieht die Verbreitung bei Düngern und Pestiziden, wie etwa Benazolin-Ethyl, aus. Diese werden gezielt auf landwirtschaftliche Flächen aufgebracht, wobei die Bedeutung des atmosphärischen Transports meist hinter dem lateralen und vertikalen Wassertransport

zurückbleibt. Diese Chemikalien werden meist direkt im Boden auf den sie appliziert wurden festgelegt (adsorbiert), zu Abbauprodukten (Metaboliten) umgewandelt oder total abgebaut (mineralisiert zu CO₂, Wasser und Mineralsalzen).

Dieses unterschiedliche Umweltverhalten hat auf die Steuerung des Abbaus und die Folgen für den Menschen großen Einfluss. Während Pestizide wie etwa Benazolin-Ethyl, nach dem sie ihre Pestizidwirkung erfüllt haben möglichst vor Ort direkt abgebaut werden sollten, ist dies für PAKs weit aus schwieriger, da der Abbau bei diesen Substanzen „diffus“, d.h. Landschaftsübergreifend gesteuert werden muss.

Für den Schutz des Menschen wiederum bedeutet das, dass im Falle der Pestizide der Transfer vom Boden in die Nahrungskette und ins Grundwasser vermieden und entsprechend kontrolliert werden muss. Bei den PAKs muss ein flächendeckender Schutz gegen direkten und indirekten (über Lebensmittel) Kontakt erfolgen.

Auch die Gefahren für den Menschen, die von Umweltchemikalien ausgehen, können sehr verschieden sein. So ist die Toxizität von Benazolin-Ethyl nur sehr gering und es ist nicht karzinogen, daher wird die tägliche akzeptierte Aufnahmemenge (ADI = Accepted Daily Intake) mit $6 \mu\text{g} * \text{kg}^{-1} * \text{d}^{-1}$ festgelegt (TOMLIN 1994). Im Gegensatz dazu ist Benzo(a)pyren so wohl hoch giftig als auch karzinogen und hat daher eine ADI von nur $0,1 \mu\text{g} * \text{kg}^{-1} * \text{d}^{-1}$ (WBB 1998).

1.2 Chemikalie ist nicht gleich Chemikalie: Warum Modellchemikalien?

Laut Umweltlexikon-online (2003) gibt es etwa 50 Millionen Chemikalien von denen immerhin noch etwa 100.000 von industrieller Bedeutung sind. All diese Substanzen und ihre Auswirkung auf Umwelt und Boden zu untersuchen ist unmöglich. Daher werden sie je nach zu untersuchenden Aspekten nach Gruppen zusammengefasst und daraus dann jeweils eine möglichst repräsentative Modellchemikalie ausgesucht. So wurde hier Benazolin-Ethyl als Modell für leicht verlagerbare und abbaubare Substanzen ausgewählt und Benzo(a)pyren (BaP) im Gegensatz dazu als Modell für stark adsorbierende und abbauresistente Chemikalien.

Neben den bereits dargestellten Unterschieden haben beide Substanzen sehr verschiedene physiko-chemische Eigenschaften. So wird etwa Benazolin-Ethyl bereits innerhalb einiger Stunden chemisch umgewandelt und ist dann relativ gut löslich, während Benzo(a)pyren großteils oft jahrelang im Boden adsorbiert und nur sehr langsam abgebaut wird.

Aufgrund dieser gegensätzlichen Eigenschaften wurden diese Modellchemikalien ausgewählt um deren Verhalten im Boden und die Beeinflussung ihres Abbaus durch bodenphysikalische und mikrobiologische Faktoren zu untersuchen.

1.2.1 Die Modellchemikalie Benazolin-Ethyl in Umwelt und Boden

Das synthetisch hergestellte Herbizid Benazolin-Ethyl war besonders in den 80er Jahren weit verbreitet. Da es jedoch sehr leicht im Boden in die Tiefe verlagert wird und dadurch das Grundwasser gefährdet, wurde die Zulassung bereits Ende der 80er stark eingeschränkt, in den 90ern wurde in Deutschland bereits die Zulassung nicht mehr verlängert und inzwischen (seit 2003) ist es europaweit verboten (SENG 2003). Dennoch ist Benazolin-Ethyl noch in vielen europäischen Böden verbreitet und wird bis ins Grundwasser verlagert.

1.2.2 Die Modellchemikalie Benzo(a)pyren in Umwelt und Boden

Die Problematik von Benzo(a)pyren (und anderen PAKs) reicht jedoch viel weiter zurück und ist viel tiefgreifender. Diese Problematik gelang in den 70er und 80er Jahren immer mehr in das Bewusstsein der Bevölkerung. Zu dieser Zeit war das Problem der PAK-Deposition, bis hin zu abgelegenen Wäldern, bereits bekannt (BERTEIGNE et al. 1988).

Benzo(a)pyren kommt natürlich in der Umwelt vor: Als natürliche Emissionsquellen gelten insbesondere Waldbrände und Vulkanausbrüche, wo es bei unvollständigen Verbrennungsprozessen entsteht (FREEMAN & CATTELL 1990 und ILNITSKY et al. 1977). Schon mit den ersten Zivilisationen, insbesondere durch verstärkte Verbrennungsprozesse stiegen die PAK-Emissionen an. Seit der industriellen Revolution im 19. Jahrhundert hat sich der PAK-Ausstoß jedoch vervielfacht, wie die Langzeituntersuchungen von JONES et al. (1989b) zeigten: Im südostenglischen Untersuchungsgebiet stiegen die BaP-Gehalte von $18 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ Boden im Jahr 1846 auf $120 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ im Jahr 1980 um mehr als das 6-fache. Aber auch die aktuellen Gehalte variieren sehr stark je nach Untersuchungsgebiet: So findet KNOCHE (1996) am Polarkreis $0,8\text{-}4,3 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$, in Berlin jedoch $3,9\text{-}605 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$. Wegen ihrem hohen toxischen Gefährdungspotential wurden Vorkommen und Wirkung der PAKs und insbesondere des Benzo(a)pyrens (BaP) inzwischen häufig untersucht. Als wichtigste Aufnahmequellen für BaP wurden Tabakrauch und Nahrung festgestellt (SCHERER et al. 2000). Aber auch Boden- und Staubpartikel können über die Haut oder den Magen-Darmtrakt aufgenommen werden (WICHMANN & IHME (1995). Insbesondere für Kleinkinder besteht hier eine große Gefahr, da sie nach Angaben von KNOCHE (1996) im Mittel $0,2 \text{ g}$ Boden oral aufnehmen, teilweise auch bis zu 10 g in Extremfällen. Bedenkt man zusätzlich auch das geringe Körpergewicht (15 kg) von Kleinkindern kommt KNOCHE (1996) auf eine vertretbare Bodenkonzentration von $0,75 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$.

Verschiedene Autoren (zitiert in KNOCHE 1996) erwarten BaP-Transfer in Pflanzen ab einer Konzentration von 1 mg/kg , wobei die Transferraten sehr gering sind (z.B. Möhren $0,0002\text{-}0,0008$ oder Kopfsalat $0,0006\text{-}0,004$). Für Pflanzen ist damit der Kontaminationsweg über die Luft viel entscheidender.

1.3 Das Verhalten von Schadstoffen im Boden

Das Verhalten von Schadstoffen im Boden ist sehr komplex, da viele verschiedene Prozesse gleichzeitig und konkurrierend ablaufen (Abbildung 1.3). Die unterschiedliche Bedeutung der einzelnen Prozesse variiert sehr stark zwischen den einzelnen Umweltchemikalien:

- Die Verflüchtigung als Gas spielt weder bei Benazolin-Ethyl noch bei Benzo(a)pyren eine Rolle
- Die Verlagerung nach unten ins Grundwasser spielt bei Benazolin-Ethyl ein gewisse Rolle, nicht jedoch bei Benzo(a)pyren
- Die Adsorption ist bei BaP viel stärker ausgeprägt als bei Benazolin-Ethyl.
- Benazolin-Ethyl und seine Abbauprodukte lösen sich teilweise relativ gut im Boden, während BaP nahezu unlöslich ist
- Der mikrobielle Abbau ist bei Benazolin-Ethyl im Allgemeinen viel höher als bei BaP.
- Winddrift und Oberflächenabfluss sind sehr Standortabhängig und können je nach dem für beide Chemikalien von Bedeutung sein.

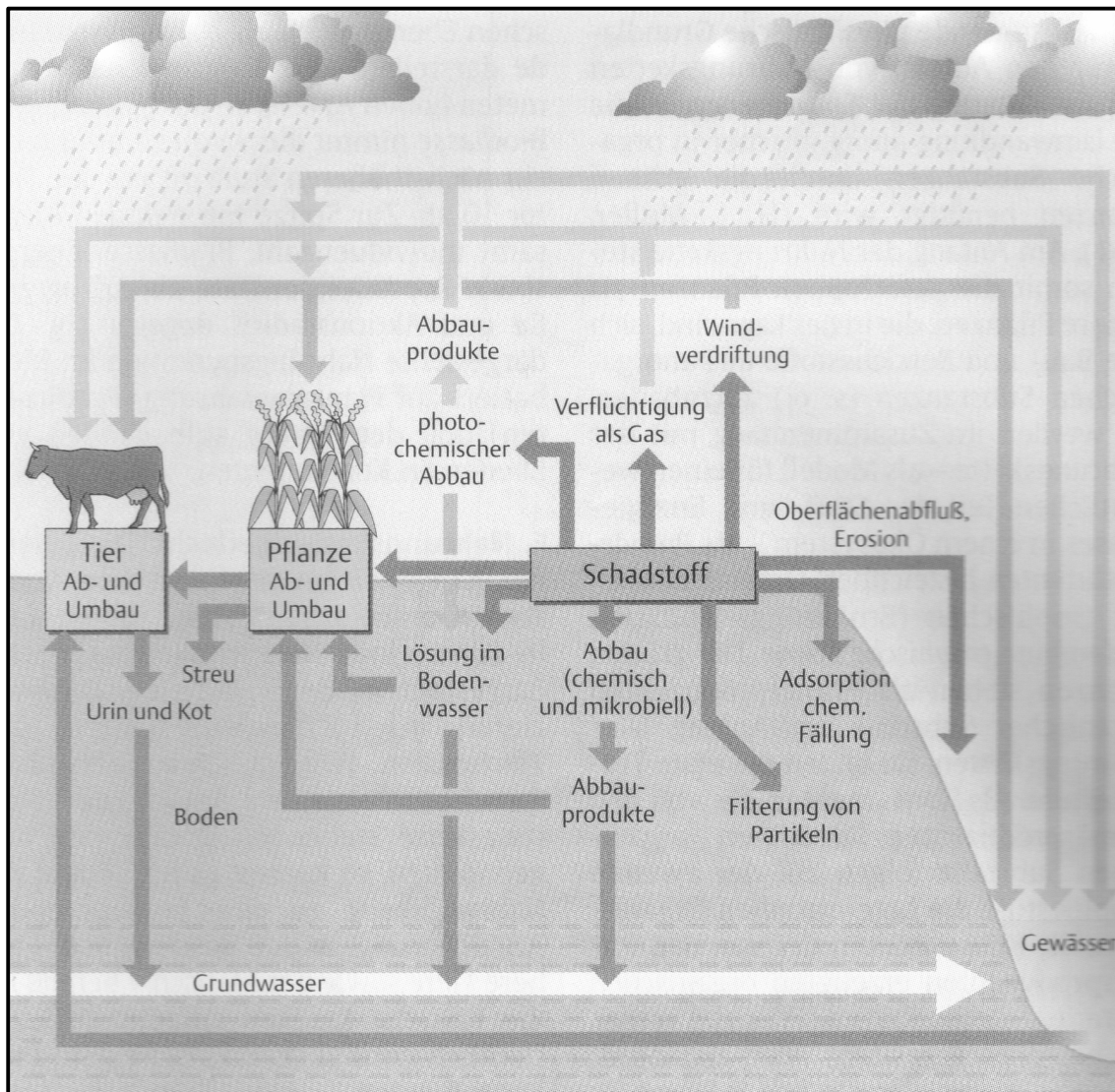


Abbildung 1.3: Überblick über die Prozesse die beim Verhalten von Schadstoffen im Boden eine Rolle spielen (aus SCHWEDT 1996)

1.4 Ziele der Arbeit

Trotz immer häufigerer Untersuchungen zum Verhalten von Umweltchemikalien im Boden, ist das Verständnis, wie die einzelnen Bodeneigenschaften den Abbau der Xenobiotika beeinflussen oder ob sich gezielt in den Chemikalienabbau eingreifen lässt, noch sehr spärlich. Meist wird nur der Einfluss eines Faktors bestimmt und unabhängig von den weiteren betrachtet.

Ziel dieser Arbeit war es den Einfluss verschiedener bodenphysikalischer und mikrobiologischer Faktoren auf den Abbau der ausgewählten Modellchemikalien zu untersuchen, wobei der Schwerpunkt für Benazolin-Ethyl auf den physiko-chemischen Faktoren lag und für Benzo(a)pyren auf den mikrobiologischen Faktoren. Zunächst sollte das Verhalten der ^{14}C markierten Modellchemikalien unter kontrollierten Laborbedingungen in fünf ausgewählten landwirtschaftlich genutzten Böden untersucht werden. Durch die Anwendung von radioaktiv markierten Xenobiotika konnten die wichtigsten Prozesse, wie Mineralisierung, Volatilisierung, sowie Bildung extrahierbarer und nicht extrahierbarer

Rückstände qualitativ und quantitativ erfasst und eine Massenbilanz für die Chemikalien aufgestellt werden.

Um die Extraktion der Rückstände zu optimieren und die Metabolite der Umweltchemikalien analysieren zu können, mussten zunächst für beide Modellchemikalien Extraktions- und Analysemethoden entwickelt werden.

Um das Abbauverhalten der beiden ^{14}C -Modellchemikalien in den fünf ausgewählten landwirtschaftlichen Böden zu untersuchen, wurden Laborversuche unter kontrollierten Bedingungen (Temperatur, Wassergehalt, Dunkelheit) durchgeführt, bei denen für die ^{14}C -Substanzen Volatilität, Mineralisierung, CaCl_2 -extrahierbare, sämtliche extrahierbare, sowie nicht extrahierbare Rückstände bestimmt und Massenbilanzen aufgestellt wurden.

Um zu einem grundsätzlichen Verständnis des Abbaus von Benazolin-Ethyl in den Böden zu kommen und Indikatoren zu finden, die diesen Abbau beschreiben können, sollten folgende bodenphysikalische und mikrobiologische Faktoren untersucht werden:

- Einfluss des Wassergehaltes auf den Abbau von ^{14}C -Benazolin-Ethyl unter kontrollierten Laborbedingungen
- Bedeutung des Wassergefüllten Porenraumes (Wasserspannung) und der Wasserhaltekapazität für die Mineralisierung der Modellchemikalie
- Einfluss der Bodendichte auf den Chemikalienabbau
- Bedeutung einzelner Abbauschritte und die Rolle einzelner Abbauprodukte in der Dynamik des Abbaus der Modellchemikalie
- Einfluss von Strohzugabe als zusätzliches Substrat auf den Chemikalienabbau bei unterschiedlichem Wassergehalt
- Einfluss der wasserlöslichen organischen Substanz auf den Herbizidabbau
- Abbau von Benazolin-Ethyl unter abiotischen Bedingungen
- Entwicklung einer Methode zur Bestimmung der in-situ-Verfügbarkeit von Umweltchemikalien.

Im Gegensatz zu den meisten bisher durchgeführten Untersuchungen sollte das Abbauverhalten bzw. die Beeinflussung des Abbaus von BaP in niedrig belasteten mitteleuropäischen Agrarstandorten untersucht werden. Ziel war es das Abbauverhalten in solchen Böden so weit zu verstehen, dass durch geeignete Steuerungsmethoden nachhaltiger deren Funktionen gesichert und die teilweise bereits alarmierende Zunahme dieser hochgiftigen Substanz in vielen Agrarregionen Einhalt geboten werden konnte. Hierfür war folgendes Versuchsprogramm vorgesehen:

- Einfluss des Wassergehaltes auf den Abbau von ^{14}C -Benzo(a)pyren
- Zugabe von unterschiedlichen Substraten und mikrobiellen Gemeinschaften zu Agrarböden zur Untersuchung deren Effektivität zur Steigerung des BaP Abbaus
- Ökotoxikologische Bewertung der Abbauprodukte von BaP
- Entwicklung großtechnisch nutzbarer Methoden um großflächig den BaP Abbau in Böden derart zu beeinflussen, dass auf lange Sicht eine negative BaP Bilanz erreicht (Abbau > Deposition) oder zumindest die karzinogene Wirkung des Umweltgiftes reduziert würde.
- Überprüfung ausgewählter Laborergebnisse unter realen Freilandbedingungen in der Lysimeteranlage

2 Material und Methoden

2.1 *Verwendete Böden*

2.1.1 Die Projektböden für Laborversuche

Für die Laborversuche wurden die obersten 10 cm der Ap-Horizonte fünf landwirtschaftlicher Böden Deutschlands eingesetzt. Die Auswahl der Böden erfolgte nach folgenden Gesichtspunkten:

- Es wurden Böden aus drei unterschiedlichen Agrarregionen Deutschlands ausgewählt:
 - o Süddeutsches Tertiäres Hügelland (Scheyern)
 - o Westdeutsche Hochterrasse (Rur, Merzenhausen)
 - o Mitteldeutsche Löß-Schwarzerde-Region (Bad Lauchstädt)
- In der letzten dieser Agrarregionen wurden drei unterschiedliche Ertragsvarianten einer seit 1902 durchgeführten Langzeitstudie untersucht:
 - o Normalertrag: Düngung nach üblicher landwirtschaftlicher Vorgehensweise.
 - o Hohertrag: 10-fache Düngermenge
 - o Niederertrag: Keinerlei Düngergaben.
- Der Boden aus Scheyern unterschied sich von den anderen durch die Bearbeitungsform, da es sich hier um integrierte, pfluglose Bewirtschaftung mit Grubber handelte, im Gegensatz zu konventioneller Bearbeitung bei den anderen.

Die Benennung der Bodenproben erfolgt nach ihrem Bodentyp laut dem System der „Soil Taxonomy“ (Soil Survey Staff 1999), wobei die Endung –sol ersetzt wird durch die englische Anfangssilbe der Haupteigenschaft beim Bodenmanagement (siehe Tabelle 2.1). Die Bodenbezeichnung ist daher wie folgt:

- **Incept-Int** für den **Inceptisol** aus Scheyern der **integriert** bewirtschaftet wird
- **Alfi-Con** für den **Alfisol** aus Merzenhausen der Konventionell (**conventionel**) bewirtschaftet wird.
- **Molli-High** für den **Mollisol** aus Bad Lauchstädt der hohen (**high**) Ertrag hat
- **Molli-Norm** für den **Mollisol** aus Bad Lauchstädt der **normalen** Ertrag hat
- **Molli-Low** für den **Mollisol** aus Bad Lauchstädt der niedrigen (**low**) Ertrag hat

Die Probennahme fand im Oktober 2000 statt wobei eine Bodentiefe von 10 cm an jedem Standort abgetragen wurde. Eine für alle Laborexperimente ausreichende Menge an Boden wurde auf 2 mm gesiebt, ein Wassergehalt von ca. 15-20 % eingestellt und bei 4 °C gelagert. Die bodenphysikalischen und –chemischen Kenndaten der Ap-Horizonte wurden von der HVA-Freising bestimmt und sind in Tabelle 2.2 dargestellt. Die maximale Wasserhaltekapazität (max. WHK) der Bodenproben, wurde nach dem von Nehring (1960) beschriebenen Verfahren bestimmt.

Tabelle 2.1: Allgemeine Beschreibung der Bodenprofile

| | Incept-Int | Alfi-Con | Molli-High | Molli-Norm | Molli-Low |
|--------------------------|--|--------------------------------|-------------------------------|------------|-----------|
| Ort | Scheyern | Merzenhausen | Bad Lauchstädt | | |
| Geogr. Breite und Höhe | 48°30' n.B. 11°27' ö.L. | 50°56' n. B. 6°17' ö.L. | 51°24' n.B. 11°53' ö.L. | | |
| Höhe (NN) | 478 | 93 | 113 | | |
| Relief | schwach geneigt | schwach geneigt | eben | | |
| Bewirtschaftung | integriert | konventionell | konventionell | | |
| Frucht (2000) | Winterweizen | Wintergerste | Zuckerrübe | | |
| Ertragsvariante | Normal | Normal | Hoch | Normal | Nieder |
| Jahresmitteltemp. (°C) | 7,4 | 10,9 | 8,8 | | |
| Jahresniederschlag (mm) | 803 | 799 (2000) | 480 | | |
| Bodenprofil | Ap-Awp-IIBv | Ap-Bt-Bv1-Bv2 | Ap-Ah-Ah/C(k)-C(k) | | |
| Bodentyp (deutsch) | Pseudovergleyte Braunerde aus Lößlehm über Molassesand | Typische Parabraunerde aus Löß | Typischer Tschernosem aus Löß | | |
| Bodentyp (Soil Taxonomy) | Inceptisol | Alfisol | Mollisol | | |

Tabelle 2.2: Bodenphysikalische und -chemische Kenndaten der verwendeten Bodenmaterialien (Ap-Horizonte der untersuchten Standorte)

| | Incept-Int | Alfi-Con | Molli-High | Molli-Norm | Molli-Low |
|---|------------|----------|------------|------------|-----------|
| Sand % TM | 43 | 4 | 6 | 6 | 9 |
| Schluff % TM | 33 | 80 | 69 | 68 | 68 |
| Ton % TM | 24 | 16 | 25 | 26 | 23 |
| Textur / Bodenart | Ls | Ul | Lu | Lu | Lu |
| pH-Wert CaCl₂ | 6,2 | 7,4 | 6,6 | 6,5 | 6,2 |
| CaCO₃ % TM (Scheibler) | <0,2 | 1 | <0,2 | <0,2 | <0,2 |
| KAK (NH₄Cl) mg*100g⁻¹ | 290,2 | 261,7 | 414,0 | 381,3 | 343,6 |
| Org. C % TM | 1,43 | 1,07 | 2,44 | 2,06 | 1,81 |
| Ges. N % TM | 0,15 | 0,11 | 0,21 | 0,16 | 0,14 |
| C/N-Verhältnis | 9,5 | 9,7 | 11,6 | 12,9 | 12,9 |
| max. WHK % | 58,56 | 42,07 | 59,37 | 53,2 | 39,16 |
| NH₄ - N mg*100g⁻¹ | 0,40 | 0,25 | 0,31 | 0,22 | 0,14 |
| NO₃ - N mg*100g⁻¹ | 2,24 | 2,60 | 2,64 | 1,41 | 0,88 |
| P₂O₅ -CAL mg*100g⁻¹ | 17 | 39 | 46 | 20 | 4 |
| K₂O -CAL mg*100g⁻¹ | 39 | 38 | 35 | 11 | 6 |

2.1.2 Der Lysimeterboden

Für die Befüllung der Kleinlysimeter wurde ein Boden ausgewählt, der nur wenige Meter von der Stelle entfernt liegt, an der der Projektboden Incept-Int entnommen wurde. Aufgrund der tiefreichenden Humusanreicherung (Tabelle 2.3), der Hangsituation und anthropogenen Artefakten (siehe links: Tonscherbe in 45 cm Tiefe) handelte es sich um einen **Kolluvisol**, der aus Oberhangmaterial im Bereich um den Incept-Int (**integrierter Anbau**) entstanden ist. Daher war er laut der in dieser Arbeit angewandten Nomenklatur der Boden als Kolluv-Int zu benennen. Zuerst wurde eine Arbeitsgrube mit einem Bagger vorbereitet und anschließend der Boden horizontweise bis 1 Meter Tiefe ausgehoben und in Plastiksäcke verpackt. Bei der Befüllung der Lysimeter wurde darauf geachtet, die natürliche Lagerungsdichte wieder herzustellen (Tabelle 2.3). Da der Unterboden im Wesentlichen aus Kohärent- und Einzelkorngefüge aufgebaut ist, kam es zu keiner wesentlichen Gefügeveränderung. Da die obersten cm des Ap-Horizontes jährlich z.T. mehrmals unter landwirtschaftlicher Praxis bearbeitet werden, entstand auch hier kein nennenswertes Artefakt. Vor der eigentlichen Applikation der ^{14}C -Chemikalie wurden die Lysimeter mehrere Monate lang gealtert, um dennoch entstandene Artefakte durch die natürlichen Bodenprozesse weitgehend zu beseitigen.

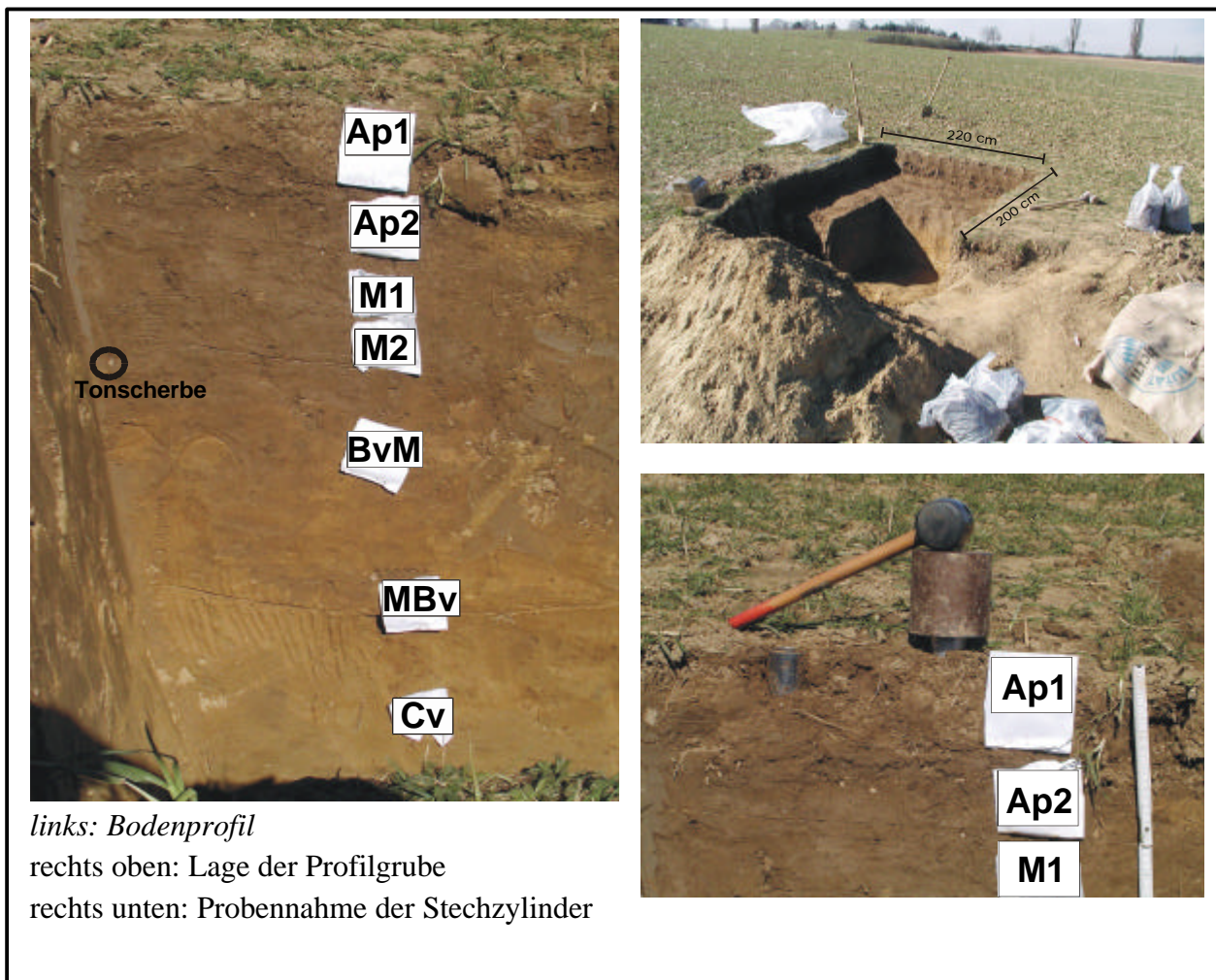


Abbildung 2.1: Grubenprofil der Entnahme des Bodens Kolluv-Int für die Lysimeterversuche auf dem Schlag A15 in Scheyern

Für Laborexperimente wurde Bodenmaterial aus dem Ap1 auf 2 mm gesiebt und bei 15 % Wassergehalt und 4 °C gelagert.

Tabelle 2.3: Profilbeschreibung des Lysimeterbodens Kolluv-Int nach Arbeitsgruppe Bodenkunde (1982)

| Horizont | Ap1 | Ap2 | M1 | M2 | BvM | MBv | Cv |
|---|---------------------|--------------------------|----------------------|---|------------------|--------------------------|---------------------------------------|
| Tiefe (cm) von bis | 0-11 | 11-20 | 20-30 | 30-39 | 39-60 | 60-82 | >82 |
| Horizontabgrenzung Deutlichkeit / Form | Schlecht/ gerade | Schlecht/ gerade | Schlecht/ gerade | Schlecht/ leicht wellig | Mittel/ wellig | Deutlich/ wellig | - |
| Bodenart | Ls | Ls(u) | Ls | Ls | Ls | Sl | S |
| Skelettgehalt (%) | 1-2 | 2 | 2 | 2 | 1 | 1 | 1 |
| Skelettart | Feinkies | Feinkies | Feinkies | Feinkies | Feinkies | Feinkies | Feinkies |
| Bodenfarbe (Munsell) | 2,5Y 3/3 | 2,5 Y 3/3 | 10 YR 4/3 | 10 YR 4/4 | 10 YR 5/4 | 10 YR 5/8 | 2,5 Y 5/6 |
| Bodengefüge: - Grundgefüge | Gegliedert | Gegliedert | Grundgefüge | Grundgefüge | Grundgefüge | Grundgefüge | Grundgefüge |
| - Gefügeform | Krümelfef. | Krümelfef. | Kohärentgef. | Kohärentgef. | Kohärentgef. | Einzelkornf. | Einzelkornf. |
| Lagerungsdichte: Bezeichnung - Kürzel | Gering – Ld2 | Gering/mittel – Ld2/3 | Mittel – Ld3 | Mittel – Ld3 | Mittel – Ld3 | Gering/mittel – Ld2/3 | Gering – Ld2 |
| Dichte (TDR) g*cm-3 | 1,2-1,3 | 1,2-1,3 | 1,4-1,5 | 1,4-1,5 | 1,4-1,5 | 1,3 | 1,2 |
| Lagerungsdichte gemessen (g*cm-3) | 1,28 | 1,39 | 1,52 | 1,47 | 1,56 | 1,33 | 1,31 |
| Humusgehalt | h3 (humos) | h3 (humos) | h2 (humushaltig) | h2 (humushaltig) | h1 (humusarm) | h1 (humusarm) | - |
| Durchwurzelung | Stark | Stark | Mittel | Mittel | Mittel | Mittel/ schwach | schwach |
| Luftkapazität (%) | 11,3 | 11,3 | 10,3 | 10,3 | 10 | 14 | 24 |
| nFK (%) | 23 | 23 | 22,5 | 22,5 | 22,5 | 21 | 15,5 |
| Totwasser (%) | 20 | 20 | 20 | 20 | 15 | 11 | 6,5 |
| Gesamtporenvol. (%) | 52,5 | 52,5 | 49,5 | 49,5 | 47,5 | 46 | 46 |
| Karbonatgehalt (Kurzzeichen) | Sehr arm (c1) | Sehr arm (c1) | Sehr arm (c1) | Sehr arm (c1) | Sehr arm (c1) | Sehr arm (c1) | Sehr arm (c1) |
| pH-Wert | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| Sonstiges | | Leichte Sandflecken | Anthrop. Material | Anthrop. Material, leichte Oxidflecken | | Leichte Oxidflecken | Oxidations- bänder (7,5 YR 5/8) |

2.1.3 Mit Polyaromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK) kontaminierte Böden

Es wurde Bodenmaterial ausgewählt, das stark mit PAK kontaminiert war. Das Material entstammte dem Entwässerungsgraben eines ehemaligen Holzimprägnierwerkes in Bergheinfeld. Dort wurden zwischen 1910 und 1975 „hauptsächlich Eisenbahnschwellen und Telefonmasten mit Steinkohleteerölprodukten im Kesseldruckverfahren imprägniert“ (HACKER, 2001). Die Abwässer gelangten über den genannten Graben in den Vorfluter Main. Während der Sanierungsarbeiten wurde dieser Graben zonenweise (nach unterschiedlicher Kontamination) ausgebagert und auf einer nahe gelegenen Deponie zwischengelagert. Von dort wurden drei unterschiedlich stark kontaminierte Bodenproben genommen. Diese Böden wurden ausgewählt, um die Hypothese zu überprüfen, dass in solchen Böden sich eine adaptierte Mikroorganismengesellschaft entwickelt. Der PAK-Gehalt (Tabelle 2.4) wurde im Chemischen Labor Dr. Barbara Graser, Dipl. Chem. untersucht.

Tabelle 2.4: PAK-Gehalt der kontaminierten Böden

| | Low-Cont | Middle-Cont | High-Cont |
|-------------------------------|----------|-------------|-----------|
| Benzo(a)pyren (ppm) | 2,1 | 9,4 | 12 |
| Fluoranthen (ppm) | 0,9 | 65 | 64,7 |
| Pyren (ppm) | 0,75 | 128 | 145 |
| Benz(a)anthracen (ppm) | 1,2 | 40,1 | 51,8 |
| Chrysen (ppm) | 1,5 | 30,7 | 46,1 |
| Summe aller PAK (ppm) | 12,5 | 354,5 | 426,2 |

Das Bodenmaterial Low-Cont (dunkelbraun, humos, ohne PAK-Geruch) ist laut Bundes-Bodenschutz- und Altlastenverordnung (STARKE u.a. 1991) noch nicht sanierungsbedürftig, während die Materialien Middle-Cont (braun mit schwarzen bis grauen Flecken, sandig, starker PAK-Geruch) und High-Cont (braun mit grauen Verfärbungen, lehmig, starker PAK-Geruch) aufgrund ihrer hohen PAK-Belastung als zu sanierende Altlasten zu bezeichnen sind. Die Probenahme fand im Februar 2002 auf der besagten Deponie statt. Die Böden wurden ebenfalls auf 2 mm gesiebt und bei 15 % Wassergehalt im Kühlraum bei 4 °C gelagert.

2.1.4 Aus anderen Untersuchungen bekannter landwirtschaftlich genutzter Boden

Um den Abbau von Benzo(a)pyren mit den fünf in Kapitel 2.1.1 vorgestellten Böden zu vergleichen, wurde ein Boden ausgewählt von dem bekannt war, dass er andere Xenobiotika wie etwa Isoproturon (KÜHN 2003) und Glyphosat (nicht veröffentlichte Daten) gut abbauen kann. Auf Grund dieser Vorkenntnisse wurde die Hypothese aufgestellt, dass die Mikroorganismengesellschaft dieses Bodens auch weitere Xenobiotika wie etwa Benzo(a)pyren besser abbauen könnte. Es handelt sich um einen konventionell bewirtschafteten Regosol vom Standort Feldkirchen, daher die Bodenbezeichnung Rego-Con.

Tabelle 2.5: Ausgewählte bodenphysikalische und –chemische Kenndaten des Ap Horizontes des Bodens Rego-Con (quantitative Angaben jeweils bezogen auf Trockensubstanz)

| Bodenart | Ton % | Schluff % | Sand % | pH-Wert CaCl ₂ | Org. C % | Ges. N % | CaCO ₃ % |
|----------|-------|-----------|--------|---------------------------|----------|----------|---------------------|
| Lts | 33 | 34 | 33 | 7,2 | 2,7 | 0,27 | 5,1 |

2.2 Verwendete Modellchemikalien

2.2.1 Das Herbizid Benazolin-Ethyl

Benazolin-Ethyl (4-Chlor-2-oxobenzothiazolin-3-yl-essigsäureethylester) wird in der Landwirtschaft, formuliert als GALTAK (Fa. AgrEvo), als Herbizid angewendet. Der eigentliche Wirkstoff ist der erste Hauptmetabolit, die Benazolinsäure (4-Chlor-2-oxobenzothiazolin-3-yl-essigsäure) und gehört zu den Wuchsstoffherbiziden, den synthetischen Auxinen (ZÖRNTLEIN 1995).

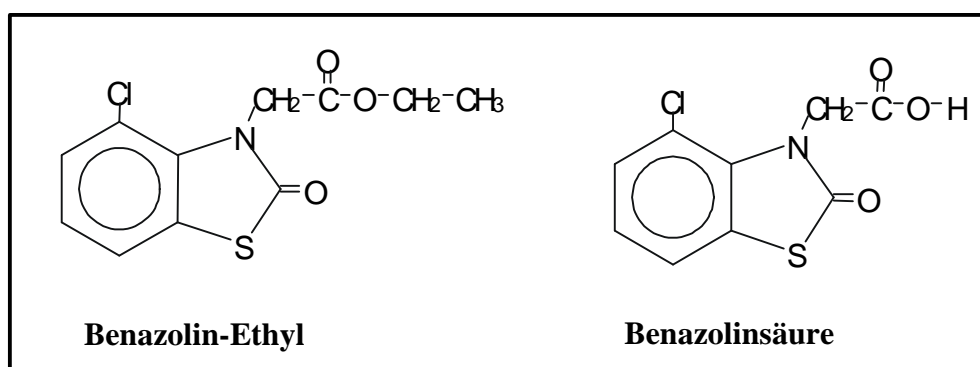


Abbildung 2.2: Strukturformel des Herbizids Benazolin-Ethyl und des ersten Hauptmetaboliten Benazolinsäure

Tabelle 2.6: Physikalische und chemische Eigenschaften von Benazolin-Ethyl und des ersten Hauptmetaboliten Benazolinsäure (ZÖRNTLEIN 1995; LEAKE 1989)

| Trivialnamen: | Benazolin-Ethyl | Benazolinsäure |
|---|---|---|
| Chemische Bezeichnung (IUPAC): | 4-Chlor-2-oxobenzothiazolin-3-yl-essigsäureethylester | 4-Chlor-2-oxobenzothiazolin-3-yl-essigsäure |
| Chemische Formel: | $C_{11}H_{10}ClNO_3S$ | $C_9H_6ClNO_3S$ |
| Molmasse ($g \cdot mol^{-1}$): | 271,69 | 243,67 |
| Schmelzpunkt ($^{\circ}C$): | 79 | 193 |
| Wasserlöslichkeit ($g \cdot l^{-1}$): | 0,047 | 0,60 |
| Dampfdruck bei 20 $^{\circ}C$ (μPa): | 0,01 | n. bek. |
| K_d -Wert | 8-15 (sL - IS) | 0,4-1 (sL - IS) |
| Halbwertszeit im Boden, DT_{50} (Tagen) | 1-3 | 29-56 |
| Kow (20 $^{\circ}C$, pH = 7) | 315,3 | 1,34 |

Benazolin-Ethyl wurde als Modellsubstanz ausgewählt, weil es als starker Leacher bekannt ist (JENE et al. 1996). Die Benazolinsäure ist gut wasserlöslich und hat gleichzeitig eine lange biologische Halbwertszeit im Boden (BALINOVA 1996). Deswegen wurde der Gebrauch von Pflanzenschutzmitteln mit dem Wirkstoff Benazolin bereits in den späten 80er Jahren in Deutschland stark eingeschränkt und bis zum Jahr 2003 EG weit verboten (SENG 2003).

Um nicht nur das Verschwinden der applizierten Ausgangssubstanz vom Anwendungsort zu verfolgen, sondern die einzelnen Prozesse, die zum „Verschwinden“ führen getrennt

voneinander quantifizieren zu können, wurde in den Untersuchungen ^{14}C -ringmarkiertes Benazolin-Ethyl verwendet, bei dem die ^{14}C -Markierung an der stabilsten Stelle des Moleküls platziert war. Erst durch den Einsatz der ^{14}C -markierten Substanz war es möglich, die Mineralisierung (= Totalabbau zu $^{14}\text{CO}_2$) sowie die Volatilität der Ausgangssubstanz bzw. der Abbauprodukte in den untersuchten Bodenproben messen zu können. Darüber hinaus war es durch den Einsatz der ^{14}C -Technik möglich, nicht extrahierbare Rückstände zu quantifizieren, Metabolite zu identifizieren und eine Massenbilanz für das Herbizid aufzustellen. Im Verlauf der Untersuchungen wurde ^{14}C -ringmarkiertes Benazolin-Ethyl mit einer spezifischen Radioaktivität von $5,846 \text{ MBq} \cdot \text{mg}^{-1}$ (= $350.760 \text{ dpm} \cdot \mu\text{g}^{-1}$) verwendet. Dieses wurde vom Forschungszentrum Jülich im Rahmen des HGF Strategiefondprojekts Bodenfunktionen zur Verfügung gestellt.

In den Laborversuchen wurde Benazolin-Ethyl in der in der landwirtschaftlichen Praxis üblichen Menge von $400\text{-}500 \text{ g} \cdot \text{ha}^{-1}$ appliziert, das entsprach $6,6\text{-}8,4 \mu\text{g}$ Wirkstoff in 50 g Trockensubstanz (TS) Boden.

Als nicht radioaktiv markierte Referenzsubstanz wurde der erste Hauptmetabolit Benazolinsäure (4-Chlor-2-oxobenzothiazolin-3-yl-essigsäure) mit einer chemischen Reinheit von $> 98 \%$ verwendet (von Dr. Ehrendorfer, Augsburg)

2.2.2 Der polyaromatische Kohlenwasserstoff Benzo(a)pyren (BaP)

BaP (Abbildung 2.3), das bei unvollständigen Verbrennungen entsteht, gilt als sehr gesundheitsschädlicher Schadstoff. Natürliche Quellen für BaP sind vor allem Vegetationsbrände (FREEMAN & CATTELL 1990) und Vulkanausbrüche (ILNITSKY et al. 1977). Durch anthropogene Aktivitäten kamen schon bald weitere Quellen hinzu, wie etwa Feuerstellen und Rodungsbrände. Seit der industriellen Revolution und der Bevölkerungsexplosion haben sich die Quellen und vor allem die Emissionsmengen sehr stark verändert. Ohne menschlichen Einfluss haben Böden einen Gehalt an BaP von ca. $1\text{-}10 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (WILKE 1996), in unbelasteten Ackerböden Mitteleuropas werden heutzutage $10\text{-}90 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, in belasteten Ackerböden $70\text{-}500 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ und in Gärten von Ballungsräumen sogar bis zu $1630 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ gemessen (WILKE 1996). Bei Altlasten können nach ATSDR (1995) deutlich höhere Werte erreicht werden, so etwa in Böden von Kokereien $14.000 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, bei der Holzbehandlung $94.000 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ und bei Gaswerken sogar bis zu $159.000 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$. WILKE (1996) berichtet bei Kokereien sogar von Werten bis zu $1.000.000 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$. Die Grenzwerte für den Gehalt an BaP im Boden variieren je nach Quelle. Die folgenden Beispiele sollen einen gewissen Überblick vermitteln:

- BACHMANN et al. (1999): Je nach angestrebter Nutzungsart liegt der Grenzwert zwischen $2 \text{ mg BaP pro kg Trockenmasse}$ (Kinderspielflächen) und $12 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (Industrie und Gewerbeflächen).
- JARONI & TRENCK (1996): In Baden-Württemberg liegen die Grenzwerte zwischen $0,5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (Kinderspielflächen) und $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ BaP (Gewerbeflächen).
- Im Niederländischen Leitfaden zur Bodenbewertung und Bodensanierung (1990), der so genannten Hollandliste, sind bei BaP-Gehalten von über $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ genauere Untersuchungen vorgeschrieben und ab $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Sanierungsstudien vorgesehen.

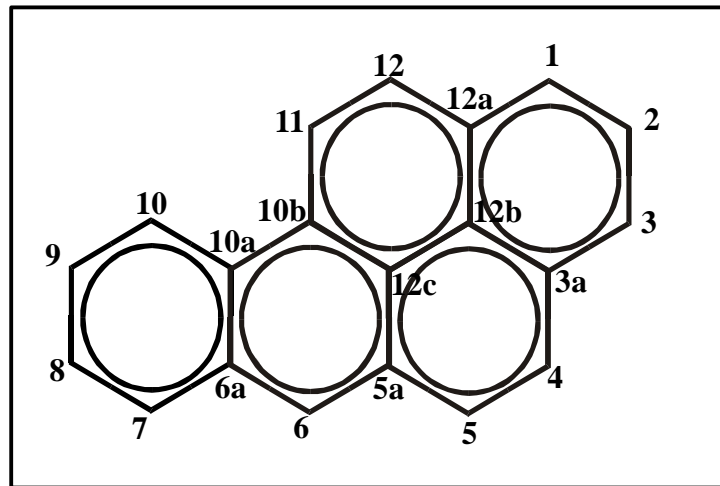


Abbildung 2.3: Strukturformel von Benzo(a)pyren

Tabelle 2.7: Physikalische und chemische Eigenschaften von Benzo(a)pyren

| | |
|--|---------------------------------|
| Trivialnamen: | Benzo(a)pyren |
| Chemische Bezeichnung (IUPAC): | 3,4-Benzopyren |
| Chemische Formel: | C ₂₀ H ₁₂ |
| Molmasse (g*mol ⁻¹): | 252,3 |
| Schmelzpunkt (°C): | 179 |
| Wasserlöslichkeit (µg*l ⁻¹): | 3,8-14 |
| Dampfdruck bei 20 °C (µPa) | 0,7 |
| Log Kow | 6,04 |

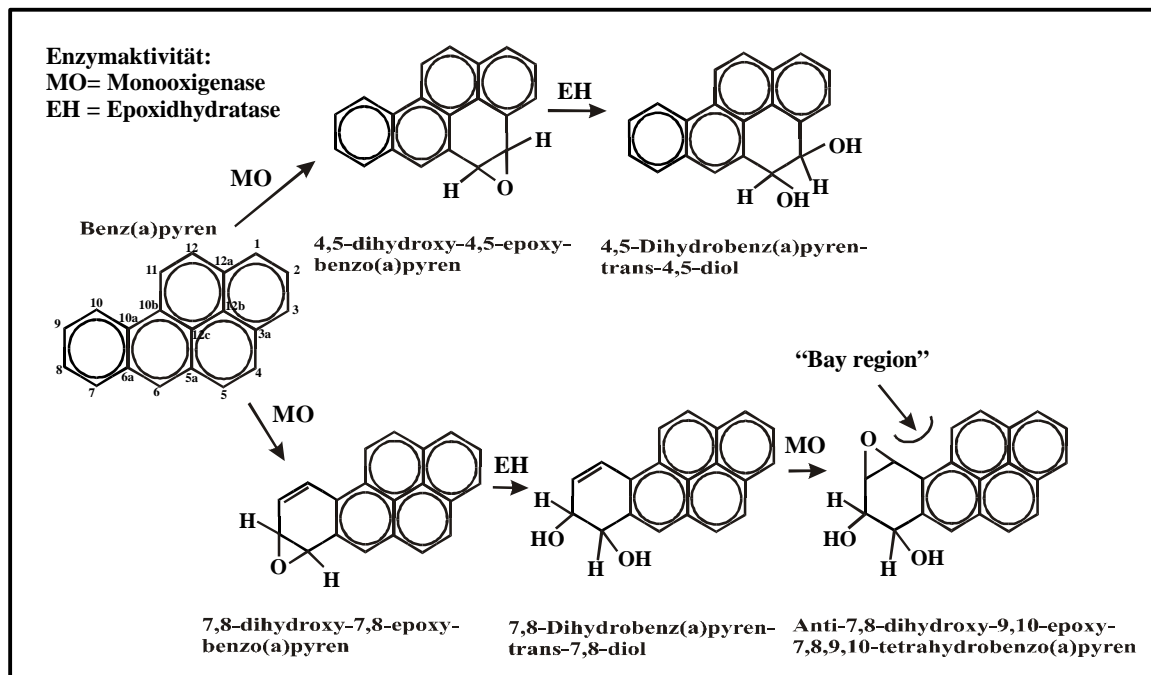


Abbildung 2.4: Biotransformation des Präkarzinogens BaP in das kanzerogene Epoxid und nicht kanzerogene Metabolite (nach EFFERTH 2001)

BaP gilt als sehr krebserregend, wobei BaP ein Präkarzinogen ist; das eigentliche Karzinogen Anti-7,8-dihydroxy-9,10-epoxy-7,8,9,10 tetrahydrobenzo(a)pyren (AntiBaP) entsteht durch Enzymaktivität der Monooxygenase und Epoxidhydratase (Abbildung 2.4). Auf zellulärer Ebene findet an der so genannten „Bay Region“ die karzinogene Reaktion mit der DNA statt. Das AntiBaP greift die exocyclische Aminogruppe des Guanins an, wodurch die Progression der DNA-Polymerase blockiert wird (PERLOW & PROYDE 2002) und eine mutagene Reaktion stattfindet, bei der je nach Sequenz bis zu einer Wahrscheinlichkeit von > 95 % das Guanin in Adenosin oder Thymin umgewandelt wird (KOZACK et al. 2000).

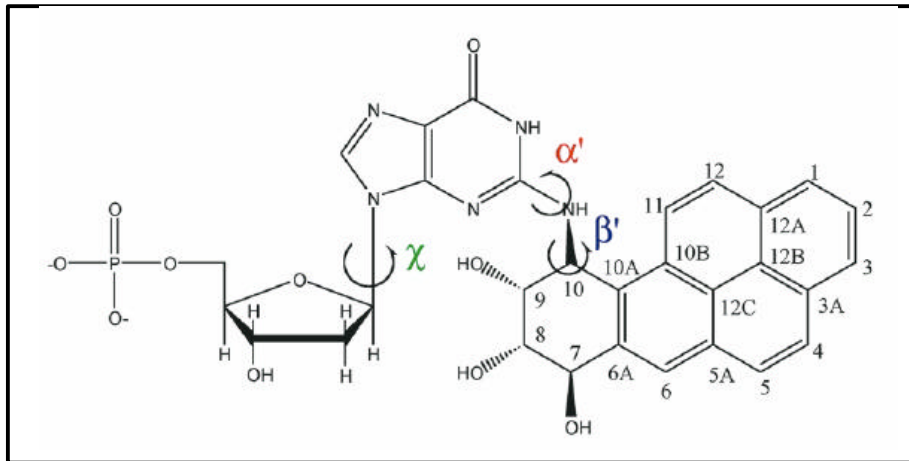


Abbildung 2.5: Karzinogene Reaktion des Guanins mit AntiBaP (α , β und γ sind für die Reaktion wichtige Verdrehungswinkel), (PERLOW & BROYDE 2003)

Für die Laborversuche zum Abbau der Chemikalie in Bodenproben wurde eine Konzentration von etwa 200 μg BaP pro kg Boden appliziert. Dieser Wert liegt innerhalb des Bereichs eines typischen mitteleuropäischen Ackerbodens und deutlich unter den oben erwähnten Grenzwerten. Ziel der Arbeit war nicht die Sanierung eines Altlastenbodens, sondern die nachhaltige Sicherung eines typischen Ackerbodens und seiner Funktionsfähigkeit; hierzu sollten die Böden mindestens in die Lage versetzt werden, den „umweltbedingten BaP-Input“ selbst „in-situ“ abzubauen zu können, so dass es künftig nicht mehr zu den bisher beobachteten Anreicherungen kommen kann.

Leider war es nicht möglich BaP zu erhalten, bei dem sich das ^{14}C markierte Atom an der stabilsten Stelle befindet (C-Atome 12b oder 12c). Verwendet wurde Benzo(a)pyren-7- ^{14}C (SIGMA Bestellnr. 29,718-6) mit einer spezifischen Radioaktivität von 3,901 $\text{MBq}\cdot\text{mg}^{-1}$, das entspricht 234.000 $\text{dpm}\cdot\mu\text{g}^{-1}$. Die Markierung befindet sich an einem außenliegenden Atom, in einem Ring der, je nach Abbauweg recht früh aufgespaltet werden kann. Daher kann streng genommen die Entstehung von $^{14}\text{CO}_2$ nicht mit Mineralisierung, also Totalabbau gleichgesetzt werden. Jedoch ist zumindest eine Ringspaltung nötig, so dass Pyren entsteht, das deutlich weniger toxisch ist und nicht als karzinogen gilt (STARKE u.a. 1991). Trotz dieses Sachverhalts wurde im Folgenden die Entstehung von $^{14}\text{CO}_2$ mit Mineralisierung bezeichnet. Die Substanz wies eine radiochemische Reinheit von > 98 % auf. Als nicht ^{14}C -markierte Referenzsubstanzen (alle von Dr. Ehrensdofer, Augsburg) wurden folgende Monohydroxy-BaP (3-OH-BaP, 7-OH-BaP und 9-OH-BaP) und Dihydroxy-BaP (4,5-OH-BaP; 7,8-OH-BaP und 9,10-OH-BaP) verwendet, jeweils mit einer chemischen Reinheit > 98 %.

2.3 Laborversuche zur Mineralisierung von ^{14}C -Benazolin-Ethyl bzw. Benzo(a)pyren in Böden

2.3.1 Beschreibung des Laborsystems

Für die Laborversuche zum Abbau der ^{14}C -markierten Modellchemikalien wurde das in Abbildung 2.6 dargestellte Inkubationssystem nach Lehr et al. (1996) verwendet. Hierdurch konnte sowohl die Mineralisierung über $^{14}\text{CO}_2$ -Freisetzung quantifiziert werden, als auch die Bodenatmung (Ges.- CO_2 -Freisetzung) und die Freisetzung volatiler ^{14}C -organischer Substanzen getrennt von einander gemessen werden. Die zu untersuchende Probe feuchten Bodens entsprach jeweils 50 g Trockensubstanz und wurde in einem Doppelwandgefäß inkubiert. Die Systeme befanden sich in einer auf 20 °C eingestellten Klimakammer bei Dunkelheit. Die im Laborsystem befindliche Luft wurde ausgetauscht, in dem täglich für eine Stunde CO_2 -freie Luft mit einer Flussrate von 1 l/h durch das Inkubationssystem gesaugt wurde. Hierfür wurde die angesaugte Raumluft vor dem eigentlichen Versuchsgefäß zunächst durch CO_2 -Fallen mit Natronkalk Plätzchen (Merck, Darmstadt) und anschließend durch 0,5 N Natronlauge (Titrisol, Merck, Darmstadt) geführt. Um ein Austrocknen der Bodenproben zu verhindern wurde zur Luftbefeuchtung ein Wassergefüllter Erlenmeyerkolben dem Versuchsgefäß vorgeschaltet.

Die aus dem Inkubationsgefäß abgesaugte Luft wurde durch drei hintereinander geschaltete Intensivwaschflaschen geleitet. Die erste Intensivwaschflasche wurde mit 10 ml Ethylenglycolmonomethylether (EMME p.a., Merck, Darmstadt) gefüllt, woran flüchtige organische Verbindungen adsorbieren. Das $\text{CO}_2/^{14}\text{CO}_2$ wurde in der zweiten und dritten Intensivwaschflasche an 15 ml 0,1 N Natronlauge (NaOH, Titrisol, Merck, Darmstadt) gebunden. Die zweite, mit NaOH gefüllte Intensivwaschflasche diente dazu das $\text{CO}_2/^{14}\text{CO}_2$, das eventuell nicht vollständig in der ersten Intensivwaschflasche mit NaOH ausgewaschen wurde, aufzufangen. Meist wurden jedoch mehr als 98 % der $^{14}\text{CO}_2$ -Radioaktivität in der ersten mit NaOH gefüllten Falle nachgewiesen, nur bei sehr hoher Atmungsaktivität waren nennenswerte Mengen an $\text{CO}_2/^{14}\text{CO}_2$ in der letzten Intensivwaschflasche zu finden. Da das System mit CO_2 -freier Luft belüftet wurde, entstammte das aufgefangene CO_2 allein der Atmungsaktivität der im Boden lebenden Mikroorganismen. Das $^{14}\text{CO}_2$ entstand bei der Mineralisierung der ^{14}C -markierten Modellsubstanzen. Durch dieses Versuchsdesign konnte eindeutig zwischen volatilen ^{14}C -Verbindungen und dem Totalabbau der Chemikalien (= $^{14}\text{CO}_2$) unterschieden werden.

Die gesamte Versuchsanlage umfasste 24 parallel angeordnete Laborsysteme, wobei in der Regel drei Wiederholungen (d.h. drei Systeme) pro Versuchsansatz betrieben wurden.

Am Versuchsende wurden die Böden aus den Inkubationsgefäßen entnommen und direkt nach den in Kapitel 2.5 beschriebenen Methoden untersucht. War nach Versuchsende keine direkte Weiterverarbeitung der Bodenproben möglich, so wurden diese bei -18 °C gelagert.

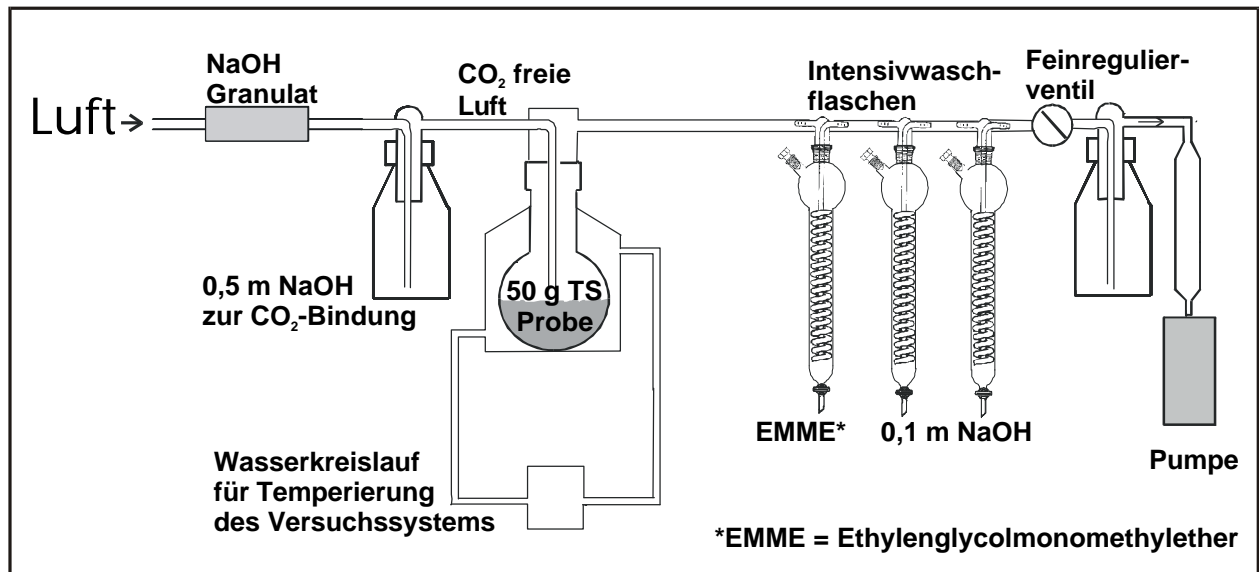


Abbildung 2.6: Laborsystem zur Bestimmung der Mineralisierung von ^{14}C -Chemikalien in Böden (nach Lehr et al., 1996)

2.3.2 Bestimmung der CO_2 / $^{14}\text{CO}_2$ -Abgabe und volatiler ^{14}C -markierter Stoffe

Zur Quantifizierung der im Laborsystem freigesetzten $^{14}\text{CO}_2$ - und der gesamten CO_2 -Mengen, sowie der volatilen organischen ^{14}C -Substanzen wurden die Intensivwaschflaschen des Laborsystems jeweils nach dem Gasaustausch (3 mal die Woche – jeweils Montag, Mittwoch und Freitag) beprobt:

Die in der ersten Intensivwaschflasche enthaltenen 10 ml EMME, die zur Bestimmung der ^{14}C -markierten flüchtigen organischen Verbindungen dienen, wurden entnommen und mit 10 ml Szintillationscocktail (Ultima Gold XR, Packard, Groningen, Niederlande) versetzt. Die enthaltene Radioaktivität wurde mittels Flüssigszintillationszählung (Tri-Carb 1900 TR, Canberra-Packard GmbH, Dreieich) bestimmt.

Das in 0,1 N NaOH der zweiten und dritten Intensivwaschflasche gebundene $^{14}\text{CO}_2$ und Ges.- CO_2 wurden folgendermaßen bestimmt: Die 15 ml NaOH wurden nach dem Luftaustausch abgelassen. Ein Aliquot von 2 ml wurde mit 3 ml Szintillationscocktail (Ultima Flo AF, Packard, Groningen, Niederlande) vermischt und die enthaltene Radioaktivität mittels Flüssigszintillationszählung (Tri-Carb 1900 TR, Canberra-Packard GmbH, Dreieich) bestimmt. Ein weiterer Aliquot von 10 ml des abgelassenen NaOH wurde zur Bestimmung des Ges.- CO_2 mit 2 ml 0,5 M Bariumchloridlösung (Merck, Darmstadt) und wenigen Tropfen des Indikators Phenolphthalein (Merck, Darmstadt) versetzt. Die unverbrauchte Lauge wurde anschließend mit 0,1 N Salzsäure (Titrisol, Merck, Darmstadt) rücktitriert.

2.3.3 Versuchsvorbereitung und Applikation des Wirkstoffs

2.3.3.1 Versuchsvorbereitung

Um die Böden vor Versuchbeginn zu equilibrieren wurden sie 8 Tage vorher aus dem Kühlraum genommen, der im Laborexperiment angestrebte Wassergehalt eingestellt und bei 20 °C im Dunkeln gelagert. Da eine homogene Applikation der Modellchemikalien bei

Wassergehalten von über 50 % der maximalen Wasserhaltekapazität (WHK) nicht möglich war, wurden die Böden bei höchstens 50 % WHK equilibriert. Das zum Erreichen des angestrebten Wassergehalts fehlende Wasser wurde erst bei der Applikation zugegeben (siehe unten). Die während des Equilibrierens auftretenden Wasserverluste, die mehrmals vor Versuchsbeginn gravimetrisch bestimmt wurden, wurden durch die Zugabe von Wasser ausgeglichen. Am Applikationstag wurde für jeden Ansatz die 46,5 g TS entsprechende Menge an feuchtem Boden eingewogen und mit Parafilm vor dem Austrocknen geschützt. Des Weiteren wurden für jeden Ansatz 3,5 g Boden bei 104 °C getrocknet und fein gemörsert. Es wurde ein Arbeitsstandard erstellt, der ca. $2 \cdot 10^6$ dpm Radioaktivität enthielt und die angestrebte Konzentration der jeweiligen Modellchemikalie aufwies (siehe Beschreibung der Modellchemikalien, Kapitel 2.2, Seite 12).

2.3.3.2 Applikation der ^{14}C -Modellchemikalie

Auf die 3,5 g getrockneten, gemörserten Boden wurde die entsprechende Modellchemikalie ($10 \mu\text{g } ^{14}\text{C}$ -BaP bzw. $8 \mu\text{g } ^{14}\text{C}$ -Benzolin-Ethyl) mit Hilfe einer Hämilton-Spritze vorsichtig aufgetropft. Das Lösungsmittel, in dem der Standard gelöst war, wurde im Abzug abgedampft. Danach wurde die Chemikalie mit dem Boden intensiv mit einem Spatel durchmischt.

Der 46,5 g TS entsprechende feuchte Boden wurde kurz durchmischt; anschließend wurde der mit der ^{14}C -Chemikalie versehene getrocknete Boden dazugegeben. Diese Mischung wurde längere Zeit mit einer Gabel homogenisiert, bis eine gleichmäßige Verteilung der Modellchemikalie im gesamten Boden erreicht wurde. Der Boden wurde vollständig in das Versuchgefäß überführt; anschließend wurde die noch fehlende Wassermenge mit Hilfe einer Eppendorfpipette möglichst homogen auf den Boden getropft. Danach wurde das Versuchgefäß mit Aluminiumfolie umwickelt und in das Versuchssystem eingebaut. Um die Verluste bei der Applikation zu bestimmen, wurden die benutzten Bechergläser mit Methanol ausgespült und die zurückgebliebene Radioaktivität bestimmt. Diese Verluste lagen meist deutlich unter 1 %.

2.3.4 Zugabe eines Bodenzusatzes (z.B. Maisstroh)

In manchen Versuchsansätzen wurde der Versuchsboden vor der Inkubation im Laborsystem mit Maisstroh oder anderen Zusätzen versetzt. Der Boden wurde dazu nach der im Punkt 2.3.3 beschriebenen Methode vorbereitet. Als einzige Veränderung dieser beschriebenen Methode wurde dem feuchten Boden direkt nach der Applikation des Wirkstoffs 0,5 g trockenes, auf 2 mm gesiebtes Maisstroh (oder andere Bodenzusätze) untergemischt.

2.3.5 Untersuchung zum Einfluss der Bodendichte auf den Abbau von ^{14}C -Benzolin-Ethyl im Boden Alfi-Con

Am Boden Alfi-Con sollte exemplarisch der Einfluss der Dichte auf den Abbau der Modellchemikalie ^{14}C -Benzolin-Ethyl untersucht werden. Hierzu wurde genau wie unter 2.3.3 beschrieben vorgegangen. Während die Lagerungsdichte des Bodens in den Kontrollen unbeeinflusst blieb ($1,0 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ Trockenraumdichte), wurde in den verdichteten Ansätzen der Boden mit Hilfe eines breiten, umgebogenen Spatels auf eine Trockenraumdichte von $1,4 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ gebracht.

2.3.6 Untersuchung des Abbauverhaltens von ^{14}C -Benazolin-Ethyl im Boden Incept-Int unter abiotischen Bedingungen

Am Boden Incept-Int sollte exemplarisch das Abbauverhalten von Benazolin-Ethyl ohne mikrobielle Aktivität bei einer Bodenfeuchte von 40 % WHK untersucht werden. Hierzu wurde die 20 g TS entsprechende Menge Boden in Doppelwandgefäße eingewogen, auf die entsprechende Bodenfeuchte eingestellt und dreimal autoklaviert (20 min bei 121° C, Wasserdampf Hochdruckautoklav Vapoklav Typ 500, H+P Labortechnik GmbH, München). Nach jedem Autoklaviervorgang wurden die Wasserverluste in einer Sterilbank mit sterilem $\text{H}_2\text{O}_{\text{reinst.}}$ ausgeglichen und die Proben verschlossen 3 Tage im Dunkeln bei 20° C equilibriert. Für jeden Versuchsansatz wurden auch 3 g getrockneter und gemörserter Boden nach dem gleichen Prinzip autoklaviert. Die Applikation des ^{14}C -Benazolin-Ethyls erfolgte nach der unter 2.3.3 beschriebenen Methode. Nach 2, 4, 6, 8, 10 Tagen wurden jeweils drei der Versuchsansätze wie unter 2.3.1 beschrieben belüftet und es erfolgte die Bestimmung der $\text{CO}_2/^{14}\text{CO}_2$ -Abgabe und volatiler ^{14}C -markierter Stoffe nach 2.3.2. Direkt anschließend wurden die mit Kalziumchlorid und mit Aceton extrahierbaren Rückstände bestimmt (Kapitel 2.5).

2.4 Lysimeterstudie zur Mineralisierung von ^{14}C -Benzo(a)pyren im Boden Kolluv-Int

Die Lysimeterstudie zum Abbau von ^{14}C -BaP wurde von Sommer 2002 bis Winter 2003 auf der Kleinlysimeteranlage der GSF im Freiland durchgeführt. Es standen vier Kleinlysimeter mit einer Bodenoberfläche von $0,32\text{ m}^2$ und einer Tiefe von 1 m zur Verfügung. Diese wurden wie unter 2.1.2 beschrieben vorbereitet.

2.4.1 Beschreibung des Lysimetersystems

Die Mineralisierung und Verflüchtigung von ^{14}C -markiertem BaP im Lysimetersystem wurde mit Hilfe des in der Abbildung 2.7 dargestellten Beprobungssystems (Schroll und Kühn, 2004, abgeändert) untersucht.

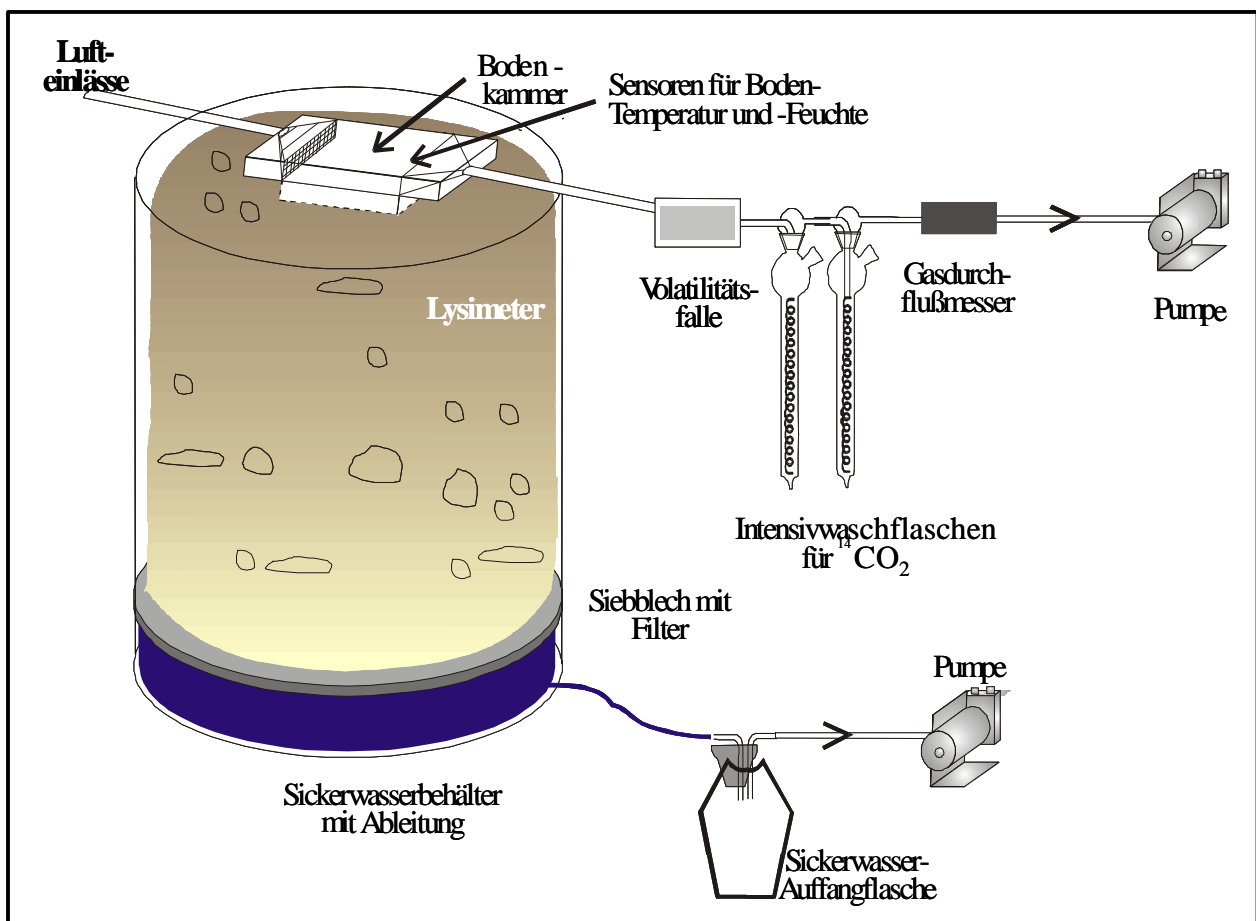


Abbildung 2.7: Lysimetersystem zur Bestimmung der Mineralisierung und Verflüchtigung von organischen ^{14}C -markierten Chemikalien im Boden (nach Schroll und Kühn, 2004, abgeändert).

Da nur das Verhalten der Substanz im Boden, nicht jedoch der Einfluss der Pflanzen auf das Verhalten von BaP untersucht werden sollte, wurde jeder Pflanzenwuchs regelmäßig entfernt. Mit der eingesetzten Testvorrichtung war es möglich, zwischen den flüchtigen, ^{14}C -markierten, organischen Substanzen und dem freigesetzten $^{14}\text{CO}_2$ aus der Mineralisierung des Wirkstoffs zu unterscheiden.

Die Bodenkammern (Abbildung 2.7) hatten eine Beprobungsfläche von 160 cm^2 (20 cm Länge und 8 cm Breite) und waren oben mit einem Glasdeckel verschlossen. Die Kammern waren mit einem 10 cm tief ragenden Edelstahlrahmen im Boden verankert.

Um die Bodenfeuchte in den Kammern und dem sie umgebenden Boden außerhalb der Kammern vergleichen zu können, wurden in jede Bodenkammer ein und außerhalb der Kammern insgesamt zwei am Institut entwickelte Feuchtigkeitssensoren (Ruth 1999) 0,5 cm unter der Bodenoberfläche installiert. Die Temperatur wurde mit vier Messfühlern (NiCr-Ni, Testo Bestnr. 06025792) und dem dazugehörigen Datenlogger (Testostor 171-8 von Testo) alle 30 Minuten innerhalb und außerhalb einer Kammer jeweils in 0,5 cm Bodentiefe gemessen. Die Lufttemperatur wurde jeweils in 1 cm Höhe über der Bodenoberfläche bestimmt. Darüber hinaus wurden in den Kammern 1 cm über der Bodenoberfläche zwei Metallrohre mit 18 je 0,7 mm weiten Löchern befestigt, um die Bodenkammer bewässern zu können.

Die Luft wurde mit einer Geschwindigkeit von $100 \text{ l} \cdot \text{h}^{-1}$ durch das System gesaugt. Dies entsprach einer Windgeschwindigkeit von $1,7 \text{ cm} \cdot \text{s}^{-1}$ über der Bodenoberfläche. Eine laminare Strömung in der Bodenkammer wurde dadurch ermöglicht, dass die Zuluft beim Eintritt in die Kammer durch zwei Metallsiebe geleitet wurde. In möglichst geringem Abstand hinter der Bodenkammer wurde das in Abbildung 2.7 dargestellte Fallensystem installiert; in diesem wurde aus der Luft zunächst die volatilen ^{14}C -Substanzen und anschließend das $\text{CO}_2/^{14}\text{CO}_2$ gefiltert. Über einen Teflonschlauch wurde die Luft in eine Glasvorrichtung geleitet, wo zwei Polyuretanschwämme (PU-Schwämme, T 3546, Polyether Typ, 35 kg m^{-3} , Seybold, 100 mm o.d.) von je 5 cm Dicke durchströmt wurden. Mit Hilfe der verwendeten Schwämme, die eine Porosität von 60 ppi (pores per inch) aufwiesen, konnten volatile organische ^{14}C -Substanzen zu mehr als 95 % aus der Luft gefiltert werden (Schroll und Kühn, 2004).

Um das in der Luft enthaltene $\text{CO}_2/^{14}\text{CO}_2$ komplett zu filtern wurde der Luftstrom anschließend in zwei aufeinanderfolgende gekühlte Intensivwaschflaschen geleitet. Die zweite Intensivwaschflasche diente dazu, das $^{14}\text{CO}_2$, das eventuell nicht erschöpfend in der ersten Waschflasche aufgefangen wurde, auszuwaschen. Die Waschflaschen wurden zur Absorption des $\text{CO}_2/^{14}\text{CO}_2$ mit 50 ml einer 1:1 Mischung von Ethanolamin und Diethylenglycolmonobutylether (EDB, jeweils p.a. - Qualität, Merck, Darmstadt) gefüllt.

Zur Bestimmung der im Fallensystem gebundenen $^{14}\text{CO}_2$ -Menge bzw. der volatilen ^{14}C -markierten Verbindungen wurde das System nach den in Kapitel 2.4.3 beschriebenen Methoden beprobt.

Das Sickerwasser konnte für jedes Lysimeter getrennt mit einer Pumpe aus dem Sickerwasserbehälter in eine Auffangflasche abgepumpt werden. Dies geschah jeweils nach größeren Regenereignissen. So konnte die Menge des Sickerwassers bestimmt werden und über ein Aliquot von 10 ml gemischt mit 10 ml Szintillationscocktail (Ultima Gold XR, Packard, Groningen, Niederlande) die Radioaktivität im Szintillationszähler (Wallac 1414 WinSpectral DSA, Turku, Finnland) gemessen werden.

2.4.2 Applikation von Benzo(a)pyren

Da BaP sich nahezu nicht verlagert, und der Einfluss der Bodenbearbeitung nicht berücksichtigt werden sollte, wurde nur in den obersten 5 mm innerhalb der Bodenkammern

appliziert, dies entsprach auch der Tiefe in der die Feuchtigkeitssensoren den Wassergehalt bestimmten. Dadurch konnte der gemessene Wassergehalt direkt mit den Abbauwerten in Zusammenhang gebracht werden. Da die Oberfläche der Bodenkammern 160 cm^2 betrug musste ein Bodenvolumen von $160 \text{ cm}^2 * 0,5 \text{ cm} = 80 \text{ cm}^3$ verwendet werden. Die Dichte des Ap1 betrug $1,3 \text{ g} * \text{cm}^{-3}$, woraus eine Bodenmenge von 104 g TS je Bodenkammer resultiert. Die Applikation von BaP verlief nach dem gleichen Prinzip, wie bei den Laborversuchen (siehe 2.3.3), nur dass statt $3,5 \text{ g}$ gemörserten Trockenbodens eine Menge von 8 g verwendet wurde. Es wurden $3,28 \text{ mg} * \text{kg}^{-1}$ BaP appliziert, was im Bereich der Grenzwerte lag. Unmittelbar nach der Applikation wurde der Boden in die entsprechenden Bodenkammern eingefüllt, die Feuchtigkeitssensoren eingebaut und der Boden zu einer 5 mm dicken Schicht homogen verfestigt. Anschließend wurden die Temperatursensoren an den entsprechenden Stellen angebracht (Abbildung 2.8), die Bodenkammern verschlossen, mit 60 ml Wasser ($3,75 \text{ mm}$ Niederschlag) beregnet und der kontinuierliche Luftdurchsatz durch die Systeme gestartet.

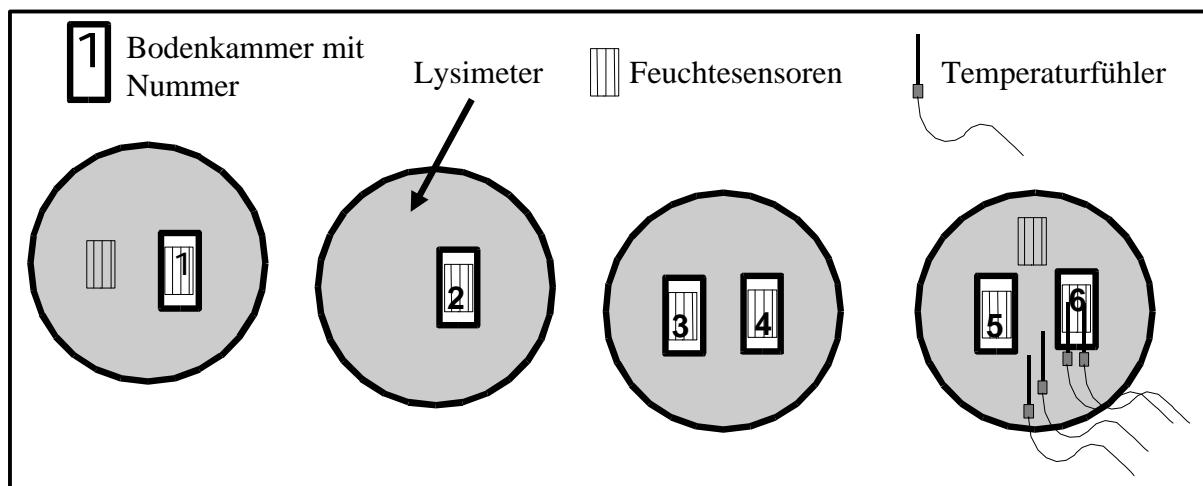


Abbildung 2.8: Verteilung der Bodenkammern, der Feuchtesensoren und Temperaturfühler auf der Kleinlysimeteranlage.

Da zunächst nicht ausreichend Testsysteme zur Verfügung standen wurden während der Alterung im Jahr 2002 nur vier Bodenkammern beprobt, während des Steuerungsversuches im Jahr 2003 dann alle sechs Bodenkammern.

2.4.3 Quantifizierung der ^{14}C -Benzo(a)pyren Mineralisierung und volatiler ^{14}C -markierter Stoffe

Zur Quantifizierung des freigesetzten $^{14}\text{CO}_2$ aus dem Abbau von ^{14}C -BaP wurden die beschriebenen Fallensysteme der Bodenkammern einmal (Dienstag) bis dreimal wöchentlich (Montag, Mittwoch und Freitag) beprobt. Die volatilen Substanzen wurden aufgrund der niederen Werte seltener bestimmt, um genug Radioaktivität sammeln zu können. Für die Dauer der Probenahme wurde der Luftdurchsatz unterbrochen, um Radioaktivitätsverluste an die Umwelt zu vermeiden.

2.4.3.1 Quantifizierung volatiler ^{14}C -markierter Verbindungen

Nach der Unterbrechung des Luftdurchsatzes wurden die PU-Schwämme gewechselt. Zur Bestimmung der in den PU-Schwämmen adsorbierten ^{14}C -markierten volatilen Substanzen wurden diese im Labor mit Hilfe einer Auspressvorrichtung dreimal für 10 min mit jeweils 250 ml Aceton (Aceton zur Analyse, Merck, Darmstadt) ausgewaschen. Das Aceton wurde nach 10 min abgesaugt, das Volumen bestimmt, drei Aliquote von 3 ml Aceton mit 15 ml Ultima Gold (Ultima Gold XR, Packard, Groningen, Niederlande) versetzt und die enthaltene Radioaktivität mittels Flüssigszintillationszählung (Wallac 1414 WinSpectral DSA, Turku, Finnland) bestimmt.

2.4.3.2 Quantifizierung des freigesetzten $^{14}\text{CO}_2$

Die zur Bestimmung des freigesetzten $^{14}\text{CO}_2$ eingesetzten Intensivwaschflaschen wurden mit 50 ml der im Kapitel 1.4.1 beschriebenen EDB-Mischung gefüllt. Pro Bodenkammer wurden zwei hinter einander geschaltete Intensivwaschflaschen eingesetzt, deren Inhalt bei den Probenahmen vereint abgelassen wurde. Es wurde das Volumen des abgelassenen Lösungsmittels bestimmt. 3 ml der homogenisierten EDB-Probe wurden mit 5 ml destilliertem Wasser und 12 ml Hionic Fluor (Hionic Fluor, Packard, Groningen, Niederlande) versetzt. Es wurden jeweils drei Aliquote pro Probe entnommen und die Radioaktivität im Szintillationszähler gemessen. Abschließend wurden die Intensivwaschflaschen mit 50 ml frischer EDB-Lösung gefüllt.

Nach dem Abschluss der Probenahme wurde der Luftdurchsatz erneut gestartet und der Luftstrom im System mit Hilfe von Luftdurchflussmessern eingestellt.

2.4.4 Entnahme und Analyse von Bodenproben

Zur Bestimmung der im Boden verbliebenen Radioaktivität wurde dieser am Ende des Versuchs schichtweise (0-1 cm, 1-2 cm, 2-5 cm und 5-10 cm) aus den Bodenkammern entnommen und wie in Kapitel 2.5 für ^{14}C -BaP beschrieben analysiert. Zunächst wurden die Gesamttrückstände ermittelt. Diese Bestimmung der Restradioaktivität stellte auch eine Kontrollmöglichkeit dar, um die mit Hilfe der Fallensysteme gemessenen Mengen an mineralisiertem und volatilisiertem BaP zu überprüfen.

Die weitere Aufbereitung der Bodenproben nach den im Punkt 2.5 beschriebenen Methoden erfolgte direkt nach der Probenahme bzw. nach einer Lagerung der Proben bei $-18\text{ }^\circ\text{C}$.

2.5 Aufbereitung von Bodenproben

Die in den Laborversuchen zum Abbau der ^{14}C -Modellchemikalien eingesetzten Böden wurden am Versuchsende jeweils einer Rückstandsanalyse unterzogen. Dabei wurden die CaCl_2 extrahierbaren, die mit Lösungsmittel extrahierbaren und nicht extrahierbaren ^{14}C -Rückstände quantifiziert und die Metabolitenmuster der extrahierbaren Rückstände analysiert. Ebenso wurden die während des Lysimeterversuchs entnommenen Bodenproben aufbereitet.

2.5.1 Bestimmung des Bodenwassergehalts nach Versuchsende

Die im folgenden beschriebene Quantifizierung der extrahierbaren und nicht extrahierbaren ^{14}C -Rückstände in den Versuchsböden erfolgte jeweils bezogen auf das Trockengewicht der Böden. Es wurden ca. 2-5 g je Versuchsboden in ein Becherglas eingewogen und 24 h bei 104 °C im Trockenschrank bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Aus der Gewichts Differenz zwischen *Feuchtgewicht* und *Trockengewicht* wurde der Wassergehalt (WG) in % nach folgender Formel berechnet:

$$\text{WG in \%} = ((\text{Feuchtgewicht [g]} - \text{Trockengewicht [g]}) / \text{Trockengewicht [g]}) * 100$$

2.5.2 Bestimmung der mit Kalziumchlorid extrahierbaren ^{14}C -Rückstände

Da sowohl Benazolin-Ethyl als auch Benzo(a)pyren (BaP) sehr stark an PVC oder anderen Kunststoffoberflächen adsorbieren, mussten Teflongefäße verwendet werden. In diese wurden 40 g Boden eingewogen, mit 80 ml 0,01 m CaCl_2 -Lösung ($1,110\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ CaCl_2 wasserfrei, Merck, Darmstadt) versetzt und 15 min im Überkopfschüttler (REAX 1, Heidolph, Deutschland) geschüttelt.

Anschließend wurde der Boden bei $4000 \text{ U}\cdot\text{min}^{-1}$, 15 min abzentrifugiert (Beckman Zentrifuge und Rotor JA-14, München); jeweils 10 ml Überstand wurden abpipetiert: 9 ml wurden verwendet um den wasserlöslichen organischen Kohlenstoff (**W**ater **E**xtractable **O**rganic **C**arbon, WEOC) zu bestimmen und 1 ml wurde jeweils im Szintillationszähler (Wallac 1414 Winspectral DSA, Turku, Finnland) mit 15 ml Ultima-Gold XR (Packard Best. Nr. 6013119) zur Bestimmung der Radioaktivität gemessen. Der abpipetierte Überstand wurde mit Mikroporenfilter (Satorius Cellulose-nitrat, $0,2 \mu\text{m}$ Porengröße) abfiltriert und bis zur Analyse im Tiefkühlfach für die WEOC-Bestimmung (Kap. 2.9) gelagert.

Die entnommenen 10 ml wurden durch erneute Zugabe von zusätzlichen 10 ml 0,01 m CaCl_2 -Lösung ersetzt und anschließend 16 h im Überkopfschüttler geschüttelt. Nach den 16 h schütteln wurde wiederum 15 min bei $4000 \text{ U}\cdot\text{min}^{-1}$ zentrifugiert, der Überstand so vollständig wie möglich abdekantiert und dessen Volumen bestimmt. Hiervon wurde 1 ml Aliquot im Szintillationszähler gemessen. Diese Schritte wurden mehrfach wiederholt um eine möglichst vollständige Extraktion der Böden durchzuführen.

Der vereinigte Überstand wurde der Festphasenextraktion (siehe Kapitel 2.5.4 bzw. 2.5.8) zugeführt; der Boden wurde im Laborabzug bei Raumtemperatur getrocknet und anschließend mit Lösungsmittel extrahiert (Kapitel 2.5.3 bzw. 2.5.7).

Bei Benzo(a)pyren zeigte sich nach den ersten Versuchen, dass erwartungsgemäß sehr wenig ^{14}C -Rückstände im 0,01 m CaCl_2 löslich waren ($\ll 1 \%$). Daher wurde im weiteren Verlauf der Experimente auf die CaCl_2 -Extraktion verzichtet. Eine Weiterverarbeitung der ersten CaCl_2 -Extrakte war aufgrund der geringen Radioaktivität nicht sinnvoll.

2.5.3 Bestimmung der mit Aceton extrahierbaren ^{14}C -Rückstände von Benazolin-Ethyl

Zur Bestimmung der mit Aceton extrahierbaren ^{14}C -Rückstände von Benazolin-Ethyl wurden die Bodenproben mit einer Accelerated Solvent Extraction (ASE 200, Dionex GmbH, Idstein) extrahiert. Die ASE ermöglicht eine Extraktion von Bodenproben mit konventionellen Lösungsmitteln bei erhöhten Temperaturen und erhöhtem Druck, was im Vergleich zu anderen Extraktionsverfahren die Extraktionsausbeute erhöht, den Extraktionsprozess extrem beschleunigt und den Lösungsmittelverbrauch deutlich verringert.

Die nach der CaCl_2 -Extraktion getrockneten Böden wurden mit dem Mörser fein gemahlen und homogenisiert. Die Bodenprobe wurde in der ASE-Extraktionszelle jeweils oben und unten mit Seesand eingeschlossen um die Ausbeute zu erhöhen. Die Extraktionshülsen der ASE wurden folgendermaßen befüllt: Zunächst wurde ein Zellulosefilter (Dionex GmbH, Idstein) eingelegt – etwa 2 g Seesand - Zellulosefilter - 15-20 g Bodenprobe mit bzw. ohne Seesand vermischt - Zellulosefilter - Seesand. Die Zellulosefilter ober- und unterhalb der Bodenprobe waren notwendig, um sicherzustellen, dass die Bodenprobe nach der Extraktion ohne Zusatz von Seesand wieder gewonnen werden konnte. Die so vollständig gefüllten Extraktionshülsen wurden mit folgender Methode extrahiert:

| | | | |
|-------------------------|---------|------------------------|--------------|
| - Vorheizphase: | 1 min | Extraktionsdruck | 100 bar |
| - Aufheizphase: | 5 min | Extraktionstemperatur: | 100 °C |
| - Statische Extraktion: | 5 min | Extraktionsmittel: | 100 % Aceton |
| - purge: | 300 sec | Gesamtvolumen: | 110 % |
| - cycles: | 5 | | |

Die Eignung dieser Methode zur Extraktion von Benazolin-Ethyl aus Bodenproben konnte in Vorversuchen gezeigt werden: 100 % des applizierten ^{14}C -Benazolin-Ethyls konnten ohne Bildung von Artefakten aus dem Boden extrahiert werden. Dies wurde mit der HPLC überprüft.

Nach Abschluss der ca. 40 minütigen Extraktion wurde das Volumen des Acetonextraktes bestimmt (ca. 50 ml) und zwei Aliquote von 500 μl davon mit 4 ml Szintillationscocktail (Ultima Gold XR, Packard, Groningen, Niederlande) versetzt und im Szintillationszähler (Wallac 1414 WinSpectral DSA, Turku, Finnland) gemessen.

2.5.4 Festphasenextraktion zur Aufreinigung der Bodenextrakte von ^{14}C -Benazolin-Ethyl

Um eine Analyse ohne starke Verunreinigungen durchführen zu können mussten die CaCl_2 - und Acetonextrakte mit Hilfe der Festphasenextraktion aufgereinigt werden. Um eine Festphasenextraktion (SPE, Solid Phase Extraction) durchführen zu können, musste das in Aceton gelöste Benazolin-Ethyl und seine Metabolite zuvor in eine wässrige Phase überführt werden. Dazu wurde der Aceton-Extrakt zunächst mit Hilfe eines Rotationsverdampfers (Rotavapor R-114, Büchi, Flawil, Schweiz) auf ein Volumen von ca. 1 ml eingengt und anschließend in 300 ml destilliertem Wasser aufgenommen. Diese Lösung wurde mit Hilfe einer Filtriervorrichtung (Sartorius, Göttingen) über einen Mikroporenfilter (Sartorius Cellulose-nitrat, 0,2 μm Porengröße) abfiltriert. Anschließend wurde der pH-Wert mit wenigen Tropfen 85 %-iger Phosphorsäure (Merck, Darmstadt) auf pH = 2 eingestellt. Dies war notwendig da die Benazolinsäure, die als Metabolit zu erwarten war, einen pKs-Wert von 3 hat und somit

weitgehend nicht dissoziiert und unpolarer vorlag. Für die SPE wurde eine C18-Säule (Bakerbond spe Octadecyl C18, Deventer, Holland) verwendet.

Zunächst wurde die Säule mit Methanol (Methanol gradient grade, Merck, Darmstadt) und destilliertem Wasser vorkonditioniert. Anschließend wurde die wässrige Lösung mit einer Geschwindigkeit von 60-80 Tropfen pro Minute über die Säule geleitet. Nach der Extraktion wurde die SPE-Säule im sanften Stickstoffstrom getrocknet und mit 10 ml Methanol (Methanol gradient grade, Merck, Darmstadt) eluiert. Zur Kontrolle etwaiger Verluste durch die Aufreinigungsschritte wurden nach jedem Arbeitsschritt zwei Aliquote von 1 ml mit 4 ml Szintillationscocktail (Ultima Gold XR, Packard, Groningen, Niederlande) vermischt und im Szintillationszähler (Wallac 1414 WinSpectral DSA, Turku, Finnland) gemessen. Für das Eluat ergab sich durchschnittliche Wiederfindungsrate von 88,2 % (\pm 12,8) des Ausgangsextraktes.

Das Eluat wurde am Rotationsverdampfer auf ein Volumen von < 1 ml reduziert und anschließend im Stickstoffstrom bis zur Trockenheit eingengt und schließlich in 200 μ l Methanol aufgenommen und umgehend der HPLC-Analyse zugeführt.

2.5.5 HPLC-Analyse der Bodenextrakte von Benazolin-Ethyl

Die aufgereinigten Bodenextrakte aus Kapitel 2.5.4 wurden zur Identifikation und Quantifizierung von Benazolin-Ethyl und seiner Metabolite einer HPLC-Analyse unterzogen.

Das verwendete HPLC-System bestand aus folgenden Komponenten:

| | |
|------------------|--|
| Interface: | L-7000 (Hitachi, Merck, Darmstadt) |
| UV/VIS-Detektor: | 254 nm, L-7400 (Hitachi, Merck, Darmstadt) |
| Radiodetektor: | Radioactivity Monitor LB 507 B (Berthold, Bad Wildbach) |
| Pumpe: | L-7100 Intelligent Pump (Hitachi, Merck, Darmstadt) |
| Autosampler: | L-7200 Autosampler (Hitachi, Merck, Darmstadt) |
| Software: | HSM 7000 (Hitachi, Merck, Darmstadt) |
| Vorsäule: | LiChrospher 10 RP-18, 5 μ m, 250 * 4 mm (Merck, Darmstadt) |
| Säule: | LiChrospher 10 RP-18, 5 μ m, 250 * 4 mm (Merck, Darmstadt) |
| Laufmittel: | 60 % Methanol : 40 % Wasser (beide HPLC-grade, Merck, Darmstadt) |
| Flussrate: | 1,0 ml/min |
| Probevolumen: | 20 μ l |

Die Identifikation der Ausgangssubstanz erfolgte durch Vergleich der Retentionszeit im ^{14}C -Detektor mit dem ^{14}C -markierten Standard. Die Retentionszeit der Benazolinsäure wurde mit der nicht ^{14}C -markierten Referenzsubstanz, deren Analyse mit dem in Reihe geschalteten UV-Detektor erfolgte, bestimmt. Weitere Referenzsubstanzen waren nicht erhältlich und damit nicht eindeutig benennbar.

Die Quantifizierung erfolgte im Wesentlichen über die relative Peakfläche. Um den linearen Bereich des ^{14}C -Detektors festzulegen, war die Erstellung einer Kalibriergerade mit Bestimmung der absoluten Fläche nötig (Abbildung 2.9). Hierbei ergab sich eine Bestimmungsgrenze von 70 dpm* μl^{-1} (200 pg): Somit waren bei einem Einspritzvolumen von 20 μl noch 4 ng Benazolin-Ethyl eindeutig bestimmbar, entsprechend 0,05 % des applizierten Wirkstoffes (6,6-8,4 μg).

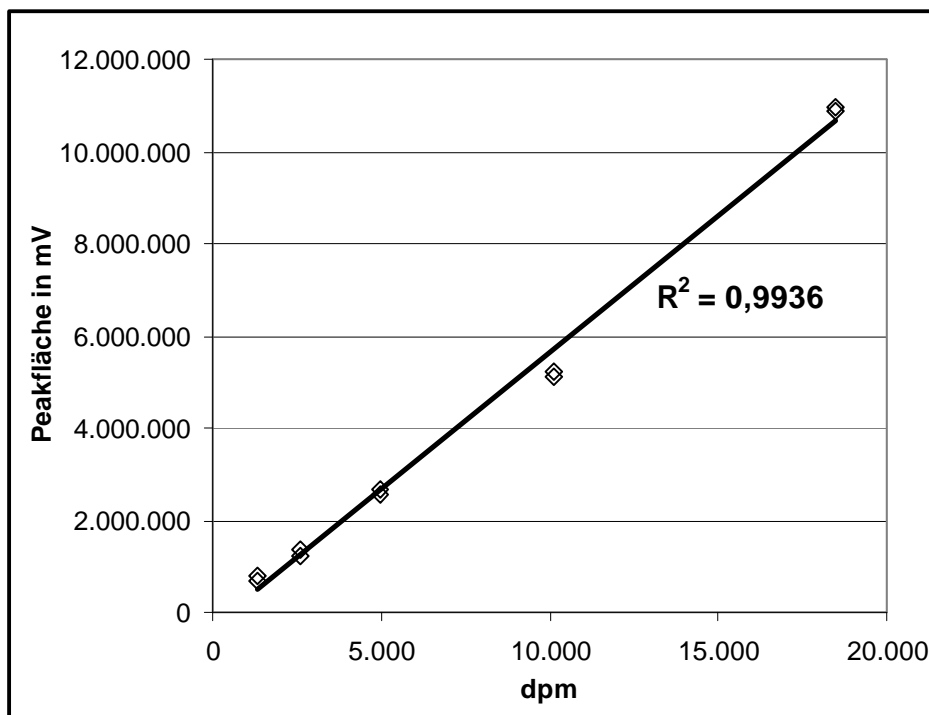


Abbildung 2.9: Kalibriergerade für ^{14}C -Benazolin-Ethyl, aufgetragen wurde die Peakfläche in mV gegen die eingespritzte Radioaktivität in dpm

2.5.6 Bestimmung der mit Kalziumchlorid extrahierbaren ^{14}C -Rückstände von Benazolin-Ethyl in der ASE

Für die Auffindung von Verlusten bei einzelnen Ansätzen bei der zuvor gezeigten sequentiellen Extraktion von Rückständen von ^{14}C -Benazolin-Ethyl (Kapitel 2.5.2 und 2.5.3) kam nur eine Extraktion in der ASE in Frage, da die Wassergesättigten Proben nach der Chloridextraktion mit Schütteln nicht ohne Trocknung verbrannt werden konnten. Um die Bedingungen möglichst ähnlich zu halten wurde ebenfalls 4 mal (4 Zyklen = cycles) und ohne Überdruck und bei Zimmertemperatur extrahiert. Die genauen Bedingungen waren wie folgt

| | | | |
|-------------------------|---------|------------------------|------------------------------|
| Vorheizphase: | 0 min | Extraktionsdruck | 0 bar |
| - Aufheizphase: | 0 min | Extraktionstemperatur: | Aus |
| - Statische Extraktion: | 5 min | Extraktionsmittel: | 100 % 0,01 n CaCl_2 |
| - purge: | 300 sec | Gesamtvolumen: | 110 % |
| - cycles: | 4 | | |

Daran anschließend wurde direkt in derselben Extraktionszelle auch die Acetonextraktion durchgeführt (siehe 2.5.3).

2.5.7 Bestimmung der mit Acetonitril/Wasser extrahierbaren ^{14}C -Rückstände von Benzo(a)pyren

Diese wurden ebenfalls mit der ASE 200, nach dem gleichen Prinzip wie unter 2.5.3 beschrieben, bestimmt. Die getrockneten Proben wurden gemörsert und eingefüllt.

Die Extraktion erfolgte hierbei nach folgender Methode:

| | | | |
|-------------------------|---------|------------------------|--------------------------------|
| - Vorheizphase: | 1 min | Extraktionsdruck | 140 bar |
| - Aufheizphase: | 7 min | Extraktionstemperatur: | 130 °C |
| - Statische Extraktion: | 5 min | Extraktionsmittel: | ACN : Wasser (80 : 20, Vol.-%) |
| - purge: | 300 sec | Gesamtvolumen: | 110 % |
| - cycles: | 5 | | |

Die Überprüfung der Methode ergab auch hier eine vollständige Extraktion frisch applizierten BaPs aus Bodenmaterial ohne Artefakte.

2.5.8 Festphasenextraktion zur Aufreinigung der Bodenextrakte von Benzo(a)pyren

Für die ACN/Wasser-Extrakte war ebenfalls eine Aufreinigung mit Festphasenextraktion notwendig. Hierfür wurden StrataX-Säulen (33µm Polymeric Sorbent 200 mg * 6ml⁻¹, Phenomenex) verwendet. Vorversuche zeigten, dass die Probe bis zu 20 % ACN enthalten konnte ohne das nennenswert Radioaktivität die Extraktionssäule durchbrechen konnte. Der ASE-Extrakt enthielt etwa 40 ml ACN. Da ebenfalls eine leichte Ansäuerung notwendig war wurde ein Gemisch HPLC-Wasser (Merck, Darmstadt) : 0,1 N Salzsäure (Titrisol, Merck, Darmstadt) 159 : 1 hergestellt. Mit diesem Wasser/HCl-Gemisch wurde der ASE-Extrakt bis auf 400 ml aufgefüllt, d.h. der Anteil an ACN im Extrakt betrug etwa 10 %. Der pH-Wert betrug 5. Zur Konditionierung der Festphasensäulen wurden zunächst 6 ml Dichlormethan (Riedel de Haën, Seelze), dann 6 ml ACN und abschließend 6 ml HPLC-Wasser : ACN : 0,1 N HCl (79,5 : 20 : 0,5, Vol.-%) aufgetragen.

Die Beladung der StrataX-Säule mit der Probenlösung erfolgte mit einer Geschwindigkeit von maximal 100 Tropfen pro min. Anschließend erfolgte ein Wasch-Schritt mit 10 ml HPLC-Wasser : 0,1 N HCl (79,5 : 0,5, Vol.-%). Danach wurde die Säule im Stickstoffstrom getrocknet; dann wurde zunächst mit 2 Säulenfüllungen ACN (12 ml) und daran anschließend mit 6 Säulenfüllungen Dichlormethan (36 ml) eluiert (maximal 40 Tropfen pro min). Das Eluat wurde zunächst im Rotationsverdampfer und dann im Stickstoffstrom bis zur Trockene eingengt, der Rückstand in 400 µl ACN aufgenommen und für die HPLC-Analyse (siehe Kapitel 2.5.9) verwendet.

Die Effizienz des Clean-up-Verfahrens wurde durch Messung der Radioaktivität bei jedem Schritt überprüft. Die Verluste bei den Beladungs- und Waschschritten betragen 2-5 %. Die Wiederfindungsraten von ¹⁴C-BaP und seiner Metabolite bei der Elution betrug 95-98 %. Bei der Aufkonzentration wurde kein Radioaktivitätsverlust festgestellt.

2.5.9 HPLC-Analyse der Bodenextrakte von Benzo(a)pyren

Die aufgereinigten Bodenextrakte aus Kapitel 2.5.8 wurden zur Identifikation und Quantifizierung von BaP und seiner Metabolite einer HPLC-Analyse unterzogen. Das verwendete HPLC-System bestand im Wesentlichen aus denselben Komponenten wie in Kapitel 2.5.5 beschrieben. Folgende substanzspezifische Änderungen wurden vorgenommen:

Säule: EnviroSep-PP (Phenomenex), Länge 125 mm, Innendurchmesser 4,6 mm mit entsprechender Vorsäule

Gradient: (Tabelle 2.8) Acetonitril, Wasser (beide HPLC-grade, Merck, Darmstadt)

Tabelle 2.8: Verwendeter Gradient zur Analyse von ^{14}C -Benzo(a)pyren und seiner Metabolite in der HPLC

| Zeit (min): | 0 | 3 | 25 | 30 | 35 |
|-----------------|----|----|-----|-----|----|
| Acetonitril (%) | 30 | 30 | 100 | 100 | 30 |
| Wasser (%) | 70 | 70 | 0 | 0 | 70 |

Flussrate: 1,5 ml/min

Injektionsvolumen: 80 μl

Abbildung 2.10 zeigt das Auftrennungschromatogramm von BaP und einiger seiner Metabolite mit UV-Detektion. Zur Bestimmung der Retentionszeit von ^{14}C -BaP und zur Erstellung einer Kalibriergerade wurde ^{14}C -markiertes BaP verwendet und die Peaks im Radiodetektor ausgewertet.

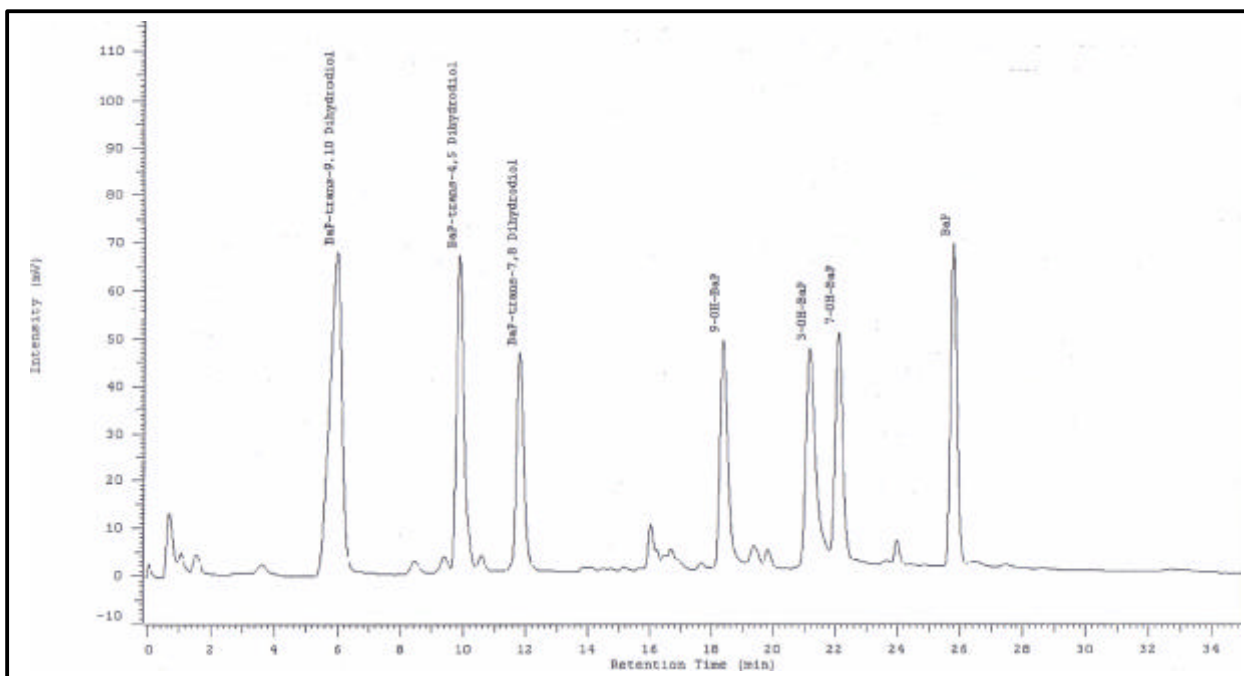


Abbildung 2.10: HPLC-Chromatogramm zur Auftrennung von Benzo(a)pyren und seiner Metabolite mit dem UV-Detektor, abgebildet ist die Intensität (Intensity) in mV über die Retentionszeit (Retention time) in Minuten

Für die Metabolite standen nur unmarkierte Referenzsubstanzen zur Verfügung, somit wurde deren Retentionszeit im UV-Detektor bestimmt. Die Nachweisgrenzen im UV-Detektor lagen bei ca. $50 \text{ pg} \cdot \mu\text{l}^{-1}$ und die des Radiodetektors bei ca. $6 \text{ pg} \cdot \mu\text{l}^{-1}$, das entspricht ca. $2 \text{ dpm} \cdot \mu\text{l}^{-1}$. Die Bestimmungsgrenze im Radiodetektor wurde mit $6,5 \text{ dpm} \cdot \mu\text{l}^{-1}$ ($28 \text{ pg} \cdot \mu\text{l}^{-1}$) ermittelt. Bei einem Einspritzvolumen von $80 \mu\text{l}$ entspricht dies 520 dpm ($2,2 \text{ ng}$) und damit etwa $0,025 \%$ des in den Abbaueversuchen applizierten ^{14}C -BaP.

2.5.10 HPLC/MS-Analyse der Bodenextrakte von Benzo(a)pyren

Zur Identifikation von nicht als Referenzsubstanz vorliegenden Metabolite wurde ein LCQ/MS (Thermo Finnigan) verwendet. Die zu bestimmenden unbekannt Metabolite wurden zur besseren Auftrennung mit einem längeren Gradienten und einer Flussrate von 0,8 ml*min⁻¹ untersucht (Tabelle 2.9).

Tabelle 2.9: Gradient zur Analyse von ¹⁴C-Benzo(a)pyren und seiner Metabolite mit dem LCQ/MS

| | | | | | |
|------------------------|----|----|-----|-----|----|
| Zeit (min): | 0 | 5 | 45 | 50 | 55 |
| Acetonitril (%) | 30 | 30 | 100 | 100 | 30 |
| Wasser (%) | 70 | 70 | 0 | 0 | 70 |

Es wurde ein SIM (Selected Ion Massspectrum) durchgeführt, mit dem die zu erwartenden Massen ausgewählt wurden (CLARK 1987).

2.5.11 Quantifizierung der nicht extrahierbaren ¹⁴C-Rückstände bzw. der ¹⁴C-Gesamtrückstände

Zur Bestimmung der nicht extrahierbaren ¹⁴C-Rückstände (NER) wurden die Bodenproben im Anschluss an die ASE-Extraktion in einem spezifischen Verbrennungsautomaten (Oxidizers 306, Canberra-Packard GmbH, Dreieich) verbrannt. Dazu wurde der extrahierte Boden erneut gemörsert. Jeweils 5 Aliquote a 300 mg wurden in spezifische Verbrennungshütchen (Packard, Zürich, Schweiz) eingewogen und mit vier bis fünf Tropfen einer gesättigten Zuckerlösung beträufelt. Vor der Verbrennung wurden die Bodenproben über Nacht bei 104 °C getrocknet.

Sollte zu Vergleichszwecken bzw. zur Bestimmung etwaiger ¹⁴C-Verluste (z.B. durch die Extraktionsmethode) die Menge an ¹⁴C-Gesamtrückständen in einer nicht extrahierten Bodenprobe bestimmt werden, so wurde eine so genannte „Frischverbrennung“ durchgeführt. Hierfür wurde der Boden direkt aus dem Probengefäß entnommen, homogenisiert und nach der Einwaage mit Zuckerlösung beträufelt. Zusätzlich wurde der Wassergehalt des Bodens bestimmt, da die Menge an ¹⁴C-Rückständen jeweils auf das Trockengewicht des Bodens bezogen wurde. Die Proben wurden direkt nach der Einwaage verbrannt oder bei -18 °C gelagert.

Die Proben wurden im Verbrennungsautomaten (Oxidizers 306, Canberra-Packard GmbH, Dreieich) verbrannt. Das bei der Verbrennung entstandene CO₂/¹⁴CO₂ wurde mit Hilfe des Lösungsmittels Carbo-Sorb (Packard, Groningen, Niederlande) aufgefangen und mit dem Scintillationscocktail Permafluor E⁺ (Packard, Groningen, Niederlande) vermischt. Die Messung des enthaltenen ¹⁴CO₂ erfolgte mittels Flüssigszintillation (Tri-Carb 1900 TR, Canberra-Packard GmbH, Dreieich).

2.6 Versuche zur Mineralisierung von ^{14}C -Benzo(a)pyren durch bodenbürtige Mikroorganismen in Bodensuspensionen und Flüssigkulturen

Um adaptierte mikrobielle Gemeinschaften und insbesondere deren Funktion des Abbaus von Benzo(a)pyren besser untersuchen zu können wurde die Mineralisierung von ^{14}C -BaP in Bodensuspensionen bzw. Flüssigkulturen untersucht. Als Bodensuspensionen wurden Gemische bezeichnet, in denen 5 g Boden mit 25 ml Flüssigkeit vermischt wurden, da dort der Bodenanteil erheblich ist (sandiger Bodensatz und sehr starke Trübung). Verdünnungen aus diesen Bodensuspensionen wurden dann als Flüssigkulturen bezeichnet, da dort ein Großteil des Bodens (Grobschluff- und Sandfraktion) nicht mehr enthalten waren und es nur noch eine geringe Trübung gab, wenngleich sehr wohl noch immer Feinschluff und Ton vorhanden waren. In diesen Systemen (in der Flüssigkultur noch mehr als in der Bodensuspension) treten die bodenphysikalischen und chemischen Eigenschaften in den Hintergrund und die Funktionen der Mikroorganismen, sowie die Wechselwirkungen zwischen den Organismen gewinnen an Bedeutung. Des Weiteren können hier zum Abbau von ^{14}C -BaP befähigte Mikroorganismen angereichert und eventuell auch isoliert werden.

2.6.1 Verwendete Nährmedien, Standards und Pufferlösungen

Die im Folgenden aufgeführten Nährmedien und Pufferlösungen wurden mit entionisiertem Wasser, $\text{H}_2\text{O}_{\text{dem}}$, oder filtergereinigtem Wasser, $\text{H}_2\text{O}_{\text{reinst}}$, aus einer Reinstwasseranlage (EasypureTM UV / UF D8612-33, Werner GmbH, Leverkusen) hergestellt. Der pH-Wert wurde mit NaOH- und HCl-Lösungen verschiedener Molaritäten an einem pH-Meter (InoLab, WTW, Weilheim) eingestellt. Um das Vorkommen bodenfremder Mikroorganismen auszuschließen wurden die Nährmedien, Pufferlösungen und Verbrauchsmaterialien zuvor sterilisiert; dies erfolgte, wenn nicht anders erwähnt, in einem Wasserdampf Hochdruckautoklaven (Vapoklav Typ 500, H+P Labortechnik GmbH, München) für 20 min bei 121°C.

2.6.1.1 Mineralsalz-Medium (MS-Medium)

Für die Versuche zur Mineralisierung von Benzo(a)pyren in Bodensuspensionen und Flüssigkulturen wurde das MS-Medium nach Sørensen et al. (2001) verwendet. Hierbei handelte es sich um ein Mineralsalzmedium dem Benzo(a)pyren als einzige C-Quelle zugegeben wurde. Es diente auch zur Anreicherung von Mikroorganismen aus dem Boden. In einem Liter Mineralsalzmedium (MS-Medium) waren folgende Substanzen enthalten:

| | |
|---|---|
| 1,36 Gramm KH_2PO_4 | 1,78 Gramm $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ |
| 0,5 Gramm $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ | 3,03 Gramm KNO_3 |
| 0,05 Gramm $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ | 0,01 Gramm CaCl_2 |
| 2,86 Milligramm H_3BO_4 | 1,54 Milligramm $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ |
| 0,04 Milligramm $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ | 0,21 Milligramm ZnCl_2 |
| 0,041 Milligramm $\text{CoCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ | 0,025 Milligramm $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ |

$\text{H}_2\text{O}_{\text{dem}}$ ad 1000 ml

pH-Wert 7,2;

20 min bei 121°C autoklaviert

Nach dem Abkühlen wurden $5,14 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1} \text{ FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ sterilfiltriert zugeben.

Bei Versuchen zur Mineralisierung von ^{14}C -Benzo(a)pyren (BaP) mit geringer Konzentration wurden dem Flüssigmedium $6 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ BaP zugegeben, bei hoher Konzentration $30 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, jeweils erst bei Versuchbeginn.

2.6.1.2 Herstellung von festem Nährmedium mit PC-Medium und Pilzmedium

Zur Herstellung von festem Nährmedium aus PC-Medium wurden 5 g Pepton aus Casein, 2,5 g Hefeextrakt und 14 g Agar in 1000 ml Wasser ($\text{H}_2\text{O}_{\text{reinst}}$) gelöst. Anschließend wurde der pH-Wert auf 7,0 eingestellt und dann bei $121 \text{ }^\circ\text{C}$ für 20 Minuten autoklaviert. Dieses komplexe Medium ist geeignet Mikroorganismen schnell wachsen zu lassen

Für die Anzucht von Pilzen auf Agarmedien wurde dem PC-Medium vor dem Einstellen des pH-Wertes 0,5 ml einer „Rose von Jericho“ –Lösung zugegeben, die das Bakterienwachstum unterdrückt.

2.6.1.3 Weitere Flüssigmedien

Um zu testen welche Medien für Dauerkulturen von ^{14}C -Benzo(a)pyren abbauenden Mikroorganismengesellschaften geeignet wären wurden aus der Literatur weitere Medien hergestellt, deren Zusammensetzung (pro l) und Quelle im Folgenden kurz beschrieben wird:

- „Peptonmedium“ (KOTTERMAN et al. 1998):
 - o 5 g Pepton aus Casein
 - o 10 g Glukose
 - o $66 \mu\text{M}$ Mn als MnSO_4
 - o ? autoklavieren (20 min bei $121 \text{ }^\circ\text{C}$)
 - o + 10 ml Thiaminlösung ($200 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$), sterilfiltriert
- „Peptonmedium mit Aceton“ (KOTTERMAN et al. 1998):
 - o Herstellung wie das Peptonmedium
 - o Zugabe von 10 ml Aceton nach dem Autoklavieren
- „Phenanthren-Medium“ (KAZUNGA & AITKEN 2000):
 - o 100 mg Phenanthren
 - o 10 mg Pyren
 - o 40 mg Succinat
 - o 40 mg Pepton aus Casein
 - o 40 mg Hefeextrakt
 - o Das Medium wurde autoklaviert (20 min bei $121 \text{ }^\circ\text{C}$).
- „Glukose-Hefe-Medium“ (SACK et al. 1997):
 - o 13 g Glukose
 - o 0,2 g Hefeextrakt
 - o 2,2 g 2,2-Dimethylsuccinat
 - o 0,5 g Ammoniumtartrat
 - o 2 g KH_2PO_4
 - o 0,5 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{ H}_2\text{O}$

- 0,1 g CaCl₂
- 25 mg MnSO₄
- Das Medium wurde autoklaviert (20 min bei 121 °C).
- „Mineralmedium mit Nickel“ (BASTIAENS et al. 2000):
 - 8,8 g Na₂HPO₄ * 2 H₂O
 - 3,0 g KH₂PO₄
 - 1,0 g NH₄Cl
 - 0,5 g NaCl
 - 1 ml einer 1M MgSO₄-Lösung
 - 2,5 ml der folgenden Spurenelementlösung (pro Liter Lösung):
 - 23 mg MnCl₂ * 2 H₂O
 - 30 mg MnCl₄ * H₂O
 - 31 mg H₃BO₃
 - 36 mg CoCl₂ * 6 H₂O
 - 10 mg CuCl₂ * 2 H₂O
 - 20 mg NiCl₂ * 6 H₂O
 - 30 mg Na₂MoO₄ * 2 H₂O
 - 50 mg ZnCl₂
 - Der pH-Wert wurde auf 7,0 eingestellt und das Medium autoklaviert (20 min bei 121 °C).
- „Mineralmedium mit Glukose“ (BASTIAENS et al. 2000):
 - Dieses Medium wurde wie das „Mineralmedium mit Nickel“ hergestellt.
 - Aber: Vor dem Autoklavieren wurden 2 g*I⁻¹ Glukose zugegeben.

2.6.2 Mineralisierung von ¹⁴C-Benzo(a)pyren in Flüssigkulturen

2.6.2.1 Versuchsdurchführung

Für die Versuche zur Mineralisierung von ¹⁴C-Benzo(a)pyren im Flüssigmedium wurden 25 ml des jeweiligen Mediums in sterile 100 ml Erlenmeyerkolben gefüllt. Dem Medium wurden 5 g Boden (Trockengewichtsäquivalent, das für 8 Tage bei 20 °C und 20 % Wassergehalt equilibriert worden war) zugegeben (= Flüssigkultur „A“ = FK „A“). Den Ansätzen wurden 150 µg (geringe Konzentration) bzw. 750 µg (hohe Konzentration) BaP zugegeben worin jeweils 85 µg (500.000 dpm) ¹⁴C-markiertes-Benzo(a)pyren enthalten waren. Um den Mikroorganismen künstliche Oberflächen für die Anlagerung zu bieten wurde, wenn nicht anders erwähnt, 1-2 g Blähton zugegeben.

Um während des Versuches den Gasaustausch zwischen Flüssigkeit und Luft zu gewährleisten wurden die Versuchsgefäße auf dem Horizontalschüttler (3005, GFL, Burgwedel) bei einer Frequenz von 100*min⁻¹ geschüttelt. Ein unkontrolliertes Entweichen der Luft aus den Reaktionsgefäßen wurde verhindert, in dem die Zu- und Abluftschläuche jeweils nach dem Luftaustausch mit Schlauchklemmen abgeklemmt wurden. Das Eindringen externer Mikroorganismen in die Flüssigkulturen wurde verhindert, in dem die Zu- und

Abluftschläuche jeweils mit 0,2 µm Filtern (Midisart 2000, Sartorius AG, Göttingen) versehen wurden. Die Mineralisierung von Benzo(a)pyren in den Bodensuspensionen und Flüssigkulturen wurde über die $^{14}\text{CO}_2$ -Freisetzung verfolgt. Wie für das Laborsystem (Kapitel 2.3.1) beschrieben, wurden die Inkubationsgefäße mit drei hintereinander geschalteten Intensivwaschflaschen verbunden. Dreimal wöchentlich (Montag, Mittwoch und Freitag) wurden die Reaktionsgefäße für 90 Minuten belüftet. Die in den Intensivwaschflaschen aufgefangenen Mengen an volatilen ^{14}C -Substanzen und $^{14}\text{CO}_2$ wurden nach den in Kapitel 2.3.2 beschriebenen Methode bestimmt.

Um die zum Abbau von Benzo(a)pyren befähigte mikrobielle Gemeinschaft im Flüssigmedium anzureichern und gleichzeitig die hohe BaP-Konzentration des Inokulumsboden herabzusetzen, wurde 1 ml der Flüssigkultur „A“ in 24 ml frisches Medium übertragen (= Flüssigkultur „B“ = FK „B“). Dieser Vorgang wird als Überimpfen bezeichnet. Auch in dieser Kultur wurde die Mineralisierung von ^{14}C -BaP, wie für die Flüssigkultur „A“ beschrieben, gemessen. Durch weiteres Überimpfen (Flüssigkultur „C“, „D“ usw.) wurde die Möglichkeit zur Erhaltung von Dauerkulturen mit der gleichen Methode geprüft.

Bis zur Überimpfung wurden die Flüssigkulturen bis zu 35 Tagen bei 20 °C im Dunkeln inkubiert.

2.6.2.2 Bestimmung der ^{14}C -Aktivität in Bodensuspensionen und Flüssigkulturen

Am Ende der Versuche zur Mineralisierung von ^{14}C -BaP in Flüssigkulturen ohne Blähton wurde die in der Zellkultur bzw. im filtrierten Medium verbliebene Radioaktivität bestimmt. Dazu wurden 500 µl der aus den Inkubationsgefäßen entnommenen Probe filtriert (0,2 µm VectraSpin Anapore- filters from Whatman, Maidstone, England). Aliquote à 100 µl der unfiltrierten und der filtrierten Kultur wurden mit jeweils 15 ml Szintillationscocktail (Ultima Gold XR, Packard, Dreieich) versetzt und mittels Flüssigszintillation (Wallac 1414 WinSpectral DSA, Turku, Finnland) die Radioaktivität bestimmt.

2.6.2.3 Bestimmung der Lebendzellzahl von Mikroorganismen in Bodensuspensionen und Flüssigkulturen

Zur Bestimmung der Lebendzellzahl von Mikroorganismen in Flüssigkulturen wurden jeweils 100 µl einer den Flüssigkulturen entnommenen Probe eingesetzt. Die 100 µl Ausgangskultur wurden einer achttufigen dezimalen Verdünnungsreihe mit 1 x PBS-Puffer unterzogen. Anschließend wurden jeweils 100 µl mehrerer Verdünnungsstufen auf Agarplatten mit PC-Medium ausplattiert, bei 20 °C inkubiert und nach 14 Tagen die Lebendzellzahl durch Auszählen der koloniebildenden Einheiten (KBE) bestimmt.

2.6.2.4 Isolierung von Benzo(a)pyren abbauenden Mikroorganismen

Zur Isolierung von BaP abbauenden Mikroorganismen wurden die in Kapitel 2.6.1.2 beschrieben Agarplatten verwendet. Außerdem wurden die Flüssigkulturen auf Agarplatten mit Pilzmedium (siehe Kapitel 2.6.1.2) ausplattiert. Nach 14 Tagen Inkubation bei 20 °C im Dunkeln wurden Mikroorganismenkolonien, die sich optisch unterscheiden ließen, auf frischen Vollmedium- bzw. Pilzmedium-Agarplatten ausgestrichen. Nach weiterer zweiwöchiger Inkubation auf den Agarplatten, wurde die Fähigkeit zur BaP Mineralisierung

der isolierten sowie der wieder vereinigten Arten in Flüssigkulturen, wie in Kapitel 2.6.2 dargestellt, überprüft. Die Flüssigkulturen wurden dabei mit ein oder zwei Impfösen der auf den Agarplatten angewachsenen Mikroorganismenarten beimpft.

2.7 Transfer mikrobieller Gemeinschaften zur Steigerung des Abbaus von Benzo(a)pyren in Böden

Es wurden die im Folgenden beschriebenen Methoden angewendet, um die mikrobielle Gemeinschaft des Bodens High-Cont, die zu einer hohen Mineralisierung von Benzo(a)pyren im Boden fähig war, auf die andere Versuchsböden zu übertragen. Der Effekt der übertragenen mikrobiellen Gemeinschaft auf die Mineralisierung von Benzo(a)pyren im Zielboden wurde zunächst in Laborversuchen getestet, die nach den oben beschriebenen Methoden (Kapitel 2.3 und 2.5) durchgeführt wurden.

2.7.1 Transfer der Mikroorganismen mittels Bodeninokulum (= Modifikation „BI“)

Eine Möglichkeit zur Übertragung der mikrobiellen Gemeinschaft auf den Zielboden war das Untermischen von 1 % des Inokulumbodens (0,5 g auf 50 g TS) unter den Zielboden. Dazu wurden die beiden Böden zunächst für 10 Tage bei 20 °C wie unter 2.3 beschrieben equilibriert. Unmittelbar nach der Applikation von Benzo(a)pyren auf den Zielboden wurde dann eine geringe Menge des vorbereiteten Inokulumbodens unter den Zielboden gemischt.

2.7.2 Transfer der Mikroorganismen mittels Flüssigkultur (=Modifikation „EC“)

Bei der als Modifikation „EC“ („EC“ = enriched culture) bezeichneten Methode wurde die mikrobielle Gemeinschaft des Bodens High-Cont in Bodensuspensionen und Flüssigkulturen angereichert und anschließend auf den Zielboden übertragen. Im ersten Schritt wurde die mikrobielle Gemeinschaft des Bodens High-Cont entsprechend der Methode 2.6.2 in einer Flüssigkultur FK „B“ angereichert. Bei der Applikation von ¹⁴C-BaP auf den Zielboden wurden 1,8 ml der Anreicherungskultur FK „B“ (entspricht $2 \cdot 10^5$ Zellen) anstelle des sonst verwendeten Wassers eingesetzt, um den in diesen Versuchen angestrebten Bodenwassergehalt zu erreichen.

2.7.3 Transfer der Mikroorganismen als Biofilm (= Modifikation „BF“)

Die mikrobielle Gemeinschaft des Bodens High-Cont konnte auch in Form eines auf künstlichen Oberflächen gebildeten Biofilms (= Modifikation „BF“) auf den Zielboden übertragen werden. Dazu wurden künstliche Oberflächen wie Blähton den Anreicherungskulturen des Bodens High-Cont zugegeben, für drei Wochen in diesen Flüssigkulturen inkubiert und anschließend in frisches BaP enthaltendes MS-Medium übertragen. Nach zwei aufeinander folgenden Inkubationsschritten wurde die mikrobielle Gemeinschaft, die nun einen Biofilm auf dem Blähton bildete, auf den Zielboden übertragen. Hierzu wurden die bewachsenen Oberflächen mit einem Löffel aus den Flüssigkulturen abgeschöpft und in sterile Petrischalen überführt. In den Petrischalen wurden die bewachsenen Oberflächen in Häufchen aufgeteilt, die jeweils ca. 1 g trockenem Blähton (Einteilung nach optischem Vergleich mit frischem Aufwuchsmaterial) entsprachen. Die so vorbereiteten Oberflächen wurden bei der Applikation von ¹⁴C-BaP direkt unter den feuchten Zielboden gemischt.

2.7.4 Transfer von Mikroorganismen mittels inokuliertem Maisstroh- und Fichtenspan-Substrat (= Modifikationen „MS“ bzw. „FS“)

Bei dieser Modifikation wurde die mikrobielle Gemeinschaft des Bodens High-Cont im jeweiligen Substrat (Maisstroh oder Fichtenspäne) angereichert und anschließend auf den Zielboden übertragen. Hierzu wurde zunächst das jeweilige Substrat für 20 Minuten bei 120° C autoklaviert (Vapoklav Typ 500, H+P Labortechnik GmbH, München). Anschließend wurden 10 g des autoklavierten Maisstroh- (= Modifikation „MS“) bzw. Fichtenspan-Substrat (= Modifikation „FS“) mit sterilem H₂O_{reinst} angefeuchtet und 2 g TS entsprechender feuchter, equilibrierter (10 Tage bei 20° C im Dunkeln) Boden High-Cont homogen darunter gemischt. Nach etwa 30 Tagen Inkubation war das jeweilige Substrat dicht mit Pilzhyphen und Mikroorganismen bewachsen. Der Zielboden wurde nach ¹⁴C-BaP Applikation (Kapitel 2.3.3) mit 1 g bewachsenem Substrat inokuliert. Es wurde ein Bioabbauersuch nach Kapitel 2.3 durchgeführt. Als Kontrolle diente mit sterilem Substrat inokulierter Boden.

2.8 Bestimmung der mikrobiellen Aktivität in den Projektböden mit Mikrokalorimetrie

Bei der Mikrokalorimetrie wird die Wärmeenergie gemessen, die durch die mikrobielle Aktivität (und andere untergeordnete exotherme Prozesse) in einer Bodenprobe frei wird. Die Bodenproben wurden hierzu bei den Versuchsbedingungen entsprechenden Bodenfeuchten (20 %, 40 % und 60 % WHK) für 10 Tage equilibriert. Für die Bestimmung der aktuellen Wärmeenergie wurde 1 g des homogenisierten Bodens (4 Wiederholungen) in Glasampullen eingewogen und mit einer Alukappe abgedeckt. Die freiwerdende Wärmeenergie wurde in einem Mikrokalorimeter (2277 BioActivity Monitor, LKB, Bromma, Schweden) gemessen, das die Temperaturkurve mit Plotter aufnahm. Zur Bestimmung der potentiellen Wärmeenergie wurde vor dem Einwiegen 1 % Glucose untergemischt. Anschließend wurden die Ampullen geöffnet und für 24 h bei 104 °C im Trockenofen getrocknet um den Wassergehalt und das Trockengewicht zu bestimmen.

Die aktuelle Wärmeenergie zeigt die aktuelle Aktivität im Boden an und über die potentielle Wärmeenergie lässt sich die aktive Biomasse unter diesen Feuchtigkeitsbedingungen ermitteln.

2.9 Charakterisierung des wasserlöslichen organischen Kohlenstoffs (WEOC)

Die Kohlenstoffkonzentration der in Kapitel 2.5.2 gewonnenen WEOC-Extrakte (Water Extractable Organic Carbon) wurde mit Hilfe eines „Total Organic Carbon Analyser“ TOC-5050 (Shimadzu) untersucht unter Verwendung hoher Temperatur und katalytischer Oxidation.

Als weitere Parameter wurden die Adsorption bei $\lambda_{ex} = 254 \text{ nm}$ mit einem UV-Spektrophotometer (Cary 50 Bio von Varian, Australien) und das Fluoreszenzspektrum, ebenfalls bei $\lambda_{ex} = 254 \text{ nm}$ mit einem Fluoreszenz Spektrophotometer (Cary Eclipse von Varian, Australien) gemessen. Ein typisches Emissionsspektrum zeigt Abbildung 2.11.

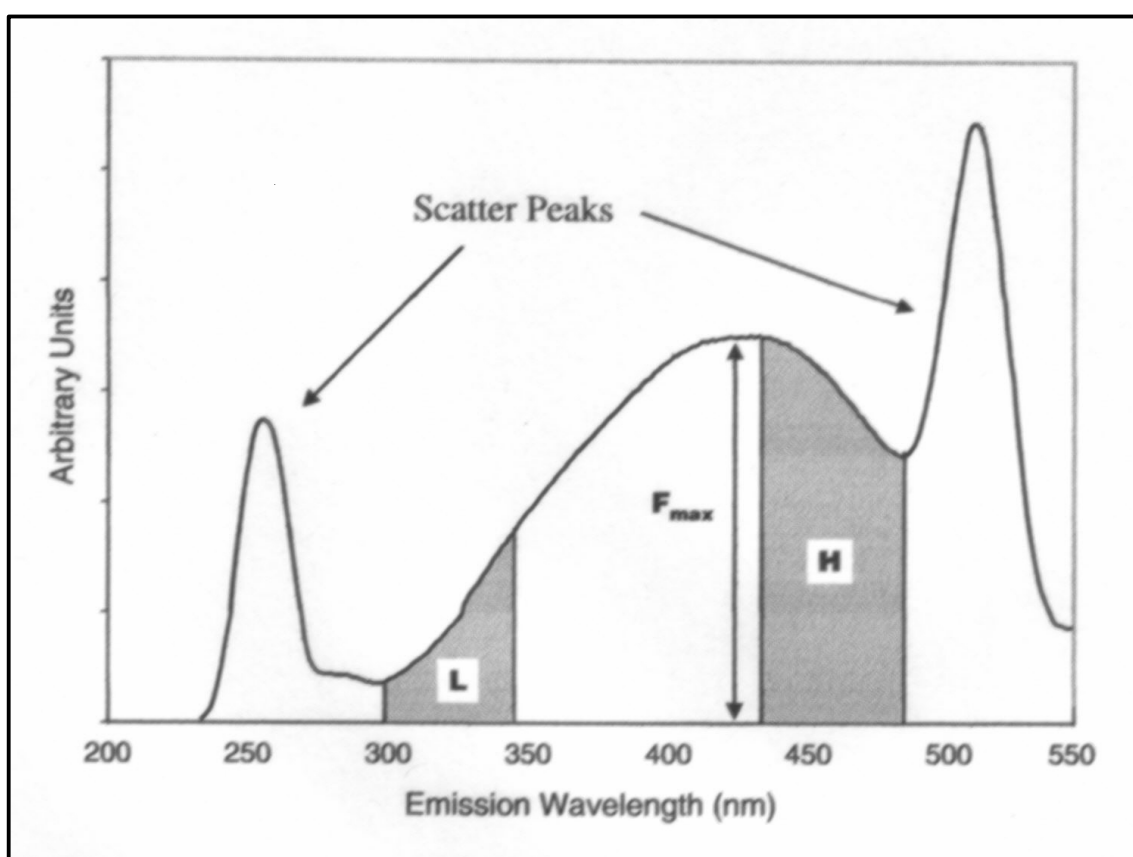


Abbildung 2.11: Typisches Fluoreszenzspektrum bei $\lambda_{ex} = 254 \text{ nm}$, mit F_{max} = Fluoreszenzmaximum, L = unteres Fluoreszenzviertel ($\lambda_{em} = 300\text{-}345 \text{ nm}$) und H = oberes Fluoreszenzviertel ($\lambda_{em} = 435\text{-}480 \text{ nm}$), (ZSOLNAY 2003)

Die relative Fluoreszenz wurde berechnet als Quotient zwischen maximaler Fluoreszenz (F_{max}) und WEOC (Konzentration):

$$F_{rel} = F_{max} * WEOC_{conc}^{-1}$$

Der Humifizierungsindex (HIX) wurde nach ZSOLNAY (2003) berechnet. Dem HIX liegt zugrunde, dass bei steigender Humifikation das Verhältnis von C zu H zunimmt und die Wellenlängen der Fluoreszenz länger werden.

Der HIX berechnet sich aus dem Quotient zwischen der Fläche des oberen Fluoreszenzviertels (H) und der Fläche des unteren Fluoreszenzviertels (L):

$$\text{HIX} = \text{H} * \text{L}^{-1}$$

Zu 5 ml des WEOC-Extraktes wurden 0,5 g Bodeninokulum hinzugefügt und 7 Tage bei 20 °C im Dunkeln inkubiert um die Abbaubarkeit von WEOC zu ermitteln. Kohlenstoffkonzentration, F_{rel} und HIX wurden am Tag der Inokulumzugabe und 7 Tage danach bestimmt um somit die Abbaubarkeit von WEOC zu ermitteln.

2.10 Bestimmung bodenphysikalischer Parameter

2.10.1 Bestimmung der maximalen Wasserhaltekapazität der Versuchsböden

Die maximale Wasserhaltekapazität wurde nach NEHRING (1960) bestimmt. Hierbei wurde ein Glaszylinder (16 cm Höhe und 4 cm Durchmesser) mit auf 2 mm gesiebt Bodenmaterial gefüllt und mit Wasser aufgesättigt. Der gesättigte Bodenzylinder wurde abgedeckt und auf feuchtes Filterpapier gestellt. Der so entwässerte Boden wurde alle 30 Minuten gewogen, bis bei zwei aufeinander folgenden Wägungen kein Gewichtsverlust mehr festzustellen war. Die maximale Wasserhaltekapazität wurde in Gewichtsprozent % der Trockensubstanz des Bodens angegeben.

Tabelle 2.10: Maximale Wasserhaltekapazität (WHK) der Böden Incept-Int, Alfi-Con, Molli-High, Molli-Norm und Molli-Low in Gewichtsprozent bezogen auf das Trockengewicht des Bodens.

| Boden | WHK (%) |
|------------|---------|
| Incept-Int | 58,56 |
| Alfi-Con | 42,07 |
| Molli-High | 59,37 |
| Molli-Norm | 53,2 |
| Molli-Low | 39,16 |

2.10.2 Bestimmung der pF-WG-Kurven

Die pF-WG-Kurven wurden am Institut für Bodenkunde der TU München/Weihenstephan nach dem Verfahren von SCHLICHTING et al. (1995) aufgenommen.

Im Gegensatz zur Methode von SCHLICHTING et al. (1995) wurden 10 cm³ Stechzylinder aus V2R-Stahl verwendet in die das Bodenmaterial mit einer Dichte von 1,3-1,4 g*cm⁻³ eingefüllt wurde. Die gemessenen pF-Werte und die damit zusammenhängenden entleerten Porengrößen können Tabelle 2.11 entnommen werden.

Tabelle 2.11: Bei der Aufnahme von pF-WG-Kurven gemessene pF-Werte, die dazugehörigen Durchmesser der entleerten Poren und die angelegten Drucke

| | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------------|------|-----|------|------|------|------|-----|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|
| pF-Wert | 0 | 1 | 1,30 | 1,48 | 1,78 | 1,88 | 2 | 2,18 | 2,48 | 2,70 | 2,97 | 3,18 | 3,48 | 3,70 | 3,85 | 4,18 |
| Porengr. (µm) | >300 | 300 | 150 | 100 | 50 | 40 | 30 | 20 | 10 | 6 | 3,19 | 2 | 1 | 0,6 | 0,43 | 0,2 |
| Druck (hPa) | 0 | 10 | 20 | 30 | 60 | 75 | 100 | 150 | 300 | 500 | 940 | 1500 | 3000 | 5000 | 7000 | 15000 |

Die Umrechnung der pF-Werte in das wassergefüllte Porengrößenverteilung erfolgte nach HARTGE & HORN (1999) und SCHEFFER & SCHACHTSCHABEL (1992).

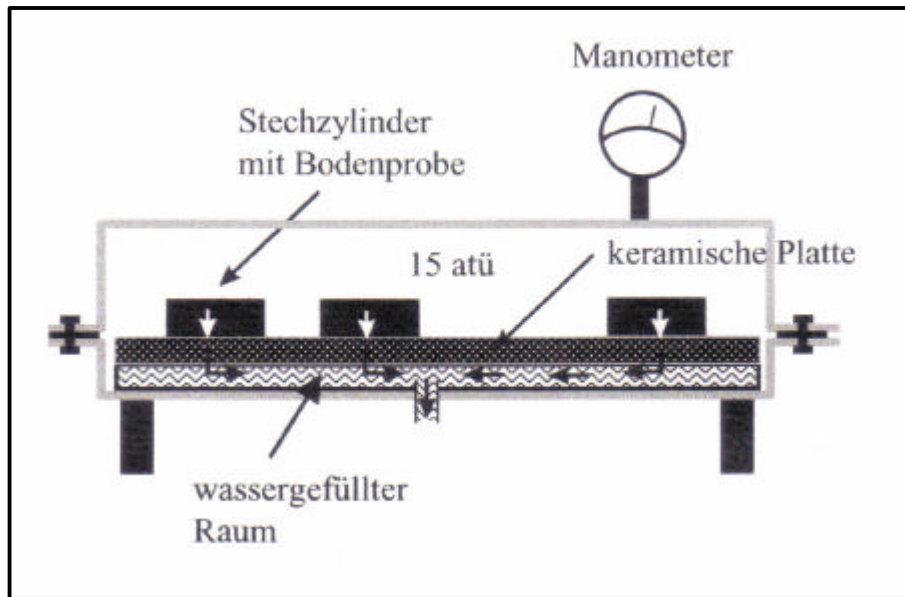


Abbildung 2.12: Bestimmung der pF-WG-Kurve mit der Überdruckmethode (aus DURNER 2001)

2.10.3 Bestimmung des Kd-Wertes für ^{14}C -Benzolin-Ethyl und Benzolinsäure

Der Kd-Wert wurde nach der OECD-Richtlinie 106 (EEC DIRECTIVE 79/831) bestimmt. Es wurde die Adsorption von ^{14}C -Benzolin-Ethyl und ^{14}C -Benzolinsäure in den Böden auf folgende Weise bestimmt: 7 g (TS) Boden wurden in Teflonzentrifugenbechern mit 35 ml einer 0,01 m CaCl_2 -Lösung versetzt, in der $5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ ^{14}C -Benzolin-Ethyl bzw. Benzolinsäure gelöst waren (Pestizidstandard). Es wurden je 3 Wiederholungen gemacht und als Kontrolle wurde nur Pestizidstandard verwendet. Die Proben wurden im Überkopfschüttler (REAX 1, Heidolph, Deutschland) für 2, 4, 6, 16 Stunden geschüttelt. Nach jedem Schütteln wurden die Proben für 10 Minuten bei $4000 \text{ U} \cdot \text{min}^{-1}$ zentrifugiert (Beckman Zentrifuge und Rotor JA-14, München), je zwei mal 1 ml Aliquot vom Überstand abpipetiert und die Radioaktivität im Szintillationszähler gemessen. Für Benzolin-Ethyl hatte sich nach 4 Stunden ein vorübergehendes Gleichgewicht eingestellt. Nach 6 Stunden jedoch nahm die Löslichkeit wieder deutlich zu, da inzwischen bereits die Umwandlung zur deutlich löslicheren Benzolinsäure eingesetzt hatte. Daher wurde die Messung nach 16 h verworfen.

Der Kd-Wert berechnet sich als Quotient zwischen der Konzentration des adsorbierten Wirkstoffes (C_{ad}) an der Bodenmatrix und Konzentration des gelösten Wirkstoffes (C_{gel}) in der Bodenlösung. C_{gel} ergab sich aus der Szintillationsmessung und C_{ad} ließ sich als Differenz zwischen Anfangskonzentration (C_0) und C_{gel} errechnen. So ergab sich:

$$K_d = (C_0 - C_{\text{gel}}) \cdot C_{\text{gel}}^{-1}$$

2.10.4 Selektive Porenwassergewinnung zur Bestimmung des in-situ-Verteilungskoeffizient IPC (In-situ Partitioning Coefficient) von Benazolin-Ethyl und Benazolinsäure

Die Abbaubarkeit einer organischen Chemikalie im Boden wird u.a. durch die Bioverfügbarkeit der Substanz beeinflusst, die ihrerseits durch die chemisch-physikalischen Wechselwirkungen zwischen Chemikalie und Bodenmatrix bestimmt wird. Die Verteilung einer Chemikalie zwischen der flüssigen und der festen Phase im Boden wird üblicherweise durch den Kd-Wert beschrieben (siehe Kapitel 2.10.3), der unter sehr artifiziellen Bedingungen ermittelt wird.

Mit Hilfe der im folgenden beschriebenen selektiven Porenwassergewinnung sollte überprüft werden, ob die in-situ-Verteilung von Benazolin-Ethyl bzw. Benazolinsäure zwischen fester und flüssiger Bodenphase unter umweltrelevanteren Bodenfeuchten bestimmt werden kann; wenn „ja“, dann sollte untersucht werden ob dieser IPC als Indikator für den Totalabbau von Benazolin-Ethyl dienen kann. Hierzu wurde ¹⁴C-Benazolin-Ethyl zunächst nach der in Kapitel 2.3.3 beschriebenen Methode auf die Versuchsböden (25 g Trockengewicht pro Ansatz) appliziert. Die Versuche wurden bei den gleichen Wassergehalten durchgeführt, wie die Bioabbauversuche, um den IPC mit der entsprechenden Mineralisierung und anderen Abbaudaten (Kapitel 2.3) vergleichen zu können. Die Porenwassergewinnung wurde jeweils parallel in nativen (unbehandelten) und sterilen Bodenproben untersucht. Zur Sterilisation der Bodenproben wurden diese vor der Chemikalienapplikation dreimal im Abstand von jeweils drei Tagen für 20 min bei 121 °C autoklaviert (Varioklav Typ 300E, H+P Labortechnik GmbH, München). Die durch den Sterilisationsprozess verursachten Wasserverluste wurden gravimetrisch bestimmt und jeweils nach dem Abkühlen der Bodenproben durch die Zugabe von sterilem Wasser ausgeglichen. Bis zur selektiven Porenwassergewinnung wurden die applizierten Böden bis zu 5 Tage bei 20 °C im Dunkeln inkubiert. In den sterilen Bodenproben wurde die Verfügbarkeit der Ausgangssubstanz ¹⁴C-Benazolin-Ethyl untersucht während im nativen Boden (ebenso wie in den Bioabbauversuchen) aufgrund der biologischen Aktivität innerhalb der 5-tägigen Inkubation der Großteil des applizierten ¹⁴C als Benazolinsäure vorlag (vergleiche Kapitel 2.2.1).

Nach der Inkubation wurde das Porenwasser mit Hilfe spezifischer Zentrifugenbecher (nach Steinweg, 2002, s. Abbildung 2.13) durch Zentrifugation aus dem Boden extrahiert. Dazu wurde der Zentrifugenbecher wie folgt vorbereitet: Um ein Verstopfen des Porenwasserabflusses zu verhindern, wurde zunächst ein Zellulose-Acetat-Filter (Sartorius AG, Göttingen) mit Porengröße 0,45 µm in das Bodenbehältnis gelegt. Mittels eines Klemmrings wurde darauf ein Zellulosefilter (Dionex GmbH, Idstein) befestigt. Anschließend wurde der feuchte Boden möglichst dicht in das Bodenbehältnis des Zentrifugenbeckers gefüllt. Zur Porenwassergewinnung wurden an der Zentrifuge (J2-21 mit Rotor JA-14, Beckman, München) für jeweils 90 min 3500 U*min⁻¹ (= 800 g), 6400 U*min⁻¹ (=2700 g) und 7600 U*min⁻¹ (=3900 g) angelegt.

Für die Berechnung der Umdrehungszahlen (N) wurde die Gleichung von KUNTZE (1965) für H (Saugspannung) umgeformt, diese lautet:

$$H = h * 2^{-1} * r * N^2 * 90000^{-1}$$

daraus ergibt sich:

$$N^2 = H * 90000 * r^{-1} * h^{-1} * 2$$

Wobei h die Probenhöhe und r der Abstand zur Zentrifugenachse sind.

Tabelle 2.12: Verwendete Umdrehungszahlen (Umdr.) pro Minute bei der Zentrifugation, der daraus nach KUNTZE (1965) berechnete Saugspannung (Saugsp.) in hPa und die entsprechende Porengröße

| Umdr. | Saugsp. | Porengr. |
|-------------------|---------|----------|
| min ⁻¹ | hPa | µm |
| 3500 | 750 | 4 |
| 6400 | 2500 | 1,2 |
| 7600 | 3500 | 0,9 |

Nach jedem Zentrifugationsschritt wurde das Volumen des gewonnenen Porenwassers gemessen. Zur Bestimmung der enthaltenen ¹⁴C-Radioaktivität wurden zwei Aliquote à 100 µl des Extrakts mit 15 ml Szintillationscocktail (Ultima Gold XR, Packard, Groningen, Niederlande) versetzt und im Szintillationszähler (Tri-Carb 1900 TR, Canberra-Packard GmbH, Dreieich) gemessen.

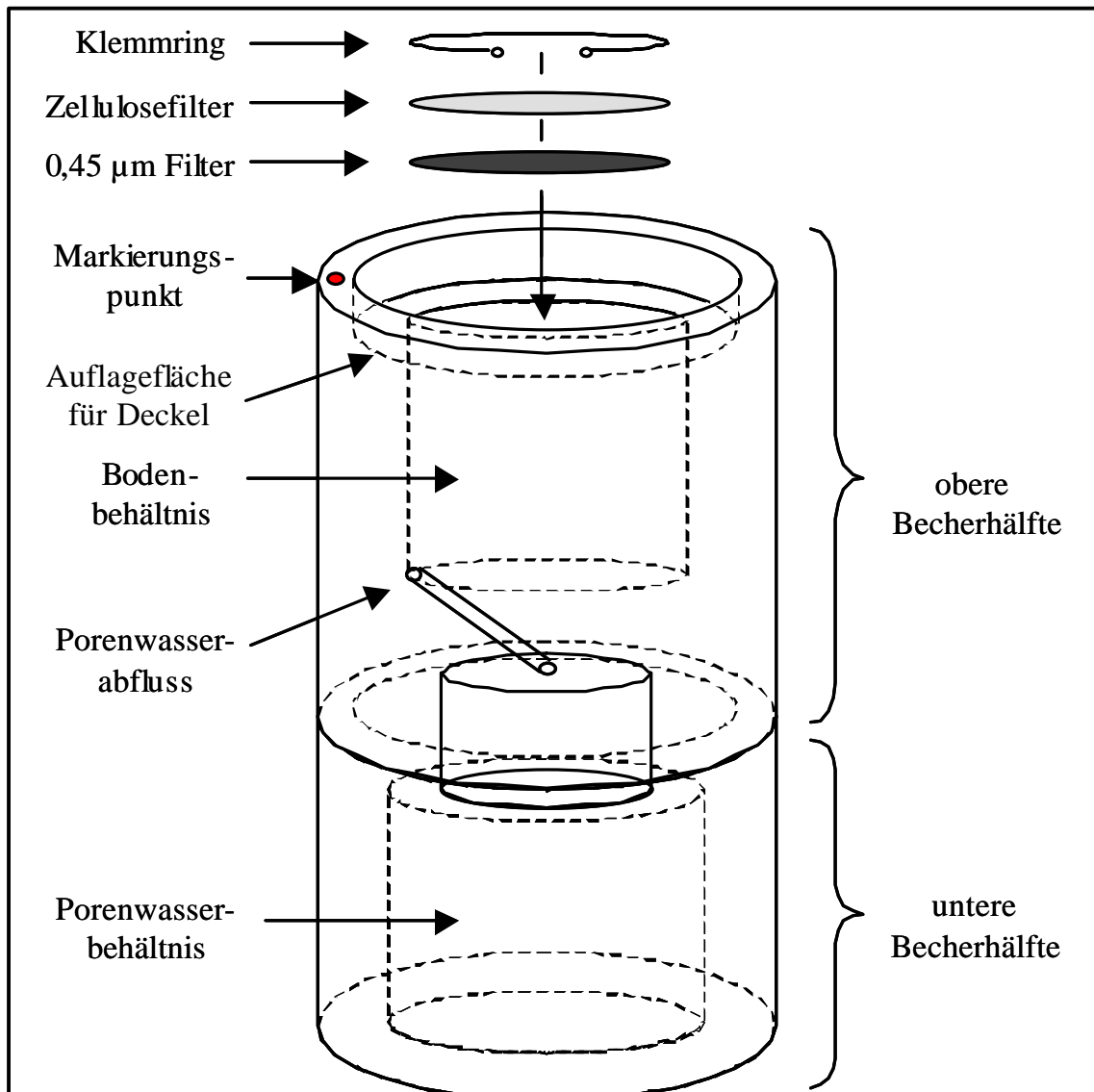


Abbildung 2.13: Schematische Darstellung eines Zentrifugenbeckens (verändert nach Steinweg 2002) zur selektiven Gewinnung von Porenwasser

Ziel der Porenwassergewinnung war auch die Berechnung eines neuen Chemikalien Verteilungskoeffizienten (IPC), der unter „Natur näheren“ Bedingungen gewonnen wurde als der sonst übliche Kd-Wert. In Anlehnung an den Kd-Wert wurde der IPC als Quotient der Chemikalienkonzentration am Boden (= CCS) zur Konzentration im Bodenwasser (= CCW) berechnet, d.h.

$$CPC = CCS * CCW^{-1}$$

Die Berechnung erfolgte wie folgt:

1. Zur Bestimmung der im Bodenwasser gelösten Menge an ^{14}C wurden zunächst die bei unterschiedlichen Geschwindigkeiten extrahierten Chemikalienmengen addiert.
2. Für das nicht extrahierte Restbodenwasser wurde die im letzten Zentrifugationsschritt bestimmte ^{14}C -Konzentration im Porenwasser übernommen und so die Menge an ^{14}C im Gesamten Bodenwasser (^{14}C -gelöst) berechnet.

3. Die Differenz der applizierten Menge an ^{14}C (^{14}C -appl.) minus im Porenwasser gelöstes ^{14}C ergab die von der Matrix zurückgehaltene ^{14}C -Menge (^{14}C -Matrix).
4. Der IPC wurde berechnet als Quotient aus ^{14}C -Matrix und ^{14}C -gelöst:

$$\text{IPC} = {}^{14}\text{C-Matrix} * {}^{14}\text{C-gelöst}^{-1} = ({}^{14}\text{C-appl.} - {}^{14}\text{C-gelöst}) * {}^{14}\text{C-gelöst}^{-1}$$

2.11 Statistische Auswertung

Zur Statistischen Auswertung des Abbaus der Modellchemikalien in den Böden und Flüssigkulturen wurde der t-Test eingesetzt, der sich nach Sachs (1984) zum Vergleich zweier empirischer Mittelwerte normalverteilter Grundgesamtheiten eignet. Mit Hilfe dieses Tests wird geprüft, ob die Mittelwerte der beiden zu vergleichenden Stichproben gleich sind (= Nullhypothese).

$$T = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{2 * \sqrt{s_1^2 + s_2^2}}$$

\bar{x}_1 = Mittelwert der Grundgesamtheit 1

\bar{x}_2 = Mittelwert der Grundgesamtheit 2

s_1 = Standardabweichung der Grundgesamtheit 1

s_2 = Standardabweichung der Grundgesamtheit 2

Wobei die Freiheitsgrade (FG) sich folgendermaßen berechnen:

$$FG = n_1 + n_2 - 2$$

Dazu wird der berechnete Prüfwert (T) mit den Signifikanzschranken der statistischen Tabelle der Student-Verteilung verglichen (vgl. Sachs, 1984). Ist der Prüfwert größer als die Signifikanzschranke, so kann die Nullhypothese abgelehnt werden, d.h. die Mittelwerte sind signifikant verschieden.

Bei Zeitreihen (z.B. Mineralisierung) wurden immer jeweils die entsprechenden Raten zum gleichen Zeitpunkt verglichen. Aufgrund der teilweise stark unterschiedlichen Kurvenverläufe war der Vergleich über Mittelwerte der Prüfwerte nicht sinnvoll. Daher wurden die Werte zu den einzelnen Zeitabschnitten mit einander verglichen.

Bei Einzelwerten (z.B. extrahierbare und nicht extrahierbare Rückstände) wurden diese direkt miteinander verglichen.

2.12 Abschätzung der Adsorption von Benazolin im Boden mit dem Modell von TRAPP & MATTHIES (1996)

Der Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizient (K_{OW}) von Chemikalien ist laut NEMETH-KONDA et al. (2002) ein brauchbarer Parameter für die Vorhersage der Adsorption im Boden. Der K_{OW} wird zusammen mit der Menge an organischem Kohlenstoff (C_{org} in g/g TS) zur vereinfachten Abschätzung des K_d Wertes in vielen Modellen herangezogen, so etwa bei TRAPP & MATTHIES (1996), wo

$$K_d = K_{OC} * C_{org}$$

Wobei K_{OC} der Verteilungskoeffizient zwischen organischem Kohlenstoff und Wasser ist und sich direkt aus dem K_{OW} herleitet. In der Literatur wurden mehrere Regressionen berechnet, unter anderem von Karickhoff (1981) und Schwarzenbach & Westall (1981) beide vorgeschlagen bei TRAPP & MATTHIES (1996):

$$K_{OC} = 0,411 * K_{OW} \quad (\text{Karickhoff 1981})$$

$$\log K_{OC} = 0,72 * \log K_{OW} + 0,49 \quad (\text{Schwarzenbach und Westall 1981})$$

3 Ergebnisse zum Abbau von Benazolin

In Laborversuchen wurde das Abbauverhalten der Modellchemikalie ^{14}C -Benazolin-Ethyl unter kontrollierten Bedingungen (bei konstant 20 °C im Dunkeln) in den Böden Incept-Int, Alfi-Con, Molli-High, Molli-Norm und Molli-Low untersucht.

3.1 Abbauverhalten von ^{14}C -Benazolin-Ethyl in fünf landwirtschaftlichen Böden bei unterschiedlicher Bodenfeuchte

3.1.1 Mineralisierung bei unterschiedlichem Wassergehalt

Der Einfluss des Wassergehaltes auf das Abbauverhalten der Modellchemikalie ^{14}C -Benazolin-Ethyl in den Projektböden wurde in Bioabbauprobversuchen bei den entsprechenden Bodenfeuchten (20 %, 40 % und 60 % der maximalen Wasserhaltekapazität) ermittelt.

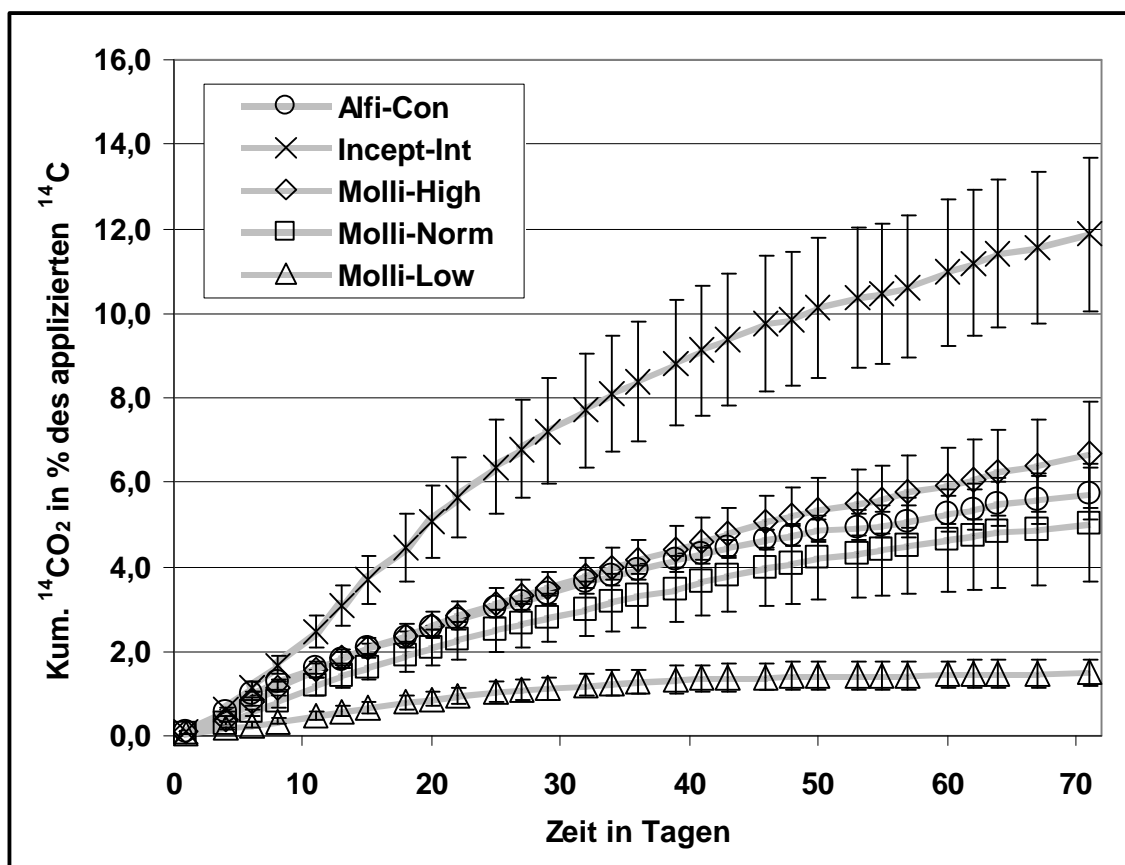


Abbildung 3.1: Verlauf der Mineralisierung von ^{14}C -Benazolin-Ethyl in den Böden Alfi-Con, Incept-Int, Molli-High, Molli-Norm und Molli-Low inkubiert bei einem Wassergehalt von 40 % der maximalen Wasserhaltekapazität (WHK); dargestellt sind Mittelwerte ($n=3$) und Standardabweichung (vertikale Balken).

Es zeigte sich, dass das Abbauverhalten von ^{14}C -Benazolin-Ethyl in den Böden Incept-Int, Alfi-Con, Molli-High, Molli-Norm und Molli-Low sehr unterschiedlich war (Abbildung 3.1) und dass die Bodenfeuchte einen großen Einfluss darauf hatte (Abbildung 3.2).

Bei der mittleren Bodenfeuchte (40 % WHK) zeigte sich ein deutlicher Unterschied zwischen den Böden (Abbildung 3.1). Der Boden Molli-Low wies die geringste Mineralisierung von nur 1,49 % des applizierten ^{14}C -Benazolin-Ethyl nach 70 Tagen auf. Im Gegensatz dazu wies der Boden Incept-Int mit 11,86 % eine 8 mal so hohe Mineralisierung der Chemikalie auf. Dazwischen lagen die anderen drei Böden (Molli-High 6,67 %, Alfi-Con 5,73 % und Molli-Norm 5,03 % Mineralisierung von ^{14}C -Benazolin-Ethyl in 70 Tagen) die keine statistisch signifikanten Unterschiede in der Mineralisierung zeigten.

Der Boden Molli-Low war der einzige bei dem sich die Mineralisierung von ^{14}C -Benazolin-Ethyl nach 70 Tagen zwischen den drei Bodenfeuchten signifikant unterschied (Abbildung 3.2). Mit einer Mineralisierung von 3 % des applizierten Pestizids bei 60 % WHK blieb er deutlich unter den Mineralisierungswerten der anderen Böden bei entsprechenden Bodenfeuchten.

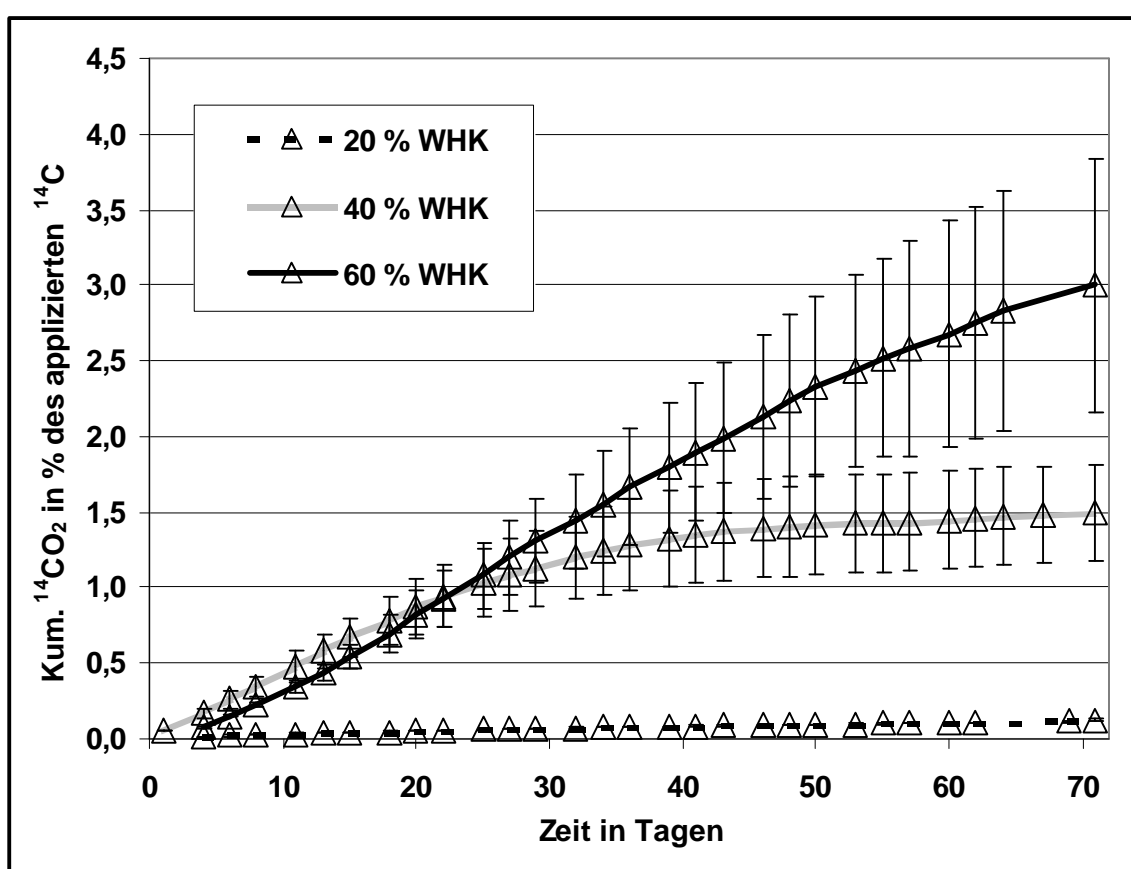
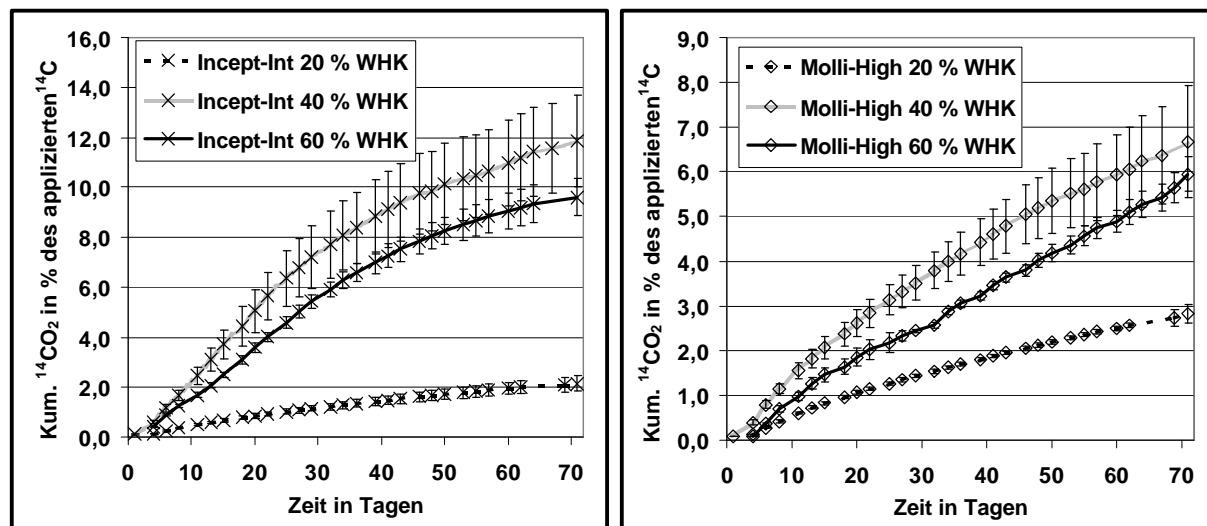


Abbildung 3.2: Verlauf der Mineralisierung von ^{14}C -Benazolin-Ethyl im Boden Molli-Low inkubiert bei unterschiedlicher Bodenfeuchte (20 %, 40 % und 60 % WHK); dargestellt sind Mittelwerte ($n=3$) und Standardabweichung (vertikale Balken).

Die Böden Incept-Int und Molli-High (Abbildung 3.3) erreichten die höchste Mineralisierung von ^{14}C -Benazolin-Ethyl bei einer Bodenfeuchte von 40 % WHK, wenngleich die Unterschiede zwischen den Bodenfeuchten nicht signifikant waren (siehe Anhang 9.2).



a)

b)

Abbildung 3.3: Verlauf der Mineralisierung von ^{14}C -Benazolin-Ethyl in den Böden Incept-Int (a) und Molli-High (b) inkubiert bei unterschiedlicher Bodenfeuchte (20 %; 40 % und 60 % WHK); dargestellt sind Mittelwerte ($n=3$) und Standardabweichung (vertikale Balken).

Anders war es bei den Böden Alfi-Con (Abbildung 3.4 a) und Molli-Norm (Abbildung 3.4 b), die bei 60 % WHK die höchste Mineralisierung aufwiesen, wenngleich die Unterschiede zwischen den Bodenfeuchten 40 % und 60 % WHK nicht statistisch signifikant waren. Im Kurvenverlauf zeigten sich Unterschiede zwischen 40 % WHK und 60 % WHK in den Böden Alfi-Con, Molli-Norm und Molli-Low: Die Kurve der Mineralisierung bei 40 % WHK zeigte jeweils eine höhere Anfangssteigung, flachte später jedoch auch deutlich stärker ab als die Kurve von 60 % WHK. Bei den Böden Alfi-Con und Molli-Norm verlief die Kurve von 60 % WHK zunächst unterhalb der 40 % WHK Kurve (zeitweise sogar signifikant), schnitt jedoch nach 50 (Boden Alfi-Con) bzw. 55 Tagen (Boden Molli-Norm) diese und verlief dann über ihr (Abbildung 3.4).

Bei einer Bodenfeuchte von 20 % WHK zeigten alle Böden die deutlich geringste Mineralisierung.

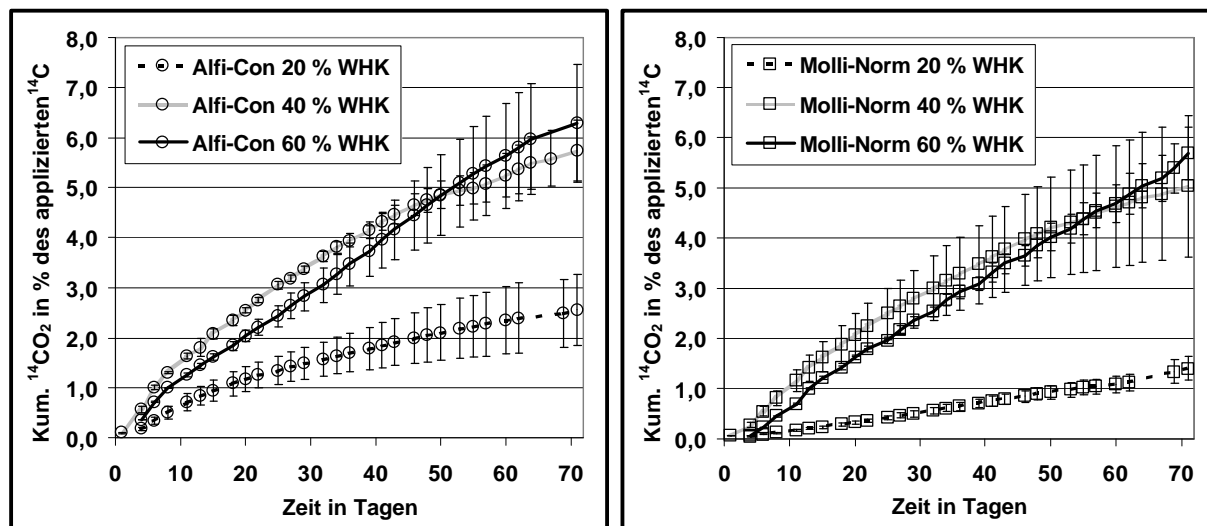
Es zeigte sich auch, dass die Reihung der Böden untereinander bei unterschiedlicher Bodenfeuchte sich änderte.

Zusammenfassend ergab sich für die einzelnen Wassergehalte folgende Reihenfolge der Mineralisierungsintensität:

20 % WHK: Molli-High > Alfi-Con > Incept-Int > Molli-Norm > Molli-Low

40 % WHK: Incept-Int > Molli-High > Alfi-Con > Molli-Norm > Molli-Low

60 % WHK: Incept-Int > Alfi-Con > Molli-High > Molli-Norm > Molli-Low



a)

b)

Abbildung 3.4: Verlauf der Mineralisierung von ^{14}C -Benzolin-Ethyl in den Böden Alfi-Con (a) und Molli-Norm (b) inkubiert bei unterschiedlicher Bodenfeuchte (20 %; 40 % und 60 % WHK); dargestellt sind Mittelwerte ($n=3$) und Standardabweichung (vertikale Balken).

3.1.2 Die Bodenatmung während des Bioabbaubersuchs mit ^{14}C -Benzolin-Ethyl

Die Bodenatmung wurde als Maß für die mikrobielle Aktivität bestimmt. Bei einem Wassergehalt von 40 % WHK verlief die Atmungskurve ähnlich wie die Mineralisierungskurve (Abbildung 3.5) und die Böden hatten auch untereinander die gleiche Reihenfolge wie bei der Mineralisierung: Incept-Int > Molli-High > Alfi-Con > Molli-Norm > Molli-Low (vergleiche Abbildung 3.1, Seite 49).

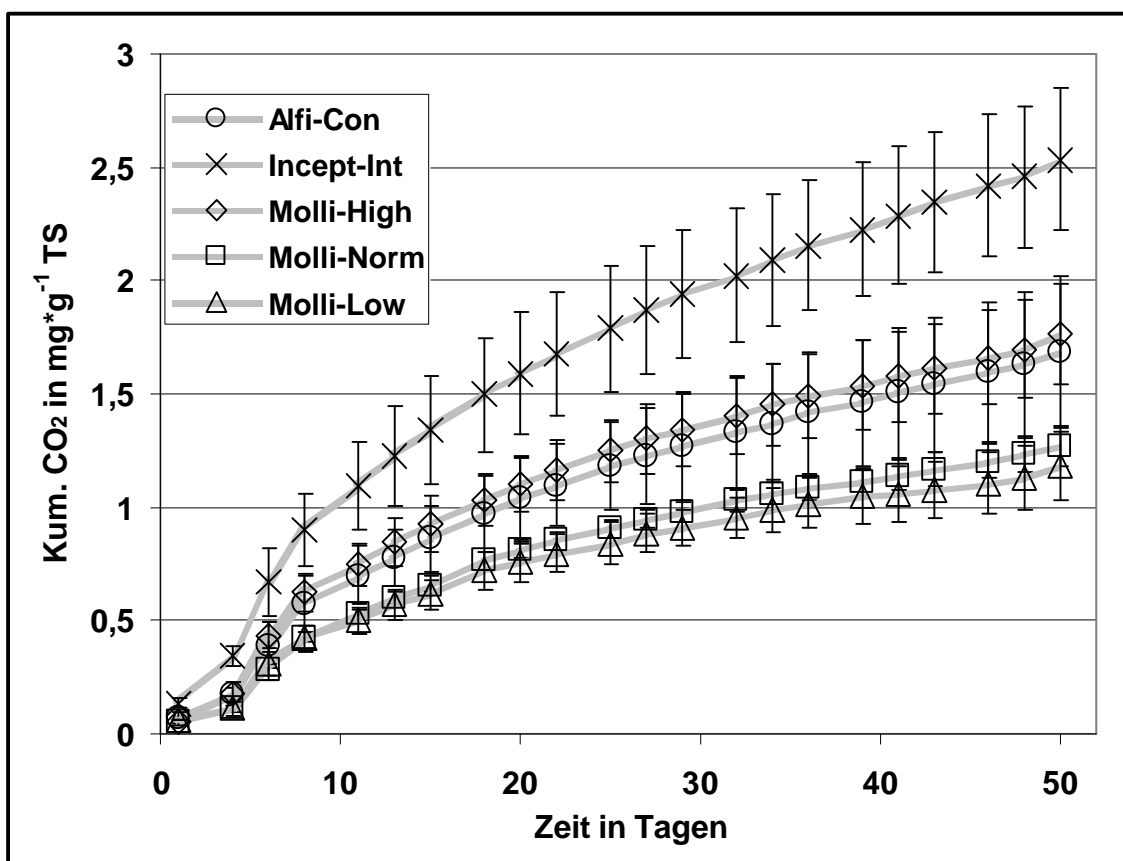
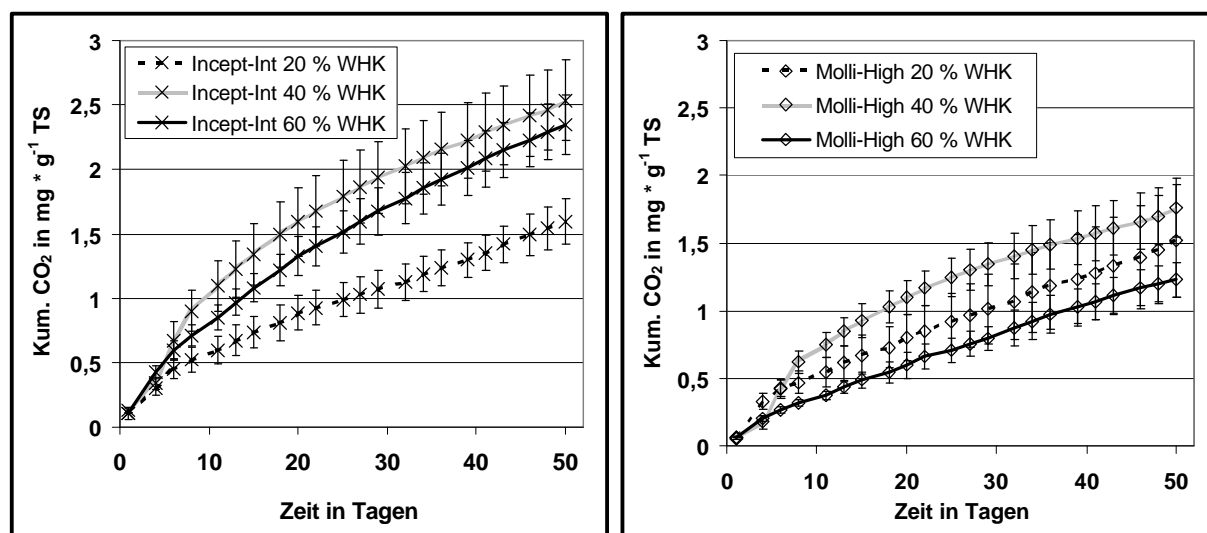


Abbildung 3.5: Verlauf der Bodenatmung beim Abbau von ^{14}C -Benazolin-Ethyl in den Projektböden inkubiert bei 40 % WHK; dargestellt sind Mittelwerte ($n=3$) und Standardabweichung (vertikale Balken).

Dieser Zusammenhang war jedoch für die anderen Bodenfeuchten nicht immer entsprechend: Im Boden Incept-Int nahm zwar die Atmung von 20 % WHK nach 40 % WHK zu und bei 60 % WHK wieder etwas ab (Abbildung 3.6), ebenso wie die Fremdstoffmineralisierung (vgl. Abbildung 3.3, Seite 51); nicht so jedoch im Boden Molli-High, wo bei 60 % WHK die geringste Atmung, aber die höchste ^{14}C -Benazolin-Ethyl Mineralisierung (vergleiche Abbildung 3.3) gemessen wurde.



a)

b)

Abbildung 3.6: Verlauf der Bodenatmung beim Abbau von ^{14}C -Benazolin-Ethyl in den Böden Incept-Int (a) und Molli-High (b) inkubiert bei 20 %, 40 % und 60 % WHK, dargestellt sind Mittelwerte ($n=3$) und Standardabweichung (vertikale Balken).

3.1.3 Extrahierbarkeit von Benazolin-Ethyl-Rückständen mit Kalziumchlorid (CaCl_2) und Aceton in Böden

Die Extrahierbarkeit von ^{14}C -Benazolin-Ethyl und seiner Metabolite nach 70 Tagen Inkubation war folgende: Je höher die Fremdstoffmineralisierung war umso geringer war der Anteil an ^{14}C , das mit 0,01 m CaCl_2 -Lösung extrahierbar war (Abbildung 3.7). Danach konnte aus dem Boden Incept-Int bei 40 % WHK nur 3,8 % der applizierten Menge an ^{14}C mit CaCl_2 -Lösung extrahiert werden, während im Boden Molli-Low bei 40 % WHK 30,2 % extrahierbar waren (Unterschiede statistisch hoch signifikant, siehe Anhang 9.2).

Die Extrahierbarkeit mit Aceton in den besagten 5 Böden war ebenfalls sehr unterschiedlich (Abbildung 3.7), sie reichte von 6,2 % des applizierten ^{14}C im Boden Incept-Int bei 40 % WHK bis 37,5 % im Boden Molli-Norm bei 40 % WHK, allerdings konnte kein direkter Zusammenhang mit der Mineralisierung festgestellt werden.

Für die Bodenfeuchte 60 % WHK lässt sich bezüglich der CaCl_2 - und Aceton extrahierbaren Rückstände dasselbe aussagen: Je geringer die Mineralisierung war, umso höher waren die CaCl_2 -extrahierbaren Rückstände. Bei 20 % WHK war der Anteil der CaCl_2 -extrahierbaren Rückstände in jedem Boden am höchsten, zwischen 21,0 % im Boden Molli-High und 36,5 % im Boden Molli-Norm.

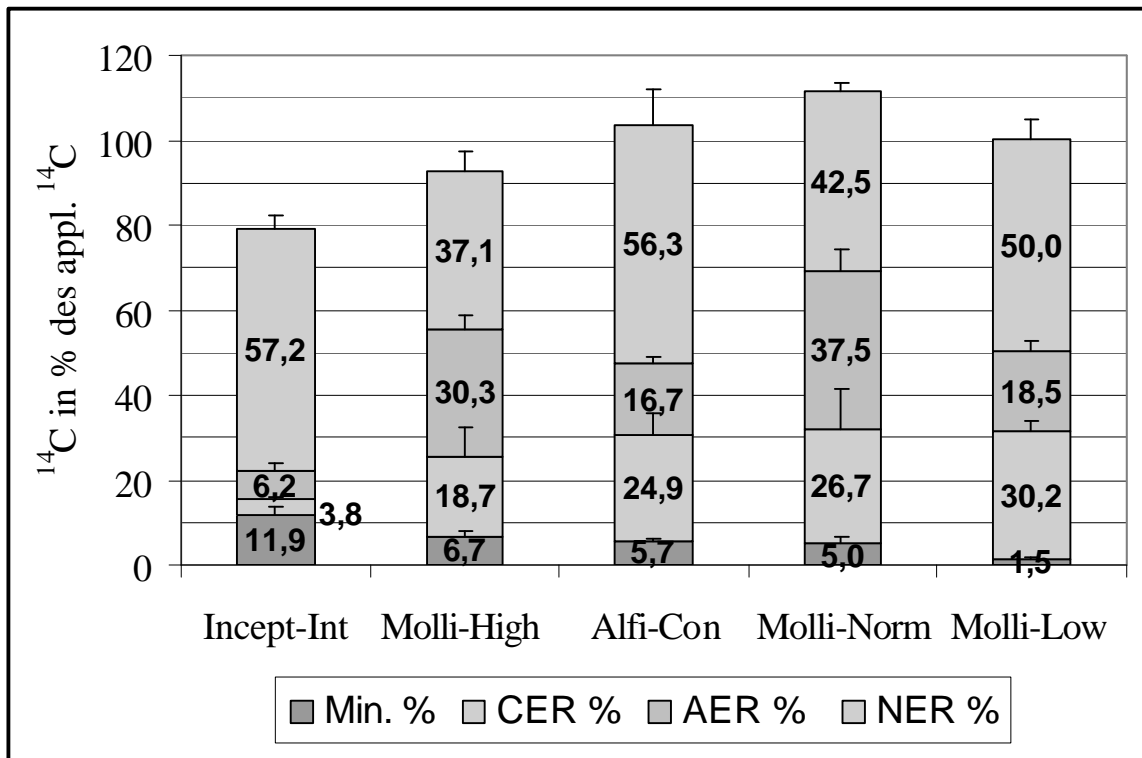
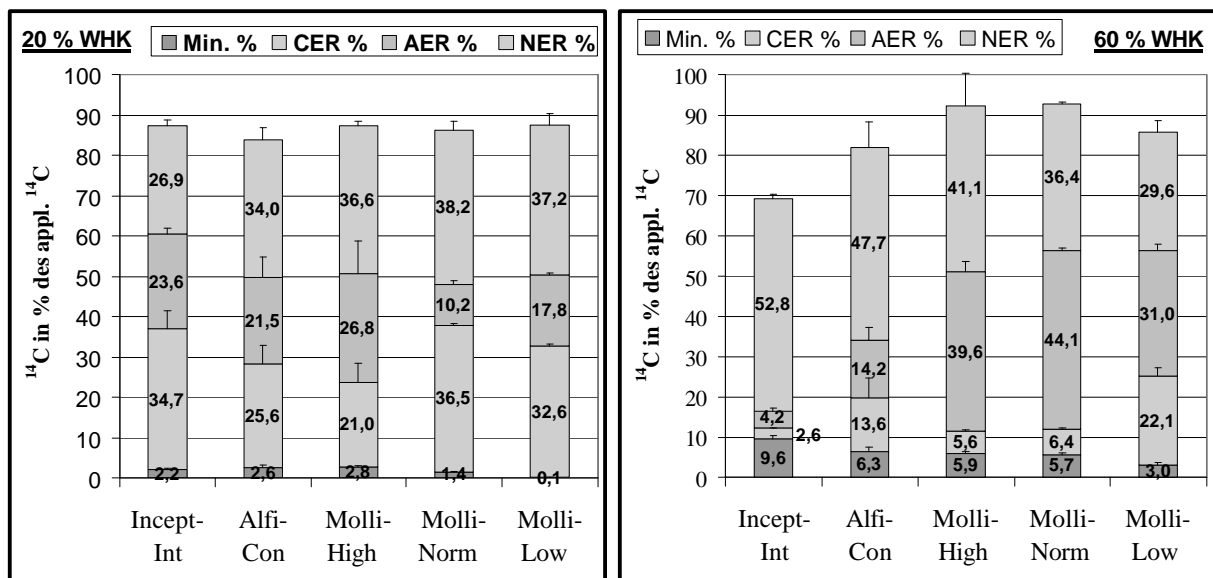


Abbildung 3.7: Mineralisierung (Min.) von ^{14}C -Benzolin-Ethyl, mit 0,01 m CaCl_2 -Lösung extrahierbare (CER), Aceton extrahierbare (AER) und nicht extrahierbare ^{14}C -Rückstände (NER) der Böden Incept-Int, Alfi-Con, Molli-High, Molli-Norm und Molli-Low, nach Inkubation bei 40 % WHK



a)

b)

Abbildung 3.8: Mineralisierung (Min.) von ^{14}C -Benzolin-Ethyl, mit 0,01 m CaCl_2 -Lösung extrahierbare (CER), Aceton extrahierbare (AER) und nicht extrahierbare ^{14}C -Rückstände (NER) der Böden Incept-Int, Alfi-Con, Molli-High, Molli-Norm und Molli-Low, nach Inkubation bei 20 % (a) und 60 % (b) WHK

3.1.4 Metabolitenmuster der Kalziumchlorid- (CaCl_2) und Aceton-Extrakte der inkubierten Böden

Insgesamt konnten ^{14}C -Benazolin-Ethyl, ^{14}C -Benazolinsäure und sechs weitere unbekannte Metabolite nachgewiesen werden, die sich eindeutig in ihrer Retentionszeit unterschieden (Tabelle 3.1). Die Metabolite 2, 4, 5 und 6 hatten von einzelnen Ausnahmen abgesehen (siehe Anhang 9.4) einen Peakflächenanteil von deutlich unter 5 % und werden im Weiteren nicht berücksichtigt.

Tabelle 3.1: Retentionszeit mit Standardabweichung, sowie prozentualer Anteil (Mittelwerte) aller per HPLC nachgewiesener Metabolite von ^{14}C -Benazolin-Ethyl der inkubierten Böden Alfi-Con, Incept-Int, Molli-High, Molli-Norm und Molli-Low

| | Mittl. Retentionszeit | Stabw. | Mittl. Peakflächenanteil in % |
|-----------------|-----------------------|--------|-------------------------------|
| Metabolit 1 | 2,55 | 0,12 | 13 |
| Metabolit 2 | 3,83 | 0,34 | 0 |
| Benazolinsäure | 5,52 | 0,30 | 37 |
| Metabolit 3 | 7,58 | 0,23 | 40 |
| Metabolit 4 | 8,91 | 0,49 | 1 |
| Benazolin-Ethyl | 12,79 | 0,37 | 7 |
| Metabolit 5 | 14,12 | 0,18 | 0 |
| Metabolit 6 | 16,14 | 0,49 | 2 |
| Summe | | | 100 |

Wie ein typisches HPLC-Chromatogramm eines CaCl_2 -Extraktes zeigt (Abbildung 3.9) dominierten in diesem die Metabolite mit kurzen Retentionszeiten. Die Summe der Metabolite 1 und Benazolinsäure war immer über 65 %, zusammen mit Metabolit 3 zusammen über 93 % in den CaCl_2 -Extrakten. Die Ausgangssubstanz Benazolin-Ethyl konnte in keinem CaCl_2 -Extrakt nachgewiesen werden und die Metabolite mit einer Retentionszeit von über 8 Minuten blieben nahezu immer unter 1 % (siehe Anhang 9.4). Die wichtigsten Metabolite waren Metabolit 1 und Benazolinsäure, wobei die Benazolinsäure meist den Hauptmetaboliten in diesem Extrakt bildete.

Ganz anders sah das Bild im Aceton-Extrakt aus: Hier betrug die Chromatogrammfläche der Metabolite 1, 2 und Benazolinsäure immer unter 7 %. Die wichtigsten Metabolite waren hier Metabolit 3 und die Ausgangssubstanz Benazolin-Ethyl (Abbildung 3.10 und Anhang 9.4), die in jeder Probe nachgewiesen werden konnte.

Zusammenfassend zeigte sich erwartungsgemäß, dass die polaren Abbauprodukte (Metabolite 1, 2 und Benazolinsäure) eher im polaren CaCl_2 -Extrakt zu finden waren, während die weniger polaren Metabolite und die Ausgangssubstanz eher im organischen Lösungsmittel Aceton zu finden waren.

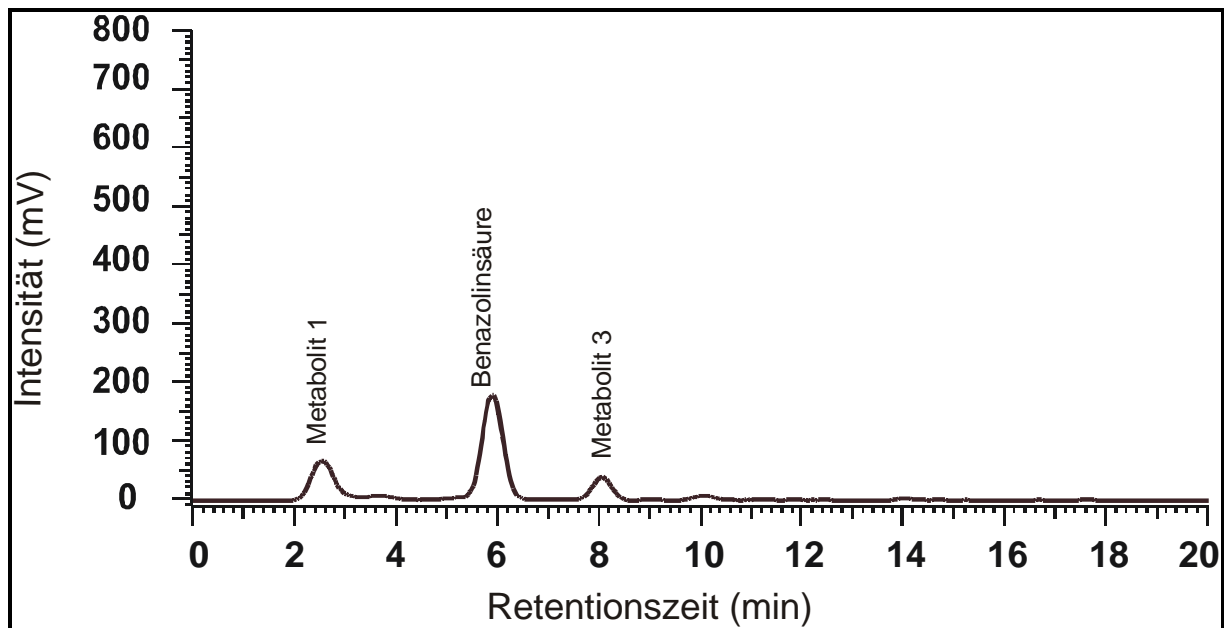


Abbildung 3.9: HPLC-Chromatogramm von ^{14}C -Benazolin-Ethyl und seiner Metabolite im CaCl_2 -Extrakt des Bodens Alfi-Con inkubiert bei einer Bodenfeuchte von 60 % WHK

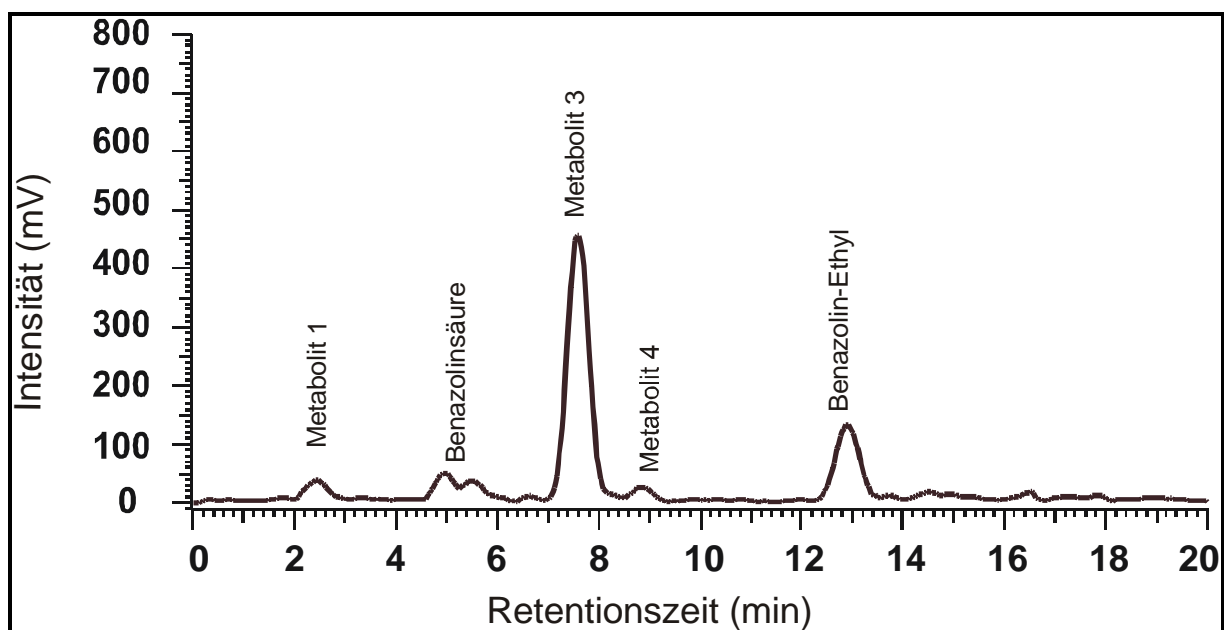


Abbildung 3.10: HPLC-Chromatogramm von ^{14}C -Benazolin-Ethyl und seiner Metabolite im Aceton-Extrakt des Bodens Alfi-Con inkubiert bei einer Bodenfeuchte von 60 % WHK.

Wie man Tabelle 3.2 entnehmen kann gab es bei einer Bodenfeuchte von 40 % WHK zwei Typen von Chromatogrammen aus dem CaCl_2 -Extrakt: Zum einen vom Typ „Molli-Low 40 % WHK“, bei denen Benazolinsäure der einzige auftretende Metabolit war, hierzu gehörten auch die Böden Molli-Norm und Molli-High (Daten siehe Anhang 9.4). Zum anderen gab es Chromatogramme vom Typ „Incept-Int 40 % WHK“, bei denen auch die Metabolite 1 und 3 von Bedeutung waren, hierzu gehörte auch der Boden Alfi-Con.

Im Falle der Aceton-Extrakte bei 40 % WHK war immer der Metabolit 3 vorherrschend. Als zweit wichtigster Metabolit trat entweder die Ausgangssubstanz Benazolin-Ethyl hervor, wie im Falle von Alfi-Con und Molli-Low (Tabelle 3.2), oder aber die Benazolinsäure wie in den Fällen von Molli-High, Molli-Norm und Incept-Int.

Wenn man die wichtigsten Metabolite in den 5 Böden bei unterschiedlicher Bodenfeuchte betrachtet (Tabelle 3.2), sieht man, dass im Aceton-Extrakt bei der Bodenfeuchte 20 % WHK der Anteil der Ausgangssubstanz ^{14}C -Benazolin-Ethyl in den Mollisolen höher war als bei 40 % WHK. Diese Erhöhung ist im Boden Molli-High bereits deutlich, in den Böden Molli-Norm (56 %) und Molli-Low (68 %) hatte der Peak von Benazolin-Ethyl sogar die größte Fläche. Betrachtet man die Bodenfeuchten 40 % und 60 % WHK, zeigt sich, dass in den Mollisolen die Verteilung der Metabolite vergleichbar war, während im Boden Alfi-Con bei 60 % WHK das Benazolin-Ethyl zu und der Metabolit 3 abgenommen hatte.

Tabelle 3.2: Peakflächenanteil von ^{14}C -Benazolin-Ethyl und seiner wichtigsten Metabolite im CaCl_2 -Extrakt der Böden Incept-Int, Alfi-Con, Molli-High, Molli-Norm und Molli-Low nach Bodeninkubation bei unterschiedlichen Wassergehalten (20 %, 40 % und 60 % WHK); ausführliche Tabelle im Anhang 9.4

| | | CaCl ₂ -Extrakte | | | Aceton-Extrakte | | |
|-----------------------|-----------------|-----------------------------|-----|-----|-----------------|-----|-----|
| Wassergehalt in % WHK | | 20% | 40% | 60% | 20% | 40% | 60% |
| Incept-Int | Metabolit 1 | 100 | 16 | 100 | 0 | 0 | - |
| | Benazolinsäure | 0 | 45 | 0 | 7 | 4 | - |
| | Metabolit 3 | 0 | 32 | 0 | 74 | 77 | - |
| | Benazolin-Ethyl | 0 | 0 | 0 | 2 | 9 | - |
| Alfi-Con | Metabolit 1 | 41 | 20 | 24 | 2 | 0 | 6 |
| | Benazolinsäure | 59 | 75 | 62 | 3 | 3 | 6 |
| | Metabolit 3 | 0 | 6 | 13 | 75 | 84 | 63 |
| | Benazolin-Ethyl | 0 | 0 | 0 | 14 | 12 | 20 |
| Molli-High | Metabolit 1 | 2 | 0 | 15 | 0 | 0 | 0 |
| | Benazolinsäure | 90 | 100 | 57 | 7 | 18 | 15 |
| | Metabolit 3 | 8 | 0 | 28 | 78 | 76 | 77 |
| | Benazolin-Ethyl | 0 | 0 | 0 | 13 | 4 | 6 |
| Molli-Norm | Metabolit 1 | 0 | 0 | 23 | 0 | 0 | 0 |
| | Benazolinsäure | 93 | 100 | 51 | 7 | 12 | 13 |
| | Metabolit 3 | 4 | 0 | 26 | 30 | 84 | 78 |
| | Benazolin-Ethyl | 0 | 0 | 0 | 56 | 4 | 6 |
| Molli-Low | Metabolit 1 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0 | 0 |
| | Benazolinsäure | 92 | 100 | 89 | 3 | 11 | 13 |
| | Metabolit 3 | 1 | 0 | 8 | 3 | 74 | 71 |
| | Benazolin-Ethyl | 0 | 0 | 0 | 68 | 14 | 13 |

Betrachtet man den CaCl_2 -Extrakt der Böden bei unterschiedlichem Wassergehalt zeigt sich, dass diese in drei Gruppen eingeteilt werden konnten (Tabelle 3.2):

- Im grau unterlegten Bereich dominierte eindeutig die Benazolinsäure mit 89-100 %.
- In den nicht unterlegten Ansätzen war nur der Metabolit 1 nachweisbar.

- Die gepunktet unterlegten Zahlen bildeten einen Übergang bei dem neben der Benazolinsäure als Hauptmetaboliten auch die Metabolite 1 und 3 in der Summe zwischen 26 % und 40 % ausmachten.

Es zeigte sich, dass bei einer Bodenfeuchte von 20 % WHK in allen Böden außer Incept-Int der höchste Anteil an der Ausgangssubstanz Benazolin-Ethyl insgesamt (mit CaCl_2 und Aceton) noch extrahierbar war (Tabelle 3.3).

Im Gegensatz dazu war der Anteil an extrahierbarer Benazolinsäure bei 60 % WHK bei allen Böden am geringsten. Der Boden Incept-Int hatte im Vergleich zu den anderen mit Abstand den geringsten extrahierbaren Anteil an Benazolin-Ethyl und Benazolinsäure.

Bei 20 % WHK ist folgendes anzunehmen: Im Boden Incept-Int bei geringer Mineralisierung (2,3 %) wurde mehr als die Hälfte (55,2 %) des ^{14}C in Metabolite umgeformt. Im Gegensatz dazu lag bei den Böden Molli-Norm und Molli-Low (20 % WHK) der größte Anteil noch als Benazolinsäure vor (34,6 % bzw. 30,2 %), während die weiter abgebaute Metabolite nur einen sehr geringen Anteil aufwiesen (4,6 % bzw. 1,3 %).

Insbesondere der Boden Molli-Low zeigte auch sonst eine sehr geringe Umbautendenz von Benazolin-Ethyl: Relativ hoher Anteil an Benazolin-Ethyl und Benazolinsäure, sowie geringer Anteil an weiteren Metaboliten und grundsätzlich die geringste Mineralisierung.

Tabelle 3.3: Extrahierbares ^{14}C (CaCl_2 - und Acetonextrakt) als Benazolin-Ethyl, Benazolinsäure und Summe der Metabolite 1, 3 und 6 in % des applizierten ^{14}C in den inkubierten Böden Incept-Int, Alfi-Con, Molli-High, Molli-Norm und Molli-Low bei unterschiedlichem Wassergehalt (20 %, 40 % und 60 % WHK); genauere Daten siehe Anhang 9.4

| | Wassergehalt | Benazolin-Ethyl | Benazolinsäure | Summe Metabolite 1, 3 und 6 |
|------------|--------------|-----------------|----------------|-----------------------------|
| Incept-Int | 20 % WHK | 0,4 | 1,6 | 55,2 |
| Alfi-Con | | 2,9 | 16,6 | 26,7 |
| Molli-High | | 3,1 | 20,7 | 23,6 |
| Molli-Norm | | 5,7 | 34,6 | 4,6 |
| Molli-Low | | 12,0 | 30,2 | 1,3 |
| Incept-Int | 40 % WHK | 0,5 | 0,3 | 5,4 |
| Alfi-Con | | 2,1 | 19,2 | 20,2 |
| Molli-High | | 1,2 | 24,1 | 24,7 |
| Molli-Norm | | 1,5 | 31,2 | 32,0 |
| Molli-Low | | 2,5 | 32,3 | 13,9 |
| Incept-Int | 60 % WHK | 0,0 | 0,0 | 2,6 |
| Alfi-Con | | 3,1 | 11,1 | 16,8 |
| Molli-High | | 2,0 | 7,9 | 29,3 |
| Molli-Norm | | 2,4 | 7,9 | 33,2 |
| Molli-Low | | 4,1 | 22,5 | 24,6 |

3.1.5 Abbau von Benazolin-Ethyl und Bildung von nicht extrahierbaren Rückständen (NER) in Böden

Die Betrachtung der Bildung nicht extrahierbarer ^{14}C Rückstände aus ^{14}C -Benazolin-Ethyl ergab ein recht uneinheitliches Bild (Abbildung 3.7, S. 55 und Abbildung 3.8, S. 55). Bei den Böden Molli-High und Molli-Norm lagen die nicht extrahierbaren Rückstände (NER) bei

allen Wassergehalten etwa um 40 % ohne eindeutige Tendenzen aufzuweisen. Im Boden Molli-Low gab es bei 40 % WHK die höchsten NER (50,0 %) und bei 60 % WHK die geringsten NER (29,6 %), wo die Mineralisierung am höchsten war.

Beim Boden Incept-Int verhielt sich die Bildung nicht extrahierbarer ^{14}C -Rückstände genau wie die Mineralisierung, bei 40 % WHK am höchsten (57,2 % des applizierten ^{14}C) und bei 20 % WHK am geringsten (26,9 % des applizierten ^{14}C).

Beim Boden Alfi-Con kann keine derartige Aussage gemacht werden, dort nahmen die NER von 20 % WHK (34,0 %) nach 40 % WHK zu (56,3), bei 60 % WHK jedoch wieder ab (47,7 %), obwohl die Mineralisierung noch weiter zunahm.

Zusammenfassend für das gesamte Kapitel 3.1 lassen sich folgende Aussagen treffen:

- Die Mineralisierung von ^{14}C -Benazolin-Ethyl ist in den Projektböden sehr unterschiedlich und deutlich vom Wassergehalt abhängig
- Die Reihenfolge der Atmungsaktivität in den Böden war bei 40 % WHK die gleiche wie bei der Mineralisierung - dies gilt jedoch nicht für die anderen Wassergehalte
- Die Extrahierbarkeit der Herbizidrückstände mit CaCl_2 verhält sich gegenläufig zur Pestizidmineralisierung. Sie ist somit bei 20 % WHK am höchsten
- Es gibt keinen erkennbaren Zusammenhang zwischen Pestizidabbau und den mit Aceton extrahierbaren und nicht extrahierbaren Rückständen von ^{14}C -Benazolin-Ethyl.
- Die Benazolin-Ethyl Metabolitenmuster der Böden unterscheiden sich auch sehr deutlich, wobei im CaCl_2 -Extrakt die polaren und im Aceton-Extrakt jeweils die weniger polaren Metabolite und die Ausgangssubstanz dominieren.

3.1.6 Massenbilanzen von ^{14}C -Benazolin-Ethyl in den Böden

Als deutlich wurde, dass die Massenbilanzen in einzelnen Ansätzen mit viel Abbau deutlich unter 100 % waren, wurde versucht den Ursachen hierfür exemplarisch an einzelnen Versuchsansätzen auf den Grund zu gehen. Die Verluste mussten bei einem oder mehreren Arbeitsschritten entstanden sein. Die wesentlichen Schritte waren: Applikation – Bioabbaubersuch – CaCl_2 -Extraktion – Trocknung – ASE-Extraktion – Verbrennung (siehe Kapitel 2.5, Seite 24).

Bei Bestimmung der Gesamtrückstände durch Verbrennung direkt nach dem Bioabbaubersuch, (Kapitel 2.5.11, Seite 30) zeigte sich, dass die Verluste nicht während dem Bioabbaubersuch entstanden sein konnten, da nach diesem die Massenbilanz (Mineralisierung + ^{14}C Rückstände) noch um 100 % lag (Tabelle 3.4). Die Verluste traten erst durch die sequenzielle Extraktion auf, wodurch eine Massenbilanz von 90 % und geringer entstand.

Tabelle 3.4: Bilanzierung bei Verbrennung nach sequentieller Extraktion und Verbrennung direkt nach Bioabbauersuch in den exemplarischen Proben A, B und C im Boden Incept-Int.

| | Ansatz | Mineral. % | CaCl ₂ -Extr. % | ASE-Extr. % | Verbr. % | Bilanzierung |
|---|--------|------------|----------------------------|-------------|----------|--------------|
| Verbrennung nach sequentieller Extraktion | A | 13,14 | 4,90 | 6,63 | 62,5 | 87,20 |
| | B | 15,70 | 3,81 | 7,34 | 64,1 | 90,92 |
| | C | 13,65 | 3,77 | 7,57 | 62,5 | 87,53 |
| Verbrennung direkt nach Bioabbauersuch | A' | 13,14 | | | 90,1 | 103,27 |
| | B' | 15,70 | | | 93,3 | 108,97 |
| | C' | 13,65 | | | 91,0 | 104,62 |

Anschließend wurde getestet, ob die Verluste durch die Extraktionsschritte oder den Trocknungsschritt, der zwischen CaCl₂-Extraktion und ASE-Extraktion eingeführt wurde entstanden waren. Hierzu wurde eine sequenzielle Extraktion (CaCl₂ und Aceton) ohne zwischengeschalteten Trocknungsschritt in der ASE und eine „kontrollierte Trocknung“ durchgeführt (Tabelle 3.5). Bei der „kontrollierten Trocknung“ wurde im geschlossenen Bioabbausystem 5 Tage 24 Stunden lang trockene Luft über den Boden gepumpt und die volatilen Substanzen mit EMME und CO₂/¹⁴CO₂ mit EDB aufgefangen, sowie deren Radioaktivität bestimmt. Es zeigte sich, dass bei sequentieller Extraktion ohne Trocknungsschritt eine Bilanz von etwa 100 % resultierte, während bei der „kontrollierten Trocknung“ etwa 20 % des applizierten ¹⁴C in der Bilanz fehlten. Diese 20 % waren weder mit EMME noch mit EDB nachweisbar. Das bedeutet, es musste sich um sehr kurzketzige Verbindungen (2-3 C-Atome) handeln, die nicht mit EMME aufgefangen werden konnten, es handelte sich jedoch auch nicht um ¹⁴CO₂ da auch mit EDB kein Nachweis erfolgte.

Tabelle 3.5: Bilanzierung bei Verbrennung nach sequentieller Extraktion ohne Trocknungsschritt und Verbrennung nach kontrollierter Trocknung, dabei aufgefangenes ¹⁴C in Intensivwaschflaschen mit EMME und ¹⁴CO₂ in EDB in den exemplarischen Ansätzen D und E des Bodens Alfi-Con; Angaben in % des applizierten ¹⁴C.

| | Ansatz | Min. % | ¹⁴ C in EMME | ¹⁴ CO ₂ in EDB | CaCl ₂ -Extr. | ASE-Extr. | Verbr. | Bilanzierung |
|--|--------|--------|-------------------------|--------------------------------------|--------------------------|-----------|--------|--------------|
| Sequentielle Extraktion ohne Trocknungsschritt | D | 10,11 | | | 13,45 | 22,16 | 50,4 | 96,16 |
| | E | 8,85 | | | 17,37 | 15,19 | 61,2 | 102,57 |
| Verbrennung nach Trocknung | D' | 10,11 | 0,01 | 0,28 | | | 74,4 | 84,84 |
| | E' | 8,85 | 0,02 | 0,39 | | | 69,3 | 78,60 |

Eine genauere Untersuchung der Verluste war aus Mangel an Zeit und technischem Equipment nicht durchführbar. Die Verluste konnten weder auf eine Verflüchtigung von Benazolin-Ethyl noch von Benazolinsäure zurückgeführt werden, da beide praktisch nicht volatil sind. Es konnte auch sonst kein Metabolit sein, der eine Ringstruktur aufweist, da derartige Verbindungen in EMME aufgefangen worden wären, noch konnte es sich um ¹⁴CO₂ handeln, da dieses bei der Trocknung in EDB aufgefangen worden wäre.

3.2 Abbau von ^{14}C -Benazolin-Ethyl in Böden bei unterschiedlichen Wassergehalten mit Strohzugabe

3.2.1 ^{14}C -Benazolin-Ethyl-Mineralisierung mit und ohne Strohzugabe

Die Mineralisierung von ^{14}C -Benazolin-Ethyl war in allen Böden bei einer Bodenfeuchte von 40 % WHK mit Strohapplikation nach 50 Tagen deutlich höher als ohne Strohapplikation (Abbildung 3.11). Für den Boden Molli-Norm war die höhere Mineralisierung nur tendenziell, für die anderen jedoch statistisch signifikant, bzw. im Boden Molli-Low sogar hoch signifikant (Anhang 9.2).

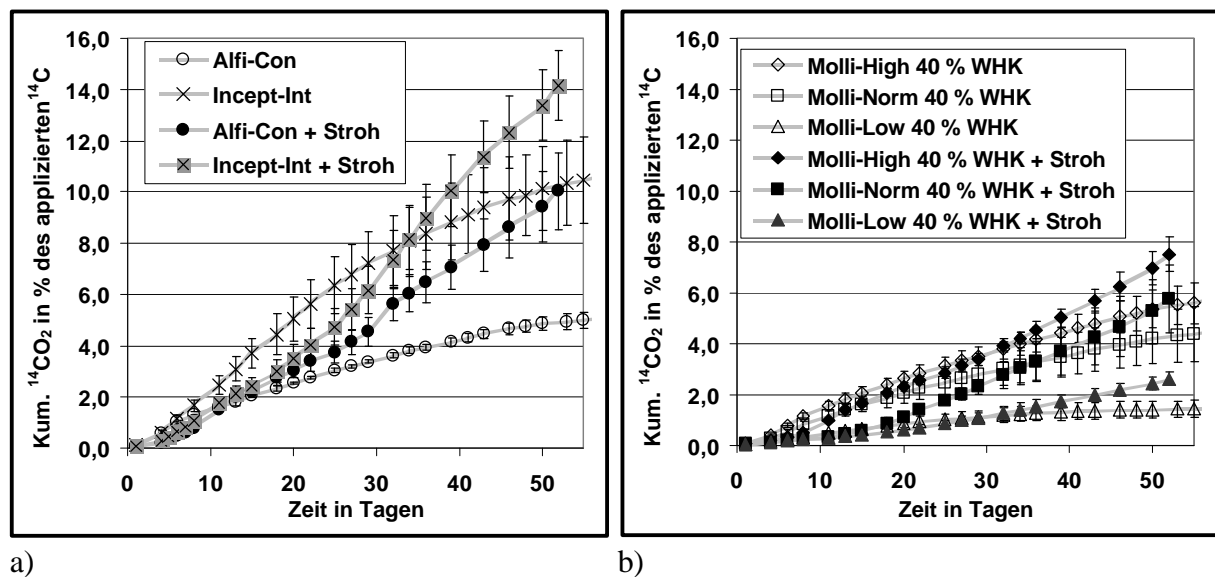


Abbildung 3.11: Verlauf der Mineralisierung von ^{14}C -Benazolin-Ethyl (Benaz.) in den Böden Alfi-Con und Incept-Int (a), sowie in den Böden Molli-High, Molli-Norm und Molli-Low (b), inkubiert bei einer Bodenfeuchte von 40 % WHK, jeweils mit bzw. ohne Strohapplikation; dargestellt sind Mittelwerte ($n=3$) und Standardabweichung (vertikale Balken).

Die Kurvenverläufe unterschieden sich deutlich: Während ohne Strohapplikation die höchste Mineralisierungsrate (Abbildung 3.12) zwischen der 2. und 3. Woche erreicht wurde und dann stetig zurückging, trat bei Strohapplikation die maximale Mineralisierungsrate deutlich verzögert auf: Erst nach 6 Wochen im Boden Incept-Int und im Boden Molli-Low war bis zur 7. Woche ein Anstieg zu verzeichnen.

Bei einer Bodenfeuchte von 60 % WHK zeigt sich ein anderes Bild (Abbildung 3.13): So war in den Böden Incept-Int, Alfi-Con und Molli-High die Mineralisierung nach 50 Tagen mit Strohapplikation höher als ohne, bei den Böden Molli-Norm und Molli-Low war sie jedoch deutlich niedriger.

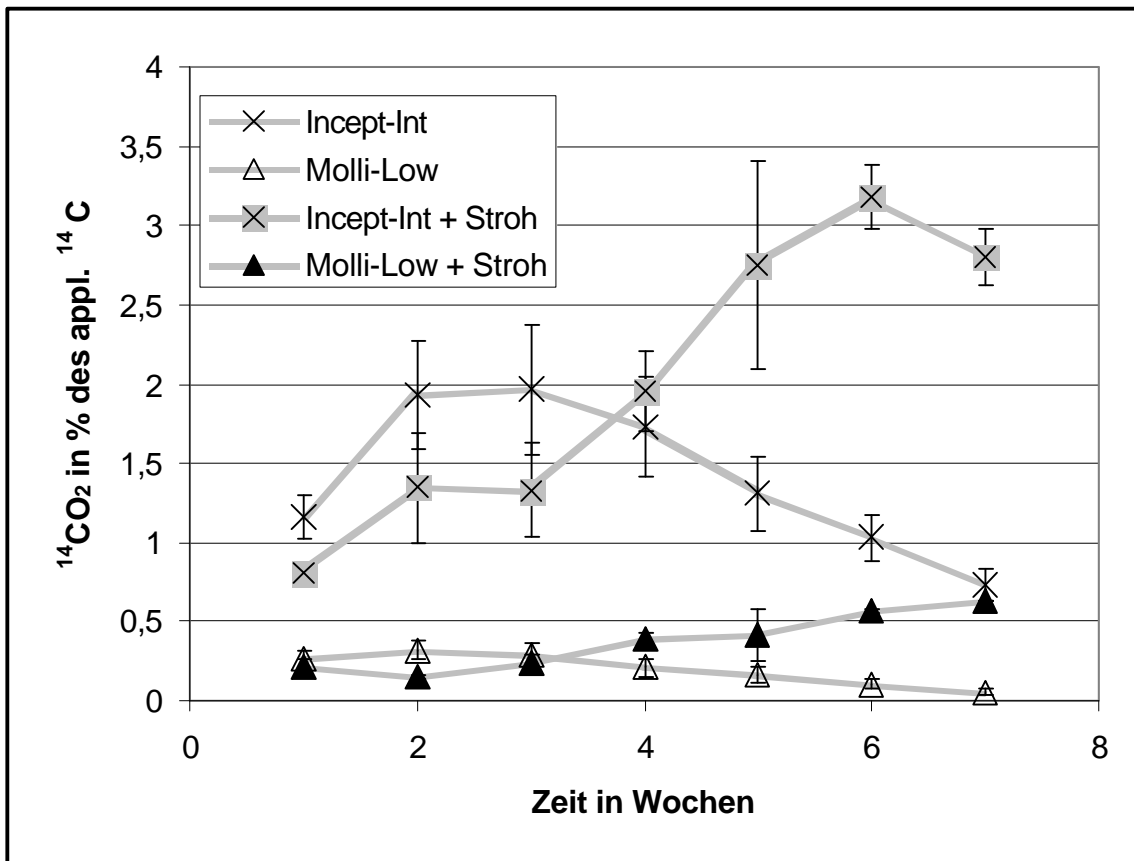
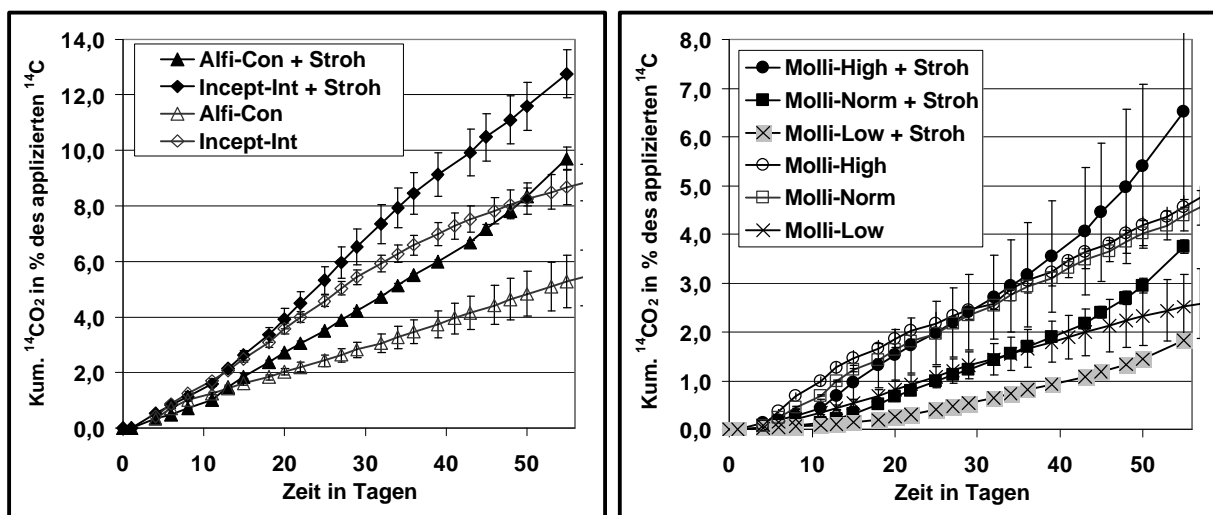


Abbildung 3.12: Mineralisierungsrate (pro Woche) von ^{14}C -Benzazolin-Ethyl in den Böden Molli-Low und Incept-Int, inkubiert bei einer Bodenfeuchte von 40 % WHK jeweils mit und ohne Strohhapplikation; dargestellt sind Mittelwerte ($n=3$) und Standardabweichung (vertikale Balken).



a)

b)

Abbildung 3.13: Verlauf der Mineralisierung von ^{14}C -Benzazolin-Ethyl in den Böden Alf-Con und Incept-Int (a), sowie den Böden Molli-High, Molli-Norm und Molli-Low (b), inkubiert bei einer Bodenfeuchte von 60 % WHK jeweils mit bzw. ohne Strohhapplikation; dargestellt sind Mittelwerte ($n=3$) und Standardabweichung (vertikale Balken).

Die Kurvenverläufe bei Strohhapplikation und Kontrolle waren hier ebenso wie bei 40 % WHK deutlich unterschiedlich. Dies verdeutlicht sich besonders bei der wöchentlichen Mineralisierungsrate von ^{14}C -Benzolin-Ethyl (Abbildung 3.14): Ohne Strohhapplikation wurde in allen Böden die höchste Mineralisierungsrate in der dritten Woche erreicht und nahm dann wieder mehr (Incept-Int) oder weniger (Molli-Low) deutlich ab. Bei Strohhapplikation wurde das Abbaumaximum erst in der 5. bzw. 6. Woche erreicht und nahm dann stärker ab als ohne Strohhapplikation.

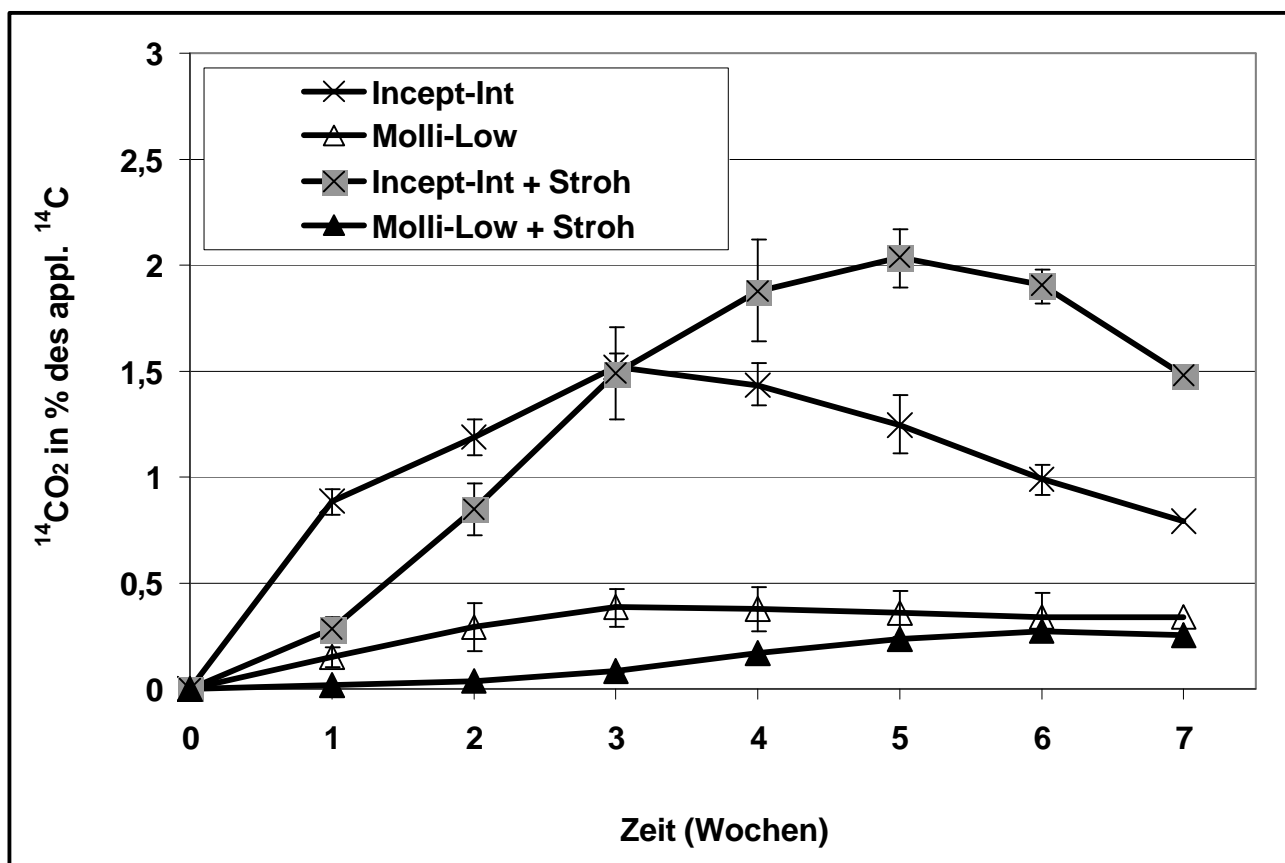


Abbildung 3.14: Wöchentliche Mineralisierungsrate von ^{14}C -Benzolin-Ethyl in den Böden Incept-Int und Molli-Low inkubiert bei einer Bodenfeuchte von 60 % WHK, sowie mit/ohne Strohhapplikation; dargestellt sind Mittelwerte ($n=3$) und Standardabweichung (vertikale Balken).

Diese Werte wurden statistisch durch die Berechnung des T-Tests der Wochenraten der Mineralisierung am Beispiel der Böden Incept-Int und Molli-Low überprüft. Der Wert T wurde hierbei wie folgt bestimmt:

$$T = (x_1 - x_2) * (\sqrt{s_1^2 + s_2^2} * 0,5)^{-1}$$

Mit x_1 = Mittelwert der Wochenrate der Mineralisierung ohne Strohhapplikation
 x_2 = Mittelwert der Wochenrate der Mineralisierung mit Strohhapplikation
 s_1 = Standardabweichung der Wochenrate der Mineralisierung ohne Strohhapplikation
 s_2 = Standardabweichung der Wochenrate der Mineralisierung mit Strohhapplikation

Es gilt: Je höher der Betrag von T, desto signifikanter der Unterschied. Die ersten drei Wochen waren die berechneten Werte immer positiv, d.h. im Ansatz ohne Stroh war die Mineralisierung in diesem Zeitraum höher, meist tendenziell (kursiv in Tabelle 3.6) oder statistisch signifikant (fettgedruckt) bzw. hoch signifikant (grau unterlegt). Ab der vierten Woche sind die berechneten Werte für die Böden Incept-Int (40 % und 60 % WHK) und Molli-Low (40 % WHK) negativ und die Signifikanz nimmt von tendenziell bis zu hoch signifikant für diese drei Ansätze in der 7. Woche zu.

Für den Boden Molli-Low 60 % WHK wird die Signifikanz des Unterschiedes der wöchentlichen Mineralisierungsrate zwischen Kontrolle und Strohhaplikation immer geringer, bleibt jedoch während der Versuchsdauer immer positiv, d.h. zu keinem Zeitpunkt kann hier durch Strohhaplikation die Mineralisierungsrate signifikant gesteigert werden

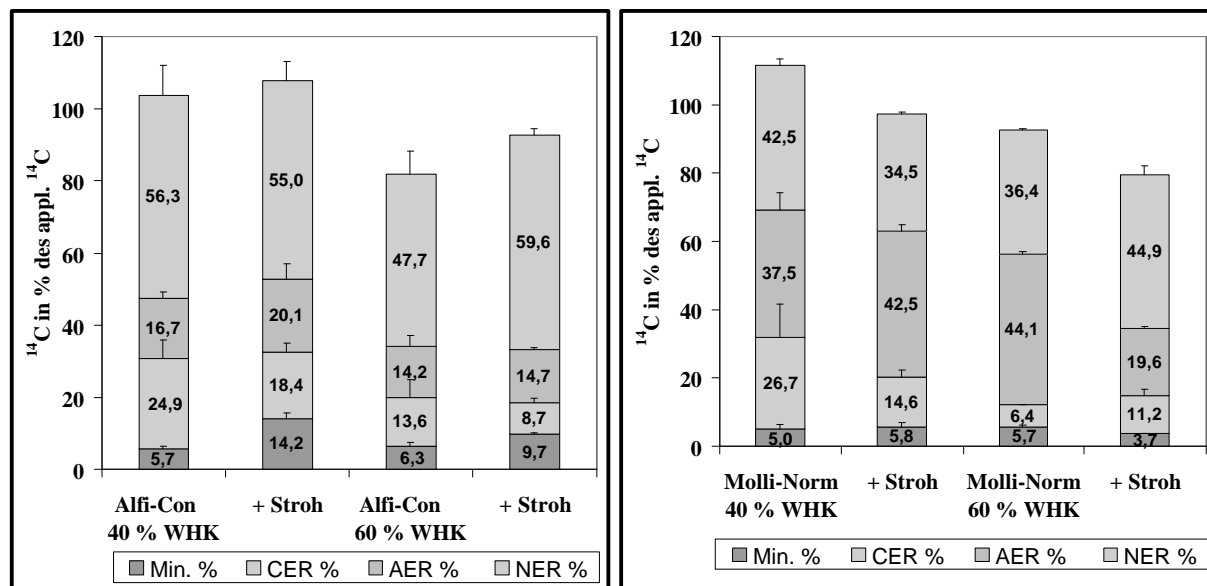
Tabelle 3.6: T-Test (Werte für T) der wöchentlichen Mineralisierungsraten jeweils ohne und mit Strohzugabe für die Böden Incept-Int und Molli-Low inkubiert bei 40 % und 60 % WHK (positive Werte = Mineralisierung Kontrolle > Strohhaplikation, negative Werte = Mineralisierung Strohhaplikation > Kontrolle; je höher der Betrag, desto signifikanter der Unterschied)

| Woche | Incept-Int 40 % WHK | Molli-Low 40 % WHK | Incept-Int 60 % WHK | Molli-Low 60 % WHK |
|-------|---------------------|--------------------|---------------------|--------------------|
| 1 | 2,488 | 0,649 | 13,939 | 17,266 |
| 2 | 1,338 | 3,330 | 4,639 | 6,060 |
| 3 | 1,371 | 0,559 | 0,207 | 2,896 |
| 4 | -0,615 | -2,748 | -2,134 | 2,574 |
| 5 | -2,281 | -1,643 | -3,360 | 1,292 |
| 6 | -9,407 | -13,877 | -5,175 | 0,714 |
| 7 | -11,312 | -37,143 | -7,367 | 0,799 |

3.2.2 Einfluss der Strohzugabe auf mit Kalziumchlorid und Aceton extrahierbare Rückstände von Benazolin-Ethyl

Bei 40 % WHK hatte die Strohzugabe auf die CaCl₂ extrahierbaren Rückstände entweder keinen Einfluss (Incept-Int: 3,8 % des applizierten ¹⁴C ohne und 4,2 % mit Strohzugabe) oder führte zu einer Verringerung der Extrahierbarkeit mit CaCl₂ bei allen anderen Böden (Beispiele Alfi-Con und Molli-Norm in Abbildung 3.15). Bei 60 % Wasserhaltekapazität ergab sich für die Böden Incept-Int und Alfi-Con dasselbe Bild: Mineralisierung deutlich erhöht und CaCl₂ Extrahierbarkeit etwa gleichbleibend gering (Incept-Int: 2,6 % des applizierten ¹⁴C ohne und 3,7 % mit Strohzugabe) oder deutlich abnehmend (Alfi-Con in Abbildung 3.15). Für die Mollisole ergab sich ein uneinheitliches Bild (siehe Beispiel Molli-Norm in Abbildung 3.15).

Der Einfluss der Strohzugabe auf die Extrahierbarkeit mit Aceton hatte die gleiche Tendenz wie bei der Mineralisierung; die Extrahierbarkeit mit Aceton nahm bei 40 % WHK und Strohzugabe in allen Böden zu, ebenso wie bei 60 % und Strohzugabe in den Böden Incept-Int und Alfi-Con, während die Extrahierbarkeit mit Aceton bei 60 % WHK in den Böden Molli-High, Molli-Norm und Molli-Low durch Strohzugabe zurückging.



a)

b)

Abbildung 3.15: Mineralisierung (Min.) von ^{14}C -Benzolin-Ethyl, mit $0,01\text{ m CaCl}_2$ -Lösung extrahierbare (CER), Aceton extrahierbare (AER) und nicht extrahierbare Rückstände (NER) der Böden Alfi-Con (a) und Molli-Norm (b) nach Inkubation bei 40 % und 60 % WHK

3.2.3 Einfluss der Strohzugabe auf extrahierbares ^{14}C -Benzolin-Ethyl und dessen Metabolite

Der erste Geschwindigkeitsbestimmende Abbauschritt ist der Abbau der Benzolinsäure, da dessen Halbwertszeit im Boden um ein vielfaches höher ist, als die des Ethyls. Dieser Schritt erfordert im Gegensatz zum Abbau des Benzolin-Ethyls zur Säure (Exoenzyme) eine Inkorporation der Substanz in Mikroorganismen. Daher sollte deutlich zwischen Benzolin-Ethyl / -Säure und den weiter abgebauten Metaboliten, sowie der Mineralisierung unterschieden werden (Tabelle 3.7).

Die weiter abgebauten ^{14}C -Metabolite (sonstige ^{14}C -Metabolite in Tabelle 3.7) zusammen mit der Mineralisierung wurden durch Strohzugabe bei 40 % WHK in allen Böden erhöht, während die Summe aus Benzolin-Ethyl und -säure entweder auf einem ähnlichen Niveau blieb (Incept-Int und Alfi-Con in Tabelle 3.7) oder deutlich zurück ging. Bei 60 % WHK ergab sich insgesamt ein uneinheitliches Bild. So nahmen im Boden Incept-Int bei Strohzugabe die Menge aller extrahierten Metabolite und die Mineralisierung zu. Im Boden Alfi-Con ging durch Strohzugabe insgesamt die Extrahierbarkeit zurück, die Mineralisierung nahm jedoch zu. Im Boden Molli-High nahm die Summe von Benzolin-Ethyl und Benzolinsäure zu, die sonstigen Metabolite und die Mineralisierung jedoch ab.

Tabelle 3.7: Gesamtes (CaCl_2 + Aceton) extrahiertes ^{14}C -Benazolin-Ethyl und ^{14}C -Benazolinsäure (B.-Ethyl + B. Säure), sonstige ^{14}C -Metabolite (Sonstige Metab.) und Mineralisierung (Min.) in den Böden Incept-Int, Alfi-Con und Molli-High nach Inkubation bei 40 % und 60 % WHK, jeweils mit bzw. ohne Strohzugabe

| Feuchte | Boden | ohne Strohzugabe | | | mit Strohzugabe | | |
|-------------|------------|------------------------|--------------------|------|------------------------|--------------------|------|
| | | B.-Ethyl + B. Säure | Sonstige Metab. | Min. | B.-Ethyl + B. Säure | Sonstige Metab. | Min. |
| 40 % WHK | Incept-Int | 1,0 | 5,4 | 12,0 | 1,6 | 10,4 | 14,2 |
| | Alfi-Con | 21,3 | 20,2 | 5,8 | 22,0 | 18,7 | 9,2 |
| | Molli-High | 23,7 | 24,7 | 6,9 | 10,6 | 31,9 | 7,5 |
| 60 % WHK | Incept-Int | 0,0 | 2,6 | 9,6 | 2,2 | 5,5 | 13,2 |
| | Alfi-Con | 14,2 | 16,8 | 6,3 | 11,2 | 11,6 | 10,1 |
| | Molli-High | 9,4 | 29,3 | 8,4 | 13,1 | 22,0 | 7,4 |

3.2.4 Bildung nicht extrahierbarer Rückstände

Die Strohzugabe führte bei 60 % WHK in fast allen Böden zu einer Erhöhung der nicht extrahierbaren Rückstände (NER), nur im Boden Molli-Low blieben diese konstant (Tabelle 3.8). Bei 40 % WHK lässt sich statistisch abgesichert nur sagen, dass die NER im Boden Incept-Int tendenziell zunahmen, im Boden Molli-Low jedoch deutlich zurückgingen.

Tabelle 3.8 Nicht extrahierbare Rückstände von Benazolin-Ethyl in den Böden Incept-Int, Alfi-Con, Molli-High, Molli-Norm und Molli-Low nach Inkubation bei 40 % und 60 % WHK, sowie mit bzw. ohne Strohzugabe (Mittelwerte $n=3$ mit Standardabweichung), * $n = 2$

| Boden | 40 % WHK | | 60 % WHK | |
|------------|----------------|-----------------|----------------|----------------|
| | ohne Stroh | mit Stroh | ohne Stroh | mit Stroh |
| Incept-Int | 57,2 (+/- 3,1) | 63,1 (+/- 0,9) | 52,8 (+/- 1,1) | 65,0 (+/- 3,6) |
| Alfi-Con | 56,3 (+/- 8,5) | 60,9 (+/- 10,3) | 47,7 (+/- 6,4) | 59,6 (+/- 1,7) |
| Molli-High | 37,1 (+/- 4,8) | 42,6 (+/- 1,4) | 41,1 (+/- 8,0) | 55,1 (+/- 6,9) |
| Molli-Norm | 42,5 (+/- 1,9) | 34,5* | 36,4 (+/- 0,5) | 45,0 (+/- 2,6) |
| Molli-Low | 50,0 (+/- 4,7) | 28,2 (+/- 2,5) | 29,6 (+/- 2,7) | 29,7* |

3.3 Wasserlöslicher organischer Kohlenstoff (WEOC) und das Abbauverhalten von ¹⁴C-Benazolin-Ethyl

Um zu überprüfen ob der wasserlösliche organische Kohlenstoff (WEOC = Water Extractable Organic Carbon) in seiner Quantität bzw. Qualität als Indikator für den Abbau von ¹⁴C-Benazolin-Ethyl hergenommen werden kann wurde dieser am Ende der Abbaupexperimente bei unterschiedlichem Wassergehalt bestimmt. Aufgrund der hohen Streuung und fehlender Messwerte lässt sich aus Tabelle 3.9 lediglich ablesen, dass bei 20 % WHK die WEOC innerhalb eines Bodens am höchsten waren, nur nicht im Boden Molli-Low, wo bei 60 % WHK noch mehr WEOC vorhanden war. Der Humifikationsindex (HIX) ist in den Böden Alfi-Con und Molli-High bei 60 % WHK am höchsten, im Boden Molli-Low zumindest tendenziell am geringsten.

Tabelle 3.9: Wasserlöslicher organischer Kohlenstoff (WEOC) und Humifikationsindex (HIX), nach Inkubation mit ¹⁴C-Benazolin-Ethyl über 70 Tage bei unterschiedlichen Wassergehalten (in % WHK) in den Böden Incept-Int, Alfi-Con, Molli-High, Molli-Norm und Molli-Low

| | | Incept-Int | Alfi-Con | Molli-High | Molli-Norm | Molli-Low |
|-------------|------|--------------|---------------|--------------|--------------|-------------|
| 20 % WHK | WEOC | 37,4 (± 9,5) | 48,6 (± 9,0) | 72,1* | 33,7 (± 5,4) | 68,8* |
| | HIX | 4,3 (± 3,8) | 5,3 (± 1,4) | 8,8 (± 4,7) | 7,8 (± 0,7) | 4,4* |
| 40 % WHK | WEOC | 4,3 (± 0,4) | 7,4 (± 6,5) | 4,7 (± 2,7) | 4,1 (± 1,5) | 22,9* |
| | HIX | 4,7 (± 0,3) | 6,4 (± 1,9) | 7,4 (± 6,0) | 4,0 (± 3,0) | 3,8 (± 0,4) |
| 60 % WHK | WEOC | 24,3 (± 5,4) | 47,0 (± 12,8) | 2,8 (± 0,4) | 3,2 (± 1,1) | 80,7* |
| | HIX | 6,5 (± 3,6) | 11,2 (± 1,0) | 17,4 (± 1,5) | 7,8 (± 2,7) | 2,3 (± 1,5) |

*nur 1 Messwert

Ein Zusammenhang zwischen Chemikalienabbau und Quantität (WEOC in Tabelle 3.9) oder Qualität (HIX) des wasserlöslichen Kohlenstoffs konnte nicht festgestellt werden.

3.4 Abbauverhalten von ^{14}C -Benazolin-Ethyl unter abiotischen Bedingungen im Boden Incept-Int

Um zu überprüfen ob Benazolin-Ethyl in erster Linie durch biologische oder physikochemische Prozesse abgebaut wird, wurde exemplarisch für alle Böden im Boden Incept-Int der Abbau unter abiotischen Bedingungen untersucht.

Es zeigte sich, dass ^{14}C -Benazolin-Ethyl im durch Autoklavieren sterilisierten Boden Incept-Int (Wassergehalt bei 40 % WHK) nicht mineralisiert wurde. Die Extrahierbarkeit mit CaCl_2 -Lösung geht in diesem Zeitraum zurück während die mit Aceton zunimmt (Abbildung 3.16)

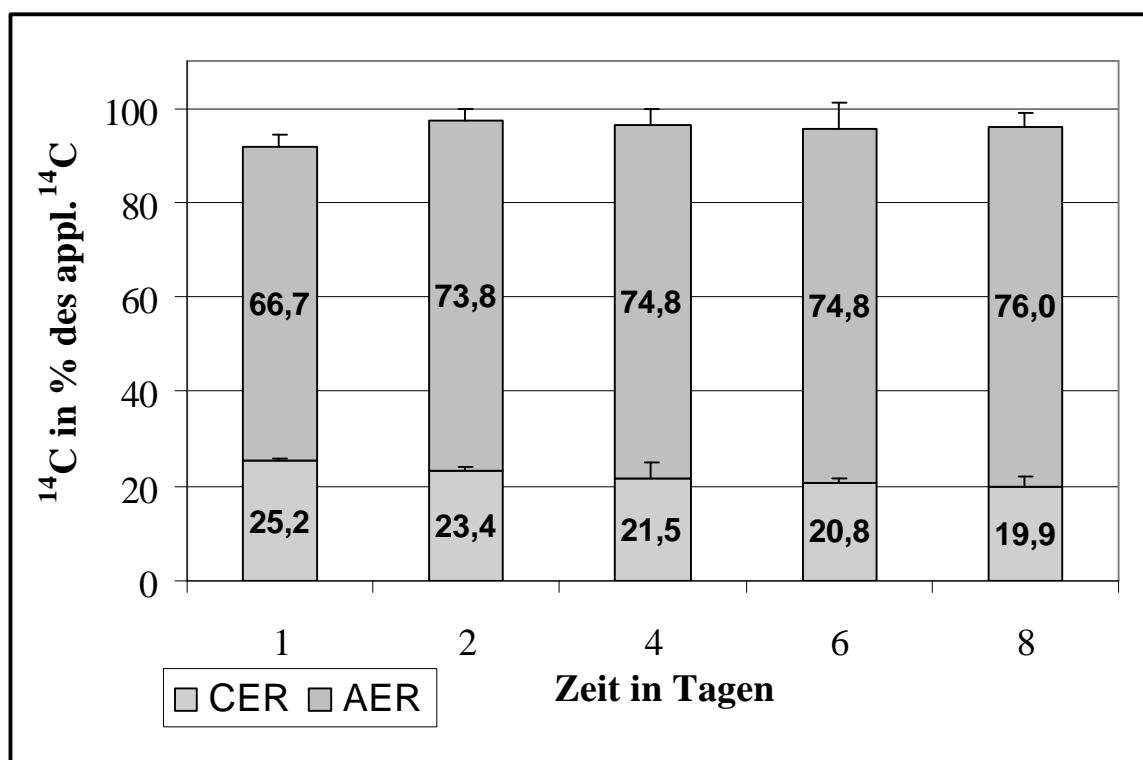


Abbildung 3.16: Mit 0,01 m CaCl_2 -Lösung (CER) und Aceton extrahierbare (AER) Rückstände von ^{14}C -Benazolin-Ethyl des sterilisierten Boden Incept-Int nach Inkubation bei 40 % WHK; dargestellt sind Mittelwerte ($n=3$) und Standardabweichungen (vertikale Balken)

Die HPLC-Analyse ergab, dass in allen Extrakten ^{14}C -Benazolin-Ethyl als einzige Substanz nachweisbar war. Unter abiotischen Bedingungen fand also im Boden Incept-Int, mit ansonsten der intensivst abbaubende Boden, kein Abbau von ^{14}C -Benazolin-Ethyl statt.

3.5 Die Wasserspannung in den Böden

Die pF-WG-Kurven (Abbildung 3.17) der untersuchten Böden unterschieden sich insbesondere im mittleren Wasserspannungsbereich zwischen $pF = 2$ und 3 deutlich (Molli-High und Molli-Low unterschieden sich bei $pF = 2$ um 8 % und Molli-High und Alfi-Con bei $pF = 3$ gar um 12 % gravimetrischen Wassergehalt).

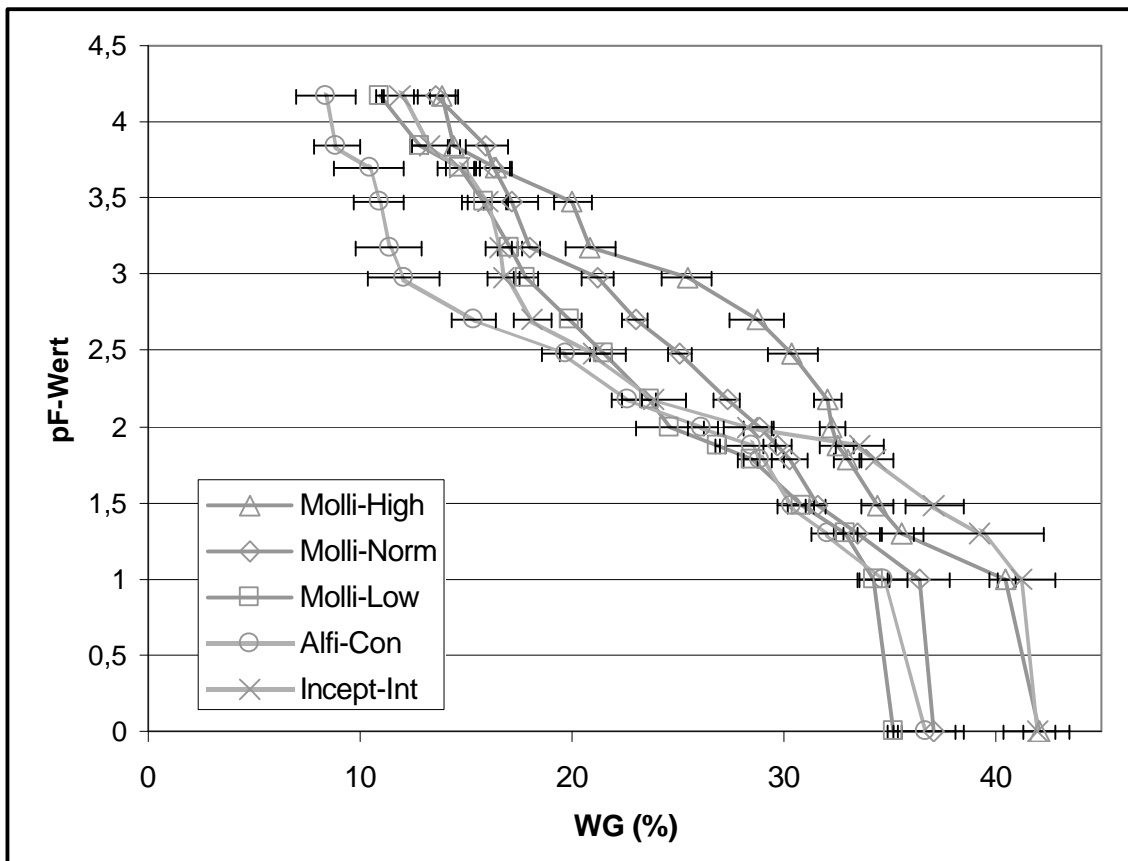


Abbildung 3.17: pF-Wert bei entsprechendem Wassergehalt (%) für die Böden Molli-High, Molli-Norm, Molli-Low, Alfi-Con und Incept-Int; dargestellt sind Mittelwerte des Wassergehalts ($n = 5$) und Standardabweichungen (horizontale Balken)

In Abbildung 3.18 ist zu ersehen wie sich diese Unterschiede auf den mit Wasser gefüllten Porenraum auswirken. So sind etwa bei einem Wassergehalt von 20 % (Gewichtsprozent) im Boden Molli-High Poren bis 1 μm gefüllt, im Boden Alfi-Con jedoch bereits bis 10 μm . Die Porengröße 10 μm ist im Boden Molli-High erst bei etwa 30 % Wassergehalt gefüllt, während dann in den Böden Alfi-Con, Molli-Norm und Molli-Low bereits Poren bis 100 μm gefüllt sind.

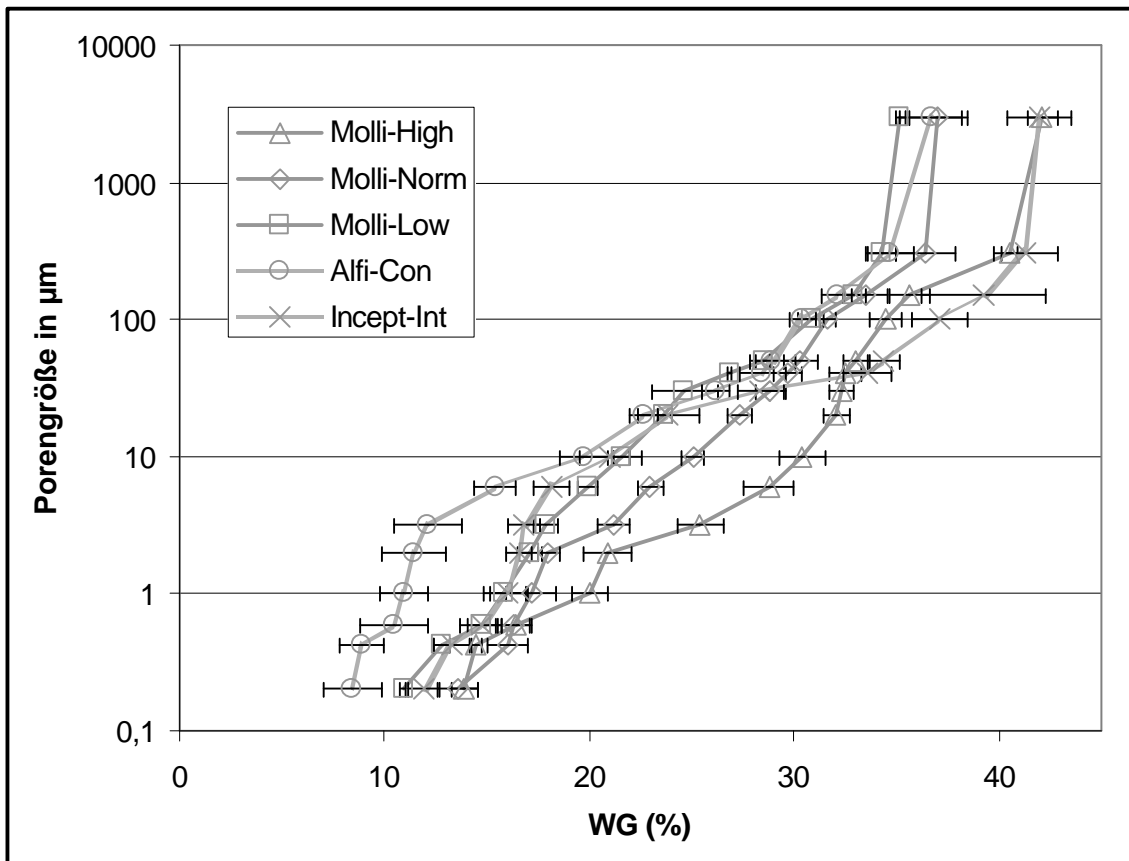
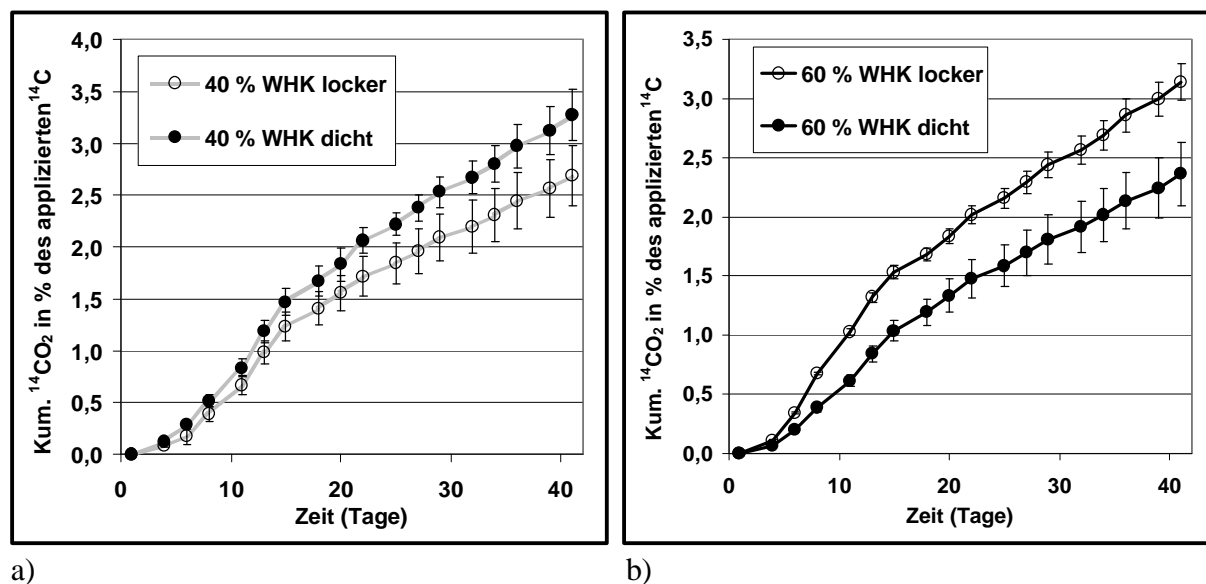


Abbildung 3.18: Mit Wasser gefüllte Porengröße bei entsprechendem Wassergehalt (WG) für die Böden Molli-High, Molli-Norm, Molli-Low, Alfi-Con und Incept-Int; dargestellt sind Mittelwerte des Wassergehalts ($n = 5$) und Standardabweichungen (horizontale Balken)

3.6 Verhalten von ^{14}C -Benzazolin-Ethyl im Boden Alfi-Con bei unterschiedlicher Lagerungsdichte

Der Einfluss der Lagerungsdichte auf den Abbau von ^{14}C -Benzazolin-Ethyl im Boden Alfi-Con ist aus Abbildung 3.19 ersichtlich. Die Mineralisierung war bei einer Bodenfeuchte von 40 % WHK und einer Lagerungsdichte von $1,4 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ signifikant höher als bei einer Lagerungsdichte von $1,0 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$. Anders verhielt es sich bei 60 % WHK, wo der verdichtete Boden eine deutlich geringere Mineralisierung (2,4 %) aufwies als der lockere (3,1 %).



a) b) *Abbildung 3.19: Verlauf der Mineralisierung von ^{14}C -Benzazolin-Ethyl im Boden Alfi-Con inkubiert bei 40 % (a) und 60 % (b) WHK Bodenfeuchte und lockerer ($1,0 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$) bzw. dichter ($1,4 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$) Lagerung; dargestellt sind Mittelwerte ($n=3$) und Standardabweichung (vertikale Balken).*

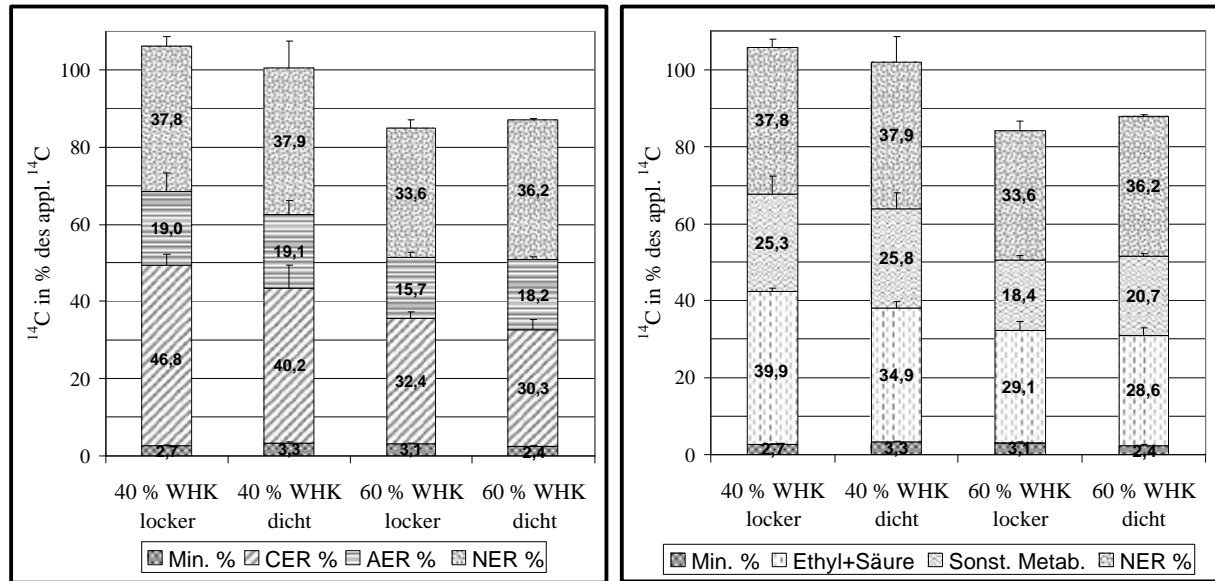
Bei 40 % WHK hatten die beiden Bodendichten keinen Einfluss auf Aceton- und nicht extrahierbare Rückstände (Abbildung 3.20 a). Die CaCl_2 -extrahierbaren Rückstände verhielten sich jedoch genau entgegengesetzt zur Mineralisierung, sie waren in der lockeren Version höher (46,8 %) als in der Verdichteten (40,2 %). Dies entspricht den Ergebnissen von Kapitel 3.1.3.

Bei 60 % WHK nahmen die CaCl_2 -extrahierbaren Rückstände mit höherer Dichte leicht ab, während Aceton- und nicht extrahierbare Rückstände etwas zunahmen.

Betrachtet man die extrahierten Metabolite bei höherer Auflösung (Abbildung 3.20 b) zeigt sich der Einfluss der unterschiedlichen Bodenfeuchten und -dichten:

Bei einer Bodenfeuchte von 60 % WHK blieben Benzazolin-Ethyl und -säure etwa konstant, während die sonstigen Metabolite bei höherer Bodendichte zunahmen. Diese Zunahme war höher (2,3 %) als der Rückgang der Mineralisierung (0,7 %).

Bei einer Bodenfeuchte von 40 % WHK blieben hingegen die sonstigen Metabolite konstant, während bei der Dichte $1,0 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ deutlich mehr Benzazolin-Ethyl und Benzazolinsäure extrahiert werden konnte (39,9 % des appl. ^{14}C) als bei der Dichte $1,4 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ (34,9 % des appl. ^{14}C , siehe Abbildung 3.20b).



a)

b)

Abbildung 3.20: Mineralisierung (Min.), extrahierbare und nicht extrahierbare Rückstände (NER) von ^{14}C -Benazolin-Ethyl im Boden Alfi-Con nach Inkubation bei 40 % und 60 % WHK bei lockerer ($1,0 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$) bzw. dichter ($1,4 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$) Bodenlagerung.

- a) Mit $0,01 \text{ m CaCl}_2$ -Lösung extrahierbare (CER) und Aceton extrahierbare (AER) Rückstände
- b) Die Summe von CER + AER unterteilt in Benazolin-Ethyl + Benazolinsäure (Ethyl+Säure) und sonstige Metabolite (Sonst. Metab.).

3.7 Kd-Wert und In-situ-Verteilungskoeffizient (IPC) von ¹⁴C-Benazolin-Ethyl und ¹⁴C-Benazolinsäure bei unterschiedlicher Bodenfeuchte

3.7.1 Messung des Kd-Wertes von Benazolin-Ethyl und Benazolinsäure in Böden

Die Kd-Werte für Benazolin-Ethyl und Benazolinsäure waren im Boden Alfi-Con gleich (Tabelle 3.10), während in den anderen Böden die Werte für Benazolin-Ethyl immer deutlich höher waren.

Tabelle 3.10: Kd-Werte von Benazolin-Ethyl und Benazolinsäure in den Böden Alfi-Con, Incept-Int, Molli-High, Molli-Norm und Molli-Low; Mittelwerte und Standardabweichung für n=3

| | Alfi-Con | Incept-Int | Molli-High | Molli-Norm | Molli-Low |
|---------------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|------------------------|----------------------|
| Kd Benazolin-Ethyl | 0,46 (± 0,01) | 1,11 (± 0,001) | 1,68 (± 0,09) | 2,08 (± 0,13) | 2,61 (± 0,14) |
| Kd Benazolinsäure | 0,48 (± 0,04) | 0,59 (± 0,02) | 1,16 (± 0,07) | 1,49 (± 0,0,26) | 1,67 (± 0,01) |

Die hier gemessenen Werte für Benazolin-Ethyl lagen deutlich unter denen in der Literatur angegebenen Werten von 8-15 (ZÖRNTLEIN 1995), die für Benazolinsäure hingegen im dort angegebenen Bereich von 0,4-1 oder teilweise sogar deutlich darüber.

3.7.2 Abschätzung des Kd Wertes von Benazolin-Ethyl und Benazolinsäure mit Modellrechnungen nach TRAPP & MATTHIES (1996)

Die Wasserlöslichkeit von Benazolin-Ethyl und Benazolinsäure unterscheidet sich bereits um mehr als eine Zehnerpotenz. Dieser Unterschied wird beim K_{OW} Wert (Quelle: ZÖRNTLEIN 1996) noch größer, bei dem Benazolin-Ethyl um mehr als das 200fache höher liegt als die Säure.

Tabelle 3.11: Wasserlöslichkeit in $g \cdot l^{-1}$, K_{OW} , K_{OC} berechnet aus den K_{OW} von Benazolin-Ethyl und Benazolinsäure nach den Gleichungen von Karickhoff (1981) und Schwarzenbach (Schw.) und Westall (1981)

| Substanz | Wasserlöslichk. in $g \cdot l^{-1}$ | K_{OW} | K_{OC} nach Karickhoff (1981) | K_{OC} nach Schw. und Westall (1981) |
|-----------------|--|----------|------------------------------------|---|
| Benazolin-Ethyl | 0,047 | 315,3 | 129,58 | 194,57 |
| Benazolinsäure | 0,6 | 1,34 | 0,55 | 3,82 |

Tabelle 3.11 zeigt, dass die beiden in Kapitel 2.12 (Seite 48) zitierten Gleichungen für Benazolin-Ethyl und Benazolinsäure unterschiedliche Werte ergeben. Berechnet man hieraus den K_d -Wert (Tabelle 3.12) ergibt sich, dass die berechneten Werte fast immer deutlich höher sind als die gemessenen und auch die Reihenfolge untereinander teilweise deutliche Unterschiede aufweist.

So ergibt die Berechnung für den Boden Molli-High die höchsten K_d -Werte aufgrund des hohen Gehalts an C_{org} , bei den Messungen liegt der K_d -Wert jedoch deutlich unter dem des Molli-Norm und des Molli-Low.

Tabelle 3.12: C_{org} (%) der Böden Incept-Int, Alfi-Con, Molli-High, Molli-Norm und Molli-Low, sowie der jeweilige K_d für Benazolin-Ethyl berechnet nach Karickhoff (1981), nach Schwarzenbach & Westall (1981, Schw. & W.) und bestimmt im Labor

| Boden | C_{org} in % | K_d nach Karickhoff | K_d nach Schw. & W. | K_d bestimmt |
|------------|----------------|-----------------------|-----------------------|----------------|
| Incept-Int | 1,43 | 1,85 | 2,78 | 1,11 |
| Alfi-Con | 1,07 | 1,39 | 2,08 | 0,46 |
| Molli-High | 2,44 | 3,16 | 4,75 | 1,68 |
| Molli-Norm | 2,06 | 2,67 | 4,01 | 2,08 |
| Molli-Low | 1,81 | 2,35 | 3,52 | 2,61 |

3.7.3 Bestimmung des In-situ-Verteilungskoeffizienten (IPC)

Der in-situ-Verteilungskoeffizient (IPC = In-situ-Partitioning-Coefficient) wurde entwickelt, um die Verfügbarkeit von Chemikalien im Boden unter naturnahen Bedingungen beschreiben, im Gegensatz zum K_d -Wert, der unter sehr artifiziellen Bedingungen (Verhältnis Boden : Wasser = 1 : 5) ermittelt wird.

Die verwendete Zentrifugationsmethode wird oft als Alternative zur Druckmethode für die Bestimmung der pF-WG-Kurve angewendet. Die Saugspannung (H) wird dann in Abhängigkeit von der Probeneinfüllhöhe (h in cm), Umdrehungszahl (N) und dem Rotordurchmesser (r in cm) ausgedrückt. Die Gleichung lautet (KUNTZE 1965):

$$H = h * 2^{-1} * r * N^2 * 90000^{-1}$$

Berechnet man die Saugspannung mit Hilfe des relativen Zentrifugalfeldes (RCF) und der Gravitationskonstante g ergibt sich folgende Gleichung:

$$H = h * 2^{-1} * RCF * g$$

Die berechneten Werte für H und damit für die entleerten Porendurchmesser stimmten nicht mit den ermittelten Werten überein (Tabelle 3.13).

*Tabelle 3.13: Angewendete Umdrehungszahl und damit zusammenhängendes relatives Zentrifugalfeld ($RCF * g$), Saugspannung (pF-Wert), sowie entsprechende theoretische Porengröße und durch die Zentrifugation ermitteltes Restporenwasser (RPW in % der Trockensubstanz) und Porendurchmesser der jeweils entleerten Poren in den Böden Alfi-Con, Incept-Int, Molli-High und Molli-Low bei 60 % WHK.*

| Umdr. | RCF | pF-Wert | Porengr. | Alfi-Con | | Incept-Int | | Molli-High | | Molli-Low | |
|-------------------|------|---------|----------|----------|-------|------------|-------|------------|-------|-----------|-------|
| | | | | RPW | Poren | RPW | Poren | RPW | Poren | RPW | Poren |
| min ⁻¹ | | | µm | (%) | (µm) | (%) | (µm) | (%) | (µm) | (%) | (µm) |
| 3500 | 750 | 2,9 | 4 | 18,96 | 10 | 32,12 | 35 | 32,06 | 15 | 21 | 10 |
| 6400 | 2500 | 3,4 | 1,2 | 14,74 | 5 | 29,2 | 30 | 29,17 | 6 | 18,65 | 4 |
| 7600 | 3500 | 3,6 | 0,9 | 13,41 | 4 | 27,75 | 25 | 27,72 | 4 | 17,47 | 3 |

Dies lag sicherlich an der Tatsache, dass die Zentralachse der Zentrifugenbecher und damit die Probe um einen 25° Winkel zur Rotationsachse der Zentrifuge versetzt war (Abbildung 3.21) und daher die Bodenprobe im Schwerefeld der Zentrifuge verlagert wurde. Dadurch war die Einfüllhöhe nicht mehr konstant und der Zentrifugationsradius r wurde durch die Verlagerung vergrößert. Um diesem methodenbedingten Fehler gerecht zu werden, werden derzeit Zentrifugenbecher entwickelt, die diesem Problem Abhilfe verschaffen.

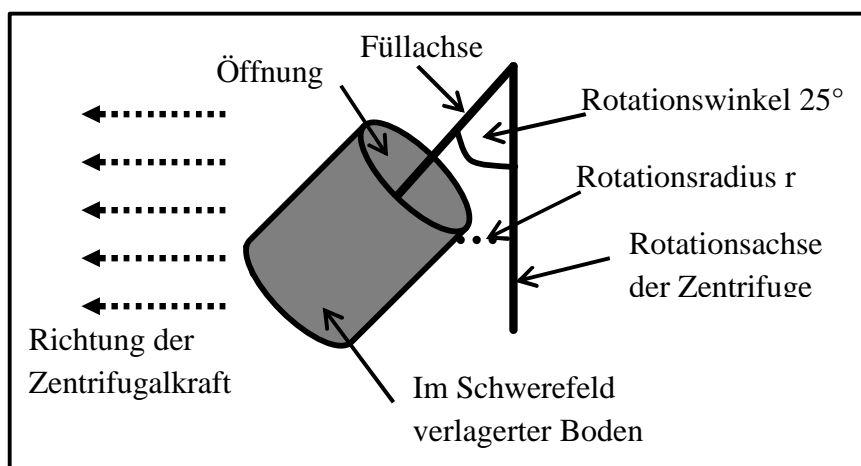


Abbildung 3.21: Positionierung der Bodenprobe und des Zentrifugenbechers im Schwerefeld der Zentrifuge

Dennoch war die Anwendung der Methode prinzipiell für die Extraktion der Bodenlösung der Böden Alfi-Con, Molli-High und Molli-Low berechtigt, da reproduzierbar (Tabelle 3.13) eine der Zentrifugationskraft entsprechende Porengröße entleert wurde. Die entleerte Porengröße war jedoch abhängig von der am Versuchsanfang gefüllten Porenmenge. Um dem Rechnung zu tragen wurde im weiteren Verlauf des Versuchs als Bodenfeuchte nicht 40 % WHK sondern die Porengröße $5 \mu\text{m}$ mit Wasser gefüllt, um die Ergebnisse besser vergleichen zu können.

3.7.4 Der In-situ-Verteilungskoeffizient von Benazolin-Ethyl und Benazolinsäure in Böden

Die IPCs der Proben sind in (Tabelle 3.14) dargestellt. Der IPC war immer um ein vielfaches höher als der K_d -Wert (Tabelle 3.10, Seite 74). Ebenso war der IPC von Benazolin-Ethyl im selben Boden und bei gleicher Bodenfeuchte immer um ein vielfaches höher als der entsprechende IPC von Benazolinsäure.

Bei Benazolin-Ethyl war der IPC in allen gemessenen Böden bei geringerer Bodenfeuchte höher als bei höherer Bodenfeuchte. Für Benazolinsäure war dies jedoch nicht immer der Fall: So nahmen bei geringerem Wassergehalt (40 % WHK) die IPCs für die Säure in den Böden Alfi-Con und Molli-Low zu, während diese in den Böden Incept-Int und Molli-High abnahmen; also bei geringerem Wassergehalt war insgesamt mehr ^{14}C -Benazolinsäure in der Lösung. Die Ursache ist im Wassergehalt selber begründet (Tabelle 3.15): Im Boden Molli-Low war bei 40 % WHK eine geringere Wassermenge mit einer geringeren Konzentration an gelöstem ^{14}C extrahierbar als bei 60 % WHK, daher auch der sehr hohe IPC von 65,55.

Tabelle 3.14: In-situ-Verteilungskoeffiziente von ^{14}C -Benazolin-Ethyl (B.-Ethyl) und ^{14}C -Benazolinsäure (B.-Säure) in den Böden Alfi-Con, Incept-Int, Molli-High, Molli-Norm und Molli-Low inkubiert bei unterschiedlichem Wassergehalt (60 % WHK, 40 % WHK und $pF = 2,5$)

| Boden | 60 % WHK | | 40 % WHK | | pF = 2,5 |
|-------------------|----------|----------|----------|----------|----------|
| | B.-Ethyl | B.-Säure | B.-Ethyl | B.-Säure | B.-Säure |
| Alfi-Con | 36,32 | 3,71 | 56,01 | 5,54 | 5,54 |
| Incept-Int | 60,72 | 7,34 | 78,06 | 4,91 | 6,09 |
| Molli-High | 101,42 | 23,31 | 114,60 | 18,72 | 18,72 |
| Molli-Norm | - | - | - | - | 22,98 |
| Molli-Low | 127,24 | 29,92 | 169,82 | 65,55 | 65,55 |

In den anderen Böden war bei geringerem Wassergehalt (40 % WHK) jeweils weniger Wasser extrahierbar, jedoch mit höherer Konzentration an ^{14}C als bei höherem Wassergehalt (60 % WHK). Im Boden Alfi-Con waren, bei summieren allen ^{14}C (alle vier Werte aus der Spalte ^{14}C -Gesamt in Tabelle 3.15) bei 60 % WHK insgesamt mehr ^{14}C extrahierbar als bei 40 % WHK, bei den Böden Incept-Int und Molli-High jedoch war insgesamt bei 60 % WHK weniger ^{14}C extrahierbar als bei 40 % WHK.

Tabelle 3.15: Bei Zentrifugalkraft entsprechend $pF = 2,9$; 3,4 und 3,6 extrahierte Wassermenge (Extr. Wasser), ^{14}C -Konzentration (^{14}C -Konz.) und gesamtes extrahiertes ^{14}C (^{14}C -Gesamt), sowie Restwasser (Rest) für die Böden Alfi-Con, Incept-Int, Molli-High und Molli-Low inkubiert bei 40 % und 60 % WHK.

| Boden | Fraktion | 60 % WHK | | | 40 % WHK | | |
|------------|----------|--------------|------------------------|-------------------------|--------------|------------------------|-------------------------|
| | | Extr. Wasser | ^{14}C -Konz. | ^{14}C -Gesamt | Extr. Wasser | ^{14}C -Konz. | ^{14}C -Gesamt |
| | pF-Wert | (ml) | (‰/100µl) | (‰) | (ml) | (‰/100µl) | (‰) |
| Alfi-Con | 2,9 | 1,56 | 4,09 | 63,6 | 0,30 | 5,17 | 16,6 |
| | 3,4 | 1,04 | 3,36 | 35,1 | 0,23 | 2,43 | 8,6 |
| | 3,6 | 0,33 | 3,12 | 10,3 | 0,18 | 3,59 | 6 |
| | Rest | 3,30 | 3,12 | 103,0 | 3,71 | 3,59 | 133,2 |
| | Summe | 6,23 | - | 212,0 | 4,42 | - | 164,4 |
| Incept-Int | 2,9 | 0,67 | 1,88 | 12,6 | 0,21 | 3,64 | 7,5 |
| | 3,4 | 0,64 | 1,57 | 10,2 | 0,48 | 3,10 | 15,1 |
| | 3,6 | 0,32 | 1,50 | 4,9 | 0,28 | 2,88 | 7,9 |
| | Rest | 6,16 | 1,50 | 92,4 | 4,86 | 2,88 | 140,0 |
| | | 7,79 | - | 120,1 | 5,83 | - | 170,5 |
| Molli-High | 2,9 | 0,78 | 0,72 | 5,7 | 0,38 | 1,21 | 4,6 |
| | 3,4 | 0,64 | 0,52 | 3,3 | 0,50 | 0,90 | 4,5 |
| | 3,6 | 0,32 | 0,50 | 1,6 | 0,30 | 0,83 | 2,5 |
| | Rest | 6,10 | 0,50 | 30,5 | 4,72 | 0,83 | 39,2 |
| | Summe | 7,84 | - | 41,1 | 5,90 | - | 50,8 |
| Molli-Low | 2,9 | 0,62 | 0,87 | 5,4 | 0,00 | - | - |
| | 3,4 | 0,58 | 0,58 | 3,3 | 0,23 | 0,41 | 1 |
| | 3,6 | 0,29 | 0,51 | 1,5 | 0,15 | 0,39 | 0,6 |
| | Rest | 4,30 | 0,51 | 21,9 | 3,44 | 0,39 | 13,4 |
| | Summe | 5,79 | - | 32,1 | 3,82 | - | 15,0 |

Es zeigte sich, dass bei der höchsten Bodenfeuchte (60 % WHK in Abbildung 3.22) ein Zusammenhang zwischen dem IPC und dem Kd-Wert existierte, bei den niedrigeren Wassergehalten jedoch keine Beziehung abgeleitet werden konnte (Abbildung 3.23).

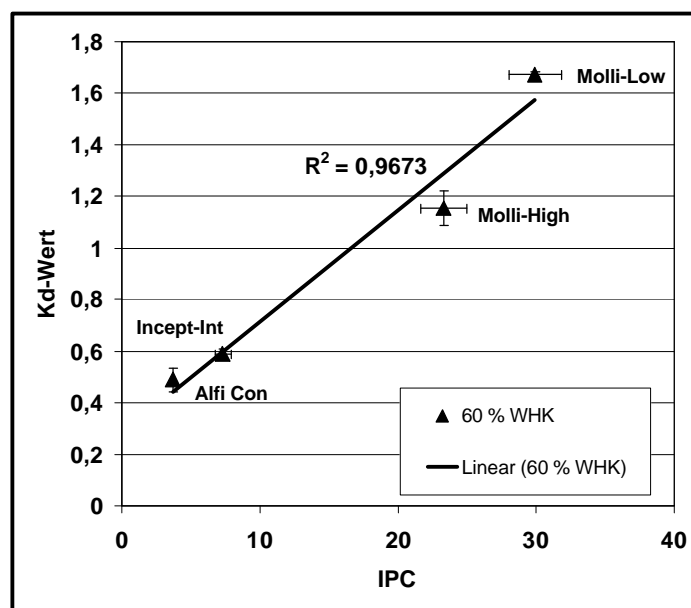
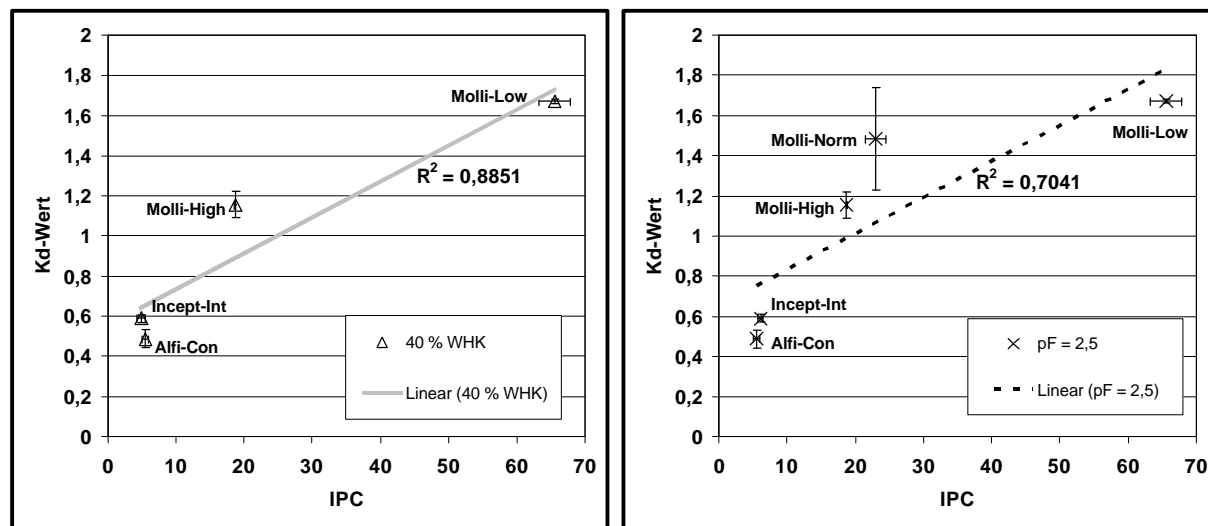


Abbildung 3.22: Zusammenhang zwischen in-situ-Verteilungskoeffizient (IPC) und Kd-Wert für die Böden Alfi-Con, Incept-Int, Molli-High und Molli-Low bei 60 %; dargestellt sind Mittelwerte ($n = 3$) und Standardabweichungen in der entsprechenden Achsenrichtung.



a)

b)

Abbildung 3.23: Zusammenhang zwischen in-situ-Verteilungskoeffizient (IPC) und Kd-Wert für die Böden Alfi-Con, Incept-Int, Molli-High, Molli-Norm (nur $pF = 2,5$) und Molli-Low bei 40 % WHK (a) bzw. $pF = 2,5$ (b); dargestellt sind Mittelwerte ($n = 3$) und Standardabweichungen in der entsprechenden Achsenrichtung.

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass die Verfügbarkeit von Chemikalien sehr stark vom Wassergehalt abhängt. Extrahierbare Wassermenge und ^{14}C -Konzentration im extrahierten Wasser verhielten sich zumeist gegenläufig. Zwar waren bei geringerem

Wassergehalt auch geringere Wassermengen extrahierbar, jedoch war die Konzentration von ^{14}C im extrahierten Wasser in allen Böden außer Molli-Low höher. Dadurch kommt es in manchen Böden (z.B. Incept-Int) zu einer höheren Chemikalienverfügbarkeit bei geringerem Wassergehalt.

4 Ergebnisse zur Steuerung des Abbaus von Benzo(a)pyren

Wenn nicht anders angegeben, wurde das Abbauverhalten der Modellchemikalie ^{14}C -Benzo(a)pyren unter kontrollierten Bedingungen bei konstant $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ im Dunkeln untersucht. Alle Aussagen bezüglich der Unterschiede, wenn nicht anders erwähnt sind statistisch signifikant, Ergebnisse der T-Tests siehe Anhang 9.1.2 (Seite 163).

4.1 Identifikation von unbekanntem Metaboliten im Massenspektrometer

Im Rahmen dieser Arbeit wurden drei nicht durch Standards eindeutig identifizierte Metabolite von ^{14}C -Benzo(a)pyren (BaP) nachgewiesen, Unbek. A, Unbek. B und Unbek. C. Von diesen waren lediglich Unbek. A und Unbek. C von quantitativer Bedeutung, so dass diese im Massenspektrometer wie in Kapitel 2.5.10 (Seite 30) dargestellt untersucht wurden.

Abbildung 4.1 zeigt ein LCQ-Chromatogramm von BaP, drei BaP-Dihydrodiolen und 2 Hydroxy-BaPs als nicht radioaktiv markierte Standards. Im Totalionenchromatogramm (TIC) wurden die 6 Peaks im Gesamtspektrum dargestellt, wobei BaP selbst nur als sehr kleiner Peak erkennbar war, da nur geringe Mengen ($2\text{ ng} \cdot \mu\text{l}^{-1}$, die anderen ca. $8\text{-}10\text{ ng} \cdot \mu\text{l}^{-1}$) davon eingespritzt wurden. Dennoch ließ sich eindeutig dieser Peak bei der Molmasse von BaP erkennen (Retentionszeit $\text{RT} = 45,12$). Da das Molekül im Massenspektrometer mit einem Proton geladen wird, erhöht sich die Molmasse von 252,3 auf 253,3, liegt also im angegebenen Bereich.

267-270 ist der Massenbereich für Monohydroxy-BaP und 284-286 der Massenbereich für BaP-dihydrodiolen. Es zeigte sich, dass die Dihydrodiolen sowohl im Bereich von Monohydroxy-BaP als auch im Bereich der Dihydrodiolen einen Massenpeak aufwiesen ($\text{RT} = 9,19$; $14,79$ und $18,43$).

Die Monohydroxy-BaP wiesen hingegen nur einen Peak bei 267-270 auf ($\text{RT} = 30,18$ und $35,87$) und konnten so eindeutig als solche identifiziert werden. Bei den Peaks im Massenbereich 284-286 bei den Retentionszeiten $\text{RT} = 27,08$ und $33,51$ handelte es sich um Verunreinigungen, die sonst in keinem Massenbereich und nur kaum merklich im TIC auftraten.

Unter den gleichen Analysebedingungen wurden die Beispielsprobe 1 mit den unbekanntem Metaboliten Unbek. A und Unbek. C eingespritzt (Abbildung 4.2). Es zeigte sich, dass der Peak des Metaboliten Unbek. A in allen untersuchten Massen auftrat, also keines der für BaP und seine Metabolite typischen Massenspektren aufwies. Der entsprechende Peak in der HPLC hatte häufig auch eine recht breite Streuung. Der entsprechende Peak im Radiodetektor (Analog UV 2) erschien entsprechend der Laufzeitverschiebung zu diesem Detektor fast genau 2 Minuten später.

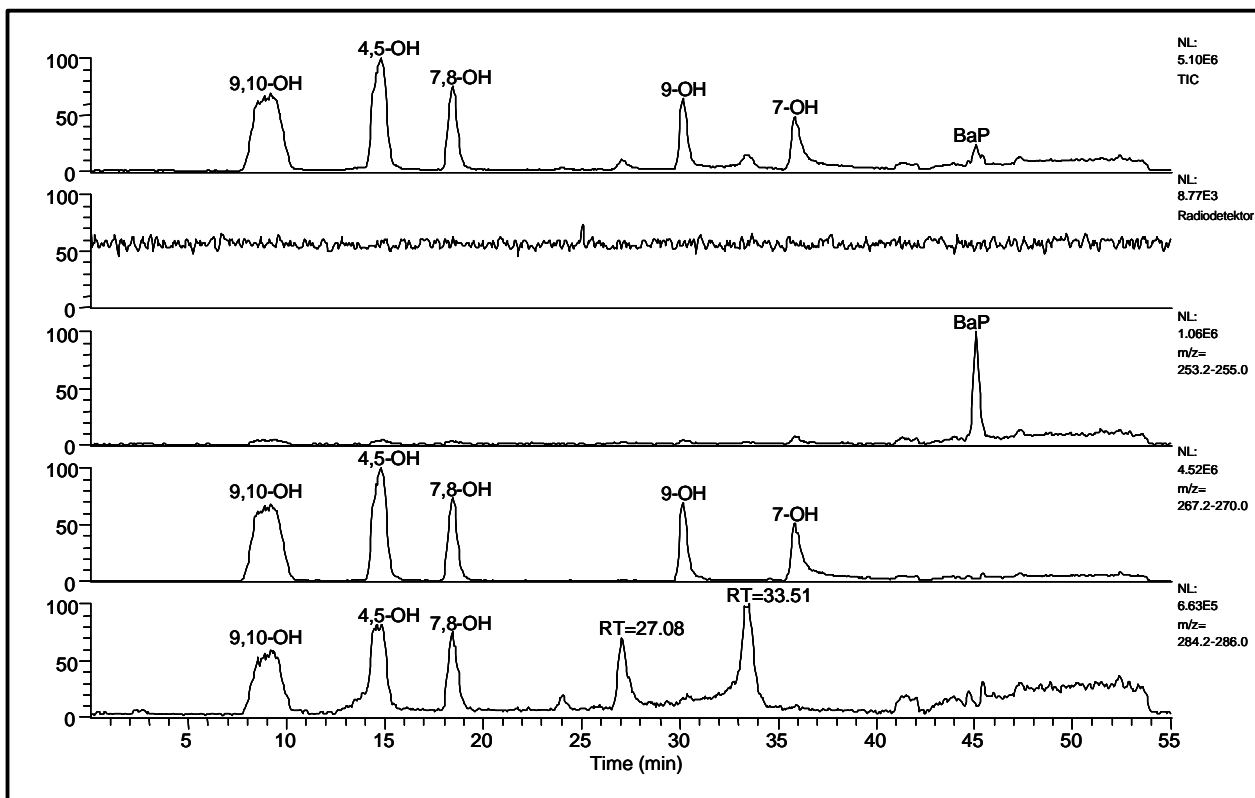


Abbildung 4.1: MS-Spektren von Benzo(a)pyren (BaP), 4,5- und 7,8- sowie 9,10-BaP-dihydrodiol und 7-OH- sowie 9-OH-BaP nach chromatographischer Trennung. Dargestellt ist jeweils die relative Abundanz über die Zeit. Diagramme von oben nach unten: TIC (= Totalionenchromatogramm), Analog UV 2 (Radiodetektor), Masse von BaP ($m^*z^{-1} = 253,2-255,0$), Monohydroxy-BaP ($m^*z^{-1} = 267,2-270,0$) und BaP-Dihydrodiol ($m^*z^{-1} = 284,2-286,0$)

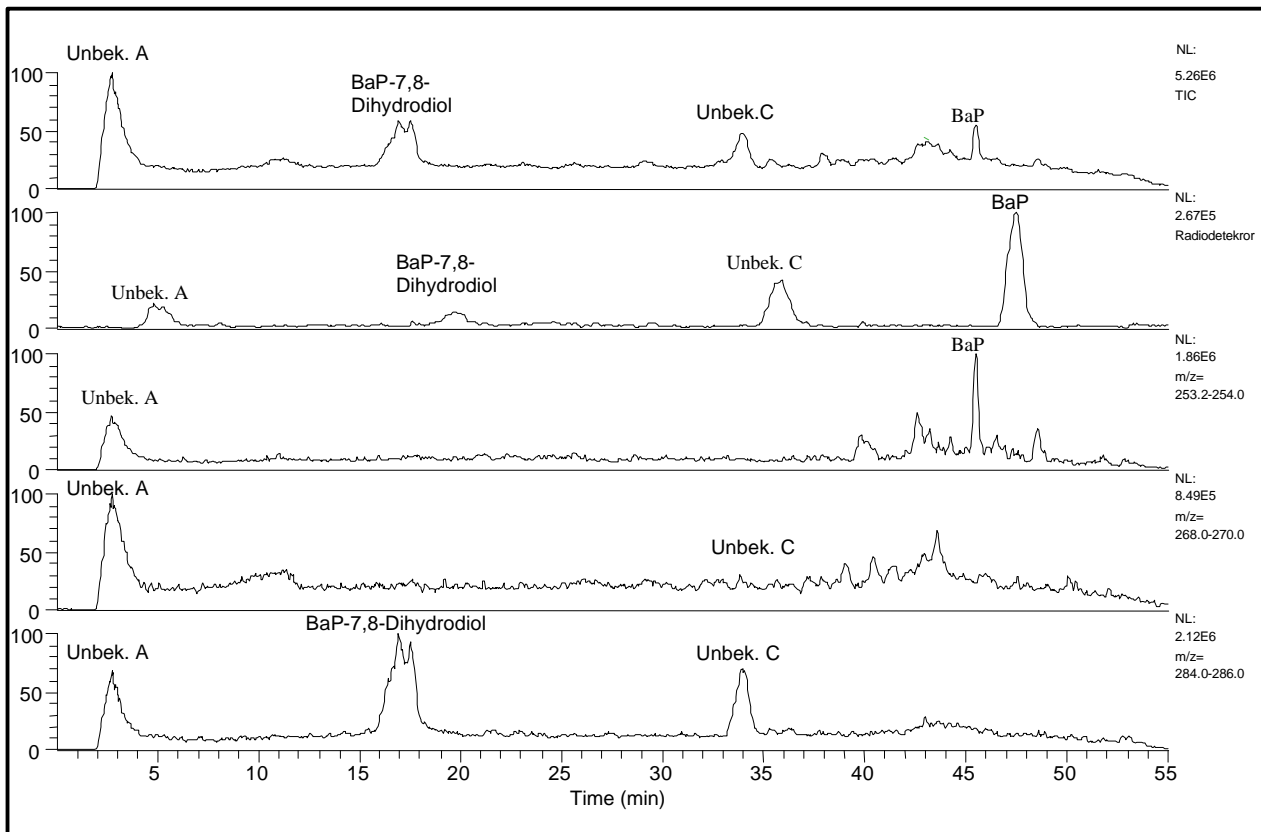


Abbildung 4.2: MS-Spektrum der Beispielsprobe 1; dargestellt ist jeweils die relative Abundanz über die Zeit. Diagramme von oben nach unten: TIC (= Totalionenchromatogramm), Analog UV 2 (Radiodetektor), Masse von BaP ($m^*z^{-1} = 253,2-255,0$), Monohydroxy-BaP ($m^*z^{-1} = 267,2-270,0$) und BaP-Dihydrodiol ($m^*z^{-1} = 284,2-286,0$)

BaP-7,8-Dihydrodiol wurde als Vergleichssubstanz für die Gruppe der bekannten Dihydrodiole eingespritzt.

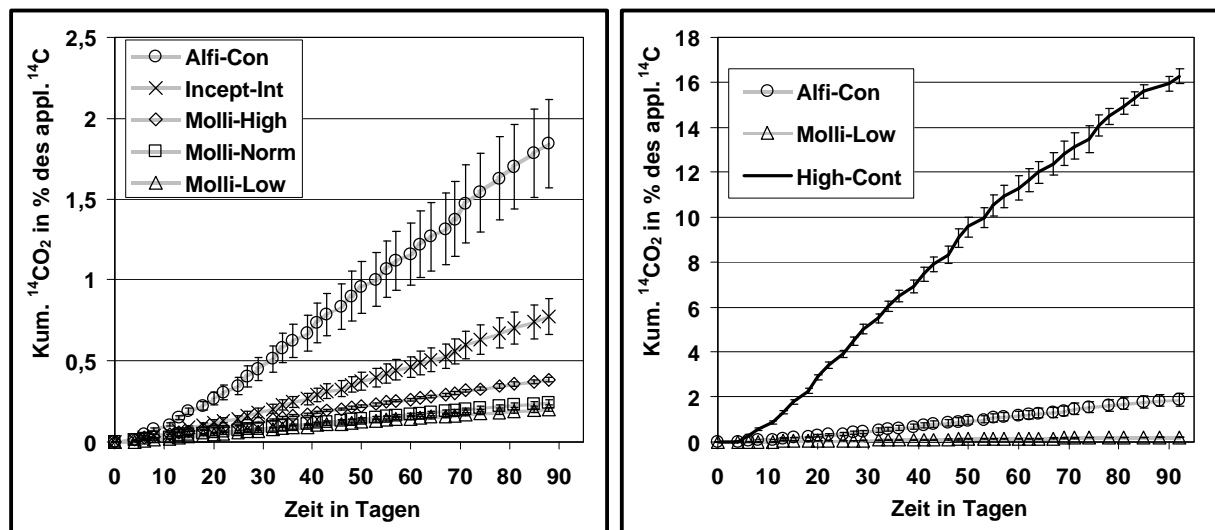
Im Falle des Metaboliten Unbek. C (33,96 min in Abbildung 4.2), konnte ein kleiner Peak im Bereich Monohydroxy-BaP ($m/z = 268-270$) und ein großer Peak im Bereich der Dihydrodiole ($m/z = 284-286$) festgestellt werden. Durch einen Peak im Radiodetektor konnte der Ursprung aus ^{14}C -BaP nachgewiesen werden. Beim Metaboliten Unbek. C handelte es sich also um ein Dihydrodiol, das aber weder 4,5-, noch 7,8- oder 9,10-Dihydrodiol sein konnte, da die Retentionszeit eindeutig eine Andere war.

4.2 Das Abbauverhalten von ^{14}C -Benzo(a)pyren in Böden

4.2.1 Mineralisierung von ^{14}C -Benzo(a)pyren in Agrarböden bei 40 % WHK

Die Mineralisierung von ^{14}C -Benzo(a)pyren in den landwirtschaftlich genutzten Böden Alfi-Con, Incept-Int, Molli-High, Molli-Norm und Molli-Low war sehr gering. Dennoch gab es folgende Unterschiede: Der Boden Alfi-Con erzielte mit 1,9 % $^{14}\text{CO}_2$ des applizierten ^{14}C (Abbildung 4.3a) die statistisch signifikant (siehe Anhang 9.2) höchste Mineralisierung in 92 Tagen, der Boden Incept-Int erreichte noch 0,8 %, der Boden Molli-High 0,4 % und die Böden Molli-Norm und Molli-Low gar nur 0,2 %.

Ganz anders verhielt sich der stark kontaminierte Boden High-Cont, der im gleichen Zeitraum 16,3 % des applizierten ^{14}C -Benzo(a)pyrens mineralisieren konnte (Abbildung 4.3b).



a)

b)

Abbildung 4.3: Mineralisierung (als kumuliertes $^{14}\text{CO}_2$ in % des applizierten ^{14}C) von ^{14}C Benzo(a)pyren in den Böden Alfi-Con (a+b), Incept-Int (a), Molli-High (a), Molli-Norm (a), Molli-Low (a+b) und High-Cont (b) inkubiert bei 40 % Wasserhaltekapazität; dargestellt sind Mittelwerte ($n=3$) und Standardabweichung (vertikale Balken).

4.2.2 Extrahierbare und nicht extrahierbare Rückstände von ^{14}C -Benzo(a)pyren in Böden

Die mit Kalziumchlorid extrahierbaren Rückstände waren bei den durchgeführten Extraktionen deutlich unter 1 % des applizierten ^{14}C (Tabelle 4.1). Dieser Anteil war in den Böden High-Cont und Alfi-Con am höchsten, wobei, wenn man die sehr geringe Löslichkeit von BaP berücksichtigt es sich wohl eher um Abbauprodukte oder neu gebildetes ^{14}C -DOM handelte und nicht um die Ausgangssubstanz. Dafür spricht auch, dass diese beiden Böden auch die höchste Mineralisierung haben. Da eine weitere Analyse der mit Kalziumchlorid extrahierbaren Rückstände aufgrund der geringen Radioaktivität nicht möglich war, wurde in den weiteren Experimenten keine CaCl_2 -Extraktion mehr durchgeführt.

Tabelle 4.1: Mit CaCl₂ extrahierte Rückstände (CaCl₂-Extrakt) von Benzo(a)pyren und Mineralisierung in % des applizierten ¹⁴C im Boden Alfi-Con nach Inkubation bei 40 % und 60 % WHK, sowie bei 40 % WHK in den Böden High-Cont, Incept-Int, Molli-High, Molli-Norm und Molli-Low; Mittelwerte (n= 3) und Standardabweichung

| | CaCl ₂ -Extrakt | Mineralisierung |
|---------------------|----------------------------|-----------------|
| Alfi-Con 40 % WHK | 0,49 (± 0,11) | 1,88 (± 0,28) |
| Alfi-Con 60 % WHK | 0,70 (± 0,03) | 1,96 (± 0,33) |
| High-Cont 40 % WHK | 0,90 (± 0,15) | 16,27 (± 0,31) |
| Incept-Int 40 % WHK | 0,40 (± 0,02) | 0,79 (± 0,11) |
| Molli-High 40 % WHK | 0,15 (± 0,01) | 0,39 (± 0,02) |
| Molli-Norm 40 % WHK | 0,18 (± 0,12) | 0,25 (± 0,02) |
| Molli-Low 40 % WHK | 0,13 (± 0,01) | 0,21 (± 0,01) |

Für die Böden Incept-Int, Molli-High, Molli-Norm und Molli-Low (Wassergehalt 40 % WHK) waren die mit Lösungsmittel extrahierbaren (66,2 % bis 72,2 % des applizierten ¹⁴C) und nicht extrahierbaren BaP-Rückstände (30,5 % bis 35,9 % des applizierten ¹⁴C) vergleichbar (Abbildung 4.4). Die Unterschiede, wenn überhaupt, waren nur tendenziell (T-Test, siehe Anhang 9.2). Deutlich unterschieden sich die Böden Alfi-Con und High-Cont, die beide geringere Anteile an mit Lösungsmittel extrahierbaren Rückständen hatten (Alfi-Con: 60,1 % bzw. High-Cont: 61,6 % des applizierten ¹⁴C).

Auffällig war, dass der Boden Alfi-Con den höchsten Anteil an nicht extrahierbaren Rückständen von allen hatte (46,4 %), während diese im Boden High-Cont am geringsten waren (13,1 %).

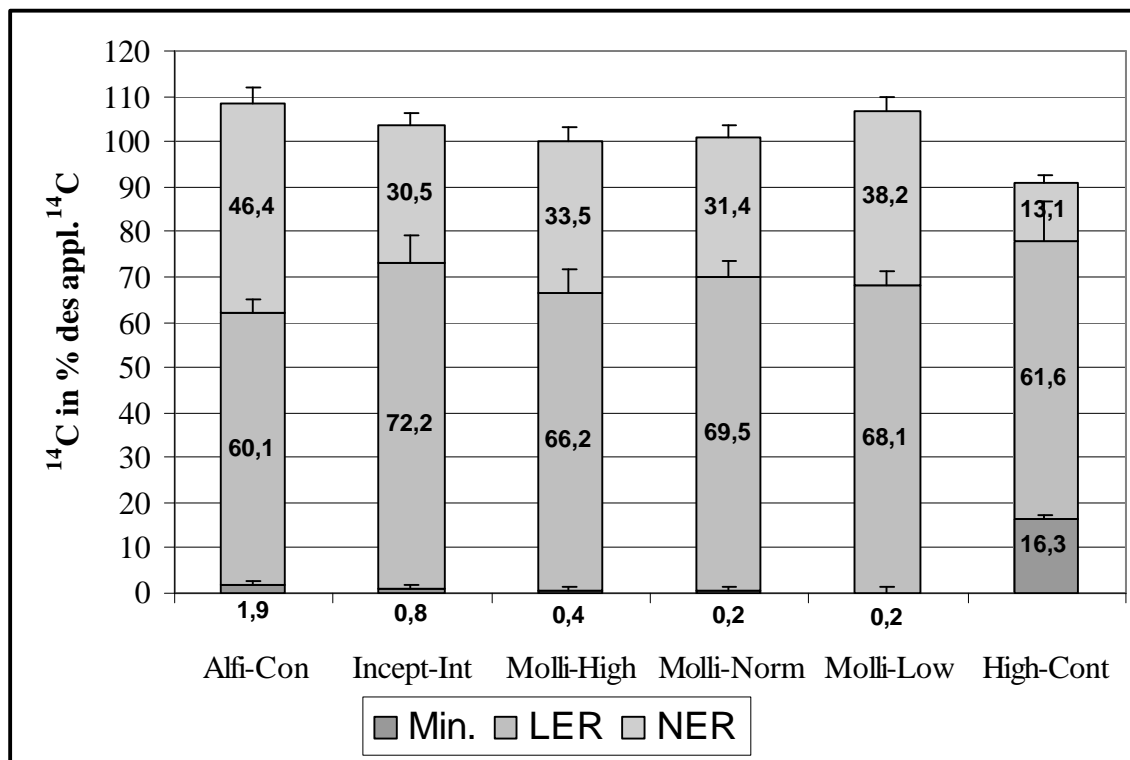


Abbildung 4.4: Mineralisierung (Min.), Lösungsmittel-extrahierbare (LER) und nicht extrahierbare Rückstände (NER) von ^{14}C -Benzo(a)pyren in den Böden Incept-Int, Alfi-Con, Molli-High, Molli-Norm, Molli-Low und High-Cont nach Inkubation bei 40 % WHK; dargestellt sind Mittelwerte ($n=3$) und Standardabweichung (vertikale Balken)

4.2.3 Die Metabolitenmuster der Bodenextrakte

Bei einem Wassergehalt von 40 % WHK enthielten die Bodenextrakte immer Benzo(a)pyren (BaP) als wichtigsten Peak, der nie weniger als 75 % der gesamten Peakfläche ausmachte. Der Boden Alfi-Con hatte außerdem noch einen unbekannt Peak bei einer Retentionszeit (RT) von 1,4 Minuten (Unbek. A), der 12 % Peakfläche ausmachte (Abbildung 4.5). Der Boden Molli-Norm wies, ähnlich wie die Böden Molli-High und Molli-Low, noch zwei weitere Peaks auf: Einer war BaP-7,8-Dihydrodiol und der andere war Unbek. C (RT = 19,8); dennoch waren 84 % der Peakfläche BaP (Abbildung 4.6). Der Bodenextrakt von Incept-Int enthielt den Metaboliten Unbek. C als weiteren Peak.

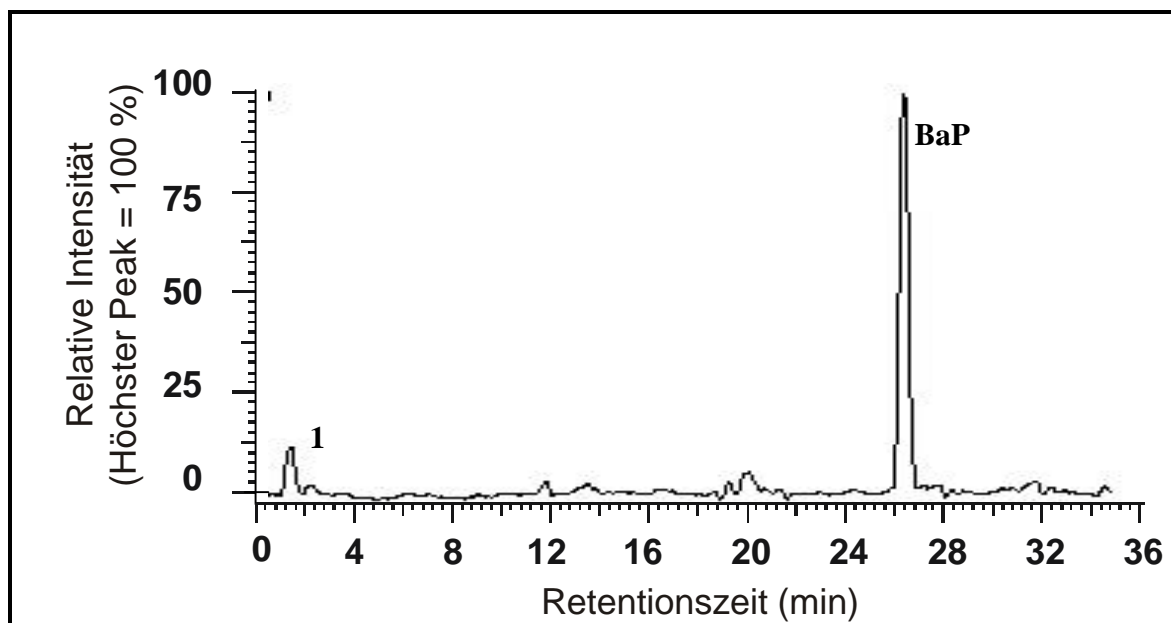


Abbildung 4.5: HPLC-Chromatogramm von ^{14}C -Benzo(a)pyren (BaP) und seiner Metabolite (1 = unbek. A) im Lösungsmittel-extrakt des Bodens Alf-Con nach Inkubation bei einer Bodenfeuchte von 40 % WHK

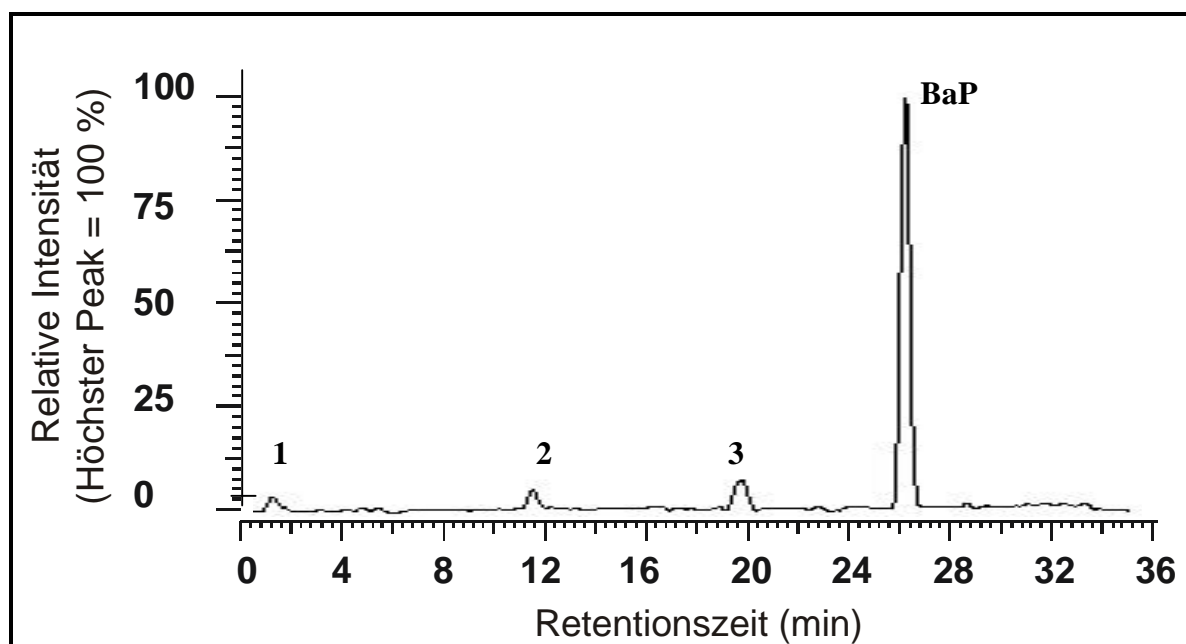


Abbildung 4.6: HPLC-Chromatogramm von ^{14}C -Benzo(a)pyren (BaP) und seiner Metabolite (1 = unbek. A; 2 = BaP-7,8-dihydrodiol; 3 = unbek. C) im Lösungsmittel-extrakt des Bodens Moll-Norm nach Inkubation bei einer Bodenfeuchte von 40 % WHK

4.3 Das Abbauverhalten von ^{14}C -Benzo(a)pyren in den Böden Alfi-Con und Incept-Int bei unterschiedlicher Bodenfeuchte

Da der Einfluss des Wassergehaltes auf den Abbau für Benazolin-Ethyl bereits detailliert untersucht wurde und ähnliche Abhängigkeiten zu erwarten waren, wurde die Abhängigkeit vom Wassergehalt nur für die Böden Alfi-Con und Incept-Int exemplarisch untersucht. Es zeigte sich, dass in beiden untersuchten Böden bei 40 % WHK Wassergehalt die Mineralisierung am geringsten war (Abbildung 4.7), im Boden Alfi-Con 1,2 % $^{14}\text{CO}_2$ in 60 Tagen und im Boden Incept-Int 0,5 %. Bei einer Bodenfeuchte von 60 % der maximalen Wasserhaltekapazität erhöhte sich die Mineralisierung im Boden Incept-Int auf 0,6 % und im Boden Alfi-Con auf 1,6 % des applizierten ^{14}C . Im Boden Alfi-Con war bei 45 % WHK die Mineralisierung mit 1,9 % im gleichen Zeitraum am höchsten.

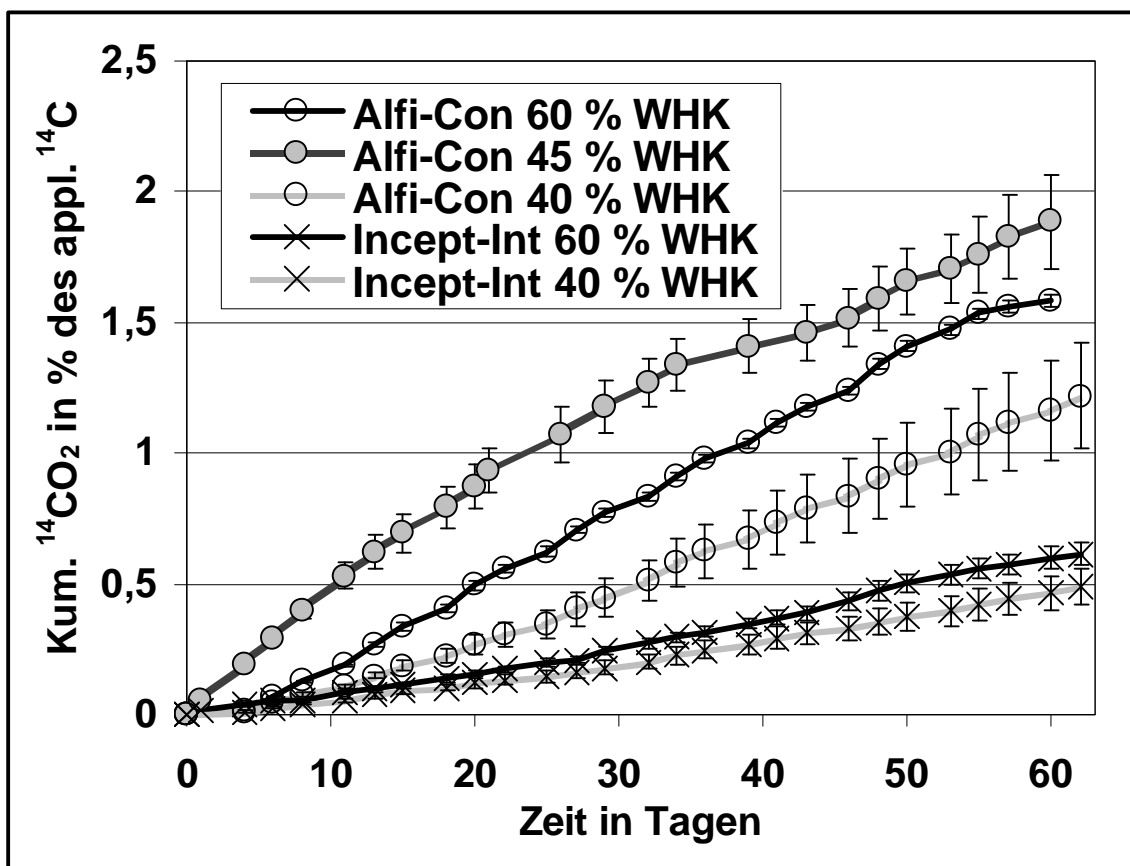
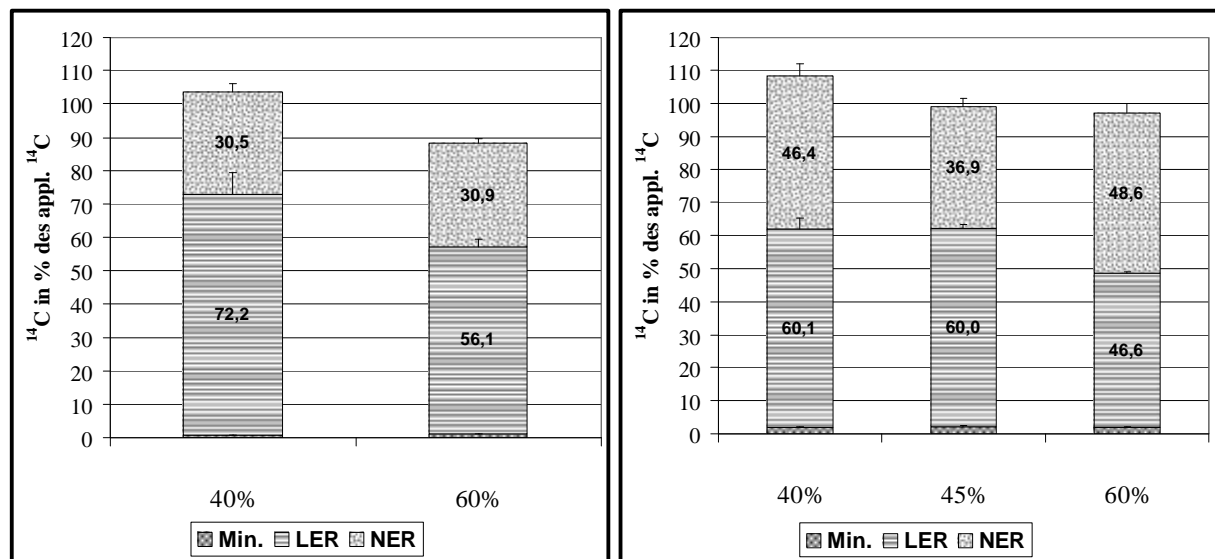


Abbildung 4.7: Mineralisierung (als $^{14}\text{CO}_2$ in % des applizierten ^{14}C) von ^{14}C Benzo(a)pyren in den Böden Alfi-Con und Incept-Int im Verlauf der Inkubation bei 40 %, 45 % (nur Alfi-Con) und 60 % Wasserhaltekapazität, dargestellt sind Mittelwerte ($n=3$) und Standardabweichung (vertikale Balken).

Die Lösungsmittel extrahierbaren Rückstände waren in beiden Böden bei 60 % WHK am geringsten, mit 56,1 % des applizierten ^{14}C im Boden Incept-Int und 46,6 % im Boden Alfi-Con (Abbildung 4.8). Im Boden Alfi-Con entstanden bei der höchsten Mineralisierung (1,89 % des applizierten ^{14}C bei 45 % WHK) die geringsten gebundenen Rückstände (36,9 % des applizierten ^{14}C).



a)

b)

Abbildung 4.8: Mineralisierung (Min.), Lösungsmittel extrahierbare (LER) und nicht extrahierbare Rückstände (NER) von ^{14}C -Benzo(a)pyren in den Böden Incept-Int (a) und Alfi-Con (b) nach Inkubation bei 40 %, 45 % (nur Boden Alfi-Con) und 60 % WHK; dargestellt sind Mittelwerte ($n=3$) und Standardabweichung (vertikale Balken)

Die Chromatogramme der Bodenextrakte aus Incept-Int bei 40 % WHK und 60 % WHK (Tabelle 4.2) zeigen, dass bei zunehmender Bodenfeuchte der Metabolit Unbek. C sehr stark zunahm (von 13,4 % auf 48,7 %). Den selben Effekt gab es im Boden Alfi-Con.

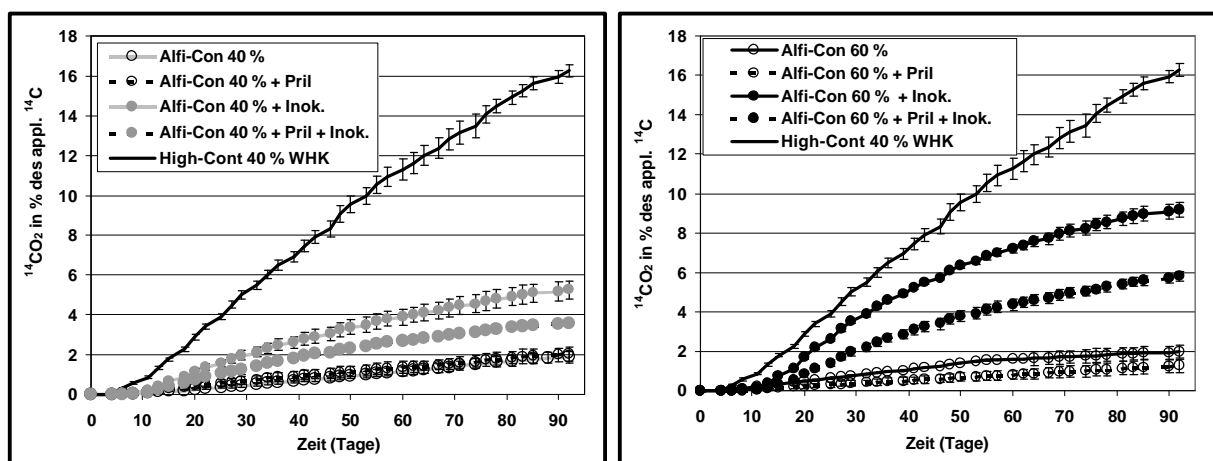
Tabelle 4.2: Peakflächenanteil in % (Mittelwerte $n = 3$ und Standardabweichungen) von ^{14}C -Benzo(a)pyren (BaP) und der Metabolite Unbek. A und Unbek. C der Böden Incept-Int und Alfi-Con nach Inkubation bei unterschiedlichen Wassergehalten (in % WHK)

| Boden | Wassergehalt | unbek. A | unbek. C | BaP |
|------------|--------------|----------------|----------------|----------------|
| Incept-Int | 40 % WHK | 9,7 (+/- 1,0) | 13,4 (+/- 5,6) | 77,0 (+/- 5,5) |
| | 60 % WHK | 4,8 (+/- 1,2) | 48,7 (+/- 1,1) | 47,0 (+/- 1,9) |
| Alfi-Con | 40 % WHK | 14,8 (+/- 4,8) | 0 (+/- 0) | 85,2 (+/- 4,8) |
| | 45 % WHK | 4,0 (+/- 3,6) | 30,3 (+/- 4,8) | 65,7 (+/- 2,4) |

4.4 Versuche zur Steuerung des Abbaus von ^{14}C -Benzo(a)pyren mit Bodeninokulum und Tensiden in Böden

4.4.1 Die Mineralisierung

Um die Mineralisierung von ^{14}C -Benzo(a)pyren (^{14}C -BaP) in landwirtschaftlich genutzten Böden (BaP Konzentration ca. $0,2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) zu steigern, wurde zunächst versucht die Mikroorganismengemeinschaft des BaP gut abbauenden Bodens High-Cont als Bodeninokulum (1 % der Gesamtbodenmenge) in den Boden Alfi-Con zu übertragen. Um die Verfügbarkeit von ^{14}C -BaP zu erhöhen, wurde ebenfalls 1 % eines kommerziell erhältlichen Tensides (Pril) untergemischt. Dieser Versuchsansatz wurde bei 40 % und 60 % WHK durchgeführt. Es zeigte sich, dass in allen Fällen durch die Zugabe des Tensides die Mineralisierung zurückging (Abbildung 4.9). Durch Zugabe von Bodeninokulum des Bodens High-Cont konnte die Mineralisierung bei beiden Bodenfeuchten um ein Vielfaches hoch signifikant gesteigert werden, bei 40 % WHK von 1,9 % in 92 Tagen auf 5,3 % und bei 60 % WHK gar von 2,0 % auf 9,2 %.



a)

b)

Abbildung 4.9: Verlauf der Mineralisierung von ^{14}C Benzo(a)pyren in den Böden Alfi-Con und High-Cont, sowie bei Steuerung des Abbaus im Boden Alfi-Con mit Pril, Inokulum des Bodens High-Cont (Inok.) und Pril + Inokulum inkubiert bei 40 % (a) und 60 % (b) Wasserhaltekapazität; dargestellt sind Mittelwerte ($n=3$) und Standardabweichung (vertikale Balken)

In weiteren Versuchen wurde festgestellt, dass diese Steigerung des Abbaus von ^{14}C -BaP auch in anderen Böden (Rego-Norm und Incept-Int) möglich war (Abbildung 4.10). Die Mineralisierung konnte im Boden Incept-Int von 0,8 % auf 2,1 % in 92 Tagen (hoch signifikant) nahezu verdreifacht werden und im Boden Rego-Norm immerhin noch von 1,4 % auf 2,1 % gesteigert werden.

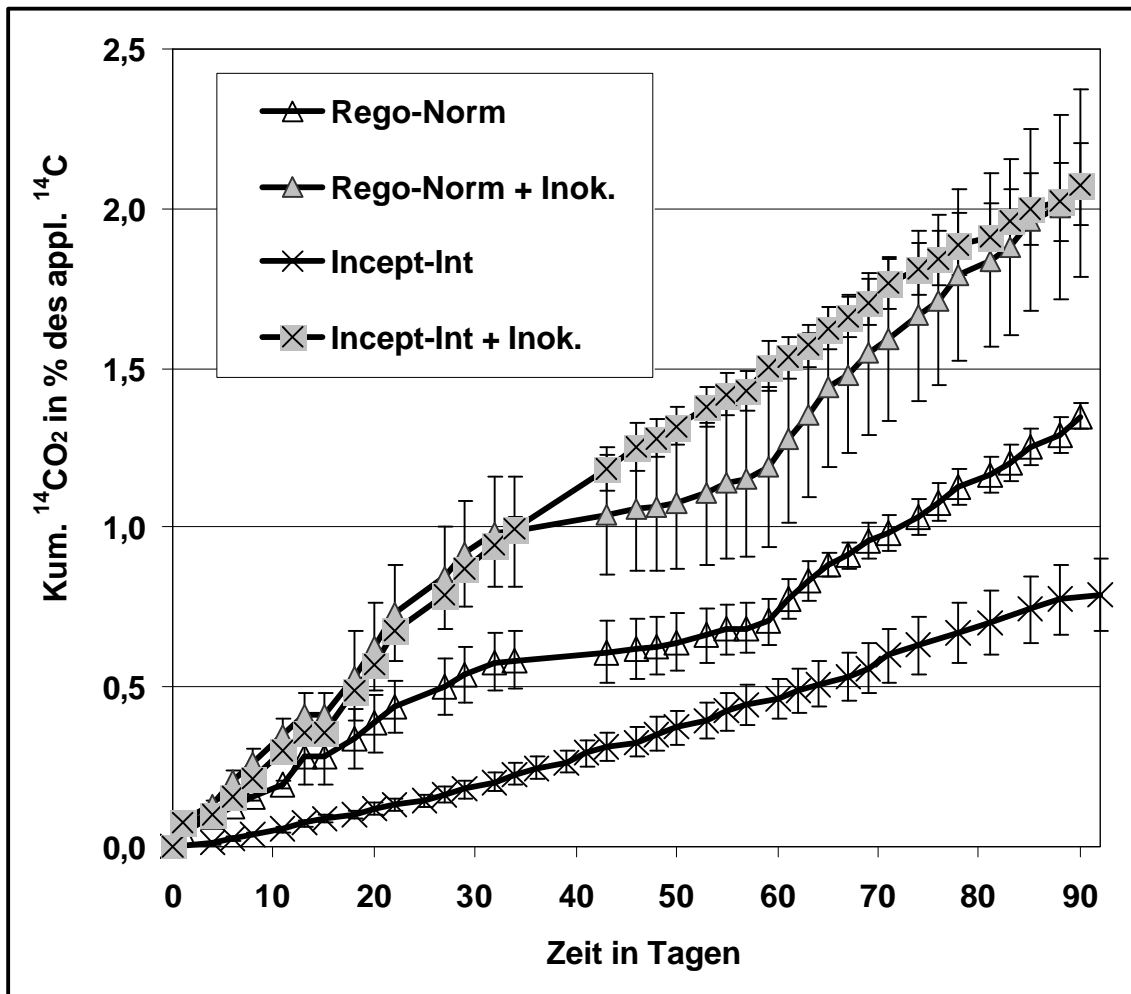


Abbildung 4.10: Verlauf der Mineralisierung (als $^{14}\text{CO}_2$ in % des applizierten ^{14}C) von ^{14}C Benzo(a)pyren in den Böden Rego-Norm und Incept-Int mit und ohne Steuerung des Abbaus mit Inokulum des Bodens High-Cont (Inok.) bei 60 % Wasserhaltekapazität; dargestellt sind Mittelwerte ($n=3$) und Standardabweichung (vertikale Balken)

Vom selben Standort wie dem Boden High-Cont standen auch die Böden Middle-Cont und Low-Cont mit geringerer Kontamination zur Verfügung (siehe Kapitel 2.1.3, Seite 10). Durch Inokulierung mit Boden High-Cont wurde aufgrund der BaP-Kontamination, der BaP-Gehalt im Boden von $200 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ auf $320 \text{ ng}\cdot\text{g}^{-1}$ erhöht. Um diese durch das Bodeninokulum zugeführte Kontamination so gering wie möglich zu halten, wurde eine Steuerung mit den Böden Middle-Cont und Low-Cont, sowie des zuvor erfolgreich inokulierten Bodens Alfi-Con (Abbildung 4.9 b) im Boden Incept-Int getestet. Es zeigte sich, dass durch Inokulierung mit Low-Cont und dem zuvor gesteuerten Boden Alfi-Con (Incept-Int + Alfi-Con/High-Cont in Abbildung 4.11) keine Steigerung der Mineralisierung im Vergleich zur Kontrolle erfolgte (1,1-1,2 % $^{14}\text{CO}_2$ des applizierten ^{14}C in 90 Tagen).

Die Inokulierung mit High-Cont erbrachte von Beginn an eine höhere Mineralisierung und erreichte nach 90 Tagen 2,1 %. Die Mineralisierung im mit Middle-Cont inokulierten Boden verlief die ersten 30 Tage gleich wie die Kontrolle, nach dieser Lagphase jedoch steigerte sich die Mineralisierung deutlich und erreichte nach 55 Tagen das gleiche Niveau wie der mit High-Cont inokulierte Boden und verlief ab da parallel zu diesem.

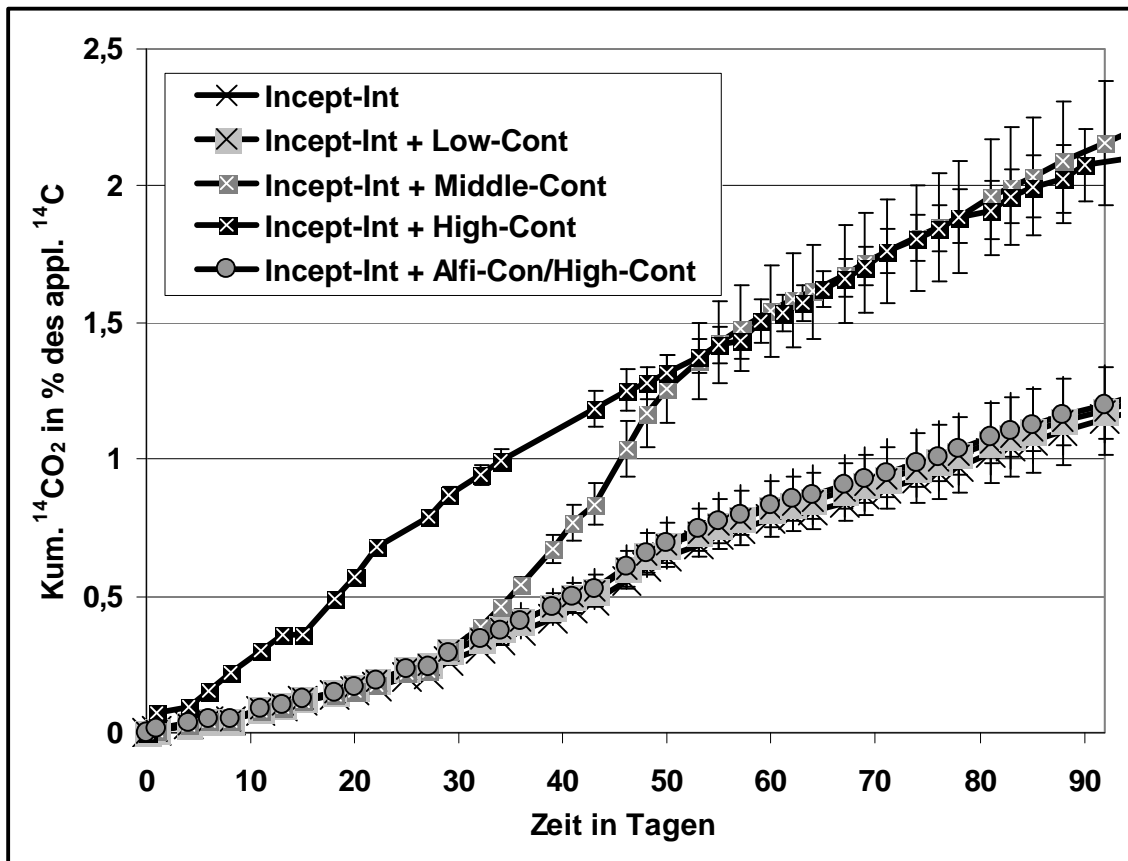


Abbildung 4.11: Mineralisierung (als $^{14}\text{CO}_2$ in % des applizierten ^{14}C) von ^{14}C Benzo(a)pyren im Boden Incept-Int bei Steuerung mit Inokulum verschieden stark kontaminierter Böden (High-Cont, Middle-Cont, Low-Cont und Alfi-Con mit Inokulum High-Cont) inokuliert bei 60 % Wasserhaltekapazität; dargestellt sind Mittelwerte ($n=3$) und Standardabweichung (vertikale Balken).

Die Summenkurven der Mineralisierung zeigen, dass in allen Steuerungsversuchen die Mineralisierung langfristig (92 Tage linear) gesteigert wurde. Die eingebrachte Mikroorganismengemeinschaft konnte sich etablieren und langfristig ihre Funktion des verstärkten BaP-Abbaus beibehalten. Da die Steigung im gesamten Versuchszeitraum (bis auf die anfänglichen Lagphasen) konstant war, ist dieser Abbau von der Alterung unabhängig. Es kann also davon ausgegangen werden, dass das BaP des Inokulums mit der gleichen Abbauintensität mineralisiert wird wie das applizierte BaP. Berechnet man unter diesen Annahmen die biologische Halbwertszeit (dt_{50}) und den Zeitpunkt gleichen BaP-Gehalts in den inokulierten Böden und in den entsprechenden Kontrollen ergibt sich folgendes Bild (Tabelle 4.3): Im Boden Alfi-Con konnte die biologische Halbwertszeit auf ein Fünftel (60 % WHK) bzw. ein Drittel (40 % WHK) reduziert werden. Ein gleicher BaP-Gehalt wird in diesem Boden nach 423 bzw. 819 Tagen erreicht und von diesem Zeitpunkt an gehen die BaP-Gehalte im inokulierten Boden schneller zurück, es wird also ein insgesamt positiver Effekt erzielt. Selbst im Boden Rego-Norm wird innerhalb eines überschaubaren Zeitrahmens (2156 Tage) ein positiver Effekt erzielt. Es ergab sich auch, dass im Boden Incept-Int der Effekt mit dem Boden Middle-Cont als Inokulum auf lange Sicht am effektivsten war,

geringere Halbwertszeit (2000 Tage statt 2190) und deutlich früheres Erreichen gleicher BaP-Gehalte (1675 statt 2156 Tage) in Kontrolle und inokuliertem Boden.

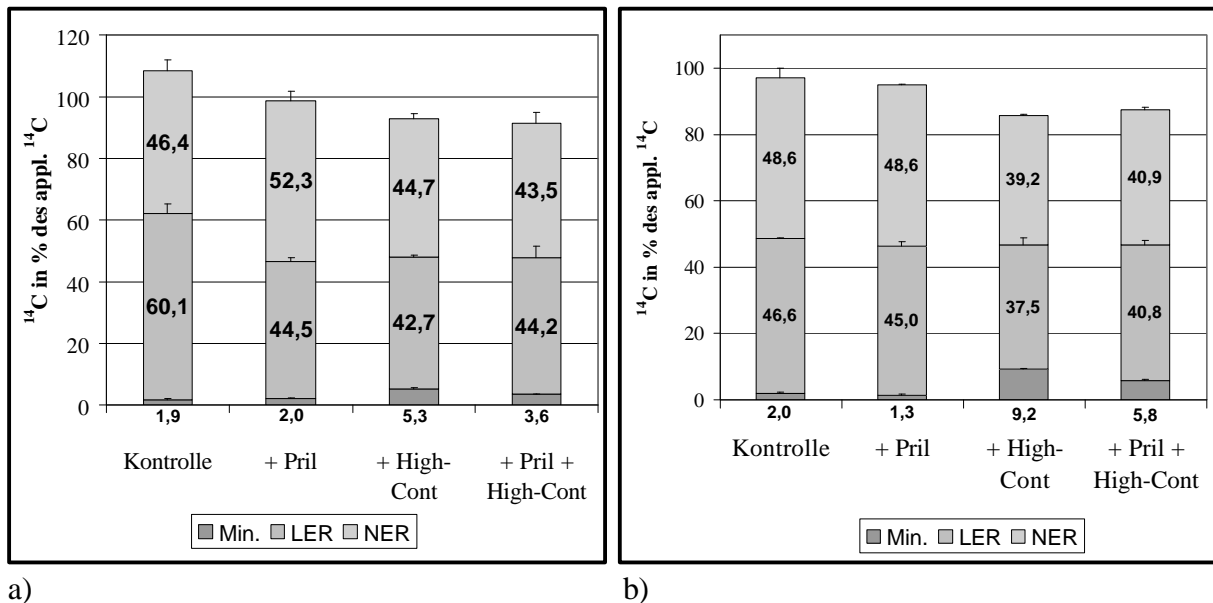
*Tabelle 4.3: Vergleich zwischen inokuliertem Boden und Kontrolle der Gesamtmenge an eingebrachtem BaP (Appliziert + Inokulum), Mineralisierung in 92 Tagen (in % und in ng*g⁻¹ TS), biologische Halbwertszeit (dt₅₀) und theoretischer Zeitpunkt mit gleichem BaP-Gehalt in den Böden Alfi-Con, Rego-Norm, Incept-Int bei verschiedenem Wassergehalt und Inokulumsboden*

| Boden | Wassergeh. | Inokulum | Appl. + Inokulum | Min. in 92 d | Min. in 92 d | dt ₅₀ | Zeitpunkt mit gleichem BaP-Gehalt |
|------------|------------|-------------|------------------|--------------|--------------|------------------|-----------------------------------|
| | | Boden | in ng (= 100 %) | in % | in ng/g TS | in Tagen | |
| Alfi-Con | 40 % WHK | - | 200 | 1,9 | 3,8 | 2421 | 819 |
| | | High-Cont | 320 | 5,4 | 17,3 | 852 | |
| | 60 % WHK | - | 200 | 2 | 4,0 | 2300 | 423 |
| | | High-Cont | 320 | 9,4 | 30,1 | 489 | |
| Rego-Norm | 60 % WHK | - | 200 | 1,3 | 2,6 | 3538 | 2680 |
| | | High-Cont | 320 | 2,1 | 6,7 | 2190 | |
| Incept-Int | 60 % WHK | - | 200 | 0,8 | 1,6 | 5750 | 2156 |
| | | High-Cont | 320 | 2,1 | 6,7 | 2190 | |
| Incept-Int | 60 % WHK | - | 200 | 0,8 | 1,6 | 5750 | 1675 |
| | | Middle-Cont | 294 | 2,3 | 6,8 | 2000 | |

4.4.2 Lösungsmittel extrahierbare (LER) und nicht extrahierbare (NER) Rückständen von ¹⁴C-Benzo(a)pyren bei den Steuerungsversuchen

Durch die Steuerung (Pril oder/und Bodeninokulum von High-Cont) im Boden Alfi-Con bei 40 % WHK gingen die extrahierbaren Rückstände zurück, sowie durch Zugabe eines Bodeninokulums ebenfalls die nicht extrahierbaren Rückstände (Abbildung 4.12 a). Bei 60 % WHK war mit Pril keinerlei Effekt festzustellen, mit Bodeninokulum des Bodens High-Cont gingen jedoch sowohl die extrahierbaren, als auch die nicht extrahierbaren Rückstände zurück. Das beste Resultat wurde immer mit Bodeninokulum High-Cont ohne Pril erreicht: Hier war die Mineralisierung am höchsten und waren die Rückstände (extrahierbare und gebundene) jeweils am geringsten.

Im Boden Incept-Int gab es bezüglich der extrahierbaren Rückstände bei unterschiedlichem Bodeninokulum (Low-Cont, Middle-Cont und High-Cont) keinen Unterschied. Die nicht extrahierbaren Rückstände lagen jedoch bei Steuerung des BaP-Abbaus mit Bodeninokulum High-Cont höher als bei den anderen.



a) b)

Abbildung 4.12: Mineralisierung (Min.), Lösungsmittel extrahierbare (LER) und nicht extrahierbare Rückstände (NER) von ^{14}C -Benzo(a)pyren im Boden Alfi-Con nach Inkubation bei 40 % (a) und 60 % WHK (b), Kontrolle und Steuerung mit Pril, Bodeninokulum High-Cont und beiden Methoden parallel; dargestellt sind Mittelwerte ($n=3$) und Standardabweichung (vertikale Balken)

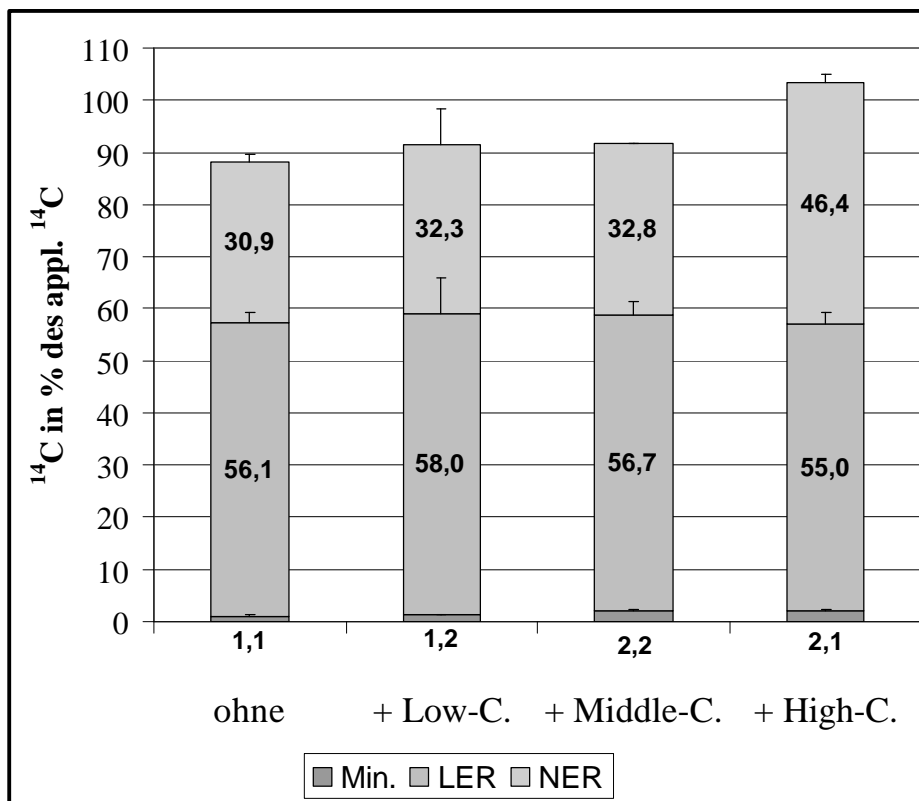


Abbildung 4.13: Mineralisierung (Min.), Lösungsmittel extrahierbare (LER) und nicht extrahierbare Rückstände (NER) von ^{14}C -Benzo(a)pyren im Boden Incept-Int nach Inkubation bei 60 % WHK, sowie Steuerung mit Bodeninokulum der Böden Low-C. (Low-C.), Middle-Cont (Middle-C.) und High-Cont (High-C.); dargestellt sind Mittelwerte ($n=3$) und Standardabweichung (vertikale Balken)

4.5 Versuche zum Abbau von Benzo(a)pyren in Flüssigkulturen mit Mineralsalzmedium

Es wurde versucht über Flüssigmedien die Mikroorganismengesellschaft des Bodens High-Cont und deren Funktion des beschleunigten BaP-Abbaus zu gewinnen. Ziel war es hierbei die so gewonnene Mikroorganismengesellschaft für eine effektive Steuerung des BaP-Abbaus in Agrarböden zu nutzen und gleichzeitig die Zusatzkontamination durch eingebrachtes BaP zu minimieren.

Im mit 5 g Boden High-Cont inokulierten Mineralsalzmedium (MS-Medium, siehe Kapitel 2) wurde ^{14}C -BaP sehr gut abgebaut (25 % $^{14}\text{CO}_2$ des applizierten ^{14}C in 30 Tagen, Flüssigkultur A, Abbildung 4.14). Beim Überimpfen von 1 ml Flüssigkultur A in frisches MS-Medium (Flüssigkultur B) fiel die Lagphase von 4-5 Tagen weg, jedoch ging insgesamt die Mineralisierung auf 13,2 % zurück. Bei weiterer Überimpfung erniedrigte sich die Mineralisierung immer weiter, auf 5,7 % in Flüssigkultur C und auf 1,0 % in Flüssigkultur D.

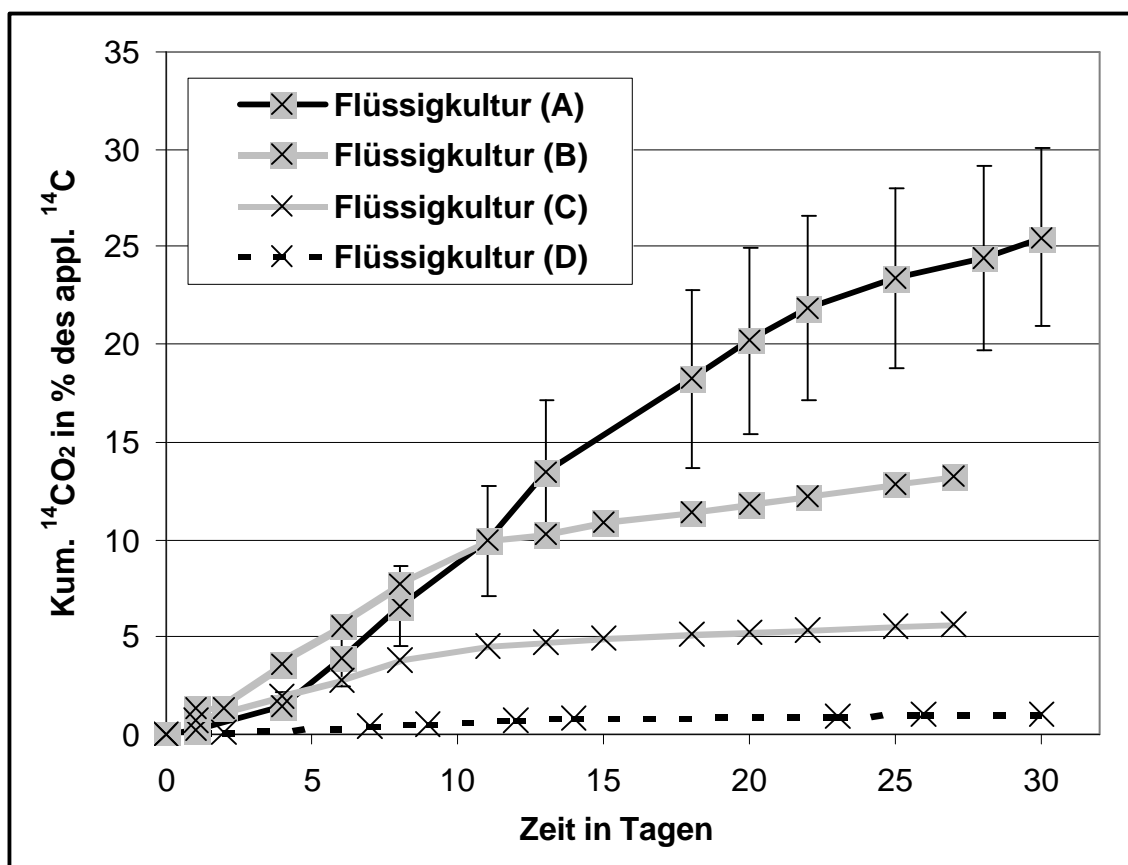


Abbildung 4.14: Verlauf der Mineralisierung von ^{14}C Benzo(a)pyren in Flüssigkulturen inokuliert mit Boden High-Cont Flüssigkultur A ($n=6$), und 1maliger (Flüssigkultur B), 2maliger (Flüssigkultur C) und 3 maliger (Flüssigkultur D) Überimpfung.

Bei Überprüfung der nach 30 Tagen verbliebenen Radioaktivität zeigte sich, dass in den Flüssigkulturen A noch etwa die Hälfte der applizierten Radioaktivität im pipetierbaren (Sand und Grobschluff sind als Bodensatz nicht pipetierbar) Medium nachzuweisen war (48,7 % bis 53,1 %). Nach einer Filtration durch 0,2 μm Membranfilter (Sterilfiltration) waren immerhin noch 1,0 – 1,2 % der Radioaktivität (Tabelle 4.4) im Filtrat. Das restliche ^{14}C war entweder an

Oberflächen von Partikeln und Organismen sorbiert oder in Mikroorganismen aufgenommen. In den Flüssigkulturen B waren sowohl die im Medium verbliebene Radioaktivität (80,8 % bzw. 85,3 %), als auch die nach Sterilfiltration (6,3 % bzw. 8,7 %) deutlich höher. Die große Menge an Radioaktivität, die in der Massenbilanz der Flüssigkulturen A fehlte, kann auf den hohen Anteil an Bodenmaterial (Sand und Grobschluff) zurückgeführt werden, der nicht aufgeschüttelt und somit auch nicht pipetiert werden konnte.

Tabelle 4.4: Mineralisierung ($^{14}\text{CO}_2$ in % des applizierten ^{14}C), im Medium und in steril filtrierter Lösung verbliebenes (nach 30 Tagen) ^{14}C in Flüssigkulturen A und B

| | Flüssigkulturen A | | | Flüssigkulturen B | |
|---|-------------------|------|------|-------------------|------|
| Mineralisierung | 22,5 | 21,0 | 32,9 | 11,5 | 10,5 |
| ^{14}C im Medium (%) | 53,1 | 48,7 | 51,4 | 85,3 | 80,8 |
| ^{14}C in sterilfiltrierter Lösung (%) | 1,2 | 1,1 | 1,0 | 8,7 | 6,3 |

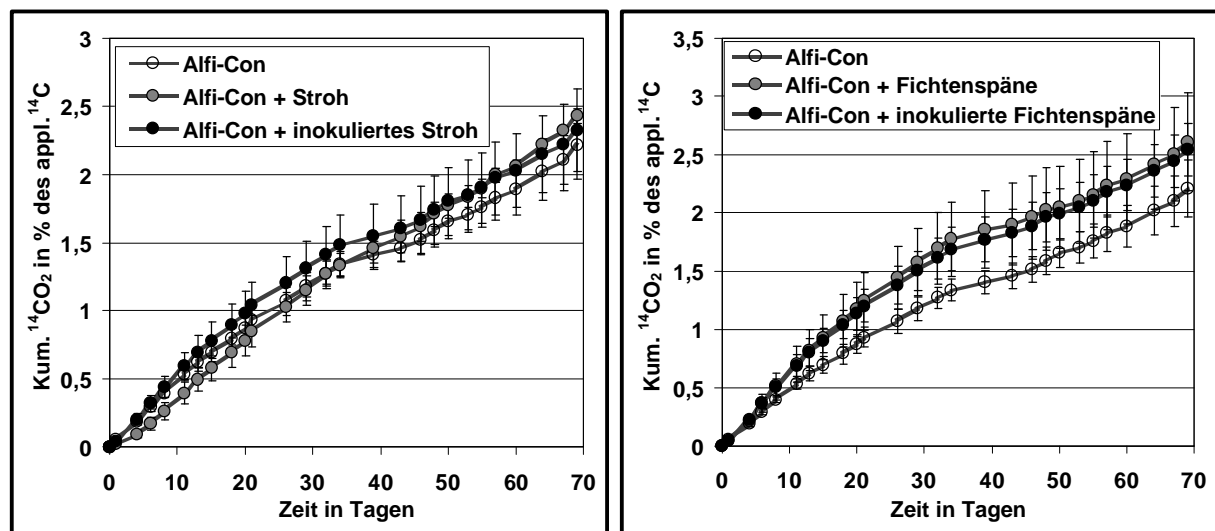
Die Zellzahlen nach Versuchsende unterschieden sich ebenfalls sehr deutlich: So waren in den Flüssigkulturen A noch etwa 10^6 Zellen pro Milliliter durch Verdünnungsreihen nachzuweisen, während in den Flüssigkulturen B lediglich noch 10^4 Zellen vorhanden waren.

4.6 Versuche zur Isolierung von Benzo(a)pyren abbauenden Mikroorganismen

4.6.1 Isolierung durch Substratinokulation

Da die Fähigkeit des intensiven BaP-Abbaus der gewonnenen Mikroorganismengesellschaft nicht auf Dauer erhalten werden konnte (starker Rückgang der BaP-Mineralisierung beim Überimpfen), wurde versucht eine andere Isolierungsmethode zu entwickeln. Es wurde versucht in der Literatur beschriebene Methoden, die für stark kontaminierte Böden erfolgreich waren, auf deutlich geringer kontaminierte Agrarböden anzuwenden.

Zunächst wurde die Mikroorganismengesellschaft des Bodens High-Cont auf Maisstroh und Fichtenspänen (jeweils auf 2 mm gesiebt) isoliert und anschließend jeweils 2 Gramm dieser Substrate als Inokulum dem Boden Alfi-Con (bei 45 % WHK) untergemischt (siehe Kapitel 2.3.4, Seite 18). Es zeigte sich in beiden Fällen, dass die Zugabe des Substrates ohne Inokulation eine tendenziell stärkere Erhöhung der Mineralisierung zur Folge hatte als die inokulierten Substrate (Abbildung 4.15), immer jedoch ohne statistisch eindeutige Unterschiede zu erreichen.



a)

b)

Abbildung 4.15: Verlauf der Mineralisierung von ^{14}C Benzo(a)pyren im Boden Alfi-Con bei Steuerung mit inokuliertem Stroh (a) und inokulierten Fichtenspänen (b) bei 60 % Wasserhaltekapazität, als Kontrollen wurde Boden ohne und mit sterilisiertem Substrat untersucht; dargestellt sind Mittelwerte ($n=3$) und Standardabweichung (vertikale Balken).

4.6.2 Isolierung über Agarplatten

Eine Isolierung der BaP abbauenden Mikroorganismengesellschaft des Bodens High-Cont auf Agarnährböden wurde ebenfalls getestet. Hierzu wurde Agarnährböden aus MS-Medium der Boden High-Cont und verschiedene Substrate supplementiert:

- Fein gemahlenes Stroh
- Auf 500 μm gesiebte Fichtenholzspäne
- Bengalrosa

Zur Überprüfung der Abbauleistung wurden diese Isolate anschließend in Flüssigkulturen überführt und deren Abbauprodukte bestimmt.

Es zeigte sich, dass keine der angewendeten Methoden erfolgreich war, da in keinem Fall mehr als 0,2 % des applizierten ^{14}C -BaP mineralisiert werden konnte (Abbildung 4.16).

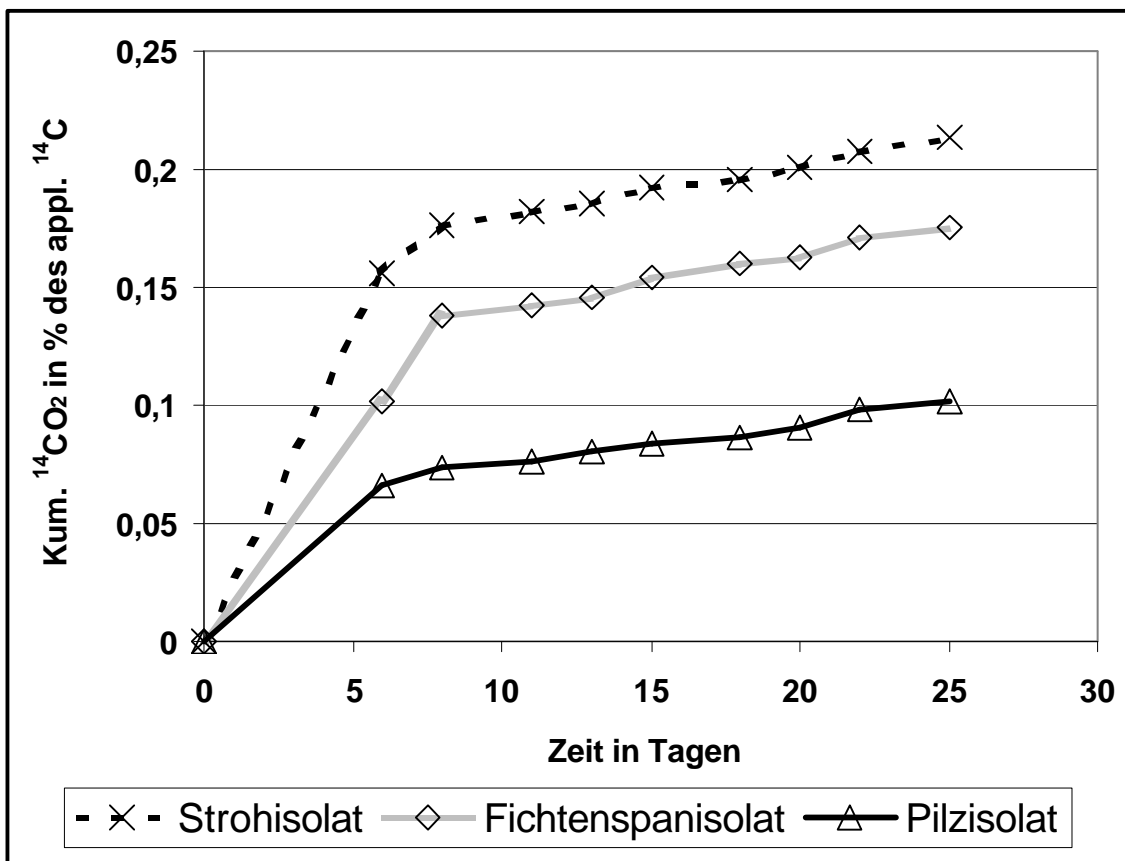


Abbildung 4.16: Verlauf der Mineralisierung von ^{14}C Benzo(a)pyren in Flüssigkulturen mit MS-Medium und auf MS-Agarnährböden durch Zugabe von Stroh (Strohisolat), Fichtenspänen (Fichtenspanisolat) und Bengalrosa (Pilzisolat) isolierten Mikroorganismengesellschaften

4.7 Steuerung des Abbaus von Benzo(a)pyren mit Mikroorganismen aus Flüssigkulturen

Um die durch die der Inokulation mit Boden High-Cont zugeführte BaP-Kontamination (BaP Gehalt von $12 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) zu reduzieren, wurden 50 g des Bodens Incept-Int mit 1 ml Flüssigkultur B inokuliert. Dies reduzierte den bei der Inokulierung zugeführten BaP-Gehalt von $6 \mu\text{g}$ in 50 g Boden ($0,5 \text{ g Inokulumsboden High-Cont} * 12 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1} \text{ BaP}$) auf nur $0,2 \mu\text{g}$ in Flüssigkultur B (Abbildung 4.17).

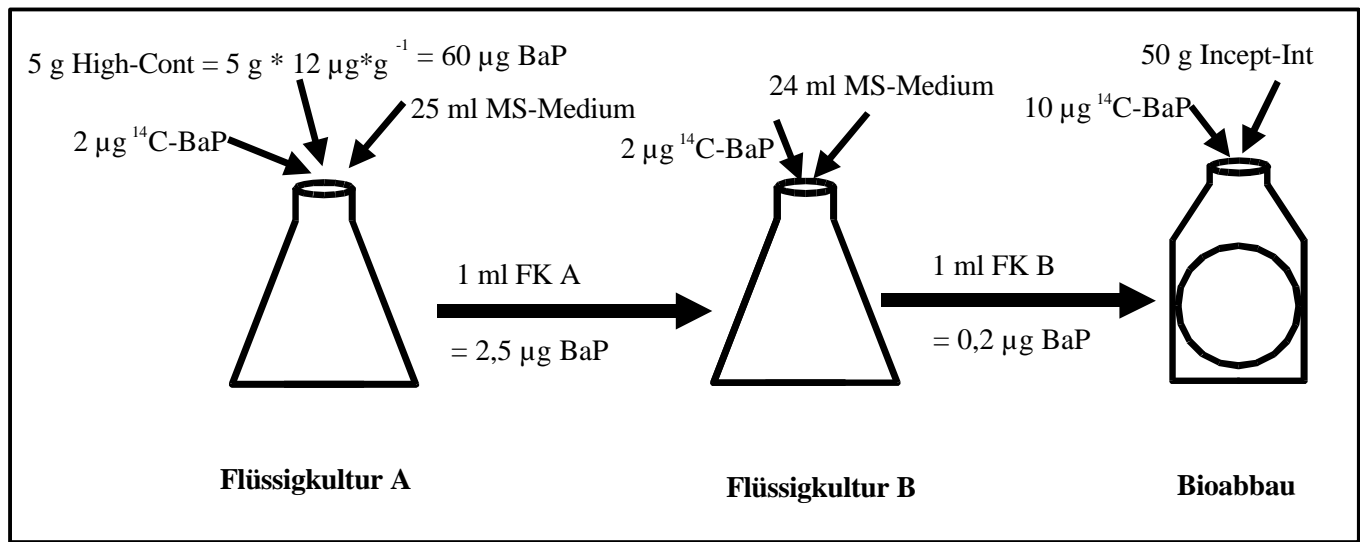


Abbildung 4.17: Verdünnungsreihe von ^{14}C -Benzo(a)pyren (BaP) von Flüssigkultur A, über Flüssigkultur B bis hin zur Inokulierung in den Boden Incept-Int.

Die Mineralisierung von BaP im inokulierten Boden Incept-Int hatte zunächst etwa 32 Tage lang den gleichen Verlauf wie die Kontrolle (Abbildung 4.18). Danach stieg die Mineralisierung deutlich an und erreichte nach 60 Tagen $1,7 \% ^{14}\text{CO}_2$ des applizierten ^{14}C , im Vergleich zu $1,3 \%$ in der Kontrolle. Entscheidend ist hier auch die unterschiedliche Steigung in der linearen Phase, die beim inokulierten Boden mit $0,0369\text{x}$ um mehr als das 1,4-fache über der Kontrolle liegt. Das heißt, es konnte die Funktion des verstärkten BaP-Abbaus durch die Inokulierung mit der mikrobiellen Gemeinschaft aus FK B nachhaltig im Boden Incept-Int etabliert werden.

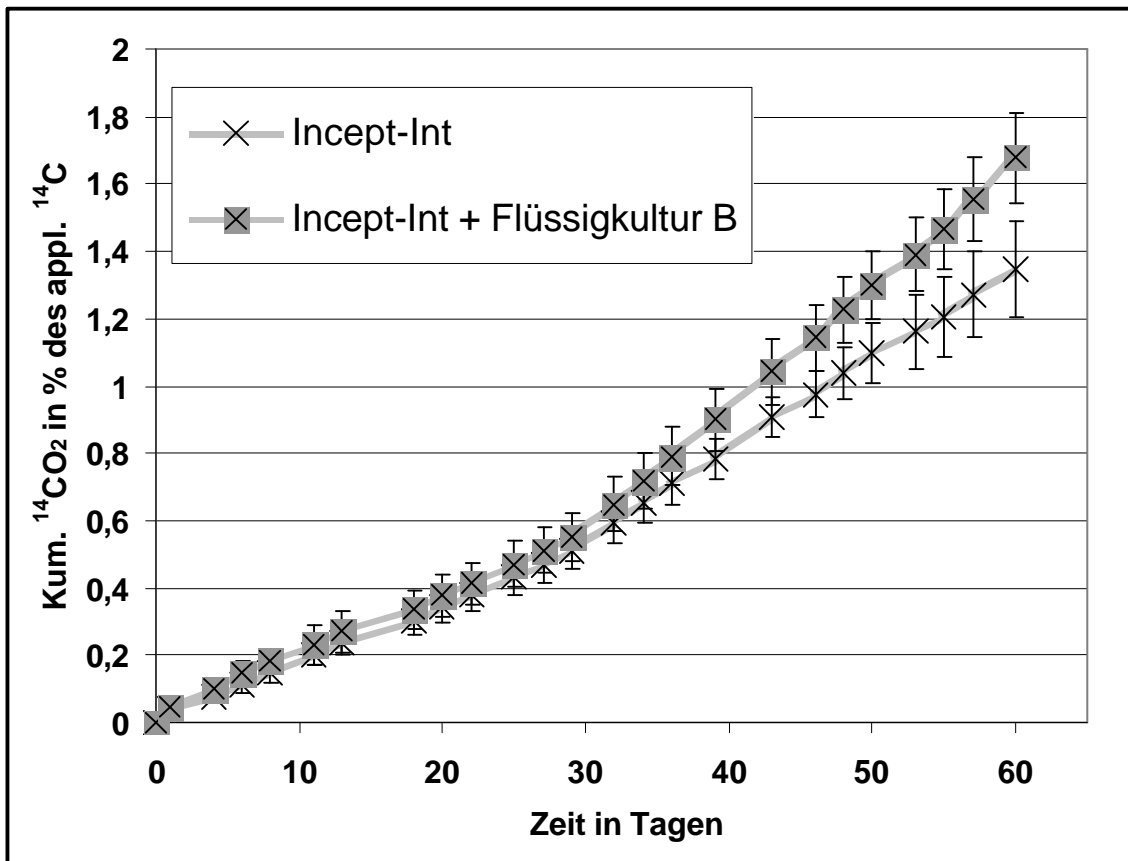


Abbildung 4.18: Verlauf der Mineralisierung (als $^{14}\text{CO}_2$ in % des applizierten ^{14}C) von ^{14}C Benzo(a)pyren im Boden Incept-Int bei Steuerung mit Flüssigkultur B und Inkubation bei 40 % Wasserhaltekapazität; dargestellt sind Mittelwerte ($n=3$) und Standardabweichung (vertikale Balken).

Errechnet man auch hier die Biologische Halbwertszeit von BaP im Boden und den Zeitpunkt gleichen BaP-Gehaltes (Tabelle 4.5) und vergleicht diese mit Tabelle 4.3 (Seite 92) ergibt sich folgendes Bild: Mit dieser Methode konnte die Halbwertszeit (dt_{50}) von BaP zwar nicht so stark herabgesetzt werden (von 5512 auf 4093 Tage, statt von 5750 auf 2000 Tagen mit Inokulum Middle-Cont), jedoch reduzierte sich die Zeit bis zum Erreichen gleicher BaP-Gehalte viel stärker: Von 1675 Tagen mit Inokulum Middle-Cont auf nur noch 590 Tage, also um nahezu das dreifache.

Tabelle 4.5: Vergleich zwischen mit Flüssigkultur B (FK B) inokuliertem Boden und Kontrolle der Gesamtmenge an eingebrachtem BaP (Appliziert + Inokulum), Mineralisierung in 31 Tagen (in % und in ng/g TS), biologische Halbwertszeit (dt_{50}) und Zeitpunkt mit gleichem BaP-Gehalt im Boden Incept-Int bei 60 % WHK

| Boden | Wassergeh. | Inokulum | Appl. + Inokulum | Min. in 31 d | Min. in 31 d | dt_{50} | Zeitpunkt mit |
|------------|------------|----------|------------------|--------------|--------------|-----------|---------------|
| | | Boden | in ng (= 100 %) | in % | in ng/g TS | | |
| Incept-Int | 60 % WHK | - | 200 | 0,8345 | 1,7 | 5512 | 590 |
| | | FK B | 204 | 1,124 | 2,3 | 4093 | |

Wichtig ist auch, dass es zu keiner Erhöhung der nicht extrahierbaren Rückstände kam (Abbildung 4.19), da das Gefährdungspotential von BaP in diesem Pool sehr schwer abschätzbar ist. Es kann also davon ausgegangen werden, dass dieses Gefährdungspotential nicht zugenommen hat.

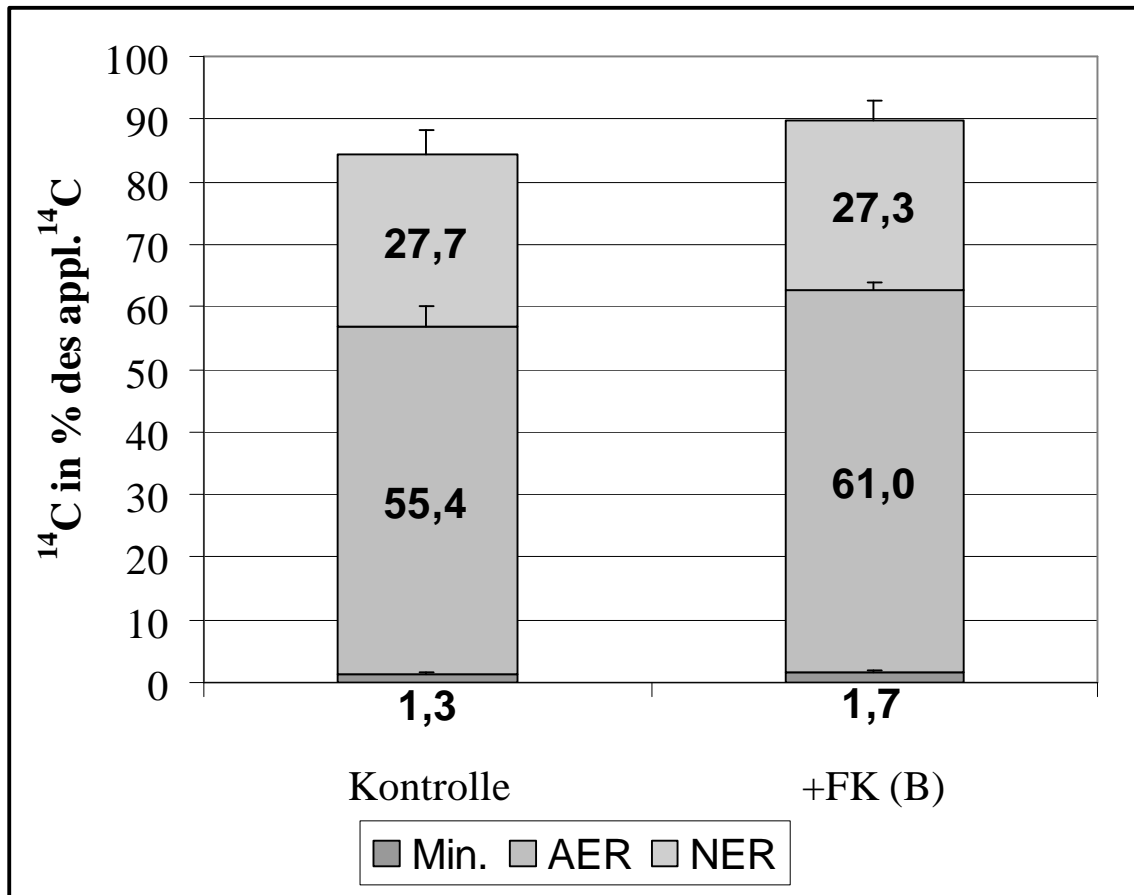


Abbildung 4.19: Mineralisierung (Min.), Lösungsmittel extrahierbare (LER) und nicht extrahierbare Rückstände (NER) von ^{14}C -Benzo(a)pyren im Boden Incept-Int nach Inokulation bei 40 % WHK und Steuerung mit Flüssigkultur B (FK (B)) sowie Kontrolle; dargestellt sind Mittelwerte ($n=3$) und Standardabweichung (vertikale Balken)

Ebenfalls von Bedeutung ist der Vergleich der Metabolitenmuster in den Lösungsmittel-extrakten. Ohne Steuerung (Tabelle 4.6) hatten im Mittel Unbek. C (41,8 %) einen geringeren Peakflächenanteil als BaP (45,7 %). Es zeigte sich jedoch, dass der Metabolit Unbek. C durch die Inokulation mit Flüssigmedium zum flächenmäßig größten Peak (48,8 %) wurde, gegenüber BaP mit nur 38,2 %. Für die toxikologische Bewertung bedeutet dies, dass durch die Steuerung mit Flüssigkultur B absolut die präkarzinogenen Metabolite (BaP-7,8-Dihydrodiol und BaP) um mehr als 1 % verringert und die nicht präkarzinogenen Substanzen um etwa 7 % erhöht wurden, also das Krebsrisiko um diesen Prozentsatz zusätzlich gesenkt wurde.

Tabelle 4.6: Extrahierte Rückstände von ¹⁴C-Benzo(a)pyren (BaP) und seine Metabolite (Unbek. A, BaP-7,8-dihydrodiol und Unbek. C) im Extrakt (relative Anteile) des Bodens Incept-Int; Kontrolle und Steuerung mit Flüssigkultur „B“ nach Inokulation bei einer Bodenfeuchte von 40 % WHK

| | extrahierte Rückstände (%) | Unbek. A (relativ) | BaP-7,8-Dihydrodiol (relativ) | Unbek. C (relativ) | BaP (relativ) | nicht präkarzinogen absolut | präkarzinogen (absolut) |
|-----------|----------------------------|--------------------|-------------------------------|--------------------|---------------|-----------------------------|-------------------------|
| Kontrolle | 55,4 | 10,3 | 2,1 | 41,8 | 45,7 | 28,9 | 26,5 |
| Mit FK B | 61,0 | 9,9 | 3,1 | 48,8 | 38,2 | 35,8 | 25,2 |

4.8 Die Suche nach weiteren Flüssigmedien für Erhaltungskulturen von Mikroorganismen - Gesellschaften für den Abbau von Benzo(a)pyren

Um der Frage nachzugehen ob vielleicht andere in der Literatur für BaP abbauende Mikroorganismen bzw. Mikroorganismengesellschaften beschriebene Flüssigmedien Erfolg versprechender sein würden als das MS-Medium wurden weitere Medien getestet.

Weder ein Vollmedium mit Fichtenspänen, noch ein MS-Medium mit Maisstroh, Isoliermedium für Pilze oder das Phenanthrenmedium (Zusammensetzung, siehe jeweils Kapitel 2.6.1.3, Seite 32) waren Erfolg versprechend (Abbildung 4.20).

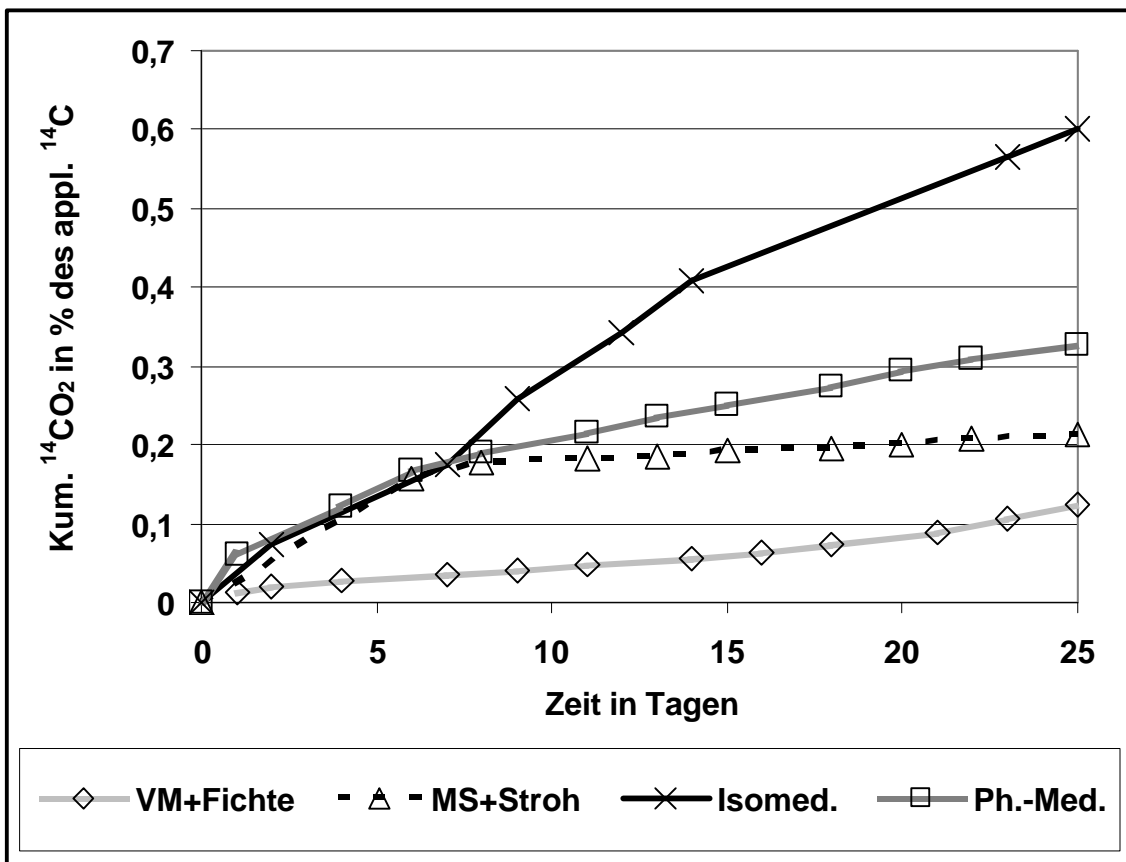


Abbildung 4.20: Verlauf der Mineralisierung von ^{14}C Benzo(a)pyren in Flüssigkulturen inokuliert mit Boden High-Cont und unterschiedlichen Flüssigmedien: Vollmedium mit Fichtenspänen (VM+Fichte), MS-Medium mit Maisstroh (MS+Stroh), Isoliermedium für Pilze (Isomed.) und Phenanthrenmedium (Ph.-Med.)

Deutlich bessere Ergebnisse konnten neben dem MS-Medium mit dem Glukose-Hefe-Medium von SACK et al. (1997), beide bei geringer BaP-Konzentration, und dem Mineralmedium mit Nickel von (BASTIAENS et al. 2000) bei hoher und geringer BaP Konzentration erzielt werden (Abbildung 4.21). Jedoch ging bei allen beim Überimpfen die Mineralisierungsrate zurück und ab Flüssigkultur D kam eine Lagphase hinzu, die immer größer wurde, und die eigentliche Abbauphase wurde immer kürzer (nur wenige Tage). Dies

ist wohl auf die zurückgehende Anzahl der Mikroorganismen zurückzuführen, aufgrund der geringen Substratgehalte und -löslichkeit.

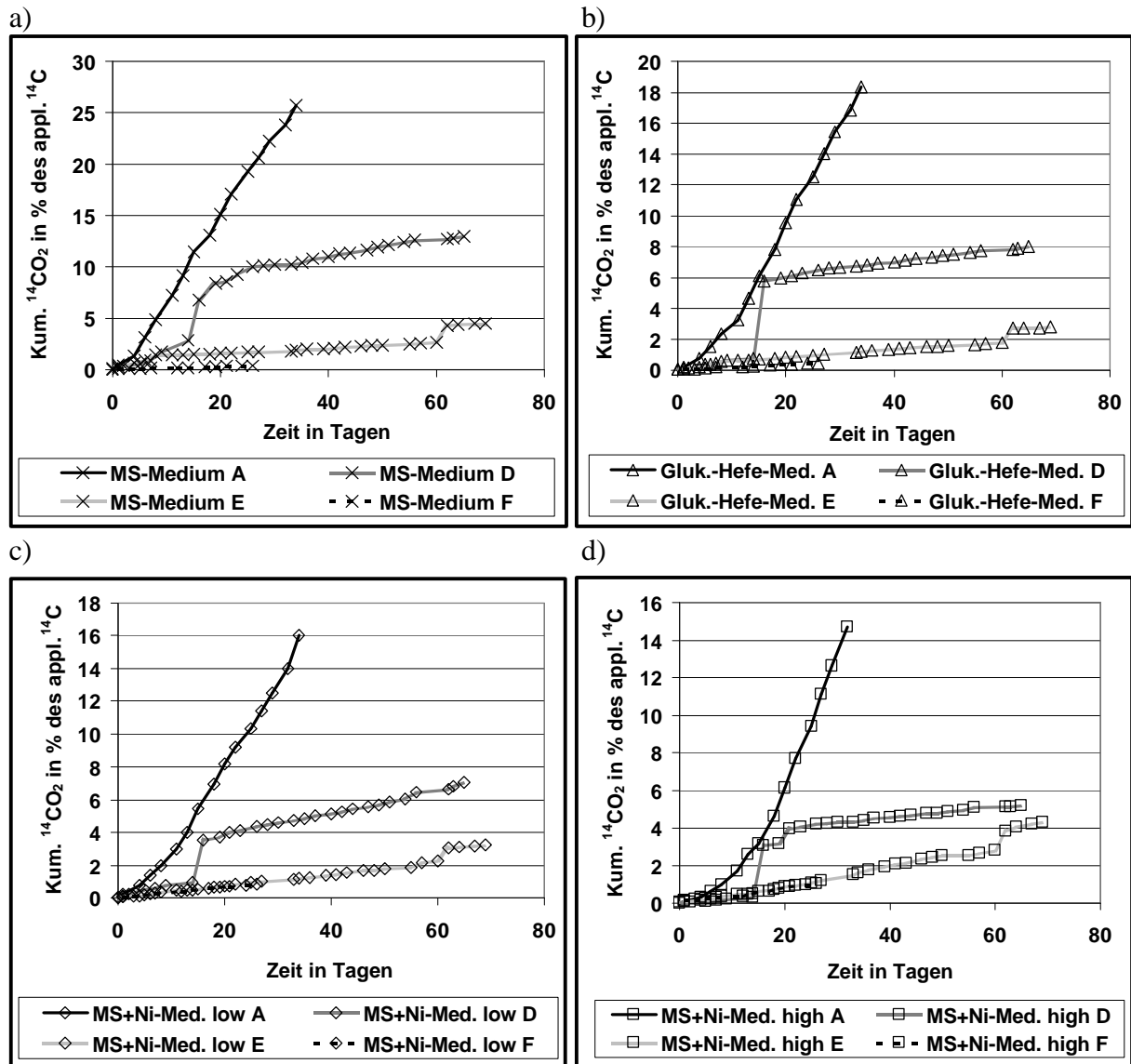


Abbildung 4.21: Verlauf der Mineralisierung von ^{14}C Benzo(a)pyren in Flüssigkulturen inokuliert mit Boden High-Cont, Kulturen A, D, E und F der folgenden Medien: Mineralsalzmedium mit $150\ \mu\text{g}$ BaP (MS-Medium, a), Glukose-Hefe-Medium mit $150\ \mu\text{g}$ BaP (Gluk.-Hefe-Med., b), Mineralmedium mit Nickel und $150\ \mu\text{g}$ BaP (MS+Ni-Med. low, c), Mineralmedium mit Nickel und $750\ \mu\text{g}$ BaP (MS+Ni-Med. High, d)

4.9 Lysimeterstudie zum Verhalten von Benzo(a)pyren und zur Steuerung dessen Abbaus im Boden Kolluv-Int

4.9.1 Alterung von Benzo(a)pyren im Lysimeterboden Kolluv-Int

Während der Alterung der Rückstände von BaP von Herbst 2002 bis Frühling 2003 wurde zunächst der Boden nur einmal die Woche mit 3,75 mm Niederschlag bewässert um den Abbau möglichst gering zu halten. In den Wintermonaten wurde die Abdeckplatte aus Glas von der Bodenkammer entfernt um ein offenes System zu haben und die Messung unterbrochen, da aufgrund der geringen Temperaturen kaum ein Abbau zu erwarten war. In Abbildung 4.22 lässt sich erkennen, dass die Parallelen sehr homogen verliefen und nur geringe Streuungen entstanden. Erwartungsgemäß war aufgrund der geringen Bodenfeuchte und der kühlen Herbsttemperaturen nur ein geringer Abbau zu verzeichnen. Die Volatilität war nicht von Bedeutung, insgesamt lag sie im Jahre 2002 zwischen 0,01 % und 0,03 % (Tabelle 4.7).

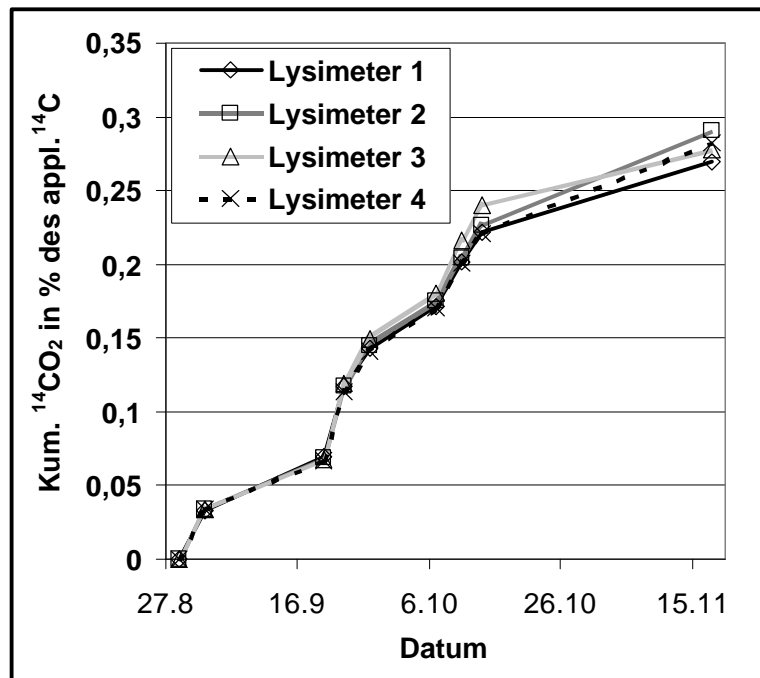


Abbildung 4.22: Verlauf der Mineralisierung (Kumuliertes $^{14}\text{CO}_2$ in % des applizierten ^{14}C) von ^{14}C Benzo(a)pyren in den Bodenkammern der Lysimeter 1, 2, 3 und 4 nach der Applikation im Jahre 2002

Tabelle 4.7: Volatilisierung aus den Bodenkammern 1-4 des Lysimeterversuchs im Jahre 2002 jeweils in % des applizierten ^{14}C , während der Inkubation mit ^{14}C -BaP von 27.8. bis 15.11..

| | Lysimeter 1 | Lysimeter 2 | Lysimeter 3 | Lysimeter 4 |
|---|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Volatilisierung 2002 in % des appl. ^{14}C | 0,01 | 0,03 | 0,01 | 0,01 |

Nach der Alterung wurden Aliquote aus unterschiedlichen Tiefen entnommen (Schicht 1 = 0-1 cm, Schicht 2 = 1-2 cm, Schicht 3 = 2-5 cm und Schicht 4 = 5-10 cm) und eine Bestimmung der Gesamttrückstände durch Frischverbrennungen durchgeführt. Die Frischverbrennungen des nicht getrockneten und gesiebten Materials war mit großen Fehlerquellen und damit Streuungen verbunden. Dennoch ließ sich klar erkennen, dass der größte Anteil der Radioaktivität in den obersten 2 cm zu finden war (Tabelle 4.8), also erwartungsgemäß kaum Verlagerung stattfand. Es kam auch nicht zu messbarem „Preferential flow“, da im Sickerwasser nie etwas anderes als Hintergrundwerte von ^{14}C messbar waren (Tabelle 4.9).

Tabelle 4.8: Durch Verbrennung nachgewiesenes ^{14}C in verschiedenen Tiefen des Bodenmaterials in den Lysimetern A-D am 09.05.2003 in % des applizierten ^{14}C

| Bodentiefe | Lysimeter A | Lysimeter B | Lysimeter C | Lysimeter D |
|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 0 - 1 cm | 69,34 | 51,54 | 70,37 | 51,66 |
| 1 - 2 cm | 8,31 | 14,42 | 25,36 | 9,42 |
| 2 - 5 cm | 0,82 | 4,31 | 3,89 | 1,67 |
| 5 - 10 cm | 0,24 | 2,41 | 0,67 | 0,73 |

Tabelle 4.9: Gemessene Radioaktivität in dpm/10 ml im Sickerwasser des Bodenmaterials der Lysimeter A-D zu verschiedenen Probezeitpunkten

| Datum | Lysimeter A | Lysimeter B | Lysimeter C | Lysimeter D |
|------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| 04.09.2002 | 1,76 | 2,71 | 3,96 | 5,12 |
| 11.09.2002 | 6,08 | 6,73 | 8,62 | 8,72 |
| 18.09.2002 | 1,95 | 4,22 | 2,92 | 1,37 |
| 25.09.2002 | 3,20 | 1,07 | 1,62 | 1,78 |
| 02.10.2002 | 1,30 | 0,64 | 1,80 | 0,62 |

4.9.2 Einfluss von Bodenfeuchte und Temperatur auf den Abbau von Benzo(a)pyren im Lysimeterboden Kolluv-Int

Im Jahre 2003 wurde der Zusammenhang zwischen Bodentemperatur, Wassergehalt und Mineralisierung untersucht (Abbildung 4.23). Zwischen der 20. und 42. Kalenderwoche ließen sich 4 Witterungsphasen klar unterscheiden. Phase 1 (20.-25. Kalenderwoche) war charakterisiert durch einen sehr geringen Wassergehalt ($\ll 15\%$) bei hohen Temperaturen ($> 20\text{ }^\circ\text{C}$), woraus geringe ($\ll 0,15\%$ pro Woche) vom niedrigen Wassergehalt limitierte Mineralisierungsraten resultierten. In Phase 2 herrschten weiterhin hohe Temperaturen ($> 20\text{ }^\circ\text{C}$), die Wassergehalte lagen jedoch höher, zwischen 10% und 15% . Hier stiegen die Mineralisierungsraten bereits deutlich und parallel zum Wassergehalt an ($0,17\text{-}0,23\%$). In Phase 3 (30.-37. Kalenderwoche) lag der Wassergehalt bei etwa 20% und die Temperatur variierte zwischen $15\text{ }^\circ\text{C}$ und $30\text{ }^\circ\text{C}$. Hier erwies sich die Temperatur als limitierender Faktor und die Mineralisierung oszillierte in deren Abhängigkeit zwischen $0,12\%$ und dem Maximalwert von $0,35\%$ in der 31. Kalenderwoche. Während Phase 4 blieb der Wassergehalt mit $18\text{ - }23\%$ weiterhin recht hoch, jedoch ging die Temperatur immer weiter zurück und

damit auch die Mineralisierung, die bei 5 °C in der 42. Kalenderwoche nur noch bei 0,03 % lag. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Mineralisierung von ^{14}C -BaP mit Bodenfeuchte und Temperatur variiert: Bei Wassergehalten von unter 10 % (Phase 1) oder Durchschnittstemperaturen von weniger als 10 °C (Phase 4) lag die Mineralisierung pro Woche immer unter 0,1 %. Die höchsten Mineralisierungsraten wurden erreicht bei Temperaturen um 25 °C und Wassergehalten um 20 %.

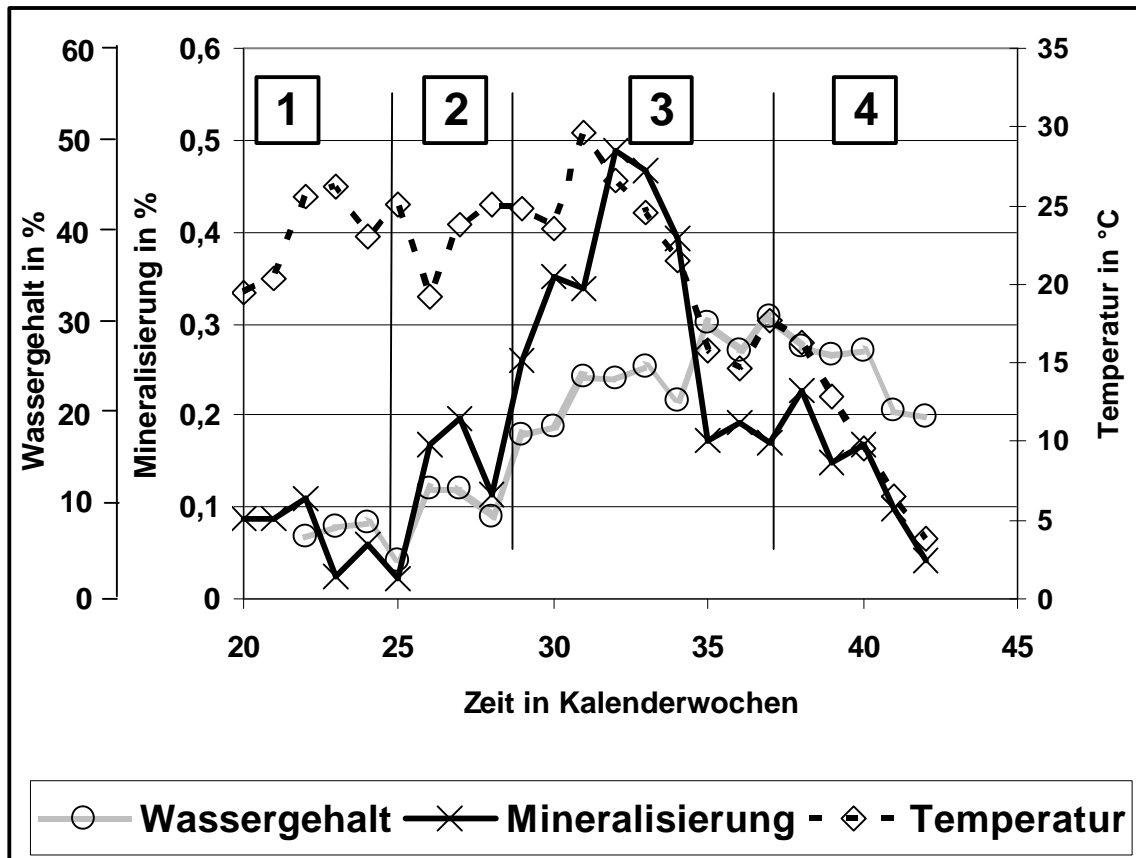


Abbildung 4.23: Wöchentliche Mineralisierungsrate als $^{14}\text{CO}_2$ in % des applizierten ^{14}C (linke Y-Achse), mittlere Wassergehalte in %, sowie Durchschnittstemperaturen in 0,5 cm Tiefe (in °C, rechte Y-Achse), exemplarisch gemessen in Bodenkammer 6; 1-4 sind unterschiedliche Feuchte- und Temperaturphasen mit der entsprechenden Mineralisierung.

4.9.3 Steuerung des Abbaus von Benzo(a)pyren im Lysimeterboden Kolluv-Int

Durch die Steuerung mit Flüssigkultur B des Bodens High-Cont konnte die Mineralisierung im Lysimeterboden Kolluv-Int um 1 % auf 3,6 % gesteigert werden (Abbildung 4.24).

Bis vor der 1. Steuerung am 05.08.2003 gab es keinen statistisch klaren Unterschied zwischen den beiden Varianten, erst ab dem 08.08. lassen sich die Kurven statistisch unterscheiden. Nach der 2. Steuerung am 18.09.2003 gibt es einen erneuten Anstieg der Summenkurve, der bei der gesteuerten Variante etwas ausgeprägter erscheint, ohne dies jedoch statistisch untermauern zu können.

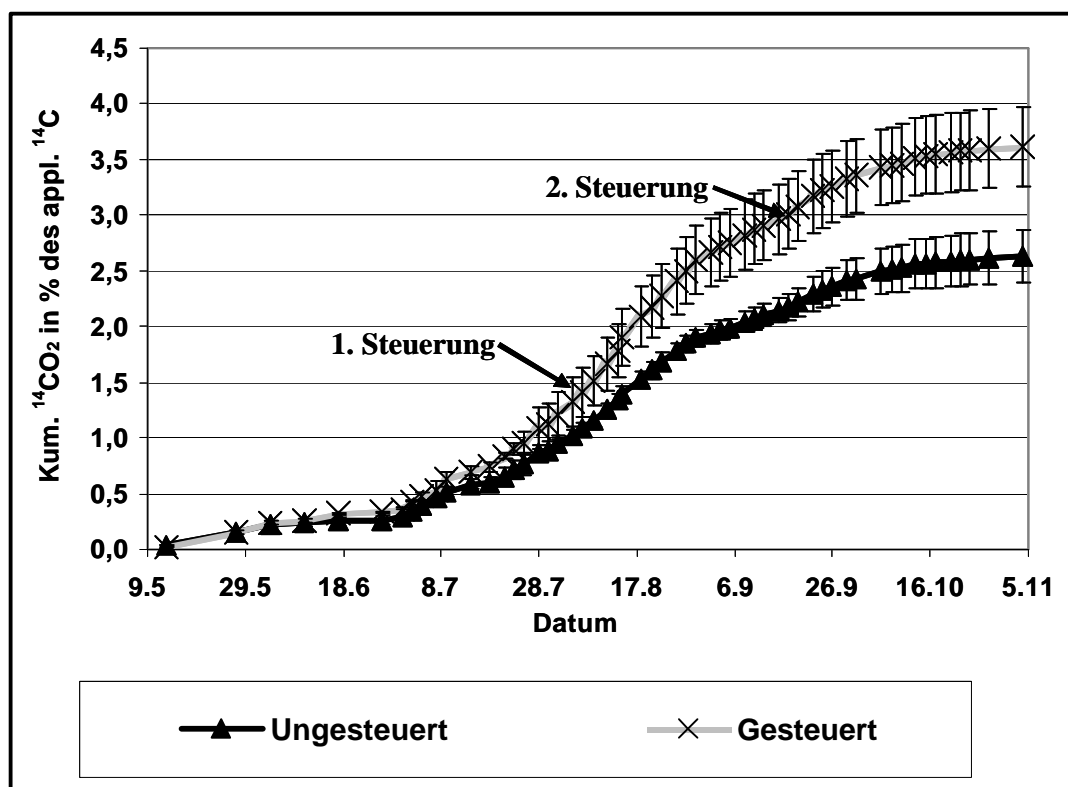


Abbildung 4.24: Verlauf der Mineralisierung (als Kumuliertes $^{14}\text{CO}_2$ in % des applizierten ^{14}C) in den Lysimeterböden gesteuert und ungesteuert mit Flüssigkultur B des Bodens High-Cont; dargestellt sind Mittelwerte ($n = 3$) und Standardabweichung (vertikale Balken).

Deutlicher wird die Effektivität der Steuerung, wenn man auch hier die Halbwertszeiten und das Erreichen gleicher BaP-Gehalte betrachtet (Tabelle 4.10): Die Halbwertszeit im Boden konnte um 638 Tage verringert werden und der Zeitpunkt gleichen BaP-Gehalts in Kontrolle und inokuliertem Boden konnte auf 186 Tage gesenkt werden.

Tabelle 4.10: Vergleich zwischen mit Flüssigkultur B (+ FK B) inokuliertem Boden und Kontrolle der Gesamtmenge an eingebrachtem BaP (Appliziert + Inokulum), Mineralisierung in 60 Tagen, biologische Halbwertszeit (dt_{50}) und Zeitpunkt mit gleichem BaP-Gehalt im Lysimeterboden Kolluv-Int

| Inokulum | Appl. + Inokulum | Min. in 60 d | Min. in 60 d | dt_{50} | Zeitpunkt mit gleichem BaP-Gehalt |
|-----------|--|--------------|---------------------|-----------|-----------------------------------|
| | in $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$ (= 100 %) | in % | in ng/g TS | in Tagen | |
| Kontrolle | 198 | 1,417 | 2,8 | 2117 | 186 |
| + FK B | 202 | 2,029 | 4,1 | 1479 | |

Bei den mit Lösungsmittel extrahierbaren Rückständen lassen sich keine Unterschiede zwischen der gesteuerten und der ungesteuerten Variante feststellen (Abbildung 4.25). Die nicht extrahierbaren Rückstände haben bei der Variante mit Steuerung einen höheren Wert (46,3 % im Vergleich zu 36,7 %), jedoch ist die Streuung so groß, dass statistisch kein Unterschied abgeleitet werden konnte. Für die Metabolitenmuster kann auch keine klare Aussage getroffen werden. Metabolit A kommt zwar in den Ansätzen mit Steuerung immer mit geringerem Peakflächenanteil vor (Tabelle 4.11), die Unterschiede sind jedoch statistisch nicht absicherbar.

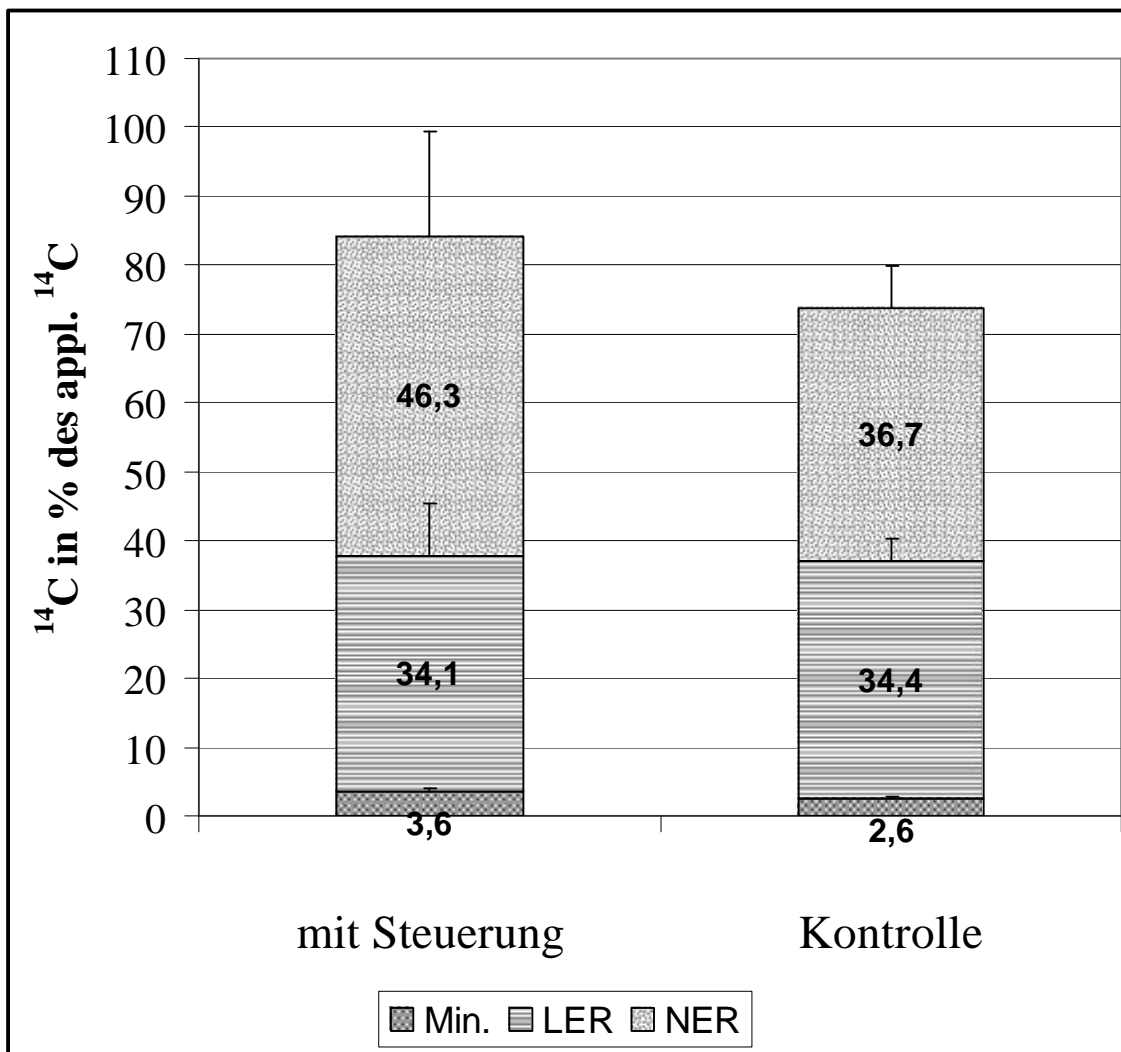


Abbildung 4.25: Mineralisierung (Min.), Lösungsmittel extrahierbare (LER) und nicht extrahierbare Rückstände (NER) von ¹⁴C-Benzo(a)pyren im Lysimeterboden Kolluv-Int nach Inkubation mit ¹⁴C-BaP von 27.08.02 bis 05.11.03; Steuerung mit Flüssigkultur B des Bodens High-Cont und Kontrolle; dargestellt sind Mittelwerte (n=3) und Standardabweichung (vertikale Balken)

Tabelle 4.11: Peakflächenanteil der Lösungsmittelextrakte aus dem Lysimeterboden Kolluv-Int mit (Bodenkammern 1, 2 und 5) Steuerung und Kontrolle (Bodenkammern 2, 4 und 6) nach Inkubation mit ¹⁴C-BaP von 27.08.02 bis 05.11.03.

| Steuerung | Bodenk. | Unbek. A | BaP-7,8-dihydrodiol | Unbek. C | BaP |
|-----------|---------|----------|---------------------|----------|------|
| Steuerung | 1 | 14,9 | 11,1 | 9,9 | 64,0 |
| Steuerung | 3 | 14,8 | | 25,5 | 59,8 |
| Steuerung | 5 | 13,5 | | 46,9 | 39,6 |
| Kontrolle | 2 | 25,8 | 16,5 | | 57,7 |
| Kontrolle | 4 | 19,9 | | | 80,1 |
| Kontrolle | 6 | 15,4 | | 32,3 | 52,3 |

5 Diskussion eines Abbaus von Benazolin-Ethyl in Böden

Das Ziel dieser Arbeit war allgemeine Einblicke in das Verhalten von Benazolin-Ethyl im Boden zu gewinnen. Dies umfasste neben dem Abbauweg auch die den Abbau bestimmenden Teilprozesse und die Bildung von extrahierbaren und nicht extrahierbaren Rückständen.

Des Weiteren sollten bodenphysikalische und mikrobiologische Indikatoren gefunden werden, die das Verhalten von Benazolin im Boden beschreiben können. Neben Verlagerungsprozessen sollten Indikatoren den Abbau der Chemikalie im Boden darstellen.

Entscheidend ist auch, das Verhalten in Böden bei „gleichen“ Feuchtigkeitsverhältnissen zu verstehen. Die Frage ist, ob Böden bei gleichem gravimetrischem Wassergehalt, gleichem Anteil an der Wasserhaltekapazität oder gar bei gleicher Wasserspannung vergleichbar sind. Nur wenn dies gegeben ist kann der Einfluss anderer Bodeneigenschaften als mögliche Indikatoren für den Chemikalienabbau richtig bestimmt werden.

Die mögliche Beeinflussung dieser Faktoren sollte diskutiert werden, um so steuernd in den Abbau der Modellchemikalie eingreifen zu können.

5.1 *Abbau von Benazolin-Ethyl in Böden*

5.1.1 Der Abbauweg von Benazolin-Ethyl und die Abbauaktivität in den Böden

Durch Vergleich mit aktivem (^{14}C -Benazolin-Ethyl) bzw. inaktivem (Benazolinsäure) Standard ließen sich die Ausgangssubstanz und der erste Hauptmetabolit eindeutig in der HPLC identifizieren. Für die Metabolite 1 und 3 standen jedoch keine käuflichen Standards zur Verfügung.

Durch Literaturvergleich zeigte sich jedoch, dass die Retentionszeit von 4-Chlor-2-oxobenzothiazolin als weiterer wichtiger Metabolit bei ähnlichen HPLC Bedingungen zwischen Benazolinsäure und Benazolin-Ethyl lag (JENE 1998 und STOCKINGER 1995).

Metabolit 1 könnte einem der Aniline entsprechen, die aufgrund ihrer Struktur (polare Seitenketten) gut wasserlöslich sind, diese Löslichkeit wurde auch von IVANOVA & MUCHALL (2003) bestätigt.

Damit stimmen auch der bei JENE (1998) und STOCKINGER (1995) dargestellte postulierte Abbauweg (Abbildung 5.1) mit dem in der vorliegenden Arbeit festgestellten (Abbildung 5.2) sehr gut überein.

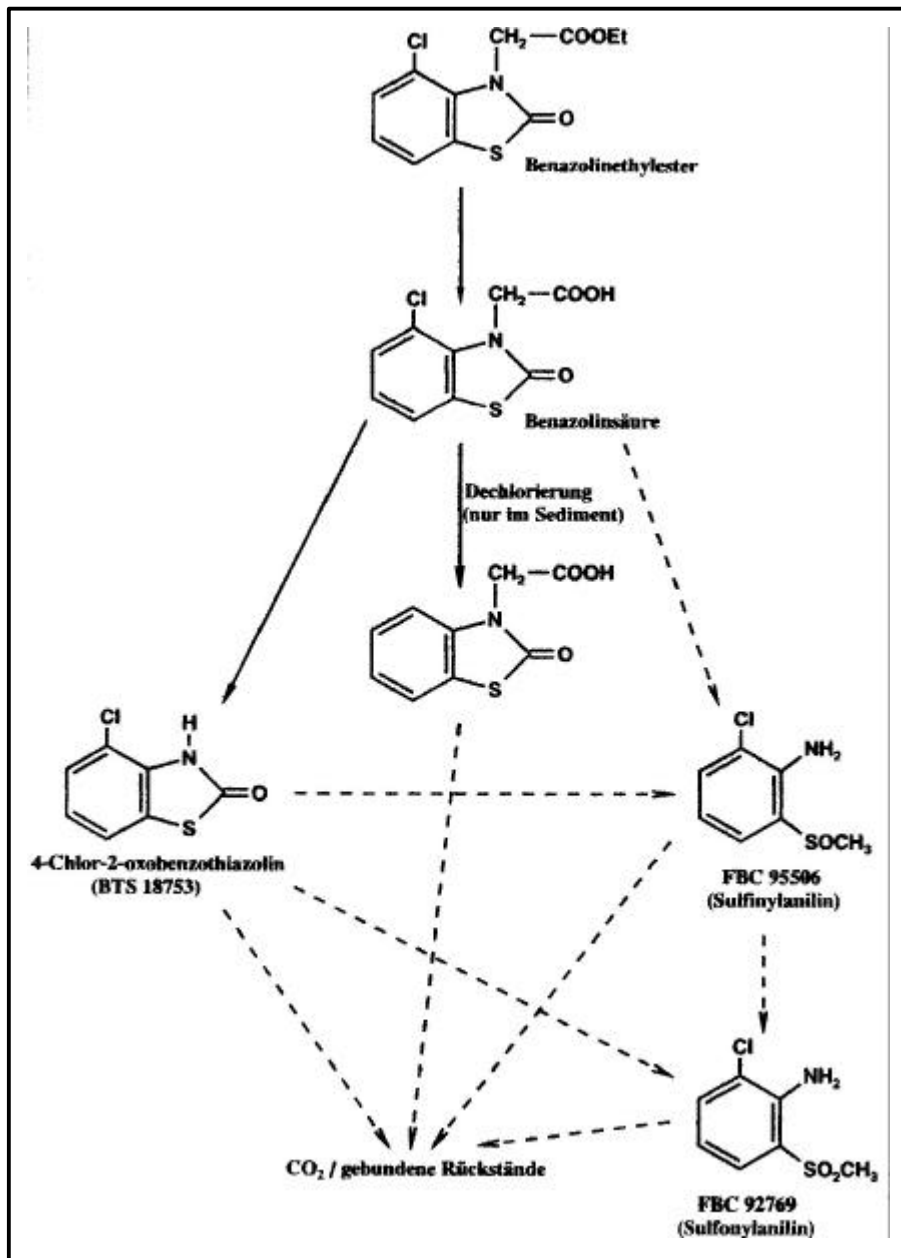


Abbildung 5.1: Postulierter Abbauweg für Benazolin-Ethyl (STOCKINGER 1995)

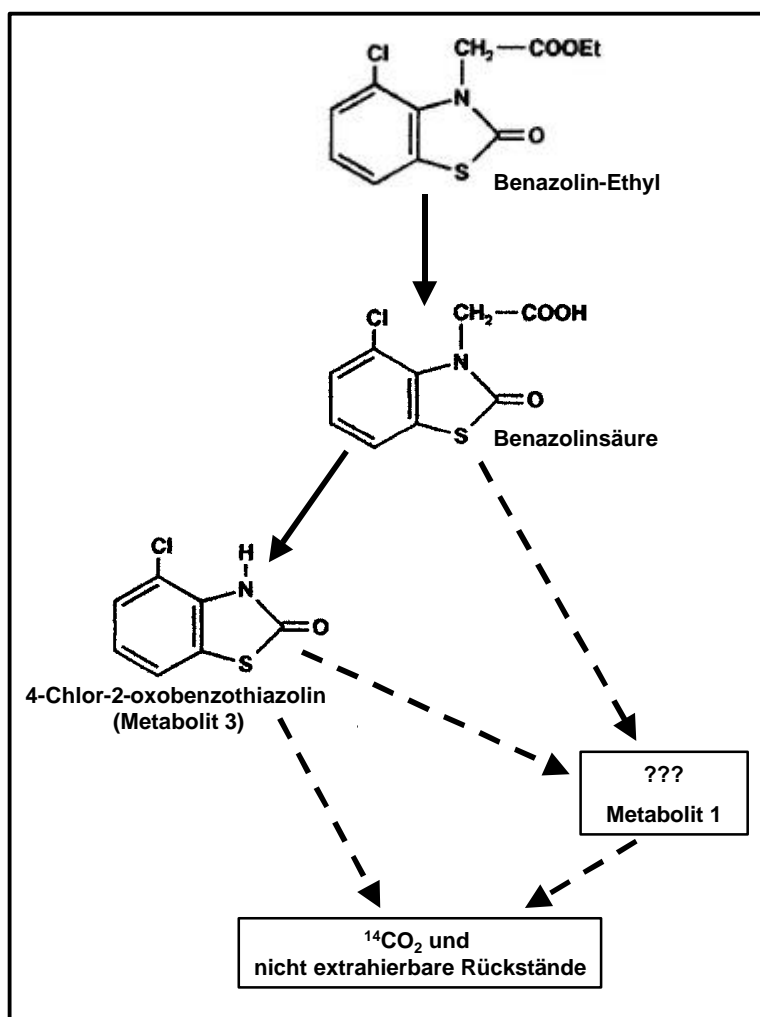


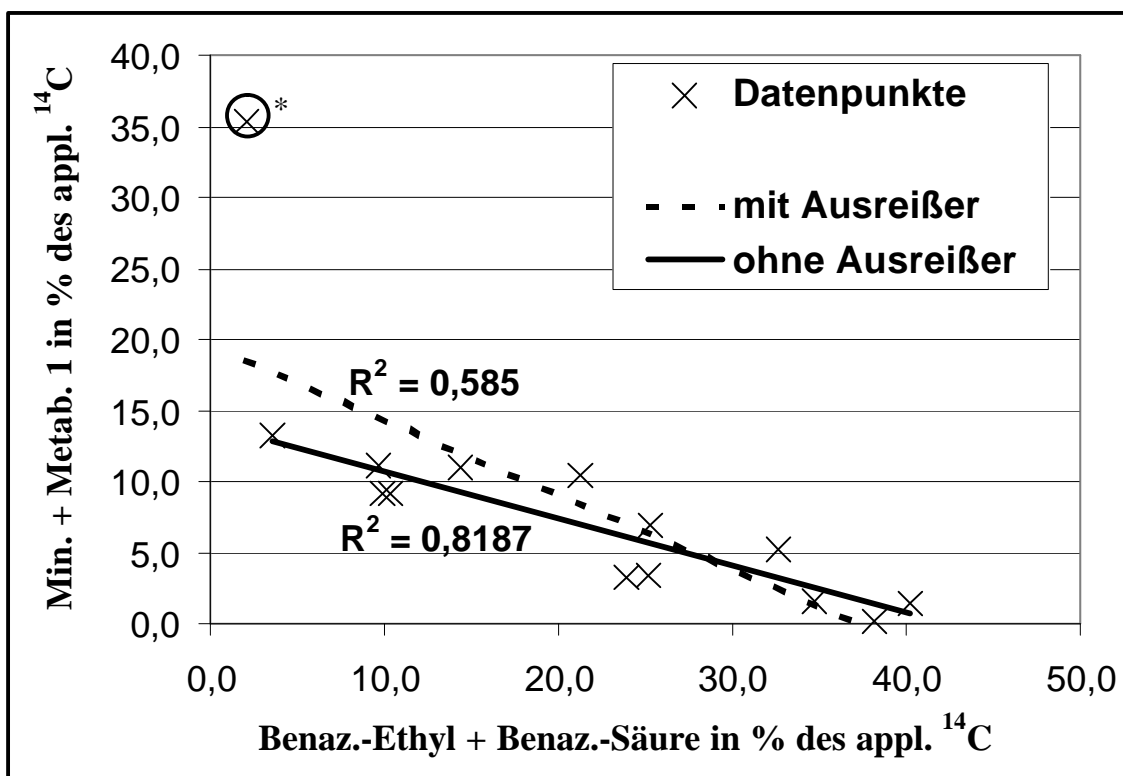
Abbildung 5.2: Abbauweg postuliert aus den Ergebnissen und HPLC-Analytik der vorliegenden Arbeit

Da in den untersuchten Böden keine Anzeichen auf unterschiedliche Abbauewege für Benazolin-Ethyl gefunden wurden, hing die unterschiedliche Bildung von Metaboliten im Wesentlichen von der Abbauaktivität und Sorption in den Böden ab. Eine geringe Abbauaktivität kann postuliert werden wenn die Ausgangssubstanz und der schnell gebildete Metabolit Benazolinsäure einen hohen prozentualen Anteil an den Rückständen im Boden haben, während bei hoher Abbauaktivität die Mineralisierung und der weit abgebaute Metabolit 1 (Abbildung 5.2) dominieren.

Bezüglich der Abbauaktivität lagen die Böden Incept-Int und Molli-Low am weitesten auseinander. Letzterer hatte die geringste Mineralisierung und Bildung von Metabolit 1 bei allen Bodenfeuchten und gleichzeitig bildeten Benazolin-Ethyl und Benazolinsäure den Hauptanteil der extrahierbaren Metabolite. Im Gegensatz dazu war im Boden Incept-Int, von der Mineralisierung abgesehen, meist nur noch Metabolit 1 in größeren Mengen vorhanden.

Die anderen Böden wiesen bei den unterschiedlichen Bodenfeuchten intermediäres Verhalten auf. Je weiter fortgeschritten der Abbau in den 70 Tagen war, umso geringer war der Anteil an nachweisbarem Benazolin-Ethyl und Benazolinsäure und umso höher der Anteil der Mineralisierung und Metabolit 1.

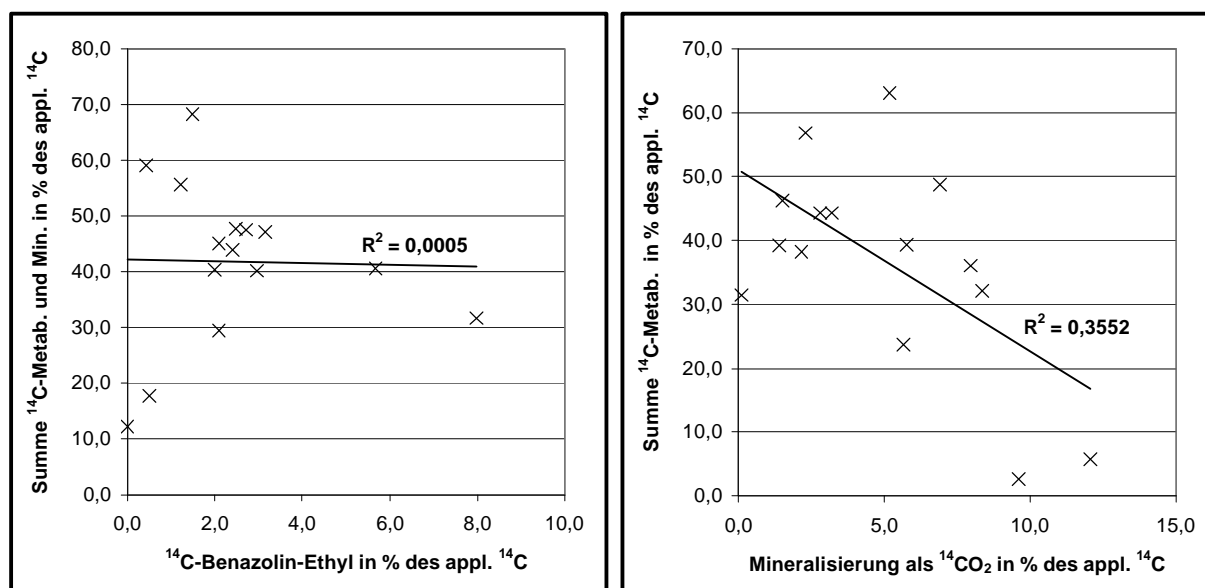
Dies ließ sich an der Korrelation dieser Werte sehr gut zeigen (Abbildung 5.3): Ohne den Ausreißer (Incept-Int, 20 % WHK) war die Korrelation hoch signifikant (0,1 %), mit diesem immerhin noch signifikant (1 % Niveau).



* Ausreißer: Boden Incept-Int, 20 % WHK

Abbildung 5.3: Zusammenhang zwischen der Summe der nicht bzw. kaum veränderten Substanzen ¹⁴C-Benazolin-Ethyl + ¹⁴C-Benazolinsäure und der Mineralisierung + Metabolit 1 in den Böden Incept-Int, Alfi-Con, Molli-High, Molli-Norm und Molli-Low bei 20 %, 40 % und 60 % WHK

Ein derartiger Zusammenhang ergab sich weder zwischen Ausgangssubstanz und Metaboliten + Mineralisierung (Abbildung 5.4 a) noch zwischen Mineralisierung und Summe aller Metaboliten (Abbildung 5.4 b). Daher kann die Beziehung aus Abbildung 5.3 die Abbauintensität von Benazolin-Ethyl in den untersuchten Böden und Inkubation bei den verschiedenen Wassergehalten am besten beschreiben. Dennoch wurde im Weiteren die Mineralisierung und nicht der Teilabbau der Modellchemikalie als wesentlich erachtet.



a)

b)

Abbildung 5.4: Zusammenhang zwischen ^{14}C -Benazolin-Ethyl Rückständen und der Summe der Metabolite und Mineralisierung (a), sowie Zusammenhang zwischen Mineralisierung von ^{14}C -Benazolin-Ethyl und der Summe der Metabolite in den Rückständen (b) in den Böden Incept-Int, Alfi-Con, Molli-High, Molli-Norm und Molli-Low bei 20 %, 40 % und 60 % WHK

5.1.2 Zusammenhang zwischen Mineralisierung und nicht extrahierbaren Rückständen von ^{14}C -Benazolin-Ethyl

Die Gründe für das abweichende Verhalten des Bodens Incept-Int bei 20 % WHK (Abbildung 5.3) lassen sich nur vermuten. Wahrscheinlich war der Wassermangel ausschlaggebend für den unvollständigen Abbau, der Metabolit 1 war in großer Menge vorhanden bei sehr geringer Mineralisierung.

Dies ließe den Rückschluss zu, dass ein großer Anteil der Mineralisierung der ^{14}C -Chemikalie nicht als $^{14}\text{CO}_2$ abgegeben wurde, sondern als ^{14}C -Biomasse bei den nicht extrahierbaren ^{14}C -Rückständen verblieb. Dies wurde auch durch die Korrelation zwischen Mineralisierung und ^{14}C -Rückstände im Boden mit der höchsten Abbauleistung (Incept-Int) bestätigt (Abbildung 5.5).

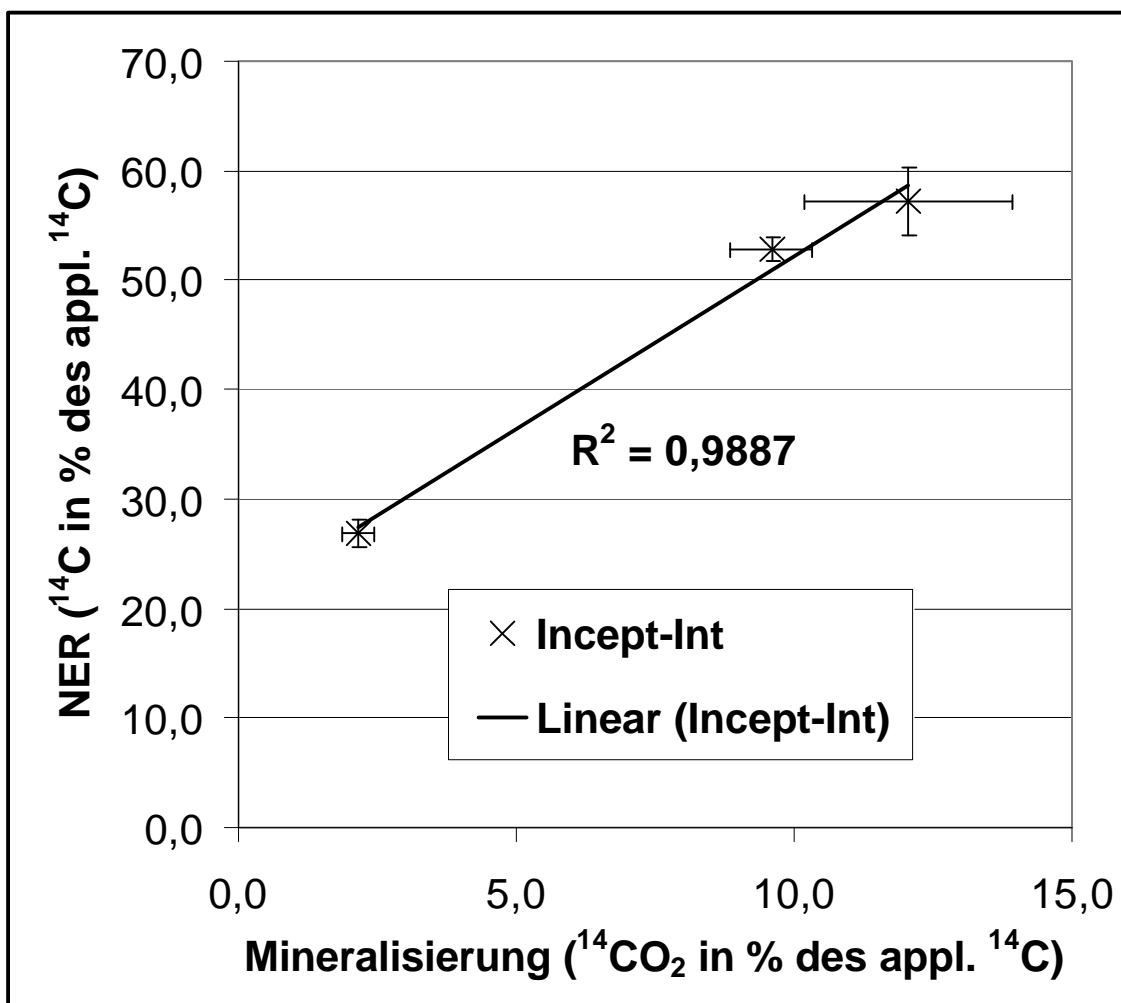


Abbildung 5.5: Zusammenhang zwischen Mineralisierung und Bildung nicht extrahierbarer Rückstände (NER) im Boden Incept-Int bei unterschiedlicher Bodenfeuchte (20%, 40 % und 60 % WHK).

Die Begriffe „nicht extrahierbare Rückstände“ oder „gebundene Rückstände“, werden von vielen Autoren auf unterschiedlichste Weise verstanden. Eine der ersten weithin anerkannten Definitionen stammte von ROBERTS (1984) von der „International Union of Pure and Applied Chemistry“ (IUPAC). Er bezeichnet „nicht extrahierbare Rückstände“ in Böden als chemische Substanzen, die aus Pestiziden gebildet werden und nicht mit Methoden extrahiert werden können, die deren chemische Zusammensetzung unverändert lassen. Von diesen Rückständen schließt er ausdrücklich solche Fragmente aus, die durch metabolische Umformungen natürliche Produkte gebildet haben. NORTHCOTT & JONES (2000) differenzieren klar zwischen gebundenen Rückständen, zu denen kovalent und nicht kovalent gebundene Chemikalienrückstände, sowie eingeschlossene Metabolite zählen und der so genannten „gebundenen Radioaktivität“ zu der auch z.B. ^{14}C -Biomasse, die aus dem Abbau der Chemikalie resultiert, gezählt wird. Danach muss das in dieser Arbeit als „nicht extrahierbare Rückstände“ bezeichnete ^{14}C zur „gebundenen Radioaktivität“ gerechnet werden. Eine Unterscheidung in „gebundene Rückstände“ und die von ROBERTS (1984) davon explizit ausgeschlossenen natürlichen Produkte war nicht möglich.

Zusammenfassend lässt sich aussagen, dass die gemessenen Werte für die nicht extrahierbaren Rückstände deutlich über der tatsächlich gebundenen ^{14}C -Benzolin-Ethyl und seiner Metabolite liegen. Gleichzeitig kann die gemessene Mineralisierung durch Bestimmung von $^{14}\text{CO}_2$ die tatsächliche Mineralisierung unterschätzen, worauf der Ausreißer in Abbildung 5.3 wie gesagt möglicherweise hindeutet.

5.1.3 Zusammenhang zwischen Mineralisierung und extrahierbaren Rückständen von ^{14}C -Benzolin-Ethyl

Je geringer die Mineralisierung, umso höher waren die CaCl_2 -extrahierbaren Rückstände. Somit war auch der Anteil der CaCl_2 -extrahierbaren Rückstände bei 20 % WHK jeweils am höchsten, zwischen 21,0 % im Boden Molli-High und 36,5 % im Boden Molli-Norm. Diese Aussage über alle Böden und Bodenfeuchten hinweg lässt sich durch die hoch signifikante negative Korrelation zwischen Mineralisierung und CaCl_2 -extrahierbaren Rückständen zeigen mit einem $r^2 = 0,8167$ (Abbildung 5.6).

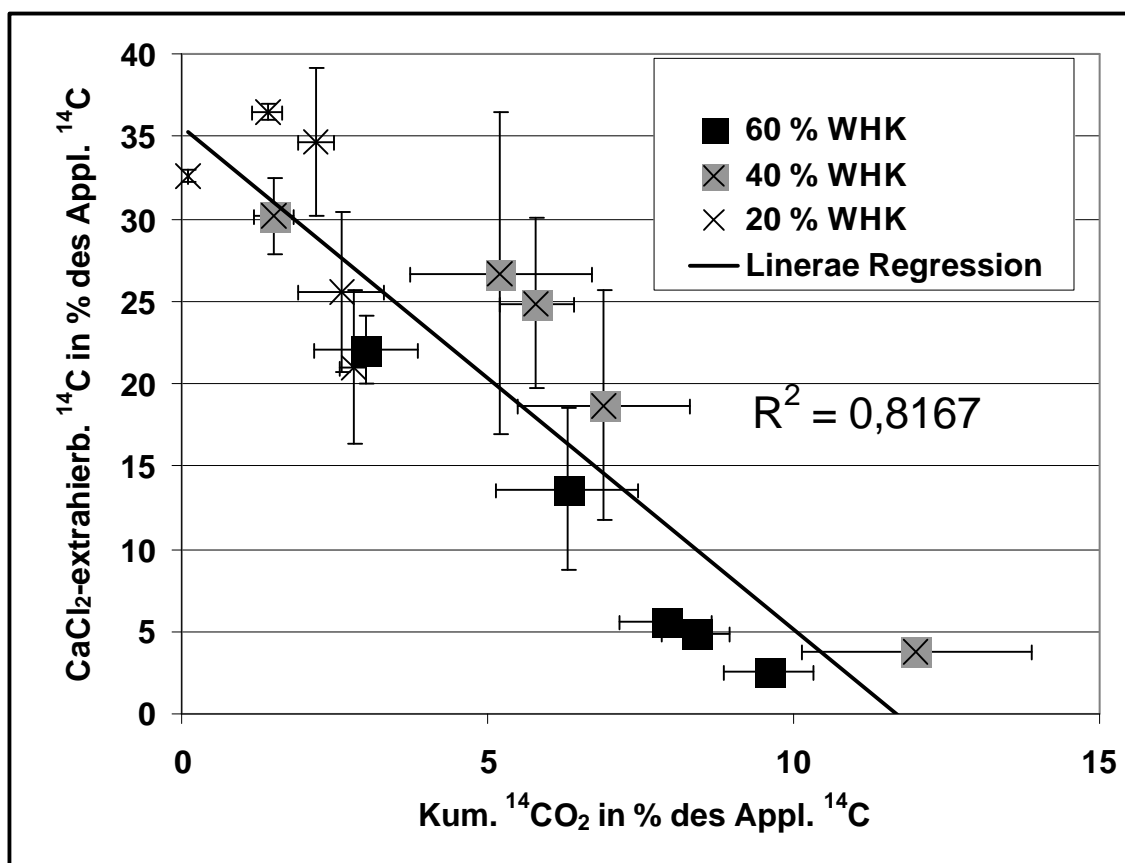


Abbildung 5.6: Lineare Korrelation zwischen der Mineralisierung in 70 Tagen und den CaCl_2 -extrahierbaren Rückständen der Böden Incept-Int, Alfi-Con, Molli-High, Molli-Norm und Molli-Low inkubiert bei Bodenfeuchten von 20 % WHK, 40 % WHK und 60 % WHK, dargestellt sind Mittelwerte ($n=3$) und Standardabweichung.

Die negative Korrelation widerspricht auf den ersten Blick den Ergebnissen von REUTER et al. (1999). In seinen Modellversuchen korrelierte mit Wasser extrahierbares ^{14}C am Versuchsende positiv mit der kumulativen $^{14}\text{CO}_2$ -Produktion korreliert. Bei REUTER et al. (1999) wurden jedoch unterschiedliche Chemikalien in einem Boden unter gleichen

Bedingungen verglichen, während es in der vorliegenden Arbeit um eine Chemikalie (¹⁴C-Benazolin-Ethyl) und verschiedene Böden und Wassergehalte geht. Bei allgemeinen Aussagen ist also wichtig welche Variable (Chemikalie, Boden und/oder Versuchsbedingungen) sich verändert.

Hier ist festzuhalten, je höher die Mineralisierung in einem Boden, umso weniger der leicht verfügbaren Metabolite sind vorhanden, also umso effektiver kann die Mikroorganismengemeinschaft in diesem Boden die Metabolite aufnehmen und total abbauen.

5.2 Bodenphysikalische Indikatoren für das Verhalten von Benazolin-Ethyl in Böden

5.2.1 Der K_d -Wert bzw. die Sorption von Benazolin-Ethyl und Benazolinsäure in den Projektböden

Betrachtet man das Verhalten von Benazolin-Ethyl im Boden, so ist gleichzeitig der erste Hauptmetabolit und eigentliche Wirkstoff Benazolinsäure einzubeziehen. Wie bereits in Kapitel 2.2.1 (Tabelle 2.6, Seite 12) deutlich wurde, sind die physikochemischen Eigenschaften dieser beiden Substanzen sehr unterschiedlich und damit auch ihr Verhalten im Boden.

Es zeigte sich, dass die Verfügbarkeit einer Substanz nicht immer deren Abbau bestimmt. Trotz schlechter Verfügbarkeit wurde Benazolin-Ethyl ($K_d = 0,46-2,61$; $IPC = 36,32-169,82$), das als Esterbindung vorlag, innerhalb weniger Tage nahezu vollständig zur Säure abgebaut. Dies erklärte ZÖRNTLEIN (1995) durch die Aktivität von Exoenzymen im Boden, den so genannten Esterasen. Das hierzu mikrobiologische Aktivität nötig ist zeigten die Versuche unter abiotischen Bedingungen, bei denen nach 7 Tagen noch 100 % des applizierten ^{14}C -Benazolin-Ethyls im Boden nachgewiesen wurden.

Die unterschiedliche Abbaubarkeit von Benazolin-Ethyl und Benazolinsäure wurde auch durch die eigenen Versuche bestätigt: Im leicht verfügbaren CaCl_2 -Extrakt konnte nie Benazolin-Ethyl nachgewiesen werden und im Acetonextrakt meist nur in geringen Mengen. Nur in Ausnahmefällen waren mehr als 3 % des applizierten ^{14}C -Benazolin-Ethyl nach 70 Tagen noch extrahierbar (Tabelle 3.3, Seite 59). Im Gegensatz dazu war Benazolinsäure oft der Hauptmetabolit im CaCl_2 -Extrakt (Tabelle 3.3, Seite 59) und je nach Boden teilweise noch über 30 % nachweisbar. Das bedeutet, dass das vorhandene Benazolin-Ethyl immer nahezu vollständig zur Säure abgebaut wurde. Der Geschwindigkeitsbestimmende Schritt für die Umsetzung dieser Modellchemikalie ist die Aufnahme und der Abbau von Benazolinsäure.

Daher sind Umweltauswirkungen im Wesentlichen nur von der Benazolinsäure zu erwarten. Der $K_{ow} > 1$ und die Verweildauer im Boden von $DT_{50} > 30$ Tagen führen laut USGS (2000) zu einer Anreicherung der Benazolinsäure in Biota und damit stellt die Chemikalie ein Problem für die Nahrungskette dar.

Auch bei Verlagerungsexperimenten in Lysimeterstudien wurde meist nur die Verlagerung von Benazolinsäure als deutlich ausgeprägtes Phänomen beschrieben. So berichteten JENE et al. (1996) von etwa 2-6 % ^{14}C im Sickerwasser (1,3 m Tiefe) während eines Jahres, wobei Benazolinsäure immer der Hauptmetabolit war und die Ausgangssubstanz Benazolin-Ethyl nie nachgewiesen werden konnte. VERECKEN et al. (1996) fanden immerhin noch 0,8 – 2,1 % der applizierten Radioaktivität, größtenteils in Form von Benazolinsäure, im Sickerwasser in 1 m Tiefe zwischen Februar 1994 und May 1996.

In der weiteren Betrachtung ist somit der Abbau der Benazolinsäure als Geschwindigkeit bestimmender Schritt entscheidend, da sie der erste Metabolit ist der für den Abbau in die Zellen der Mikroorganismen aufgenommen werden muss. Erst hier ist die Adsorption-Desorption, wie NEMETH-KONDA et al. (2002) es darstellten, einer der wichtigsten Prozesse, der Mobilität, Persistenz und Abbau dominiert.

Nach JENE (1998) wird insbesondere Benazolinsäure verlagert und zwar bei intensiver Infiltration und schneller Verlagerung. Bei derlei Verlagerungsprozessen spielt der K_d -Wert eine große Rolle, da in den wassergefüllten Poren ein Wasserüberschuss existiert und daher annähernd solche Bedingungen herrschen, wie bei der Bestimmung des K_d -Wertes (Wasserüberschuss 5 : 1)

Die abgeschätzten K_d -Werte zeigten, dass die beiden zitierten Gleichungen für Benazolin-Ethyl und Benazolinsäure sehr unterschiedliche Werte ergaben. Hierauf verwiesen bereits TRAPP & MATTHIES (1996): Hohe Wasserlöslichkeit der Säure und geringe Löslichkeit des Ethyls.

Es zeigte sich auch, dass nicht nur die Quantität der organischen Substanz, wie sie in der hier angewendeten, weit verbreiteten Gleichung eingesetzt wird, ausschlaggebend ist. Auch die Qualität der organischen Substanz ist von entscheidender Bedeutung. Bei den drei normal gedüngten Böden (Incept-Int, Alfi-Con und Molli-Norm in Abbildung 5.7) gab es eine Korrelation zwischen C_{org} und K_d -Wert, während die Sorption durch die organische Substanz im Boden Molli-High deutlich überbewertet und im Boden Molli-Low unterbewertet wurde. Dies lässt sich sicherlich auf die Düngervariante zurückführen:

- In der hochgedüngten Schwarzerde (Molli-High) herrschen einfache Strukturen mit einem sehr hohen Anteil an löslichem organischem Kohlenstoff (EMBACHER 2004, nicht veröffentlichte Daten) vor, der insgesamt die Verfügbarkeit organischer Substanzen erhöht.
- In der ungedüngten Schwarzerde herrschen aufgrund jahrtausende andauerndem Aufbau der organischen Substanz komplexe Strukturen mit einem hohen Anteil an Huminsäuren und somit Bindungsplätzen (SCHACHTSCHABEL et al. 1992) auch für organische Chemikalien vor, die deren Verfügbarkeit deutlich verringern.

Trotz der geringen Anzahl an Werten (drei je Abhängigkeit, da der Boden Molli-Norm für beide gilt) zeigt schon dieser Vergleich die große Unsicherheit mit der solche einfachen Modellannahmen behaftet sind. Leider konnte noch kein Indikator etabliert werden, der die Qualität der organischen Substanz bezüglich des K_d -Wertes berücksichtigen könnte.

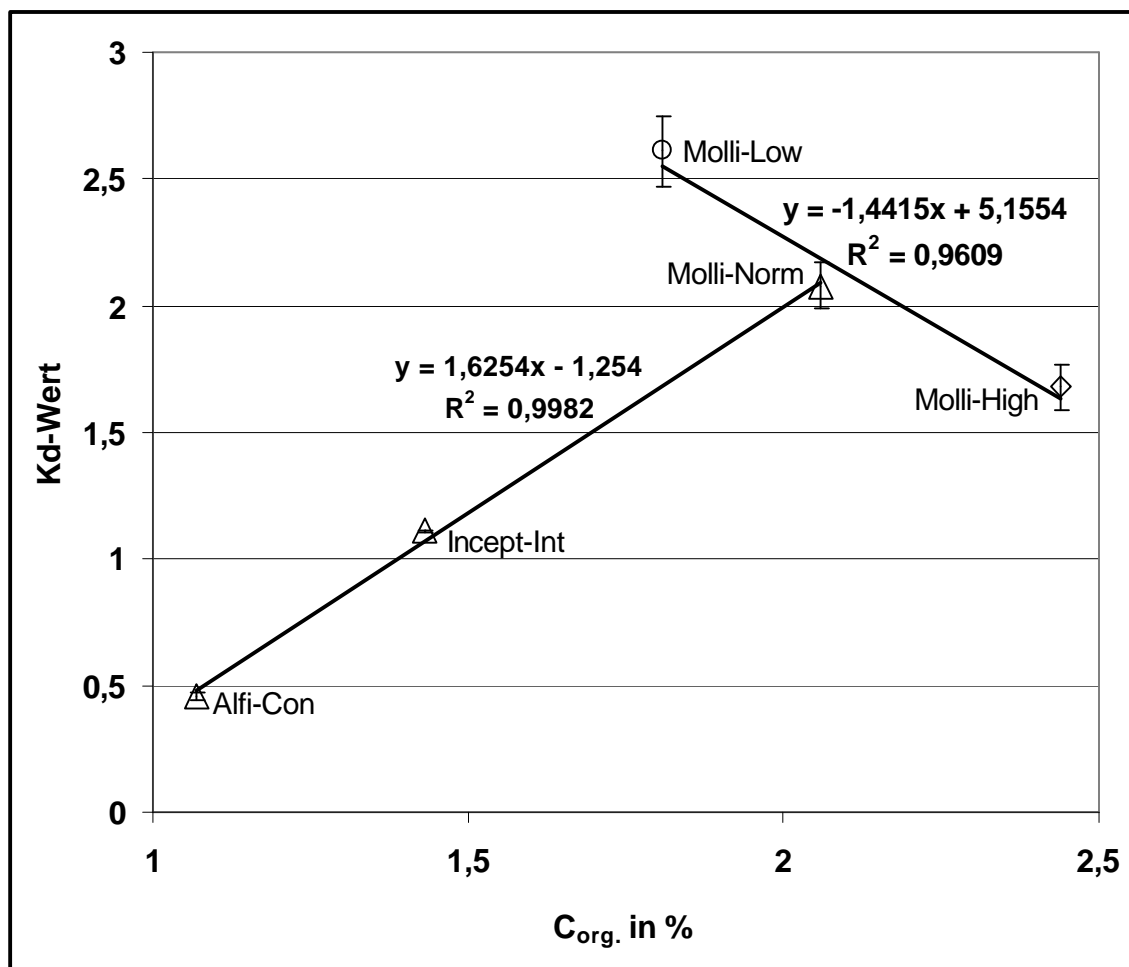


Abbildung 5.7: Zusammenhang zwischen organischem Kohlenstoff ($C_{org.}$ in %) und K_d -Wert von Benazolinsäure ($n=3$ mit Standardabweichung), Korrelation berechnet für die Böden Incept-Int, Alfi-Con und Molli-Norm, sowie für die Böden Molli-High, Molli-Norm und Molli-Low

5.2.2 Der in-situ Verteilungskoeffizienten IPC (in-situ Partitioning Coefficient) als Indikator für die Verfügbarkeit von ^{14}C -Benazolin-Ethyl und -säure

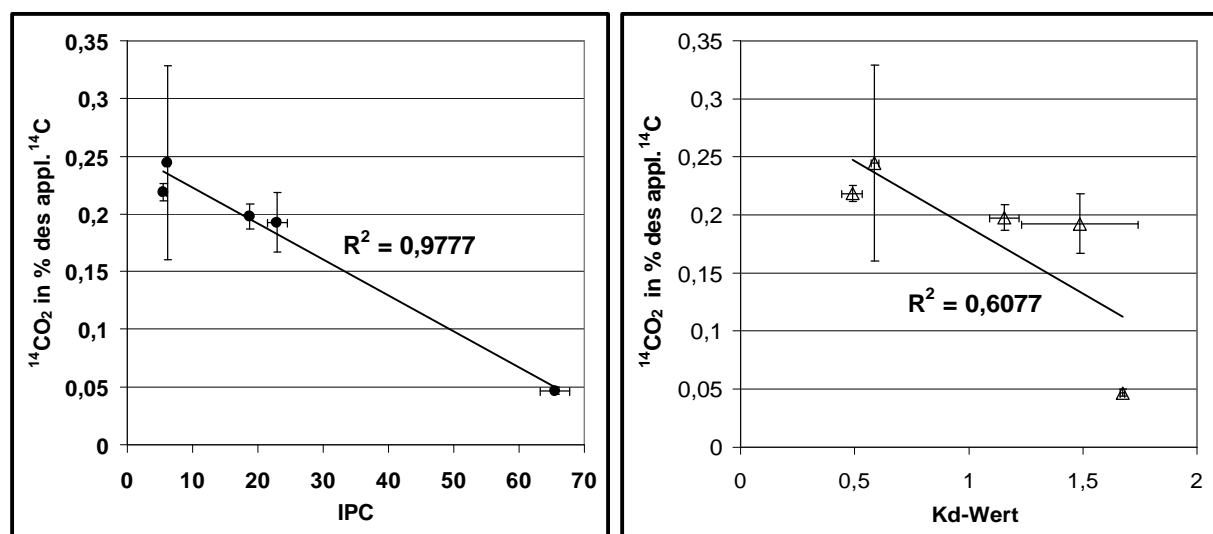
Üblicherweise wird die Sorption von Umweltchemikalien durch die Bestimmung des K_d -Wertes ermittelt (FAO 1989). Hierbei ist das Verhältnis von Wasser zu Boden 5 : 1 (OECD-Richtlinie). In vielen Literaturstellen (GAILLARDON & DUR 1995, PIGNATELLO & XING 1996), sowie auf der IUPAC-Konferenz (2002) in Basel (mündlicher Bericht eines Teilnehmers) wurde erneut explizit auf die unnatürlichen Bedingungen in diesem System bezüglich der Chemikalienverfügbarkeit hingewiesen. KOTTLER et al. (2001) zeigten analog zu den hier vorliegenden Ergebnissen (Kapitel 3) eine deutliche Abhängigkeit der Verfügbarkeit von Chemikalien von der Bodenfeuchte. Daher werden nun häufiger Methoden angewendet, die die Sorption von Umweltchemikalien unter natürlichen Feuchtebedingungen untersuchen. Die meisten dieser Methoden (Saugkerzen, Verdrängungstechnik oder Druckfiltration) benötigen jedoch einen hohen zeitlichen und technischen Aufwand oder/und liefern nur schwer reproduzierbare Ergebnisse (GILLMAN 1976).

Eine Abhängigkeit der Konzentration von Pestiziden in der Bodenlösung von der Bodenfeuchte wie sie in Kapitel 3.5 (Seite 70) dargestellt wurde, fanden auch GAILLARDON & DUR (1995) für Isoproturon und begründeten dies mit einer besseren Diffusion des Herbizids in Bodenaggregate hinein.

Dieser Zusammenhang sollte nun für Benzolinsäure untersucht werden und es sollte geklärt werden, ob der IPC als Indikator für den Abbau herangezogen werden könnte.

Wenn ein Zusammenhang zwischen dem Wassergehalt der Böden und der Chemikalienverfügbarkeit bzw. -abbau besteht, war die Frage ob dieser von der Wasserhaltekapazität abhängig ist oder von der Wasserspannung. Daher wurde der IPC für ^{14}C -Benzolinsäure sowohl bei 40 % Wasserhaltekapazität als auch bei einer Wasserspannung von $\text{pF} = 2,5$ bestimmt.

Es zeigte sich, dass der IPC den Abbau von ^{14}C -Benzolin bei einem pF -Wert von 2,5 viel besser erklären konnte als der K_d -Wert: Der IPC bei $\text{pF} = 2,5$ korrelierte sehr gut mit der Mineralisierungsrate zum gleichen Zeitpunkt (Tag 5/6), dies gilt jedoch nicht für den K_d -Wert (Abbildung 5.8). Diese Beziehung ist bei einer Bodenfeuchte von 40 % WHK, schon nicht mehr so deutlich (Abbildung 5.9 a) und für 60 % WHK (Abbildung 5.9 b) lässt sich keine derartige Beziehung zeigen.



a)

b)

Abbildung 5.8: Zusammenhang zwischen Mineralisierung und In-situ-Verteilungskoeffizient (IPC, a) bei $\text{pF} = 2,5$ sowie K_d -Wert (b) zum selben Zeitpunkt (Tag 5/6) der Böden Alfi-Con, Incept-Int, Molli-High, Molli-Norm und Molli-Low; dargestellt sind Mittelwerte ($n=3$) und Standardabweichungen in entsprechender Achsenrichtung.

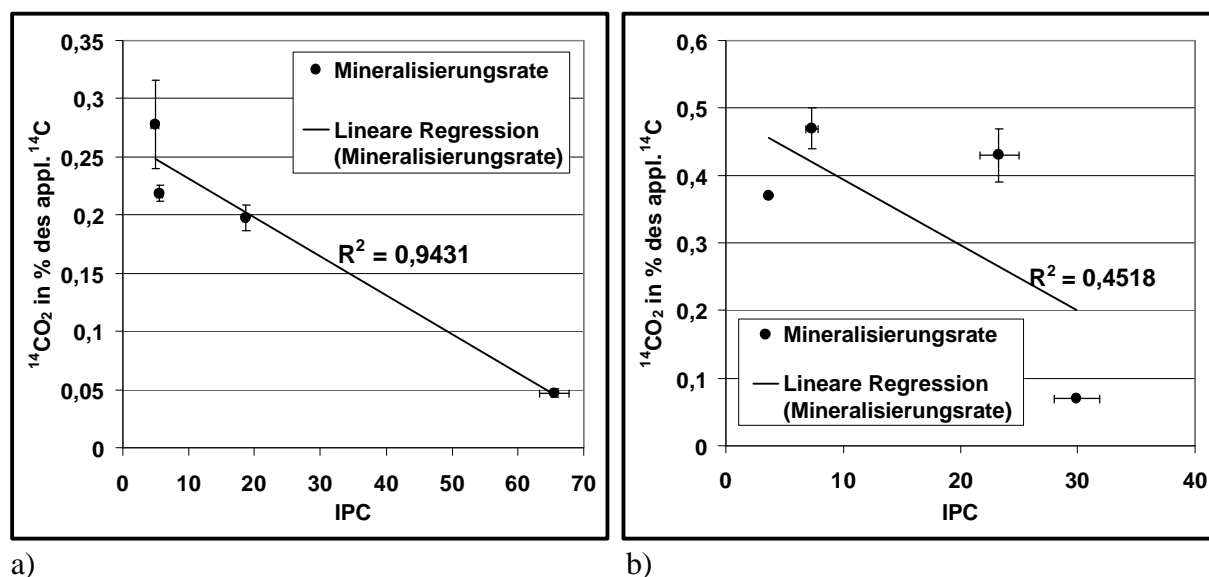


Abbildung 5.9: Zusammenhang zwischen IPC und Mineralisierungsrate in den Böden Incept-Int, Alfi-Con, Molli-High und Molli-Low inkubiert bei (a) 40 % WHK und (b) 60 % WHK

Für die Böden Alfi-Con, Molli-High und Molli-Low entspricht der pF-Wert = 2,5 etwa 40 % WHK. Daher ergaben sich noch weitere Korrelationen aufgrund der Ergebnisse der durchgeführten Modellversuche (Abbildung 5.10).

Die maximale Mineralisierung, die Summenmineralisierung und die extrahierbaren Rückstände von ¹⁴C-Benazolinsäure korrelieren mit dem IPC bei einem pF-Wert von 2,5, nicht jedoch bei 40 % WHK und 60 % WHK. Die nicht extrahierbaren Rückstände (NER) korrelieren in keinem Fall. Dies überrascht nicht, da wie bereits in Kapitel 5.1.2 dargestellt wurde, hier die gegenläufigen Prozesse Abbau (¹⁴C-Biomasse) und Adsorption (gebundene ¹⁴C-Rückstände der Chemikalie und deren Abbauprodukten) sich überlagern.

Dies bedeutet, dass der IPC als Indikator für den Benazolin-Abbau in diesen Böden herangezogen werden kann. Um diese Aussage verallgemeinern zu können wären zusätzliche Untersuchungen mit einer größeren Anzahl an Böden und unterschiedlichen Substanzen notwendig.

Wenn sich der IPC als allgemeingültiger Indikator für Chemikalienabbau bestätigen würde, könnte er herangezogen werden um den Abbau dieser Chemikalien in relativ kurzer Zeit (< 1 Woche) ohne großen technischen Aufwand (Zentrifuge mit entsprechenden Zentrifugenbechern) vorhersagen zu können.

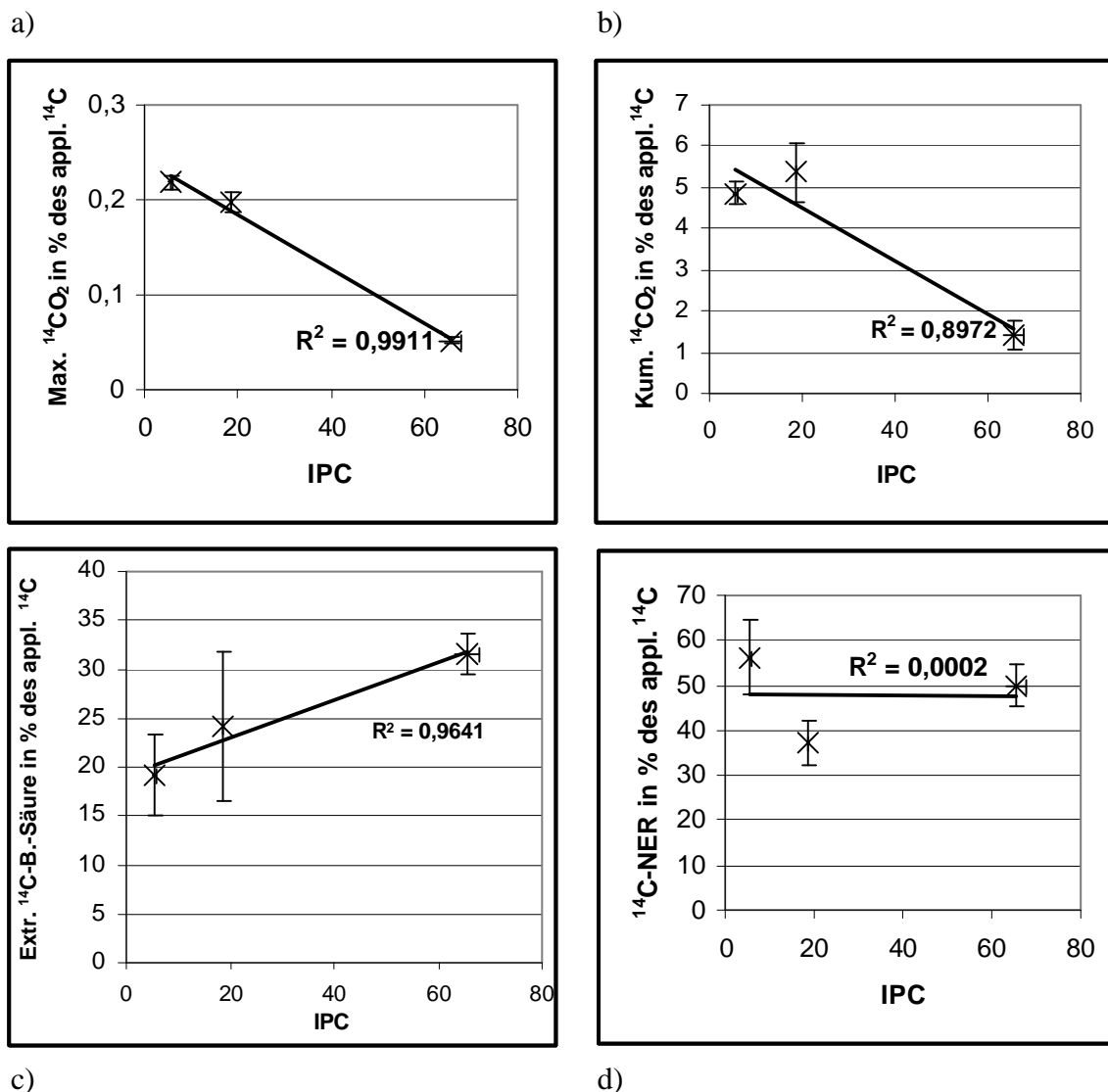


Abbildung 5.10: Korrelationen zwischen IPC und Maximaler Mineralisierung (a), Summenmineralisierung in 70 Tagen (b), extrahierbare ^{14}C -Benzolinsäure nach 70 Tagen (c) und nicht extrahierbare Rückstände (d) in den Böden Alfi-Con, Molli-High und Molli-Low bei $pF = 2,5$; dargestellt sind Mittelwerte ($n=3$) und die Standardabweichungen in der entsprechenden Achsenrichtung

5.2.3 Zusammenhang zwischen Wasserspannung in den Böden und Abbau von Benzolin-Ethyl

Die Porengröße und -struktur, also die Wasserspannung, eines Bodens wird bei SEMPLE et al. (2001) als einer der wichtigen Faktoren für das Verhalten von Xenobiotika im Boden dargestellt. Ein „adäquater“ Wassergehalt wurde von HURLE & WALKER (1980) als essentiell für die mikrobiologische Aktivität und damit für den Abbau beschrieben. Die dort zitierten Ergebnisse deuteten an, dass der Chemikalienabbau mit der Feuchte bis hin zur Feldkapazität ($pF = 1,8$, Porengröße $50 \mu\text{m}$) zunimmt. Die zitierten Autoren verlangen jedoch genauere Untersuchungen zu dieser Abhängigkeit. Zu hohe Feuchtigkeiten beeinflussen die mikrobiologische Aktivität negativ, da es zu Sauerstoffmangel kommt und anaerobe Prozesse

dominieren (NEHER 1999). Auf dieser Grundlage wurde mit Hilfe der vorliegenden Daten eine Wasserspannung gerechtfertigt, bei der das Mineralisierungsmaximum oder $-potential$ der untersuchten Böden für Benazolin-Ethyl erreicht wird. Die Wasserspannung von $pF = 2,17$ wurde graphisch hergeleitet (Abbildung 5.11):

Hierzu wurden zunächst die Wertepaare für den pF -Wert und die dazugehörige Fremdstoffmineralisierung verbunden, bei denen bei zunehmender Wasserspannung eine Abnahme der Mineralisierung zu verzeichnen war (20 % und 40 % WHK, im Boden Molli-Low auch 60 % WHK). Hierbei zeigt sich, dass bis $pF = 2,17$ die Mineralisierung in allen Böden zunimmt und bei weiter abnehmender Wasserspannung (bereits bei $pF = 2,0$ im Boden Alfi-Con) die Mineralisierung wieder zurückgeht.

Die für alle untersuchten Böden ideale Wasserspannung zur Erreichung der maximalen Fremdstoffmineralisierung kann nicht unter $pF = 2,0$ liegen, da bei dieser Wasserspannung die Mineralisierung im Boden Alfi-Con bereits zurückgeht. Sie kann aber auch nicht höher als $pF = 2,3$ sein, da die Mineralisierung im Boden Molli-Low bis zu dieser Wasserspannung noch zunimmt. Bei der gewählten Wasserspannung von $pF = 2,17$ sind Poren bis zu einem Durchmesser von $20 \mu m$ mit Wasser gefüllt.

Wenn also der gesamte Porenraum bis $pF = 2,17$ mit Wasser gefüllt ist, erreichen die Böden ihre maximal mögliche Mineralisierung, die als „potentielle Mineralisierung“ definiert wird.

Berechnung der „potentiellen Mineralisierung“:

- Da für jeden Boden mindestens 2 Punkte (bei Molli-Low 3 Punkte) der Gerade Mineralisierung in Abhängigkeit vom Wassergehalt im Bereich bis $pF = 2,17$ existierten, konnten daraus die jeweiligen Gleichungen berechnet werden.
- Der Wassergehalt bei $pF = 2,17$ wurde aus der pF -WG-Kurve abgelesen
- Der abgelesene Wassergehalt wurde in die entsprechende Gleichung eingegeben und somit die potentielle Mineralisierung der jeweiligen Böden berechnet.

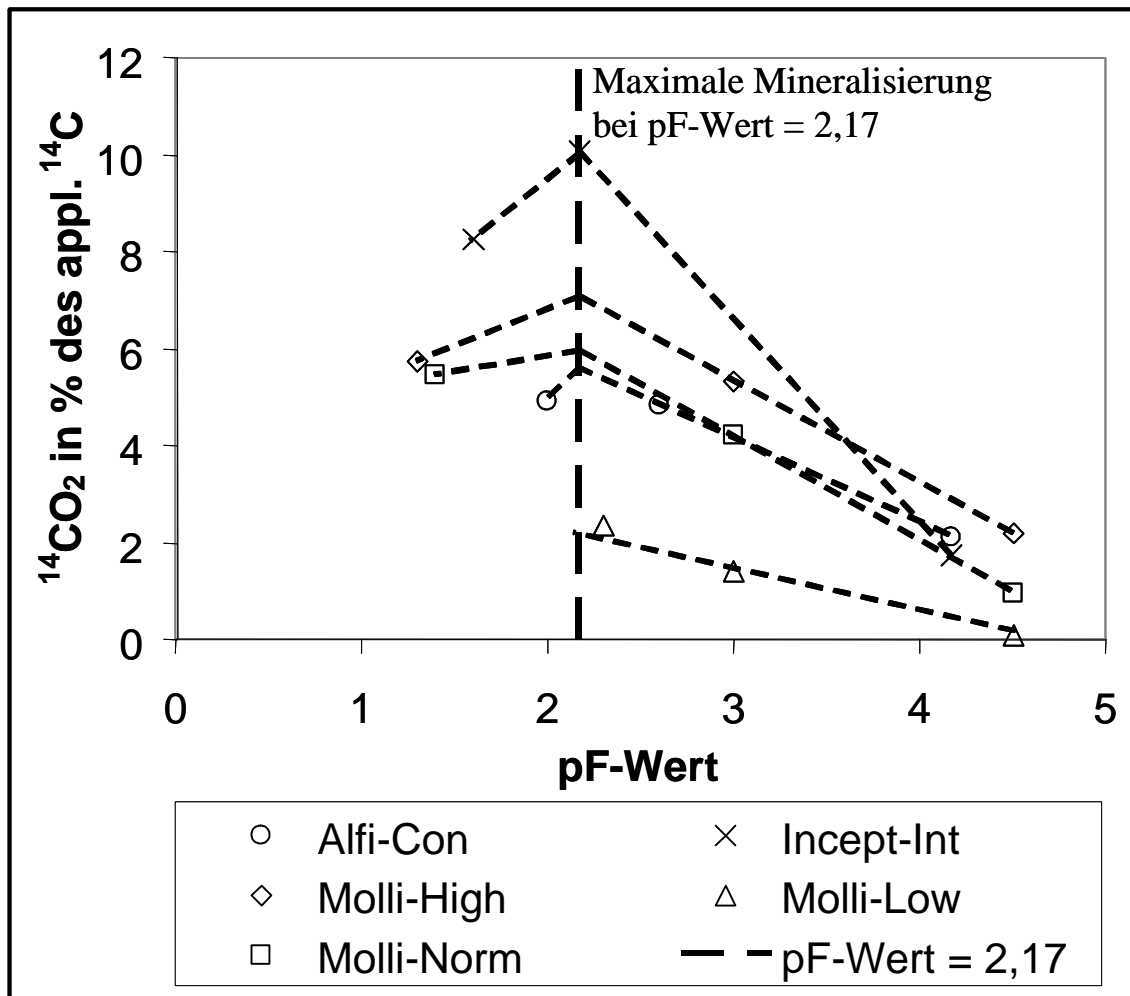


Abbildung 5.11: Mineralisierung von ^{14}C -Benazolin-Ethyl bei entsprechender Wasserspannung (pF-Wert) in den Böden Incept-Int, Alfi-Con, Molli-High, Molli-Norm und Molli-Low; Mineralisierungsmaximum angenommen bei pF = 2,17, gestrichelte Linien verbinden die Mineralisierungswerte und haben ihr Maximum auf dieser gedachten Linie.

Tabelle 5.1: Anteil der Mikroporen (in %) und dem gravimetrischen Wassergehalt bei 20 % der maximalen Wasserhaltekapazität in den Böden Incept-Int, Alfi-Con, Molli-High, Molli-Norm und Molli-Low

| | Mikroporenanteil (%) | Wassergehalt bei 20 % WHK |
|-------------------|----------------------|---------------------------|
| Incept-Int | 11,9 | 11,8 |
| Alfi-Con | 8,4 | 8,4 |
| Molli-High | 13,9 | 11,9 |
| Molli-Norm | 12,5 | 10,6 |
| Molli-Low | 10,9 | 7,8 |

Es muss auch einen Mindestwassergehalt geben bei der Mineralisierung gerade noch möglich ist. Dieser liegt jedoch jenseits der Grenze für Mikroporen ($0,2 \mu\text{m}$), da der Wassergehalt der Böden Molli-High, Molli-Norm und Molli-Low bei WHK 20 % deutlich unter dieser Grenze lag (Tabelle 5.1) und es dennoch eine nennenswerte Fremdstoffmineralisierung gab.

Dieser Porenbereich ist für Mikroorganismen jedoch nicht direkt zugänglich, da diese größer sind (in der Mikrobiologie wird die Filtergröße von $0,2 \mu\text{m}$ für die Sterilfiltration verwendet).

Die Verfügbarkeit von Umweltchemikalien für Mikroorganismen aus dem umgebenden Mikroporenbereich erklärt sich dadurch, dass durch den Abbau im Grenzflächenbereich zu größeren Poren ein Konzentrationsgefälle entsteht. Nach dem Löslichkeitsprinzip bewirkt dieses Konzentrationsgefälle, dass die adsorbierte Chemikalie neu gelöst wird, bis wiederum ein Lösungsgleichgewicht entsteht (PIGNATELLO & XING 1996). Dies macht die Verfügbarkeit von Umweltchemikalien aus diesem Porenbereich möglich.

Die Wasserspannung im Mikroporenbereich war mit den zur Verfügung stehenden Methoden zur Bestimmung der pF-WG-Kurven nicht bestimmbar, daher musste empirisch ein Anteil am Mikroporenbereich ermittelt werden bis zu dem Abbau stattfinden kann:

- Der Porenraum zwischen $pF = 2,17$ und $4,2$ wird vollständig erfasst.
- Hierzu wird ein für alle Böden gleicher Anteil (x) des Mikroporenbereichs hinzugezählt.
- Diese Summe ergibt einen Ausschnitt aus dem Gesamtporenraum eines Bodens. Die Wassermenge, die diesen Porenraum füllt wird als ideal für den Chemikalienabbau angesehen und gleich 100 % gesetzt.
- In Abbildung 5.12 wurde für die einzelnen Feuchtegehalte der untersuchten Böden die Beziehung zwischen den prozentualen Anteilen an der potentiellen Mineralisierung und des mit Wasser gefüllten Porenraumes gegenübergestellt.
- Rein empirisch ergab sich für $x = 0,45$ die beste Korrelation. Die errechnete Gerade geht durch den 0-Punkt und hat eine Steigung von etwa 1.

D.h. wenn nur 45 % der Feinporen ($< 0,2 \mu\text{m}$) mit Wasser gefüllt sind, erfolgt keine Mineralisierung der Chemikalie. Sind alle Poren bis zu einem Durchmesser von $20 \mu\text{m}$ mit Wasser gefüllt ($pF = 2,17$) wird die maximale Mineralisierung im jeweiligen Boden erreicht. Der Porenraum zwischen 45 % Feinporen und $20 \mu\text{m}$ wird als 100 % Porenfüllung definiert, bei der die potentielle Mineralisierung im entsprechenden Boden erreicht wurde. Ist dieser Porenraum nur zu einem gewissen Anteil (z.B. 50 %) gefüllt entspricht die Mineralisierung dem entsprechenden Anteil an der potentiellen Mineralisierung (ebenfalls 50 %). So wurde für die untersuchten Böden und Wassergehalte in diesem Bereich die relative Mineralisierung und Porenraumfüllung gegenübergestellt (Abbildung 5.12). Es ergab sich ein hoch signifikanter Zusammenhang.

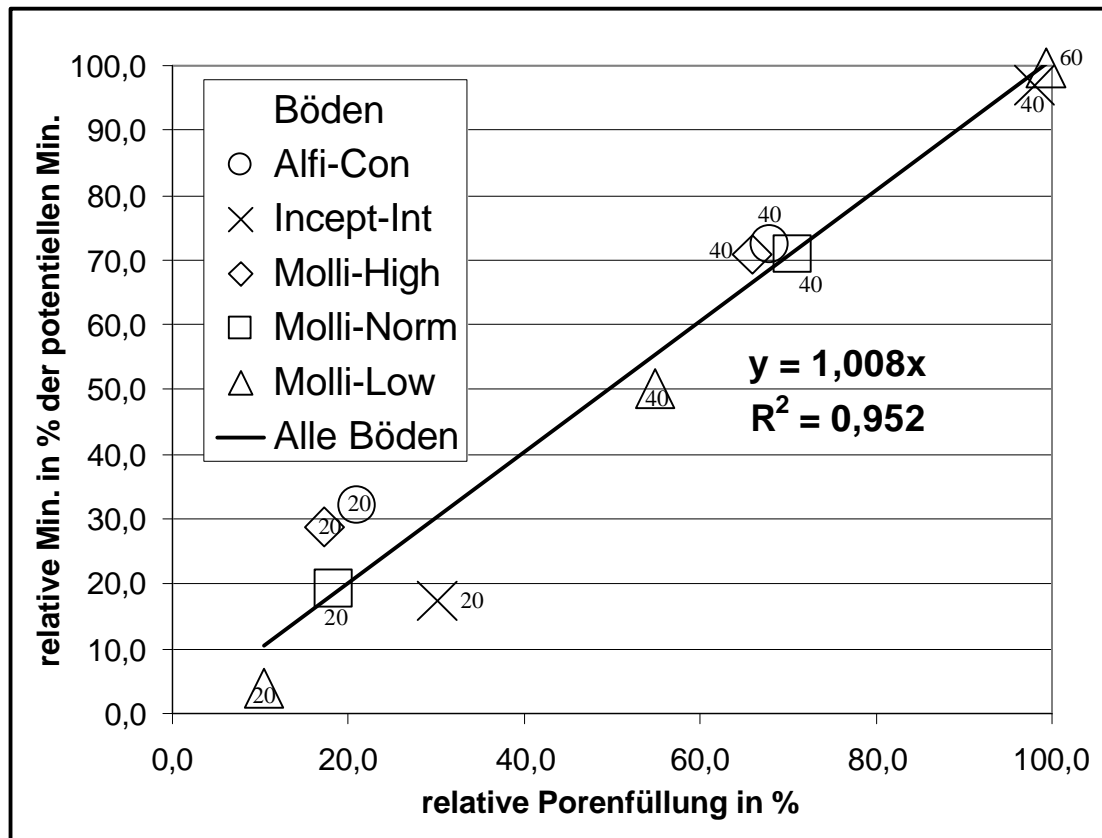


Abbildung 5.12: Zusammenhang zwischen relativer Wasserfüllung der Poren und relativer Mineralisierung von ^{14}C -Benazolin-Ethyl in den Böden Alfi-Con, Incept-Int, Molli-High, Molli-Norm und Molli-Low inkubiert bei Wassergehalten von $pF = 2,17$; Zahlen sind untersuchte Bodenfeuchten in % WHK max.

Diese Ergebnisse machen deutlich, dass die anfangs angenommene Vergleichbarkeit der Böden bei gleicher Wasserhaltekapazität nicht gegeben war. So zeigt etwa Tabelle 5.2, dass bei 40 % Wasserhaltekapazität die Böden Alfi-Con, Molli-High und Molli-Norm zwar eine vergleichbare Porenfüllung (65,9-70,5 %) und damit auch relativ gesehen eine vergleichbare Mineralisierung (70,7-72,4 %) aufwiesen, der Boden Incept-Int jedoch deutlich über- (98 % Porenfüllung) und der Boden Molli-Low leicht unterbewertet (54,9 % Porenfüllung) wurde.

Tabelle 5.2: Potentielle Mineralisierung (bei $pF = 2,17$ entspricht 100 %), Mineralisierung bei 40 % WHK (in absoluten % des applizierten ^{14}C) und relative Mineralisierung von ^{14}C -Benazolin-Ethyl (als relativer Prozentanteil der potentiellen Mineralisierung), sowie pF -Wert und relative Porenfüllung bei 40 % WHK der Böden Incept-Int, Alfi-Con, Molli-High, Molli-Norm und Molli-Low

| | pF-Wert | Potentielle Mineralisierung | Gemessene Mineralisierung | relative Mineralisierung | Gefüllter Porenanteil |
|------------|--------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------|-----------------------|
| | bei 40 % WHK | bei $pF = 2,17$ | bei 40 % WHK | bei 40 % WHK | bei 40 % WHK |
| | | in % des appl. ^{14}C | in % des appl. ^{14}C | in % der pot. Min. | in relativen % |
| Incept-Int | 2,2 | 12,43 | 12,04 | 96,9 | 98,0 |
| Alfi-Con | 2,6 | 7,96 | 5,76 | 72,4 | 67,9 |
| Molli-High | 3,0 | 9,74 | 6,89 | 70,7 | 65,9 |
| Molli-Norm | 3,0 | 7,09 | 5,03 | 71,0 | 70,5 |
| Molli-Low | 3,5 | 3,03 | 1,51 | 49,9 | 54,9 |

Es ergibt sich als entscheidende Erkenntnis, dass Böden nur bei gleicher Wasserspannung vergleichbar sind, nicht jedoch bei gleichem gravimetrischem Wassergehalt oder bei gleicher Wasserhaltekapazität. Bodenfachleute haben diese Erkenntnis schon länger, jedoch wurde keine Untersuchung dieser Abhängigkeit im Zusammenhang mit Chemikalienabbau gefunden.

5.2.4 Weitere Bodenfaktoren als Indikatoren für den Abbau von Benazolin-Ethyl

Bodeneigenschaften, wie etwa Tongehalt, pH-Wert, Kationenaustauschkapazität oder Bodenfeuchte, sowie Quantität und Qualität der organischen Substanz können laut HURLE & WALKER (1980), GIANFREDA et al. (1996), VEREEKEN et al. (1996) die Verfügbarkeit und den Abbau von Chemikalien beeinflussen. In der vorliegenden Arbeit konnte jedoch kein derartiger Zusammenhang zwischen potentieller Mineralisierung von Benazolin-Ethyl und diesen Indikatoren festgestellt werden: Ton ($r^2 = 0,0016$), Kationenaustauschkapazität ($r^2 = 0,0312$), pH-Wert in CaCl_2 ($r^2 = 0,0032$), organischer Kohlenstoff ($r^2 = 0,0197$) und C/N-Verhältnis ($r^2 = 0,6065$). Eine wirkliche Korrelation lässt sich nur zwischen der Mineralisierung und dem Ammonium-N (Abbildung 5.13), sowie der mikrobiellen Biomasse (Abbildung 5.14) errechnen. Die fehlende Korrelation zur Menge an organischem C erklären CAVALLI et al. (1996) und HURLE & WALKER (1980) damit, dass bei höherem Gehalt an organischer Substanz sowohl die Adsorption, als auch die mikrobielle Aktivität zunehmen. Wie gezeigt ist auch die Qualität der organischen Substanz entscheidend, was durch die Korrelationen mit C/N und Ammonium untermauert wird.

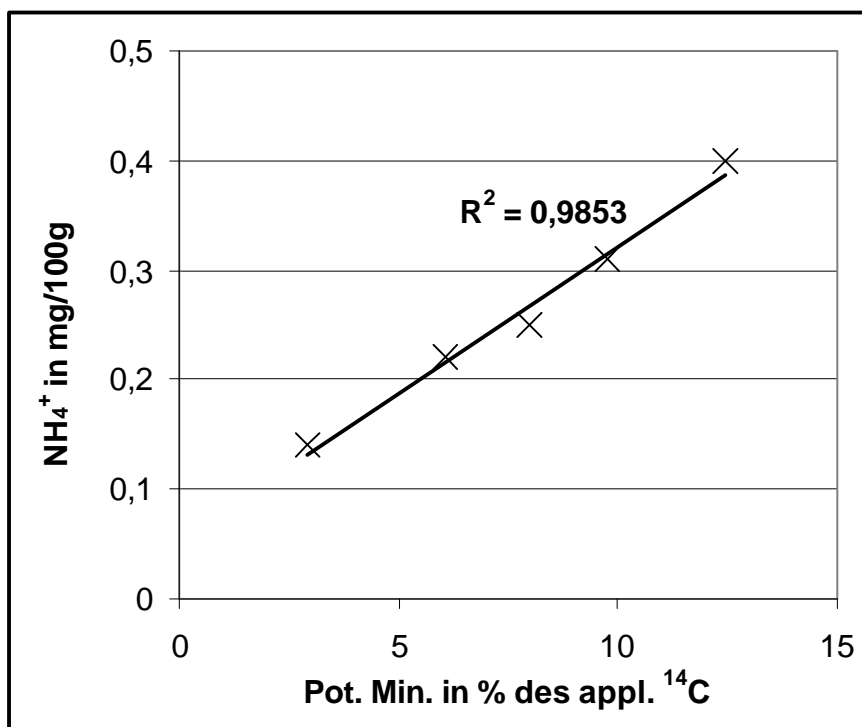


Abbildung 5.13: Korrelationen zwischen der potentiellen Mineralisierung von ¹⁴C-Benazolin-Ethyl und Ammoniumstickstoff in den Böden Alfi-Con, Incept-Int, Molli-High, Molli-Norm und Molli-Low

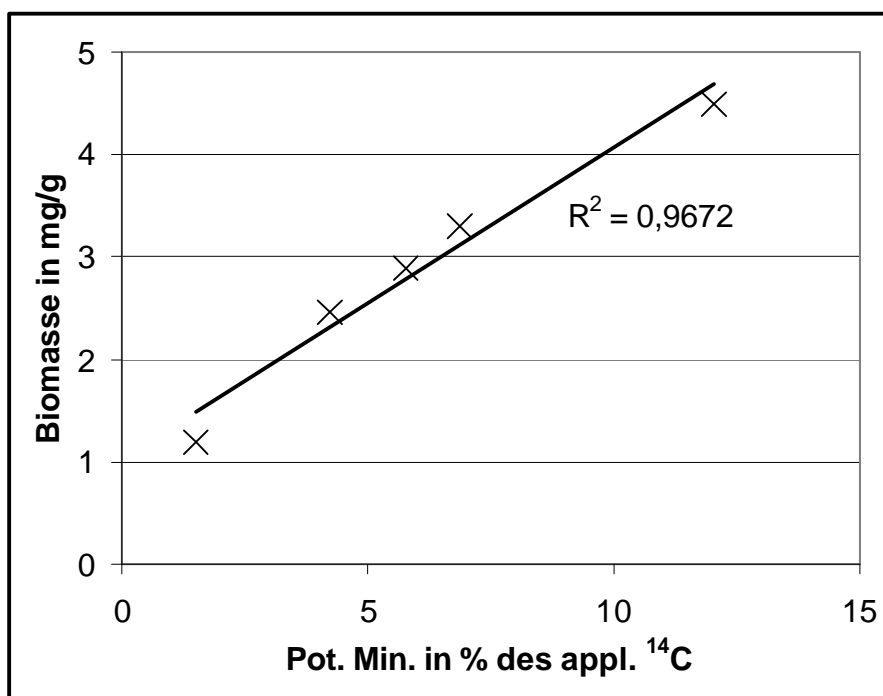


Abbildung 5.14: Korrelationen zwischen der potentiellen Mineralisierung von ¹⁴C-Benazolin-Ethyl (in % des applizierten ¹⁴C) und Biomasse (in mg/g) in den Böden Alfi-Con, Incept-Int, Molli-High, Molli-Norm und Molli-Low

Ein Einfluss von DOM auf den Abbau von Benazolin-Ethyl konnte in dieser Arbeit nicht festgestellt werden, was auch mit den Ergebnissen von BECK & JONES (1996) für Atrazin und Isoproturon, sowie von SPARK & SWIFT (2002) für Atrazin, Isoproturon und Paraquat übereinstimmt, die keinen Einfluss von DOM auf die Fremdstoffverfügbarkeit feststellen konnten.

Das besonders hohe Abbaupotential des Bodens Incept-Int lässt sich möglicherweise durch die integrierte Bewirtschaftung erklären. Durch das Grubbern statt Pflügen entwickelt sich ein weniger gestörtes Profil mit einer höheren Bioaktivität im Oberboden (höchste Biomasse trotz recht geringem C org.), was auch Ergebnisse von CAVALLI et al. (1996) und LARINK (1999) bestätigen. GIUPPONI et al. (1996) finden für mehrere Pestizide bei unterschiedlicher Bodenbearbeitung auch immer bei integrierter Bewirtschaftung den höchsten Chemikalienabbau im Vergleich zu konventioneller Landwirtschaft.

5.2.5 Einfluss der Bodendichte auf den Abbau von Benazolin-Ethyl

In der Literatur gibt es bezüglich des Einflusses der Bodendichte auf den Abbau von Fremdstoffen unterschiedliche Aussagen. So finden GATTINGER et al. (2002) eine Erhöhung der Biomasse bei Verdichtung, während KAISER (1992) zum gegenteiligen Ergebnis kommt. Dies könnte zum einen wie von GATTINGER et al. (2002) angenommen an den unterschiedlichen Methoden liegen mit denen die Biomasse bestimmt wurde, oder aber an unterschiedlichen Bodencharakteristiken, insbesondere Bodenstrukturen und -feuchten. So wurde hier gezeigt, dass der Boden Incept-Int bei verschiedenen Bodenfeuchten unterschiedlich auf eine zunehmende Bodendichte reagiert: Bei 40 % WHK nahm die Mineralisierung von Benazolin-Ethyl bei höherer Dichte zu (von 2,7 % bei 1 g*cm⁻³ auf 3,3

% bei $1,4 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$) während dieser bei 60 % WHK abnahm (von 3,1 % bei $1 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$ auf 2,4 % bei $1,4 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$, Kapitel 3.6, Seite 72). Da wie in Kapitel 5.2.4 (Seite 127) gezeigt der Abbau direkt mit der Biomasse korreliert, würde die Biomasse auf die gleiche Weise zu bzw. abnehmen wie der Abbau.

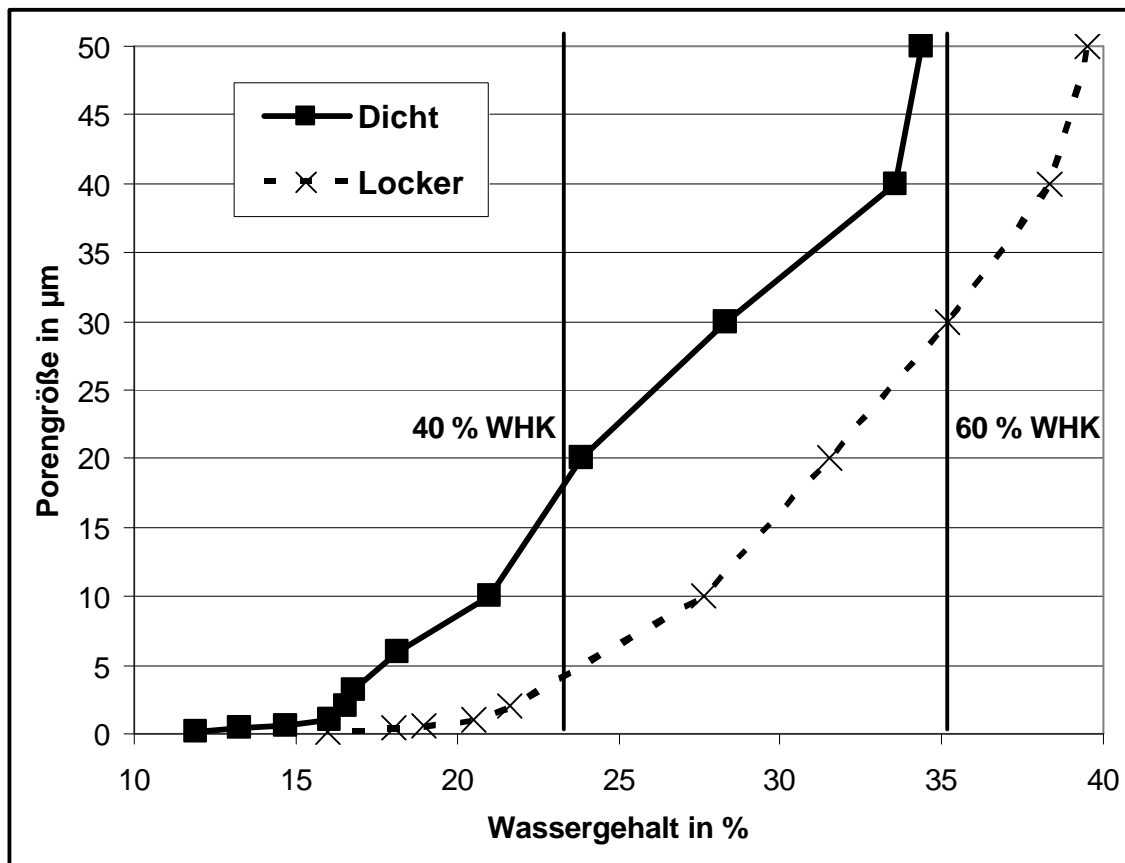


Abbildung 5.15: Darstellung der gefüllten Porengröße bei entsprechendem Wassergehalt im Boden Incept-Int bei dichter ($1,4 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$) und lockerer ($1,0 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$) Lagerung. Mit eingezeichnet ist der Wassergehalt bei 40 % und 60 % WHK.

Mit ausschlaggebend ist die unterschiedliche Porenverteilung: Vergleicht man die pF-Wg-Kurven bei unterschiedlicher Lagerungsdichte (Abbildung 5.15), erkennt man, dass bei gleichem Wassergehalt die gefüllte Porengröße bei geringerer Lagerungsdichte (locker) deutlich niedriger ist als bei Höherer. Bei 40 % WHK wird durch eine Verdichtung fast der gesamte Porenraum bis 20 µm (entspricht $pF = 2,17$) gefüllt, also nahezu die potentielle Mineralisierung erreicht. Zugleich waren beim lockeren Material die Poren nur bis knapp unter 5 µm gefüllt, also deutlich unter der potentiellen Mineralisierung.

Bei 60 % WHK ergibt sich ein ganz anderes Bild: Die Porenfüllung für die potentielle Mineralisierung (20 µm) ist bei beiden Lagerungsdichten bereits überschritten, es kommt also zu einer Verringerung der mikrobiellen Aktivität und somit der Biomasse durch Sauerstoffmangel. Dies ist bei höherer Dichte deutlich stärker ausgeprägt.

5.3 Mikrobiologische Indikatoren für das Abbauverhalten von Benazolin-Ethyl in Böden

5.3.1 Nachweis des biotischen Abbaus von Benazolin-Ethyl am Boden Incept-Int

Der Einfluss möglicher abiotischer Faktoren auf den Total-Abbau von Benazolin-Ethyl wurde exemplarisch am Boden Incept-Int bei einem Wassergehalt von 40 % WHK untersucht.

Es konnte kein abiotischer Abbau von ^{14}C -Benazolin-Ethyl im Boden Incept-Int gemessen werden. Lediglich wäre die Photolyse nicht ganz auszuschließen, da die Versuche im Dunkeln durchgeführt wurden. Die Veränderungen des Bodens durch das Autoklavieren, wie etwa Erhöhung des Gehaltes an DOM und Absenkung des pH-Wertes (SHAW et al. 1999), müssten einen chemischen Abbau eher noch fördern, da dadurch die Chemikalienlöslichkeit und die H^+ -Ionen Konzentration im Boden erhöht wurden.

5.3.2 Förderung des Abbaus von Benazolin-Ethyl durch Strohzugabe in Böden

Eine Zugabe von leicht verfügbarer organischer Substanz, wie etwa Stroh, beeinflusst den Abbau von Xenobiotika auf vielfältige Weise. Zum einen wird, wie GIUPPONI et al. (1996) und Houot et al. (1998) feststellten, die Adsorption erhöht, zum anderen wiesen MAMILOV & DILLY (2002) eine erhöhte Atmungsrate und Zunahme der Biomasse nach. Eine deutlich erhöhte Atmungsrate in der Anfangsphase nach Strohzugabe wurde auch bei allen hier zugrunde liegenden Versuchen festgestellt; die Mineralisierungsrate bei Strohzugabe war jedoch in den ersten drei Wochen immer unterhalb der Kontrolle. Demnach wurde zuerst das leichter verfügbare Stroh umgesetzt und dann erst vermehrt das Herbizid. Die von MAMILOV & DILLY (2002) gezeigte Erhöhung der Biomasse zwei bis drei Wochen nach der Strohzugabe war sicherlich ausschlaggebend für die Zunahme der Abbaurate in den Versuchsböden. Daher kommt es bei den meisten Böden nach längerer Versuchszeit zu einer Erhöhung der Mineralisierung von ^{14}C -Benazolin-Ethyl durch Strohzugabe. In den Böden Incept-Int, Alfi-Con und Molli-High kam es durch Strohzugabe insgesamt zu einer Erhöhung der Mineralisierung und der Bildung gebundener Rückstände, was in ähnlicher Weise auch FÜHR et al. (1996) für Methabenzthiazuron feststellten.

Lediglich in den Böden Molli-Norm und Molli-Low war bei 60 % WHK die Mineralisierung bei Strohzugabe deutlich geringer als in der Kontrolle. Dies sind die Böden mit der höchsten Adsorption von Benazolin und der geringsten Biomasse. Während der Boden Molli-Norm jedoch nach 50 Tagen noch eine deutliche Zunahme der Abbaurate verzeichnete ging der Abbau im Boden Molli-Low in der siebten Woche bereits wieder zurück (Abbildung 3.14, Seite 64); in diesem Fall kann die gesteigerte Biomasse die verstärkte Adsorption nicht kompensieren.

5.4 Erkenntnisse zum Verhalten von Benazolin in Böden

- Die Aufnahme in Mikroorganismen und der mikrobielle Abbau von Benazolinsäure sind die maßgebenden Vorgänge bei der Degradation von Benazolin in Böden.
- Bei der Modellierung des K_d -Wertes für Benazolinsäure, dem eine zentrale Bedeutung bei der Verlagerung der Chemikalie zukommt, muss neben der Quantität auch die Qualität der organischen Substanz berücksichtigt werden.
- Der in dieser Arbeit entwickelte in-situ-Verteilungskoeffizient (IPC) kann als Indikator für den Abbau von Benazolin-Ethyl herangezogen werden. Wenn sich dies in weiteren Experimenten auch für andere Chemikalien bestätigt, kann auf schnelle und kostengünstige Weise das Abbauverhalten dieser Substanzen in Böden prognostiziert werden.
- Um Böden bezüglich des Benazolinabbaus wirklich miteinander vergleichen zu können, müssen sie bei gleicher Wasserspannung untersucht werden und nicht bei gleicher Wasserhaltekapazität oder gleichem gravimetrischem Wassergehalt. Diese Erkenntnis wurde jedoch erst im Laufe dieser Arbeit gewonnen. Die meisten Versuche wurden hier bei gleichem Anteil an der Wasserhaltekapazität durchgeführt, da dies bei Projektbeginn von allen Projektteilnehmern des HGF-Projektes beschlossen wurde.
- Weitere Indikatoren für die Mineralisierung von Benazolin-Ethyl sind Ammoniumstickstoff und die mikrobielle Biomasse.
- Durch Strohzugabe bei 40 % WHK konnte die Mineralisierung in allen untersuchten Böden gesteigert werden.

6 Diskussion zu einer Steuerung des Abbaus von Benzo(a)pyren

Ziel dieser Arbeit war es hier durch Beeinflussung mikrobiologischer Faktoren den Abbau von Benzo(a)pyren (BaP) zu fördern. Im Gegensatz zu Benazolin treten bei BaP die bodenphysikalischen Indikatoren, wie etwa Kd-Wert und IPC in den Hintergrund. Wegen der sehr geringen Löslichkeit der Chemikalie können sie nicht bestimmt werden. Entscheidend ist hier die Zusammensetzung der mikrobiellen Gemeinschaft der Böden, insbesondere die Existenz von Organismengruppen, die BaP abbauen können. Dies war auch der entscheidende Ansatzpunkt für die Steuerung des BaP-Abbaus.

Für eine toxikologische Bewertung ist neben dem Totalabbau auch die karzinogene Gefahr, die von den entstandenen Metaboliten ausgeht, von Bedeutung; karzinogene und präkarzinogene Abbauprodukte sollen hier klar von ungefährlicheren Abbauprodukten unterschieden werden.

Auch hier muss eine Vergleichbarkeit der Böden bezüglich des Wassergehaltes gegeben sein um einen wirklichen Vergleich zu gewährleisten.

Bei der Steuerung sollte möglichst langfristig die Abbaurate für Benzo(a)pyren gesteigert werden, um so auf lange Sicht das Verhältnis Mineralisierung zu Deposition zu Gunsten der Mineralisierung zu verschieben. Hierzu war eine nachhaltige Veränderung der mikrobiellen Gemeinschaft notwendig.

6.1 Toxikologische Bewertung der Metabolite

Für die Bewertung der Rückstände ist entscheidend ob es sich bei diesen noch um Präkarzinogene handelt oder nicht. Nach den Ausführungen in Kapitel 2.2.2 (Seite 13), können als solche alle Metabolite gelten, aus denen auf direktem Weg das 7,8-dihydroxy-9,10-epoxy-7,8,9,10-tetrahydro-BaP entstehen kann, das eigentliche Karzinogen (EFFERTH 2001, KOZACK et al. 2000 und PERLOW & PROYDE 2002). Zu diesen müssen die Monohydroxide 7-, 8-, 9- und 10-Monohydroxy-BaP, die BaP-7,8- und BaP-9,10-dihydrodiol, sowie deren Expoxide gezählt werden. Alle anderen Monohydroxy-BaP und Dihydrodiol können nicht mehr als direkte Präkarzinogene gelten. Daher muss bei der Bewertung der Chromatogramme zwischen Präkarzinogenen und nicht Präkarzinogenen unterschieden werden.

Die Ergebnisse der MS-Spektren in Kapitel 4.1 (Seite 80) werden auch von den Darstellungen bei CLARK (1987) bestätigt: Das Massenspektrum von Benzo(a)pyren hat den Hauptpeak bei der Masse 252, Monohydroxy BaP hat einen Hauptpeak bei 268 und Dihydrodiol bei den Massen 268 und 286.

Zu den in dieser Arbeit vorliegenden bzw. identifizierten Metaboliten konnte somit folgende Unterscheidung getroffen werden:

- Präkarzinogene Metabolite: 7-OH- und 9-OH-BaP, BaP-7,8- und BaP-9,10-Dihydrodiol, sowie BaP selbst
- Metabolite ohne karzinogene bzw. präkarzinogene Bedeutung: 3-OH-BaP, BaP-4,5-Dihydrodiol, Unbek. A (da es sich um ein Gemisch handelt, das keine Benzo(a)pyren-Masse aufweist) und Unbek. C (da es sich um ein nicht präkarzinogenes BaP-Dihydrodiol handelt).

6.2 Der Abbau von Benzo(a)pyren in Böden beeinflusst durch bodenphysikalische Faktoren

Aufgrund der geringen Löslichkeit von Benzo(a)pyren war eine Bestimmung des K_d -Wertes genauso wenig durchführbar, wie die des in-situ-Verteilungskoeffizienten (IPC).

Zur Überprüfung der Theorie zur relativen Porenfüllung (siehe Kapitel 5.2.3, Seite 122) konnten nur die Werte für den Boden Alfi-Con herangezogen werden: Es war der einzige Boden der zwei Wertepaare bei einer Wasserspannung von über $pF = 2,17$ aufwies und somit der einzige Boden für den die potentielle Mineralisierung berechnet werden konnte. Die Einbindung dieser Werte in die Grafik (Abbildung 6.1) ergab, dass zwar die Mineralisierung von BaP etwas unterschätzt wurde, jedoch das Prinzip als solches auch für den Abbau von BaP im Boden Alfi-Con gültig ist. Um den Abbau von BaP (genau wie von Benazolin) in verschiedenen Böden direkt vergleichen zu können, müssen also die Abbauversuche bei identischen Bodenwasserspannungen durchgeführt werden.

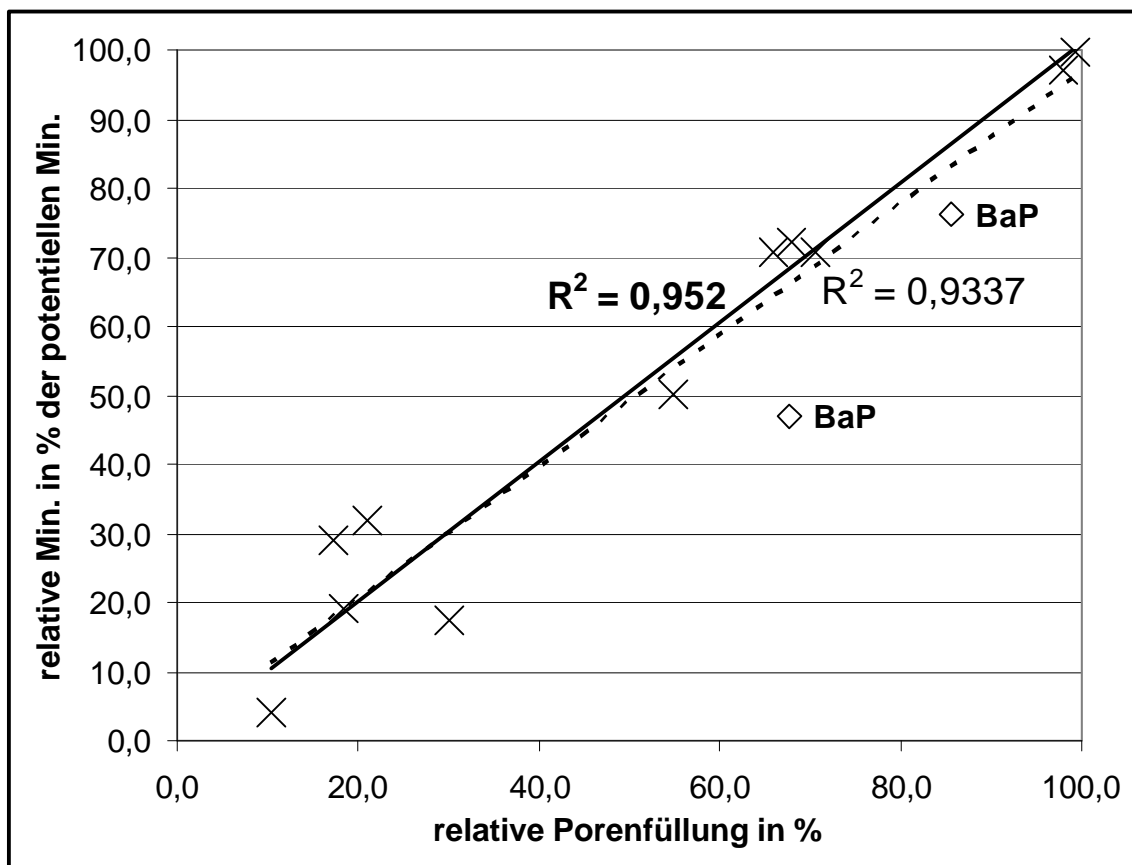


Abbildung 6.1: Zusammenhang zwischen relativer Wasserfüllung der Poren und relativer Mineralisierung von ^{14}C -Benazolin-Ethyl in den Böden Alfi-Con, Incept-Int, Molli-High, Molli-Norm und Molli-Low inkubiert bei Wassergehalten von $pF = 2,17$, sowie von ^{14}C -Benzo(a)pyren (BaP) im Boden Alfi-Con.

Der Versuch die Verfügbarkeit und damit den Abbau von BaP mit Hilfe eines leicht zugänglichen Tensids (Pril) zu erhöhen hatte keinen Erfolg, zumal die Mineralisierung im

Boden Alfi-Con wie gezeigt (Kapitel 4.4, Seite 89) gleich blieb (bei 40 % WHK 1,8 % ohne und 1,9 % mit Tensid) oder sogar leicht zurückging (bei 60 % WHK 2,0 % ohne und 1,6 % mit Tensid). Während einige Autoren mittels Tensiden einen höheren Abbau von BaP erreichten (KOTTERMAN et al. 1998a, OU 2000, SOBISCH et al. 2000 und TIEHM et al. 1997), kamen andere zu keinem positiven Ergebnis (YE et al. 1996). YE et al. (1996) untersuchten Bakterien, während es bei den anderen Autoren Weißfäulepilze waren. Dies deutet darauf hin, dass auch bei den hier untersuchten Böden der BaP-Abbau im Wesentlichen durch Bakterien erfolgen könnte.

In den Böden mit dem engsten C/N-Verhältnis, Incept-Int (9,5) und Alfi-Con (9,7), ist ein höherer Abbau zu verzeichnen als in den Mollisolen. Dies spricht gegen einen Abbau durch Weißfäulepilze und deren Peroxidasen in den untersuchten Böden, wie ihn LEISCHNER et al. (1995) beschreiben. Laut BOYLE et al. (1998) hemmt Stickstoff den Ligninabbau.

Der höhere Anteil an mit Kalziumchlorid extrahierbarem ^{14}C bei Böden mit höherer Mineralisierung belegt nicht eine höhere Löslichkeit von BaP in diesen Böden, sondern beruht auf dem Vorhandensein löslicher Abbau- bzw. Umbauprodukte (Kapitel 4.2.2, Seite 83). So ist das mit CaCl_2 extrahierbare ^{14}C im Boden High-Cont (0,90 % des applizierten ^{14}C) etwa doppelt so hoch wie im Boden Alfi-Con (0,49 %), die Mineralisierung jedoch mehr als 8mal so hoch (16,27 % im Vergleich zu 1,88%).

Der besonders gute Abbau von BaP im Boden High-Cont kann also nicht auf eine bessere Löslichkeit der Chemikalie in diesem Boden zurückgeführt werden, sondern auf das Vorhandensein einer mikrobiellen Gemeinschaft, die das BaP verstärkt abbaut. Daher wird die Etablierung dieser mikrobiellen Gemeinschaft in anderen Böden (Alfi-Con, Incept-Int und Rego-Norm, siehe Kapitel 4.4, Seite 89) mit Hilfe eines Bodeninokulums zu einer deutlichen Steigerung der Mineralisierung führen, ohne die physikochemischen Eigenschaften dieser Böden verändert zu haben.

6.3 Bewertung der Methoden zur Steuerung des Abbaus von Benzo(a)pyren in Böden

Für die Steuerung des Abbaus von Benzo(a)pyren und anderen Polyaromatischen Kohlenwasserstoffen (PAKs) wurde bereits eine Vielzahl von erfolgreichen Methoden entwickelt, die man grob in 4 Gruppen unterteilen kann:

- Zugabe von Chemikalien oder Einwirkung physikalischer Kräfte: Ozonbegasung (EBERIUS et al. 1997 und OTTINGER et al. 1999), Tenside (OU 2000, SOBISCH et al. 2000 und TIEHM et al. 1997), Mikrowellenenergie (ABRAMOVITCH et al. 1999).
- Zugabe von einzelnen Mikroorganismen oder -konsortien: verschiedene Bakterien (KANALY & HARAYAMA 2000), Bakterienkonsortien (SMITH et al. 1997), Bakterien, Pilze und Algen (JUHASZ & NAIDU 2000), Weissfäulepilzen (BOYLE et al. 1998, FIELD et al. 1992)
- Zugabe von Enzymen: Manganperoxidase (SACK et al. 1997), Laktasen (BOLLAG 1992), Ligninasen (HAEMMERLI et al. 1986).
- Zugabe von anderen Organismen: Borstenwürmer in Flusssedimenten (DRISCOLL & MCELROY (1997), Regenwürmer im Boden (SAINT-DENIS et al. 1999)
- Anwendung von zwei oder mehr dieser Methoden:

Einige dieser Methoden sind nicht geeignet für die großflächige Anwendung auf Agrarböden, entweder aus ökologischen Gründen (die untersuchten Borstenwürmer sind Flussbewohner, eine großflächige Ozonbegasung kommt bereits aus Umweltschutzgründen nicht in Frage) oder aus wirtschaftlichen Erwägungen (Ozonbegasung, Mikrowellen, Zugabe von Enzymen).

Ein weiterer entscheidender Gesichtspunkt all der vorgestellten Methoden ist, dass sie bisher auf Altlasten oder anderen hoch kontaminierten Substraten ($\gg 20 \mu\text{g PAH pro g Boden}$) getestet wurden. Die große Herausforderung dieser Arbeit jedoch war Agrarböden, mit einer Kontamination unterhalb der Grenzwerte ($0,5 - 12 \mu\text{g PAH pro g Boden}$), so zu steuern, dass das BaP auf lange Sicht abgereichert und nicht, wie derzeit häufig, angereichert wird. In Tabelle 6.1 sind BaP-Gehalte in Böden und in Tabelle 6.2 die Ablagerung aus der Luft auf Böden dargestellt. Es zeigte sich, dass die in dieser Arbeit verwendete Konzentration von $0,24 \mu\text{g BaP pro Gramm Boden}$ recht gut einem mäßig stark belasteten Ackerboden in deutschen Ballungsräumen entspricht (KNOCHE 1996 und WILKE 1996). Für die Steuerung wäre ein Abbau von mehr als $10 \text{ ng pro g Boden im Jahr}$ (entspricht $1400 \text{ mg} \cdot \text{a}^{-1} \cdot \text{ha}^{-1}$) ideal, weil dann alle gemessenen Depositionsraten übertroffen würden (Tabelle 6.2) und dies zu einer langfristigen Abreicherung in diesen Böden führen würde. Eine Mineralisierung von 1 % in 90 Tagen entspricht $2,4 \text{ ng BaP}$ (1 % von $0,24 \mu\text{g appliziertem } ^{14}\text{C-BaP pro g Boden}$). Geht man etwa von einer doppelt so langen geschätzten Vegetationsperiode (April-September laut Umweltlexikon online 2003, Monatsmitteltemperatur $> 10 \text{ }^\circ\text{C}$) aus, dann kann mit etwa ab 2,1 % Abbau in 90 Tagen der angestrebte Wert erreicht werden ($2,4 \text{ ng} \cdot \%^{-1} \cdot 2,1 \% \cdot 180 \text{ Tage} \cdot (90 \text{ Tage})^{-1} = 10,1 \text{ ng}$). Somit wäre das Steuerungsziel einer Abreicherung in den Böden ab einer Mineralisierung von etwa 2,1 % im Bioabbaubersuch von 90 Tagen erreicht.

Eine weitere entscheidende Größe ist die biologische Halbwertszeit der Substanz (dt_{50}). Insbesondere wenn durch die Steuerungsmethode (z.B. Bodeninokulum) zusätzliches BaP dem Boden zugeführt wird, muss die dt_{50} für den gesamten BaP-Gehalt herangezogen werden.

Tabelle 6.1: Zusammenstellung von Gehalten an Benzo(a)pyren in Böden unterschiedlicher Herkunft (Ort) und Zeiten (Wann?). Minimum- und Maximum- Angaben verschiedener Quellen.

| Quelle | Ort | Wann? | Minimum | Maximum |
|-----------------------|---------------------|---------------|---------|---------|
| | | | µg/ kg | µg/ kg |
| JONES et al. 1989a | UK | 1893 bis 1986 | 1,5 | 85 |
| JONES et al. 1989b | UK | 1846 bis 1986 | 18 | 120 |
| KNOCHE 1996 | Polarkreis | 1996 | 0,8 | 4,3 |
| KNOCHE 1996 | Berlin | 1993 | 3,9 | 605,2 |
| KNOCHE 1996 | Nordrheinwestfalen | 1993 | 0,01 | 1,19 |
| KNOCHE 1996 | Klärschlamm Boden | 1993 | 0,048 | 0,588 |
| OEHMICHEN & HEER 1996 | Klärschlamm | | 150 | 340 |
| WILKE 1996 | Acker (unbel.) | | 10 | 90 |
| WILKE 1996 | Wald (unbel.) | | 70 | |
| WILKE 1996 | Acker Ballungsraum | | 70 | 500 |
| WILKE 1996 | Garten Ballungsraum | | 280 | 1630 |
| WILKE 1996 | Straßenrand | | 180 | 1170 |
| WILKE 1996 | Kokereistandort | | | 1000000 |
| BUTLER et al. 1984 | UK (0-4 cm) | 1984 | 165 | 3196 |
| EDWARDS 1983 | Allgemein | endogen | 1 | 10 |
| EDWARDS 1983 | Allgemein | Eingetragen | 1000 | 100000 |

Tabelle 6.2: Zusammenstellung von Deposition an Benzo(a)pyren auf Böden unterschiedlicher Herkunft (Ort) und Zeiten (Wann?). Minimum- und Maximum- Angaben verschiedener Quellen.

| Quelle | Ort | Wann? | Minimum | | Maximum | |
|---------------------------|---------------------|-------|--------------------------------------|--|--------------------------------------|--|
| | | | mg*a ⁻¹ *ha ⁻¹ | ng*a ⁻¹ *(50 g) ⁻¹ | mg*a ⁻¹ *ha ⁻¹ | ng*a ⁻¹ *(50 g) ⁻¹ |
| MILUKAITE 1998 | Great Lakes USA | 78-79 | 20 | 7,1428 | 200 | 71,428 |
| MILUKAITE 1998 | D | 80-81 | 22 | 7,85708 | 86 | 30,71404 |
| MILUKAITE 1998 | Schweden (11 PAHs) | 88 | 0,2 | 0,071428 | 0,4 | 0,142856 |
| MILUKAITE 1998 | Schweden | 90er | 18,25 | 6,517805 | 255,5 | 91,24927 |
| MILUKAITE 1998 | Litauen | 73-77 | 48 | 17,14272 | 612 | 218,56968 |
| VAN JAARSVELD et al. 1997 | Europa (gemessen) | 1996 | 24 | 8,57136 | 1350 | 482,139 |
| VAN JAARSVELD et al. 1997 | Europa (modelliert) | 1996 | 100 | 35,714 | 5000 | 1785,7 |

Als vorrangiges Ziel einer Steuerung sollte sicherlich die Mineralisierung, also der Totalabbau des BaPs, angestrebt werden. Als sekundäres Ziel kann jedoch auch die Bildung nicht (prä)karzinogener Metabolite gelten, da es ja in erster Linie um die Abwendung des Krebsrisikos für den Menschen geht. Als nicht zulässiges Ziel wird hier im Gegensatz zu anderen Autoren (LAUNEN et al. 2000, BOLLAG 1992) die Bildung nicht extrahierbarer Rückstände erachtet: So zeigten ESCHENBACH et al. (1998), dass momentan nicht extrahierbare Rückstände von BaP wieder mobilisiert werden können, wobei jedoch nicht deutlich wurde, ob es sich hierbei noch teilweise um BaP handelte oder nur um Abbauprodukte. LAUNEN et al. (2000) zeigten, dass ein Pilz aus Pyren 1,6- und 1,8-Quinone bildet, die dann infolge kovalenter Bindungen mit der organischen Substanz nicht mehr extrahierbar sind; diese Quinone könnten jedoch wieder frei gesetzt werden beim Abbau der organischen Substanz. Quinone können auch beim Abbau von BaP entstehen (JUHASZ & NAIDU 2000) und durch kovalente Bindung ebenfalls nicht mehr extrahierbar sein.

Diese könnten als nicht karzinogene Metabolite positiv gewertet werden. Jedoch können die BaP-Quinone kaum mehr von ebenfalls entstehenden (prä)karzinogenen Epoxiden unterschieden werden: Beide können aufgrund ihrer Polarität kovalente Bindungen eingehen und somit in den nur sehr schwer analysierbaren Pool der nicht extrahierbaren Rückstände eingehen.

KÄCKER (2000) zeigte zusätzlich, dass durch gezielte Zerstörung von Ester- und Ether-Bindungen zuvor nicht extrahierbare Metabolite von ^{13}C -Phenanthren wieder freigesetzt werden konnten. Derartige Bindungen können aber auf lange Sicht, etwa durch den Abbau der organischen Substanz, auch im Boden selbst zerstört werden und das PAK wieder freisetzen. Prozesse, die Umweltchemikalien ohne Abbau mit der Zeit im Boden festlegen und damit nicht extrahierbar machen, werden unter dem Begriff „Alterung“ („Ageing“) zusammengefasst. Diese Prozesse haben bei sehr persistenten Chemikalien, wie dem BaP eine hohe Bedeutung. Der Einschluss der Chemikalie in die Poren komplexer organischer Verbindungen („Entrapment within humic complexes“) ist hierbei der dominierende Prozess für unpolare organische Verbindungen wie BaP (Abbildung 6.2). Dieser Einschluss kann jedoch bei Um- oder Abbau der organischen Substanz wieder rückgängig gemacht werden und so langfristig eine Gefährdung bedeuten.

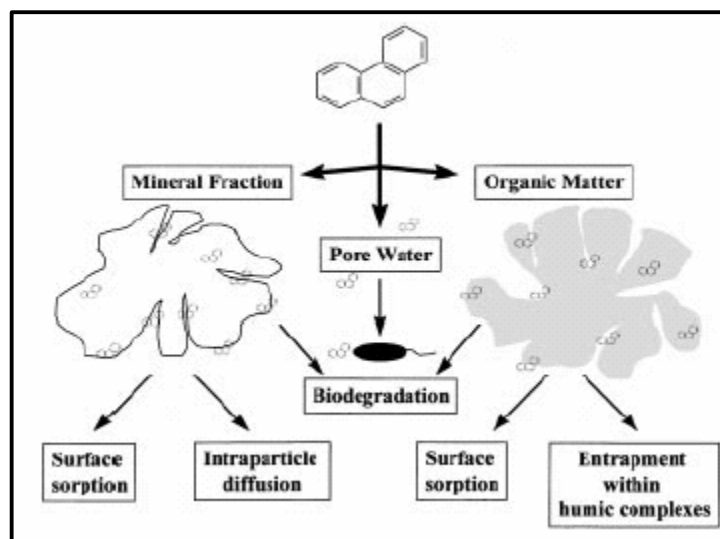


Abbildung 6.2: Zusammenfassung der Prozesse des Alterns („Ageing“) von organischen Kontaminanten im Boden (REID et al. 2000).

6.4 Bewertung der Steuerung des Abbaus von Benzo(a)pyren mit mikrobiologische Methoden

Die Übertragung BaP abbauender Mikroorganismenkonsortien auf den Zielboden war eine sehr erfolgreiche und nachhaltige Steuerungsmethode zur Steigerung des BaP-Abbaus in den Testböden (Kapitel 4.4 ff.).

Es konnte eindeutig gezeigt werden, dass der Boden High-Cont eine BaP-abbauende Mikroorganismengesellschaft enthielt, die mehr als 10-mal so gut BaP abbauen konnte als die der anderen Böden (16,3 % gegenüber 0,2-1,8 %, siehe Kapitel 4.2, Seite 83). Ein Inokulum dieses Bodens (1% High-Cont) konnte die Mineralisierung im Boden Alfi-Con von 1,8 % auf 6,1 % (bei 40 % WHK) bzw. von 2,9 % auf 10,3 % (bei 60 % WHK) steigern. In den Böden Incept-Int und Rego-Norm kam es ebenfalls zu einer Steigerung des BaP-Abbaus.

Die Nachhaltigkeit dieser Methode konnte gezeigt werden, da selbst nach über 90 Tagen die Mineralisierungsrate im inkubierten Boden deutlich über der Kontrolle lag, also die Bodenfunktion des gesteigerten BaP-Abbaus noch erhalten blieb. Selbst die Alterung der BaP-Rückstände in diesem Zeitraum hatte keinen nennenswerten Einfluss auf die Mineralisierungsraten von BaP.

Da bei dieser Vorgehensweise jedoch mehr BaP dem Boden zugeführt wurde als abgebaut werden konnte war diese Vorgehensweise nicht sinnvoll. Daher wurde versucht über Flüssigkulturen die Mikroorganismengesellschaft zu gewinnen und gleichzeitig das BaP des Bodens High-Cont abzureichern.

Von den getesteten Medien waren das Mineralsalzmedium nach SØRENSEN (2001), das Glukose-Hefe-Medium nach SACK et al. (1997) und das Mineralmedium mit Nickel nach (BASTIAENS et al. 2000) die Erfolg versprechendsten; aber keines war für Dauerkulturen geeignet. Von anfänglich sehr hohen Mineralisierungswerten von 15-26 % in nur 30 Tagen ging die Mineralisierung bei jeder Überimpfung deutlich zurück und blieb nach der 5. Überimpfung zwischen 3 und 5 %. Bei immer geringer werdender BaP-Konzentration, ging auch die Zellzahl immer weiter zurück. Keine der untersuchten zugesetzten C-Quellen (z.B. Glucose, Phenanthren oder Stroh) konnten die Funktion des BaP-Abbaus erhalten.

MACLEOD & SEMPLE (2003) finden Pyrenabbau nur bei hohen Konzentrationen im Boden, nicht jedoch bei niederen. Auch WILSON & JONES (1993) und SEMPLE et al. (2001) schreiben, dass für einen intensiven Abbau eine Mindestkonzentration nötig ist, definieren diese jedoch nicht näher. Eine höhere Zugabe von BaP kam jedoch nicht in Frage, da die Anwendung von Flüssigkulturen eine BaP-Abreicherung bezwecken sollte.

Bei der Übertragung der Medien in Böden erschwert nach WILSON & JONES (1993) die Kompetenz mit den Mikroorganismen des jeweiligen Bodens die Adaptation.

Eine geringere Mineralisierung im Boden im Vergleich zur Flüssigkultur beobachten auch EGGEN & MAJCHERCZYK (1998) für BaP, selbst bei hohen Chemikalienkonzentrationen.

Die in Tabelle 6.3 dargestellten Steuerungsversuche waren alle erfolgreich, da in einer Vegetationsperiode von 180 Tagen mehr als 10 ng BaP pro g Boden abgebaut werden konnten. Alle Kontrollen jedoch lagen deutlich unter diesem „Grenzwert“. Mit anderen Worten: In den gesteuerten Ansätzen kommt es langfristig zu einer Abreicherung von BaP, während in den Kontrollen die Chemikalie angereichert wird.

Eine Steuerung mit dem Bodeninokulum des Bodens Middle-Cont ist sicherlich sinnvoller als die mit dem Inokulum des Bodens High-Cont, da bei gleicher Steigerung des Abbaus weniger zusätzliches BaP dem Boden zugeführt wird, und damit der Zeitpunkt bis zu gleichen BaP-Gehalten in Steuerungsansatz und Kontrolle stark verkürzt wird.

Ob eine Steuerung mit Flüssigkultur B oder mit Boden Middle-Cont sinnvoller ist, muss wohl von Fall zu Fall entschieden werden. Bei Steuerung mit Bodeninokulum Middle-Cont wird zwar eine deutlich höhere Steigerung der Mineralisierung erreicht, jedoch hat die Flüssigkultur B den Vorteil, dass der gleiche BaP-Gehalt, wie in der Kontrolle viel schneller erreicht wird. Weitere Vorteile der Flüssigkultur sind:

- Mit der gleichen Ausgangsmenge an Inokulumsboden kann mit den hier angewendeten Methoden eine viel größere Menge an Zielboden inokuliert werden. Bei der Inokulierung mit Boden kann mit 5 g Inokulumsboden 500 g Zielboden inokuliert werden; bei der Inokulierung mit Flüssigkultur können mit 5 g Inokulumsboden 31250 g Zielboden inokuliert werden (5 g Inokulumsboden in 25 ml Flüssigmedium, davon 1 ml in 25 ml Flüssigmedium überimpft und davon 1 ml in 50 g Boden appliziert ? $50 * 25 * 25 = 31250$). In anderen Worten: 1 t kontaminierten Boden in 5.000 l Flüssigkultur ansetzen, diese 5.000 l auf 125.000 l Flüssigkultur überführen, dann kann man damit auf 4 ha Ackerland den Abbau von BaP auf diese Weise erhöhen.
- Eine Applikation von Flüssigkeit ist im landwirtschaftlichen Management meist einfacher als eine Applikation von Bodenmaterial.
- Durch eine weitere Steigerung der Effektivität der Flüssigkultur und Entwicklung von Methoden mit denen die Restgehalte an BaP (und anderen Polyaromatischen Kohlenwasserstoffen, PAKs) von den aktiven Mikroorganismengemeinschaften abgetrennt werden könnten, wäre eine technische Umsetzung dieser Methode realisierbar.

Tabelle 6.3: Mineralisierung in 180 Tagen (in ng BaP pro g Boden) in Kontrolle und unterschiedlichen Steuerungsversuchen mit Bodeninokulum (High-Cont, bzw. Middle-Cont) und Flüssigkultur B (FK B) und Zeitpunkt gleichen BaP-Gehalts (in Tagen) in Kontrolle und Steuerungsansätzen in den Böden Alfi-Con, Rego-Norm und Incept-Int bei eingestelltem Wassergehalt, sowie im Lysimeterboden Kolluv-Int;

| Boden | Steuerung | Mineralisierung in 180 Tagen (ng*g ⁻¹) | | Zeitpunkt mit gleichem BaP-Gehalt |
|------------------------|-------------|--|-----------|-----------------------------------|
| | | Kontrolle | Steuerung | |
| Alfi-Con (40 % WHK) | High-Cont | 7,6 | 34,6 | 819 |
| Alfi-Con (60 % WHK) | High-Cont | 8 | 60,2 | 423 |
| Rego-Norm (60 % WHK) | High-Cont | 5,2 | 13,4 | 2680 |
| Incept-Int (60 % WHK) | High-Cont | 3,2 | 13,4 | 2156 |
| Incept-Int (60 % WHK) | Middle-Cont | 3,2 | 13,6 | 1675 |
| Incept-Int (40 % WHK) | FK B | 8,1 | 10,2 | 329 |
| Kolluv-Int (Lysimeter) | FK B | 8,4 | 12,3 | 186 |

Die Effektivität dieser Steuerungsmethode konnte auch unter Freilandbedingungen im Lysimeter nachgewiesen werden, wo sogar noch eine bessere Steigerung der Mineralisierung (hochgerechnet auf 180 Tage) erzielt wurde und der Zeitpunkt gleicher BaP-Gehalte nahezu auf eine Vegetationsperiode (186 Tage) reduziert werden konnte.

Bedenkt man, dass zusätzlich durch die Steuerung mit FK B die extrahierbaren präkarzinogenen Substanzen (BaP-7,8-Dihydrodiol und BaP) um weitere 8,1 ng pro g Boden im Vergleich zur Kontrolle zurückgingen (siehe Kapitel 4.7, Seite 98), verbessert sich dieses Ergebnis zusätzlich. Somit ist sowohl kurzfristig (schnelles Erreichen gleicher BaP-Gehalte im Zielboden) als auch langfristig (deutlich höherer Abbau von BaP als Eintragung aus der Luft) diese Steuerungsmethode wohl die sinnvollste.

Aus Sicht des Umweltschutzes ist diese Methode in doppelter Hinsicht sinnvoll:

- Die PAKs aus ausgekofferten Altlasten, wie etwa die Böden High-Cont und Middle-Cont aus dem Entwässerungsgraben des ehemaligen Holzimprägnierwerkes in Bergrheinfeld, können zu einem hohen Prozentsatz abgebaut werden (21-33 % BaP in Flüssigkultur A + 11-12 % in Flüssigkultur B in je 30 Tagen).
- Durch Ausbringung der resultierenden Flüssigkulturen auf Ackerflächen kann dort - wie gezeigt - langfristig der BaP-Abbau so gesteigert werden, dass es zu einer Abreicherung und nicht zu einer Anreicherung dieser karzinogenen Substanz kommt. Dies ist sowohl als Schutz des Menschen vor zusätzlichem Krebsrisiko, als auch für das Schutzgut Boden (Bodenschutzgesetz) sinnvoll.

6.5 Erkenntnisse zum Verhalten von Benzo(a)pyren im Boden

- Für die nachgewiesenen Metabolite konnte klar nach ihrem toxikologischen Gefährdungspotential zwischen (prä)karzinogenen und nicht karzinogenen Metaboliten unterschieden werden.
- Es konnte eine Abhängigkeit des Abbaus von Benzo(a)pyren mit der Wasserspannung im Boden Alfi-Con gezeigt werden.
- Mehrere Indizien lassen annehmen, dass die BaP abbauende Mikroorganismengesellschaften in den untersuchten Bodenmaterialien von Bakterien dominiert sind, eine genauere mikrobiologische Untersuchung war jedoch nicht möglich.
- Die mikrobielle Gemeinschaft im Boden High-Cont war in der Lage BaP intensiv abzubauen.
- Die Übertragung dieser mikrobiellen Gemeinschaft als Bodeninokulum in andere Böden konnte den BaP-Abbau in den Zielböden um ein vielfaches erhöhen, wobei die Abbauraten in allen Böden die europaweit gemessenen Ablagerungsraten von BaP übertrafen (? Abreicherung statt Anreicherung).
- Die mikrobielle Gemeinschaft des Bodens High-Cont konnte in Flüssigkulturen angereichert werden, wo sie BaP ebenfalls intensiv abbauen konnte.
- Die Steuerung mit einer bereits überimpften Flüssigkultur (FK B) im Boden Incept-Int war ebenfalls erfolgreich. Hier konnten die Abbauraten von BaP erhöht und die Zeit die benötigt wird bis in den gesteuerten Ansätzen (höhere Anfangskonzentration) die gleiche BaP-Konzentration herrschte wie in den nicht beimpften Kontrollen herabgesetzt werden.
- In Lysimeterversuchen konnte eine klare Abhängigkeit des BaP-Abbaus von Wassergehalt und Bodentemperatur nachgewiesen werden.
- Die Steuerung mit Flüssigkultur B im Lysimeterboden Kolluv-Int war ebenfalls sehr erfolgreich. Die Abbauraten in den gesteuerten Ansätzen (im Gegensatz zu den Kontrollen) übertrafen die Depositionsraten deutlich und der Zeitpunkt gleicher BaP-Gehalte von gesteuerten Ansätzen und Kontrollen konnte sogar auf etwa eine Vegetationsperiode gesenkt werden.
- Es konnte also gezeigt werden, dass die Übertragung von BaP abbauenden mikrobiellen Gemeinschaften in Agrarböden möglich ist und zu einer nachhaltigen Erhöhung des BaP-Abbaus auch in diesen Böden mit relativ geringer BaP-Konzentration führt. Wenn Flüssigmedien entwickelt werden, die eine effektivere Übertragung der entsprechenden mikrobiellen Gemeinschaft ermöglichen und Methoden entwickelt werden, die die restliche PAK-Kontamination von der mikrobiellen Gemeinschaft trennen können, ist eine wirtschaftliche Nutzung dieser Steuerungsmethode durchaus denkbar.

7 Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war es, den Einfluss bodenphysikalischer und mikrobiologischer Faktoren auf das Abbauverhalten der Modellchemikalien Benazolin-Ethyl und Benzo(a)pyren in Böden zu untersuchen. Aus den gewonnenen Erkenntnissen sollten Indikatoren abgeleitet werden, die das Verhalten der Modellchemikalien im Boden und insbesondere den Totalabbau beschreiben können. Zudem sollten Methoden zur Förderung des in-situ-Abbaus entwickelt werden. Um das Gesamtverhalten der Modellchemikalien in Böden vollständig beschreiben zu können, wurden die Substanzen in einer ^{14}C -markierten Form eingesetzt. Dies ermöglichte die Identifikation und Quantifizierung aller am Chemikalien-Umsatz beteiligten Prozesse: Die Mineralisierung und Volatilität des Wirkstoffs in Böden, die Identifikation seiner Abbauprodukte (= Metabolite) sowie die Bildung nicht extrahierbarer ^{14}C -markierter Rückstände.

Die Arbeit war in das HGF-Projekt „Bodenfunktionen“ eingebunden, an dem Deutschlandweit 5 Forschungszentren beteiligt waren. Im Rahmen dieses Großprojektes wurden, neben den benannten Modellchemikalien, fünf Agrarböden nach unterschiedlichem Management (konventioneller und integrierter Anbau) und unterschiedlicher Qualität der organischen Substanz (u.a. Dauerversuchsflächen mit NPK-Düngung, 10-facher Stallmistdüngung und ohne Düngung) ausgewählt.

Für das Herbizid Benazolin-Ethyl wurde ein bedeutender Einfluss des Wassergehaltes auf den Abbau im Boden nachgewiesen. Darüber hinaus wiesen die Böden bezüglich des Chemikalienabbaus untereinander deutliche Unterschiede auf (Mineralisierung: 0,1-12,0 % des applizierten Benazolin-Ethyls).

Die Ergebnisse der Inkubationen bei eingestellten Feuchten in Bezug zur maximalen Wasserhaltekapazität (WHK) ergaben im Gegensatz zu der (nicht nur bei den Projektteilnehmern) weit verbreiteten Meinung keine Vergleichbarkeit der Bodenmaterialien. Als geeignetere Vergleichsgröße stellte sich hier die Wasserspannung heraus, wobei die Versuchsböden bei einem pF-Wert von 2,17 ihr maximales Mineralisierungspotential von Benazolin-Ethyl erreichten. In den untersuchten Böden lag dieses Mineralisierungspotential zwischen 3,0 % und 12,4 % der applizierten Herbizidmenge. Nur bei gleicher Wasserspannung kann der Einfluss anderer bodenphysikalischer und mikrobiologischer Indikatoren auf den Chemikalienabbau ermittelt werden. In diesem Zusammenhang konnte auch festgestellt werden, dass die Lagerungsdichte den Abbau mit beeinflusst, da bei höherer Lagerungsdichte die Poren komprimierter bzw. kleiner sind und mehr Poren mit Wasser gefüllt sind.

Diese Unterschiede wurden nicht nur beim Totalabbau (Mineralisierung), sondern auch bei den mit CaCl_2 - und Lösungsmittel extrahierbaren Rückständen und deren Metabolitenmuster, sowie bei den nicht extrahierbaren Rückständen deutlich herausgestellt. Insbesondere die unterschiedliche Aufnahme in die Mikroorganismen und der mikrobielle Abbau von Benazolinsäure, dem ersten Hauptmetaboliten, wurden herausgestellt, da dies der Geschwindigkeitsbestimmende Abbauschritt ist.

In allen untersuchten Bodenmaterialien inkubiert bei 40 % WHK konnte eine Steigerung des Benazolin-Ethyl-Abbaus durch Zugabe von Stroh erzielt werden. Zwar verzögerte sich der Abbau zunächst; durch eine Steigerung der mikrobiellen Aktivität war jedoch langfristig eine

deutliche Erhöhung der Mineralisierungsrate zu verzeichnen. Nur bei hohen Wassergehalten (60 % WHK) gab es in einzelnen Böden einen Rückgang des Totalabbaus.

In den untersuchten Böden wurde Benazolin-Ethyl nur mikrobiologisch abgebaut, wobei die Abbaudynamik und die Metabolitenmuster auf einen co-metabolischen Abbau in allen untersuchten Böden hindeutete. Es herrschte ein deutlicher Zusammenhang zwischen mikrobieller Biomasse und der Mineralisierung der Modellchemikalie. Einen Einfluss auf den Chemikalienabbau durch Quantität oder Qualität der gelösten organischen Substanz gab es jedoch nicht.

Die Abschätzung des K_d -Wertes, als wichtigen Indikator für die Tiefenverlagerung von Modellchemikalien im Boden, über die absolute Menge an organischer Substanz allein, wie sie in vielen Prognosemodellen verwendet wird, erwies sich zumindest für Benazolin als nicht sinnvoll. Neben der Quantität spielt hier auch die Qualität der organischen Substanz eine große Rolle. Dies zeigte sich besonders deutlich in den Böden, in denen sich die Qualität der organischen Substanz durch unterschiedliche Düngergaben in Langzeitstudien stark unterschied.

Der K_d -Wert mag für die Abschätzung von Verlagerungsprozessen hilfreich sein, als Indikator für die mikrobielle Verfügbarkeit von Benazolin kann er jedoch aufgrund seiner unnatürlichen Bestimmungsmethode (Verhältnis Boden : Wasser = 1 : 5) nicht herangezogen werden, insbesondere wenn man weiß, dass die Verfügbarkeit von Umweltchemikalien im Boden sehr stark vom Wassergehalt abhängt. Als Indikator für den Abbau von Benazolinsäure wurde daher in dieser Arbeit der In-situ-Verteilungskoeffizient (IPC) entwickelt; hierbei wird unter natürlichen Feuchtebedingungen die Bodenlösung fraktioniert über Zentrifugation gewonnen und die darin gelösten Chemikalienmengen bestimmt. Es konnte gezeigt werden, dass der IPC bei gleicher Wasserspannung in den untersuchten Böden als Indikator für den Chemikalienabbau dienen kann.

Für Benzo(a)pyren (BaP) wurde zunächst eine toxikologische Bewertung der ermittelten Metabolite durchgeführt. Auch für diese Modellchemikalie konnte eine Abhängigkeit des Abbaus vom Wassergehalt gezeigt werden. An einem ausgewählten Boden konnte die gleiche Abhängigkeit von der Wasserspannung wie für Benazolin-Ethyl nachgewiesen werden.

Auf der Suche nach Möglichkeiten fördernd in den Abbau von Benzo(a)pyren einzugreifen, konnte ein mit BaP kontaminierter Boden ausfindig gemacht werden, dessen mikrobielle Gemeinschaft BaP um ein vielfaches effektiver mineralisieren konnte (16,3 % in 92 Tagen) als die untersuchten Agrarböden (0,2-1,9 %). Eine Übertragung dieser mikrobiellen Gemeinschaft in Form eines 1 %-igen Bodeninokulums (0,5 g Bodeninokulum in 50 g Zielboden) in andere Böden erwies sich als sehr erfolgreich für eine nachhaltige Steigerung des Xenobiotikaabbaus (um das 1,6- bis 5,1-fache des Abbaus im Untersuchungszeitraum). Die Steuerung mit einem Bodeninokulum eines geringer kontaminierten Bodens war ebenso erfolgreich (Steigerung des Totalabbaus um das 1,9-fache).

Versuche eine BaP abbauende mikrobielle Gemeinschaft auf Stroh oder Fichtenspänen zu isolieren waren nicht erfolgreich, ebenso wie die versuchte Anreicherung auf unterschiedlichen Flüssig- und Agarmedien. Jedoch im Mineralsalzmedium von SØRENSEN et al. (2001) mit BaP als einziger C-Quelle, gelang es die mikrobielle Gemeinschaft aus dem kontaminierten Boden zu isolieren. Sie konnte sogar in neue Flüssigkulturen überimpft werden, verlor jedoch mit jeder Überimpfung an Abbaupotential. Eine Förderung des Abbaus

von BaP mit der ersten überimpften Mikroorganismenkultur (Flüssigkultur B) wurde ebenfalls erfolgreich (Erhöhung um das 1,2-fache) in einem Boden getestet. Auf diese Weise konnte die durch die Inokulierung zugeführte BaP-Kontamination auf ein dreißigstel gegenüber der Inokulierung mit dem kontaminierten Boden gesenkt werden. Die Erhöhung der Mineralisierung durch die Steuerung mit Flüssigkultur B reichte aus, um höhere als die über die Luft eingetragenen BaP-Mengen (in Mitteleuropa bis zu $10 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{a}^{-1}$) abzubauen und somit einer Anreicherung im Boden entgegen zu wirken. Nach bisherigem Wissenstand konnte mit dieser Methode also eine ausreichende und nachhaltige Anregung des BaP-Abbaus erreicht werden, mit einer minimalen anfänglichen Zusatzkontamination an BaP; diese konnte nicht umgangen werden, da die BaP abbauende mikrobielle Gemeinschaft nicht ohne ihr BaP-haltiges Substrat übertragen werden kann. Diese zusätzliche Kontamination ist bei gleich bleibender Abbaurate jedoch bereits nach 590 Tagen ausgeglichen.

Die mit diesem Szenario durchgeführten Lysimeterversuche waren sogar noch erfolgreicher. Vor der Steuerung wurde das Benzo(a)pyren zunächst für mehrere Monate auf den Lysimetern gealtert. Die dann durchgeführten Versuche zur Steuerung des Abbaus von BaP mit Flüssigkultur B unter Freilandbedingungen waren trotz Alterung effektiver als im Labor (1,5-fache BaP-Mineralisierung durch die Steuerung). Der Abbau von Benzo(a)pyren konnte langfristig gesteigert werden, wobei nach den gemessenen Werten schon nach einer Vegetationsperiode (186 Tagen) der Nachteil der zusätzlichen Kontamination ausgeglichen wurde.

Zusätzlich wurden mit entsprechenden Sensoren Temperatur und Bodenfeuchte in den entscheidenden Bodentiefen (0-0,5 cm) online gemessen, um sie in Beziehung zu den Mineralisierungsdaten zu setzen. Die in Laborversuchen festgestellte Abhängigkeit des Abbaus von Bodentemperatur und -feuchte konnte somit auch unter Freilandbedingungen bestätigt werden.

8 Literaturverzeichnis

- ABRAMOVITCH, R. A.; BANGZHOU, H.; ABRAMOVITCH, D. A. & JIANGGAO, S. (1999): In situ decomposition of PAHs in soil and desorption of organic solvents using microwave energy. *Chemosphere* 39: 81-87.
- BACHMANN, G.; OLTMANN, J.; KONIETZKA, R. & SCHNEIDER, K. (1999): Berechnung von Prüfwerten zur Bewertung von Altlasten. Umweltbundesamt (Eds.). Berlin: Erich Schmidt-Verlag. ISBN: 3-503-05825-7
- BALINOVA, A. (1996): Ion-pairing mechanism in solid-phase extraction and reversed-phase high-performance liquid chromatographic determination of acidic herbicides in water. *Journal of Chromatography A* 728: 319-324.
- BASTIAENS, L.; SPRINGAEL, D.; WATTIAU, P.; HARMS, H.; De WACHTER, R.; VERACHTERT, H & DIELS, L. (2000): Isolation of adherent polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)- degrading bacteria using PAH-sorbing carriers. *Applied and Environmental Microbiology* 66: 1834-1843.
- BECK, A. J. & JONES, K C. (1996): The effect of particle size, organic matter content, crop residues and dissolved organic matter on the sorption kinetics of atrazine and isoproturon by clay soil. *Chemosphere* 32: 2345-2358.
- BERTEIGNE, M.; LEFEVRE, Y. & ROSE, C. (1988): Accumulation de polluants organiques (H.P.A.) dans les horizons humifères des sols. *European Journal of Forest Pathology* 18: 310-318
- Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft (BBA), (1986): Richtlinien für die amtliche Prüfung von Pflanzenschutzmitteln (Nr. IV, 4-1, Teil 1): Bestimmung des Verbleibs von Pflanzenschutzmitteln im Boden (Teil 1: Abbauverhalten). Braunschweig: ACO-Druck.
- BOLLAG, J.-M. (1992): Decontaminating soil with enzymes. *Environmental Science and Technology* 26: 1876-1881.
- BOYLE, D.; WIESNER, C. & RICHARDSON, A. (1998): Factors affecting the degradation of polyaromatic hydrocarbons in soil by white-rot fungi. *Soil Biology and Biochemistry* 30: 873-882.
- Bundesregierung (1998): Bundesbodenschutzgesetz vom 17. März 1998. Fundstelle: BGBl I 1998, 502.

- BURAUDEL, P & FÜHR, F. (2000): Formation and long-term fate of non-extractable residues in outdoor lysimeter studies. *Environmental Pollution* 108: 45-52
- BUTLER, J. D.; BUTTERWORTH, V.; KELLOW, S. C. & ROBINSON, H. G. (1984): Some observations on the polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) content of surface soils in urban areas. *The Science of Total Environment* 33: 75-85.
- CAVALLI, R.; BORIN, M.; BONARI, E. & BASCH, G. (1996): Soil and Water Quality as affected by agrochemicals under different soil tillage systems. *Symposium Pesticide Chemistry*: 605-615.
- CLARK, A. P. (ed.), (1987): *Handbook of Analytical and spectral data for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. Volume I: Benzo[a]pyrene and its Metabolites.* Kansas City (USA): Midwest Research Institute.
- Deutsche Forschungsgemeinschaft (1990): *Pflanzenschutzmittel im Trinkwasser. - Mitteilung XVI der Kommission für Pflanzenschutz-, Pflanzenbehandlungs- und Vorratsschutzmittel.* – Weinheim: VCH Verlag. ISBN: 3-527-27380-8.
- DÖRFLER, U.; ADLER-KÖHLER, R.; SCHNEIDER, P.; SCHEUNERT, I. & KORTE, F. (1991): A laboratory system for determining the volatility of pesticides from soil and plant surfaces. *Chemosphere* 23: 485-496.
- DÖRFLER, U.; HAALA, R.; MATTHIES, M. & SCHEUNERT, I. (1996): Mineralization Kinetics of Chemicals in Soils in Relation to Environmental Conditions. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 34: 216-222.
- DRISCOLL, S. B. K. & MCELROY, A. E. (1997) Elimination of sediment-associated benzo[a]pyrene and its metabolites by polychaete worms exposed to 3-methylcholanthrene. *Aquatic Toxicology* 39: 77-91.
- DURNER, W. (2001): *Experimentelle Charakterisierung, Parameteridentifikation und Modellierung von Fließ- und Transportprozessen in Bodensäulen.* Habilitation. Universität Bayreuth.
- EBERIUS, M.; BERNS, A. & SCHUPHAN, I. (1997): Ozonation of pyrene and benzo[a]pyrene in silica and soil – ¹⁴C-mass balances and chemical analysis of oxidation products as a first step to ecotoxicological evaluation. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* 359: 274-279
- EDWARDS, N. T. (1983): Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH's) in the terrestrial environment – a review. *Journal of Environmental Quality* 12: 427-441.

- EGGEN, T. & MAJCHERCZYK, A. (1998): Removal of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in contaminated soil by white rot fungus *Pleurotus ostreatus*. *International Biodeterioration & Biodegradation* 41: 111-117.
- ESCHENBACH, A.M WIENBERG, R. & MAHRO, B. (1998): Fate and stability of nonextractable residues of [¹⁴C]PAH in contaminated soils under environmental stress conditions. *Environmental Science and Technology* 32: 2585-2590.
- FIELD, J. A.; De JONG, E.; COSTA, G. F. & De BONT, J. A. M. (1992): Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by new isolates of white rot fungi. *Applied and Environmental Microbiology* 58: 2219-2226.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), (1989): Revised Guidelines on environmental criteria for the registration of pesticides. Rom: FAO.
- FREEMAN, D.J. & CATTELL, F.R. (1990): Woodburning as a Source of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Environmental Science and Technology* 24: 1581-1585
- FÜHR, F.; MITTELSTAEDT, W.; PÜTZ, T. & STORK, A. (1996): Pesticide residues in the environment: combining laboratory, lysimeter and field studies. In: X Symposium Pesticide Chemistry: 33-48.
- GAILLARDON, P. & DUR, J. C. (1995): Influence of Soil Moisture on Short-Term Adsorption of Diuron and Isoproturon by Soil. *Pesticide Science* 45: 297-303
- GALLET, C. & KELLER, C. (1999): Phenolic composition of soil solutions: comparative study of lysimeter and centrifuge waters. *Soil Biology and Biochemistry* 31: 1151-1160.
- GATTINGER, A.; RUSER, R.; SCHLOTTER, M. & MUNCH, J.C. (2002): Microbial community structure varies in different soil zones of a potato field. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 165: 421-428.
- GIANFREDA, L.; SANNINO, F.; ARIENZO, M. & CONTE, P. (1996): Herbicide interactions with clays, humic substances and clay associations. In: X Symposium Pesticide Chemistry: 143-150.
- GILLMAN, G.P. (1976): A Centrifuge Method for obtaining soil solution. Division of Soils Divisional Report No.16. Australia: CSIRSO
- GIUPPONI, C.; BONAITI, G.; CAPRI, E.; ERRERA, G. & TREVISAN, M. (1996): Effects of alternative soil tillage systems on the degradation and sorption of herbicides. In: Del Re. A. A. M.; Capri, E.; Evans, S. P. & Trevisan, M. (Ed.): *The environmental fate of xenobiotics*: 151-161. Pavia (Italien): La Goliardica.

- GRIEVE, I. C. (1996): Effects of the centrifuge drainage method on total organic carbon concentrations in soil solutions from peaty soils. *Geoderma* 74: 115-123
- HACKER, M. (2001): Sanierung eines Entwässerungsgrabens in Bergtheinfeld vor dem Abschluss. *GAB im Dialog* 3:2-3.
- HAEMMERLI, S. D.; LEISOLA, M. S. A.; SANGLARD, D. & FIECHTER, A. (1986): Oxidation of Benzo(a)pyrene by extracellular ligninases of *Phanerochaete chrysosporium*. *The Journal of Biological Chemistry* 261: 6900-6903.
- HAITZER, M.; HÖSS, S.; TRAUNSPURGER, W. & STEINBERG, C. (1999): Relationship between concentration of dissolved organic matter (DOM) and the effect of DOM on the bioconcentration of benzo[a]pyrene. *Aquatic Toxicology* 45: 147-158.
- HARTGE, K. H. & HORN, R. (1999): Die physikalische Untersuchung von Böden. Stuttgart: Enke-Verlag.
- HOUOT, S.; BARRIUSO, E. & BERGHEAUD, V. (1998): Modifications to atrazine degradation pathways in a loamy soil after addition of organic amendments. *Soil Biology and Biochemistry* 30: 2147-2157
- HURLE, K. & WALKER, A. (1980): Persistence and its Prediction. HANCE, R.J. (ed.): Interactions between Herbicides and the Soil: 83-114. London: Academic Press.
- ILNITSKY, A.P.; MISCHENKO, V.S. & SHABAD, L.M. (1977): New Data on Volcanoes as Natural Sources of Carcinogenic Substances. *Cancer Letter* 3: 227-230.
- IVANOVA, E. V. & MUCHALL, H. M. (2003): Computational studies of hydrolysis of N-sulfonyl-compounds. Poster: Third Annual CERMM Symposium, 10./11. Januar 2003. <http://artsci-cwin.concordia.ca/chem/CERMM/symposia/3rdprogram.pdf>
- JARONI, H. & TRENCK K. T. v.d. (1996): Prüfwerte zum Schutz von Menschen auf kontaminierten Böden – fachliche Begründung der Ableitung der Prüfwerte Baden-Württemberg. In: Rosenkranz, D.; Bachmann, G.; König, W. & Einsele, G. (Eds.): Bodenschutz: Ergänzbare Handbuch der Maßnahmen und Empfehlungen für Schutz, Pflege und Sanierung von Böden, Landschaft und Grundwasser.: 3560/1-36. Berlin: Erich Schmidt Verlag
- JENE, B. (1998): Transport of Bromide and Benazolin in Lysimeters and a Field Plot with Grid Suction Bases in a Sandy Soil. Dissertation. Universität Hohenheim. Stuttgart: Grauer Verlag. ISBN: 3-86186-200-X.

- JENE, B.; FENT, G. & KUBIAK, R. (1996): Comparison of lysimeters to the actual field situation with regard to the movement of soil water and ^{14}C labelled herbicide and bromide. X Symposium Pesticide Chemistry: 179-186.
- JONES, K. C.; STRATFORD, J. A.; TIDRIDGE, P. & WATERHOUSE, K. S. (1989a): Polynuclear aromatic hydrocarbons in an agricultural soil: Long-term changes in profile distribution. *Environmental Pollution* 56: 337-351.
- JONES, K. C.; STRATFORD, J. A.; WATERHOUSE, K. S.; FURLONG, E. T.; GIGER, W.; HITES, R. A.; SCHAFFNER, C. & JOHNSTON, A. E. (1989b): Increases in the polynuclear aromatic hydrocarbon content of an agricultural soil over the last century. *Environmental Science and Technology* 23: 95-101.
- JUHASZ, A. L. & NAIDU, R. (2000): Bioremediation of high molecular weight aromatic polycyclic hydrocarbons: a review of the microbial degradation of benzo[a]pyrene. *International Biodeterioration & Biodegradation* 45: 57-88.
- KÄCKER, T. (2000): Bildung und Verbleib von PAK-Abbauprodukten in einfach- und mischkontaminierten Bodenmaterialien. Dissertation. Universität Hamburg.
- KAISER, E.A. (1992): Auswirkungen von Bodenverdichtungen durch Landwirtschaftliche Bodennutzung auf die mikrobielle Biomasse. Dissertation. Universität Göttingen.
- KANALY, R. A. & HARAYAMA, S. (2000): Biodegradation of High-Molecular-Weight Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by bacteria. *Journal of Bacteriology* 182: 2059-2067.
- KAZUNGA, C. & AITKEN, M. D. (2000): Products from the Incomplete Metabolism of Pyrene by Polycyclic Aromatic Hydrocarbon-Degrading Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 66: 1917-1922.
- KNOCHE, H. (1996): Schadstoffe in Ökosystemen – Ableitung von Bodennormwertkonzepten aus vorliegenden Analysedaten. Frankfurt/M.: Wissenschaftsverlag Dr. Wigbert Maraun.
- KOTTERMAN, M. J. J.; RIETBERG, H.-J.; HAGE, A. & FIELD, J. A. (1998a): Polycyclic aromatic hydrocarbon oxidation by white-rot fungus *Bjerkandera* sp. Strain BOS55 in the presence of non-ionic surfactants. *Biotechnology and Bioengineering* 57: 220-227.
- KOTTERMAN, M. J. J.; VIS, E. H. & FIELD, J. A. (1998b): Successive Mineralization and Detoxification of Benzo[a]pyrene by the White Rot Fungus *Bjerkandera* sp. Strain BOS55 and Indigenous Microflora. *Applied and Environmental Microbiology* 64: 2853-2858.

- KOTTLER, B.D.; WHITE, J.C. & KELSEY, J.W. (2001): Influence of soil moisture on the sequestration of organic compounds in soil. *Chemosphere* 42: 893-898.
- KOZACK, R.; SEO, K.-Y.; JELINSKY, S. A. & LOECHLER, E. L. (2000): Toward an understanding of the role of DNA adduct conformation in defining mutagenic mechanism based on studies of the major adduct (formed at N²-dG) of the potent environmental carcinogen, benzo[a]pyrene. *Mutation Research* 450: 41-59.
- KÜHN, S. (2003): Bedeutung der Leistung mikrobieller Lebensgemeinschaften beim Umsatz und Abbau von Isoproturon in Böden und Möglichkeiten zur Steuerung des in-situ-Pestizidabbaus. Dissertation. TU München.
- KUNTZE, H. (1965): Physikalische Untersuchungsmethoden für Moor- und Anmoorboden. *Landwirtschaft und Forschung* 18: 178-191.
- LARINK, O. (1999): Bodenbearbeitung und Bodenleben. Kuratorium für Technik und Bauwesen in der Landwirtschaft – Arbeitsgruppe „Bodenbearbeitung und Bodenschutz“ (Eds.): 80-90.
- LAUNEN, L. A.; PINTO, L. J.; PERCIVAL, P. W.; LAM, S. F. S. & MOORE, M. M. (2000): Pyrene is metabolized to bound residues by *Penicillium janthinellum* SFU403. *Biodegradation* 11: 305-312.
- LEAKE, C.R. (1989): Benazolin-ethyl – degradation and mobility in the laboratory and outdoor. *Aspects of Applied Biology* 21: 129-130.
- LEHR, S.; SCHEUNERT, I. & BEESE, F. (1996): Mineralization of free and cell-wall-bound isoproturon in soils in relation to soil microbial parameters. *Soil Biology & Biochemistry* 28: 1-8.
- LEISCHNER, A.; FISCHER-APPELT, K.; DESERY, U. & PÜTTMANN, W. (1995): Analytik von PAK-Kontaminationen unterschiedlicher Herkunft zur Abschätzung der Erfolgsaussichten einer mikrobiellen Bodensanierung. *Altlasten Spektrum* 4/95: 177-185.
- MACLEOD, C. J. A. & SEMPLE, K. T. (2003): Sequential extraction of low concentrations of pyrene and formation of non extractable residues in sterile and non-sterile soils. *Soil Biology & Biochemistry* 35: 1443-1450.
- MAMILOV, A. S. & DILLY, O. M. (2002): Soil microbial eco-physiology as affected by short-term variations in environmental conditions. *Soil Biology & Biochemistry* 34: 1283-1290.

- MILUKAITE, A. (1998): Flux of Benzo(a)pyrene to the ground surface and its distribution in the ecosystem. *Water, Air and Soil Pollution* 105: 471-480.
- NEHER, D. A. (1999): Soil community composition and ecosystem processes. *Agroforestry Systems* 45: 159-185.
- NEHRING, K. (1960): *Agrikulturchemische Untersuchungsmethoden für Dünge- und Futtermittel, Böden und Milch*. Hamburg-Berlin: Verlag Paul Parey.
- NEMETH-KONDA, L.; FÜLEKY, G.; MOROVJAN, G. & CSOKAN, P. (2002): Sorption behaviour of acetochlor, atrazine, carbendazim, diazinon, imidacloprid and isoproturon on Hungarian agricultural soil. *Chemosphere* 48: 545-552,
- Niederländischer Leitfaden zur Bodenbewertung und Bodensanierung (1990): In: Rosenkranz, D.; Bachmann, G.; König, W. & Einsele, G. (Hrsg.): *Bodenschutz: Ergänzbare Handbuch der Maßnahmen und Empfehlungen für Schutz, Pflege und Sanierung von Böden, Landschaft und Grundwasser*. S. 8935-1-27. Berlin: Erich Schmidt Verlag
- NORTHCOTT, G. L. & JONES, K. C. (2000): Experimental approaches and analytical technique for determining organic compound bound residues in soil and sediment. *Environmental Pollution* 108: 19-43.
- OEHMICHEN, J. & HEER, W. (1996): *Anwendungen von Komposten aus biogenen Abfällen auf landwirtschaftlich genutzten Flächen*. Abschlußbericht. Universität-Gesamthochschule Paderborn.
- OTTINGER, S. E.; MAYURA, K.; LEMKE, S. L.; MCKENZIE, K. S.; WANG, N.; KUBENA, L. F. & PHILLIPS, T. D. (1999): Utilization of electrochemically generated ozone in the degradation and detoxification of Benzo[a]pyrene. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A* 56: 565-583.
- OU, Z. (2000): *Separate and combined environmental behaviour of surfactants and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs)*. Dissertation. TU München.
- PERLOW, R.A. & BROYDE, S. (2002): Toward Understanding the Mutagenicity of an Environmental Carcinogen: Structural Insights into Nucleotide Incorporation Preferences. *Journal of Molecular Biology* 322: 291-309.
- PERLOW, R.A. & BROYDE, S. (2003): Extending the Understanding of Mutagenicity: Structural Insights into Primer-extension Past a Benzo[a]pyrene Diol Epoxide-DANN adduct. *Journal of Molecular Biology* 327: 797-818.
- PIGNATELLO, J. J. & XING, B. (1996): Mechanisms of Slow Sorption of Organic Chemicals to Natural Particles. *Environmental Science and Technology* 30: 1-11.

- REID, B. J.; JONES, K. C. & SEMPLE (2000): Bioavailability of persistent organic pollutants in soils and sediments – a perspective on mechanisms, consequences and assessment. *Environmental Pollution* 108: 103-112.
- REUTER, S.; ILIM, M.; MUNCH, J. C.; ANDREUX, F. & SCHEUNERT, I. (1999): A model for the formation and degradation of bound residues of the herbicide ¹⁴C-Isoproturon in soil. *Chemosphere* 39: 627-639.
- ROBERTS, T. R. (1984): Non-extractable pesticide residues in soils and plants. *Pure & Applied Chemistry* 56: 945-956.
- ROOS, P. H.; WEIßENFELS, W. D.; AFFERDEN, M.; PFEIFER, F. & HANSTEIN, W. G. (2000): Ökotoxikologische und humantoxikologische Risikobewertung PAK-belasteter Böden vor und nach biologischer Behandlung. *Zeitschrift für Umweltchemie und Ökotoxikologie* 12: 13-19.
- RUTH, B. (1999): A capacitance sensor with planar sensitivity for monitoring soil water content. *Soil Science Society of America Journal* 63: 48-54.
- SACHS, L. (1984): *Angewandte Statistik, Anwendung statistischer Methoden*. 6. Auflage. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag.
- SACK, U.; HOFRICHTER, M. & FRITSCHKE, W. (1997): Degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons by manganese peroxidase of *Nematoloma frowardii*. *FEMS Microbiology Letters* 152: 227-234.
- SAINT-DENIS, M.; NARBONNE, J. F.; ARNAUD, C.; THYBAUD, E. & RIBERA, D. (1999): Biochemical responses of the earthworm *Eisenia fetida andrei* exposed to contaminated artificial soil: effects of benzo(a)pyrene. *Soil Biology and Biochemistry* 31: 1837-1846.
- SCHACHTSCHABEL, P.; BLUME, H.-P.; BRÜMMER, G.; HARTGE, K.-H. & SCHWERTMANN, U. (1992): *Lehrbuch der Bodenkunde*. Stuttgart: Ferdinand Enke Verlag.
- SCHERER, G.; FRANK, S.; RIEDEL, K.; MEGER-KOSSIEN, I. & RENNER, T. (2000): Biomonitoring of Exposure to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons of Nonoccupationally Exposed Persons. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 9: 373-380.
- SCHLICHTING, E.; BLUME, H. P. & STAHR, K. (1995): *Bodenkundliches Laborpraktikum. Studentexte 81*, 2. Auflage. Berlin: Blackwell Wissenschafts-Verlag.
- SCHROEDER, D. (1992): *Bodenkunde in Stichworten*. Stuttgart: Borntraeger.

- SCHROLL, R. & KÜHN, S. (2004): A test-system to establish mass balances for ^{14}C -labeled substances in soil-plant-atmosphere-systems under field conditions. *Environmental Science and Technology* 38:1537-1544.
- SCHWEDT, G. (1996): Taschenatlas der Umweltchemie. Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- SEMPLE, K. T.; REID, B. J. & FERMOR, T. R. (2001): Impact of composting strategies on the treatment of soils contaminated with organic pollutants. *Environmental Pollution* 112: 269-283.
- SENG, M. (2003): Persönliche Information per E-Mail der Biologischen Bundesanstalt und dem Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit.
- Soil Survey Staff (1999): *Soil Taxonomy*. 2. Auflage. Washington (USA): FAO.
- SHAW, L. J.; BEATON, Y.; GLOVER, L. A.; KILLHAM, K. & MEHARG, A. A. (1999): Re-inoculation of autoclaved soil as a non-sterile treatment for xenobiotic sorption and biodegradation studies. *Applied Soil Ecology* 11: 217-226
- SMITH, M. J.; LETHBRIDGE, G. & BURNS, R. G. (1999): Fate of phenanthrene, pyrene and benzo[a]pyrene during biodegradation of crude oil added to two soils. *FEMS Microbiology Letters* 173: 445-452.
- SOBISCH, T.; HEß, H.; NIEBELSCHÜTZ, H. & SCHMIDT, U. (2000): Effect of additives on biodegradation of PAH in soils. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 162: 1-14.
- SØRENSEN, S.R. & AAMAND, J. (2001): Biodegradation of the phenylurea herbicide isoproturon and its metabolites in agricultural soils. *Biodegradation* 12: 69-77.
- SPARK, K. M. & SWIFT, R. S. (2002): Effect of soil composition and dissolved organic matter on pesticide sorption. *The Science of the Total Environment* 298: 147-161.
- STARKE, U.; HERBERT, M. & EINSEL, G. (1991): Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK) in Boden und Grundwasser. In: Rosenkranz, D.; Bachmann, G.; König, W. & Einsele, G. (Hrsg.): *Bodenschutz: Ergänzbare Handbuch der Maßnahmen und Empfehlungen für Schutz, Pflege und Sanierung von Böden, Landschaft und Grundwasser*. S. 1680/1-38. Berlin: Erich Schmidt Verlag
- STEINWEG, B., 2002: Untersuchungen zur in-situ-Verfügbarkeit von wasserlöslichem Humus (DOM) in Oberböden und Grundwasserleitern: Gewinnung, Charakterisierung und Abschätzung seiner Funktionen als mikrobielles Substrat und Träger des Schadstoffes Pyren. *FAM - Bericht* 52: 1-109. München: Hieronymus Verlag. ISBN: 3-89791-245-7.

- STOCKINGER, J. (1995): Untersuchung des Abbaus von radioaktiv markiertem Benazolinethylester und seinem ersten Metaboliten Benazolinsäure unter Simulation der atmosphärischen Bedingungen in zwei Bodenschichten. Diplomarbeit. Universität Kaiserslautern.
- TIEHM, A.; STIEBER, M.; WERNER, P. & FRIMMEL, F. H. (1997): Surfactant-enhanced mobilization and biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in manufactured gas plant soil. *Environmental Science and Technology* 31: 2570-2576.
- TOMLIN, C. (Ed.) (1994): The pesticide manual. British Crop Protection Council (Eds.), 10. Auflage: 72-75. Farnham: Clive Publisher.
- TRAPP, S. & MATTHIES, M. (1996): Dynamik von Schadstoffen – Umweltmodellierung mit CemoS. Berlin, Heidelberg: Springer Verlag.
- Umweltbundesamt (2002):
http://www.umweltbundesamt.de/luft/emissionen/situation_de/schadstoffe/schadstoffe.htm
- Umweltlexikon online (2003):
<http://www.umweltlexikon-online.de/fp/archiv/RUBhome/index.php>
- United States Geological Survey (USGS, ed.), (2000): Pesticides in Stream Sediments and aquatic biota. Internetseite: <<http://water.usgs.gov/nawqa>>.
- VAN JAARVELD, J. A.; VAN PUL, W. A. J. & DE LEEUW, F. A. A. M. (1997): Modelling Transport and deposition of persistent organic pollutants in the European region. *Atmospheric Environment* 31: 1011-1024.
- VERECKEN, H.; JAEKEL, U., MOUVET, C.; MOREAU, C.; BURAUDEL, P.; DUST, M.; KIM, D. J.; JACQUES, D.; FEYEN, J.; GEORGESCU, A.; SICIU, N. & MARINOSCHI, G. (1996): Critical parameters governing the mobility and fate of pesticides in soil/aquifer systems. *X Symposium Pesticide Chemistry*: 627-648.
- WEDLER, W. (1965): Zur Methodik der pF-Wert-Bestimmung mit der Zentrifuge. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde* 109: 249-260.
- Werkbüro für Boden und Bodenschutz Beuren und Plochingen (WBB), (1998): Literaturstudie zum Transfer von organischen Schadstoffen im System Boden/Pflanze und Boden/Sickerwasser. Umweltinformationssystem der Landesanstalt für Umweltschutz Baden-Württemberg. (<http://www.xfaweb.baden-wuerttemberg.de/xfaweb/direkt/start.pl?file=/bofaweb/berichte/tbb05/tbb05.htm>)

- WICHMANN, H. E. & IHME, W. (1995): Expositionsabschätzung für die Aufnahme polyzyklischer aromatischer Kohlenwasserstoffe (PAK) über das Trinkwasser. Forum Städte-Hygiene 46: 265-268.
- WILKE, B.-M. (1996): Emissionen und Wirkungen von Schadstoffen im Boden. In: Brauer, H. (Ed.): Emissionen und ihre Wirkungen. Handbuch des Umweltschutzes und der Umwelttechnik. Berlin, Heidelberg: Springer Verlag.
- WILSON, S. C. & JONES, K. C. (1993): Bioremediation of soil contaminated with polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs): A review. Environmental Pollution 81: 229-249.
- YE, D.; SIDDIQI, A.; MACCUBIN, A. E.; KUMAR, S. & SIKKA, H. C. (1996): Degradation of polynuclear aromatic hydrocarbons by *Sphingomonas paucimobilis*. Environmental Science and Technology 30: 136-142.
- ZÖRNTLEIN, S. (1995): Freilandversuch zum Abbau- und Verlagerungsverhalten von Benazolin-Ethyl in einem Sandboden. Dissertation. Universität Tübingen.
- ZSOLNAY, Á. (2003): Dissolved organic matter: artefacts, definitions, and functions. Geoderma 113: 187-209.

9 Anhang

9.1 *T-Test*

Die folgenden Tabellen beinhalten die berechneten Werte der T-Tests. Bei in Standardformat gedruckten Werten kann die Nullhypothese nicht widerlegt werden (Die Grundgesamtheiten werden als gleich betrachtet. Bei den kursiv gedruckten Werten sind die Ansätze tendenziell verschieden (Signifikanzniveau $\alpha = 0,1$); bei den fett gedruckten Werten ist der Unterschied signifikant (Signifikanzniveau $\alpha = 0,01$); bei den fett gedruckten und grau unterlegten Werten ist der Unterschied hoch signifikant (Signifikanzniveau $\alpha = 0,001$)

9.1.1 T-Tests für Benazolin-Ethyl

Tabelle 9.1: Werte des T-Tests zur Bestimmung der Signifikanz von Unterschieden bei den mit Kalziumchlorid extrahierbaren Rückständen von Benazolin-Ethyl zwischen den untersuchten Ansätzen.

| 40 % WHK | | | | | |
|------------|----------------|----------|------------|------------|-----------|
| | Incept-Int | Alfi-Con | Molli-High | Molli-Norm | Molli-Low |
| Incept-Int | X | | | | |
| Alfi-Con | -5,773 | X | | | |
| Molli-High | -3,014 | 1,021 | X | | |
| Molli-Norm | -3,308 | -0,237 | -0,954 | X | |
| Molli-Low | -16,116 | -1,327 | -2,229 | -0,482 | X |

| 20 % WHK | | | | | |
|------------|------------|----------|---------------|--------------|-----------|
| | Incept-Int | Alfi-Con | Molli-High | Molli-Norm | Molli-Low |
| Incept-Int | X | | | | |
| Alfi-Con | 1,947 | X | | | |
| Molli-High | 3,000 | 0,974 | X | | |
| Molli-Norm | -0,562 | -3,156 | -4,674 | X | |
| Molli-Low | 0,666 | -2,026 | -3,504 | 9,197 | X |

| 60 % WHK | | | | | |
|------------|----------------|----------|----------------|----------------|-----------|
| | Incept-Int | Alfi-Con | Molli-High | Molli-Norm | Molli-Low |
| Incept-Int | X | | | | |
| Alfi-Con | -3,167 | X | | | |
| Molli-High | -13,037 | 2,307 | X | | |
| Molli-Norm | -30,616 | 2,071 | -3,527 | X | |
| Molli-Low | -13,275 | -2,277 | -11,157 | -10,686 | X |

| 40 % WHK + Stroh | | | | | |
|------------------|---------------|--------------|------------|------------|-----------|
| | Incept-Int | Alfi-Con | Molli-High | Molli-Norm | Molli-Low |
| Incept-Int | X | | | | |
| Alfi-Con | -7,719 | X | | | |
| Molli-High | -2,670 | 4,083 | X | | |
| Molli-Norm | -6,558 | 1,621 | -2,709 | X | |
| Molli-Low | -3,893 | 0,121 | -2,418 | -0,871 | X |

| 60 % WHK + Stroh | | | | | |
|------------------|---------------|----------|------------|------------|-----------|
| | Incept-Int | Alfi-Con | Molli-High | Molli-Norm | Molli-Low |
| Incept-Int | X | | | | |
| Alfi-Con | -5,421 | X | | | |
| Molli-High | -1,768 | -0,192 | X | | |
| Molli-Norm | -8,932 | -1,657 | -0,543 | X | |
| Molli-Low | -6,257 | -3,695 | -2,118 | -2,540 | X |

| Incept-Int | | | | | |
|--------------|---------------|----------|----------------|--------------|--------------|
| | 20% | 40% | 60% | 40 % + Stroh | 60 % + Stroh |
| 20% | X | | | | |
| 40% | 9,709 | X | | | |
| 60% | 10,135 | 3,866 | X | | |
| 40 % + Stroh | 13,508 | -0,600 | -3,348 | X | |
| 60 % + Stroh | 9,796 | 0,457 | -10,261 | 1,025 | X |

| Alfi-Con | | | | | |
|--------------|--------------|----------|----------|--------------|--------------|
| | 20% | 40% | 60% | 40 % + Stroh | 60 % + Stroh |
| 20% | X | | | | |
| 40% | 0,146 | X | | | |
| 60% | 2,471 | 2,253 | X | | |
| 40 % + Stroh | 2,645 | 1,605 | -1,234 | X | |
| 60 % + Stroh | 4,760 | 4,311 | 1,357 | 4,807 | X |

| Molli-High | | | | | |
|--------------|--------------|----------|----------|--------------|--------------|
| | 20% | 40% | 60% | 40 % + Stroh | 60 % + Stroh |
| 20% | X | | | | |
| 40% | 0,394 | X | | | |
| 60% | 4,658 | 2,660 | X | | |
| 40 % + Stroh | 4,776 | 1,947 | -1,871 | X | |
| 60 % + Stroh | 2,526 | 1,585 | -1,175 | -0,212 | X |

| Molli-Norm | | | | | |
|--------------|---------------|----------|---------------|--------------|--------------|
| | 20% | 40% | 60% | 40 % + Stroh | 60 % + Stroh |
| 20% | X | | | | |
| 40% | 1,407 | X | | | |
| 60% | 85,900 | 2,938 | X | | |
| 40 % + Stroh | 19,865 | 1,716 | -5,356 | X | |
| 60 % + Stroh | 20,441 | 2,212 | -4,026 | 1,742 | X |

| Molli-Low | | | | | |
|--------------|--------------|----------|----------|--------------|--------------|
| | 20% | 40% | 60% | 40 % + Stroh | 60 % + Stroh |
| 20% | X | | | | |
| 40% | 1,490 | X | | | |
| 60% | 7,000 | 3,686 | X | | |
| 40 % + Stroh | 5,908 | 3,179 | 1,114 | X | |
| 60 % + Stroh | 6,671 | 4,566 | 1,692 | 0,068 | X |

| Alfi-Con | | | | |
|-------------|--------------|------------|-------------|------------|
| | 40 % locker | 40 % dicht | 60 % locker | 60 % dicht |
| 40 % locker | X | | | |
| 40 % dicht | 1,435 | X | | |
| 60 % locker | 6,083 | 1,811 | X | |
| 60 % dicht | 8,390 | 2,174 | 0,921 | X |

Tabelle 9.2: Werte des T-Tests zur Bestimmung der Signifikanz von Unterschieden bei den mit Lösungsmittel extrahierbaren Rückständen von Benazolin-Ethyl zwischen den untersuchten Ansätzen.

| 40 % WHK | | | | | |
|------------|---------------|---------------|------------|--------------|-----------|
| | Incept-Int | Alfi-Con | Molli-High | Molli-Norm | Molli-Low |
| Incept-Int | X | | | | |
| Alfi-Con | -5,525 | X | | | |
| Molli-High | -8,869 | -5,159 | X | | |
| Molli-Norm | -8,197 | -5,532 | -1,715 | X | |
| Molli-Low | -5,204 | -0,805 | 3,927 | 4,721 | X |

| 20 % WHK | | | | | |
|------------|---------------|----------|------------|----------------|-----------|
| | Incept-Int | Alfi-Con | Molli-High | Molli-Norm | Molli-Low |
| Incept-Int | X | | | | |
| Alfi-Con | 0,547 | X | | | |
| Molli-High | -0,540 | -0,767 | X | | |
| Molli-Norm | 11,000 | 3,116 | 2,826 | X | |
| Molli-Low | 5,234 | 1,040 | 1,540 | -13,016 | X |

| 60 % WHK | | | | | |
|------------|----------------|----------------|------------|---------------|-----------|
| | Incept-Int | Alfi-Con | Molli-High | Molli-Norm | Molli-Low |
| Incept-Int | X | | | | |
| Alfi-Con | -4,466 | X | | | |
| Molli-High | -19,481 | -9,083 | X | | |
| Molli-Norm | -55,268 | -13,320 | -2,465 | X | |
| Molli-Low | -20,850 | -6,757 | 4,078 | 10,101 | X |

| 40 % WHK + Stroh | | | | | |
|------------------|----------------|---------------|------------|------------|-----------|
| | Incept-Int | Alfi-Con | Molli-High | Molli-Norm | Molli-Low |
| Incept-Int | X | | | | |
| Alfi-Con | -3,993 | X | | | |
| Molli-High | -14,629 | -3,998 | X | | |
| Molli-Norm | -2,746 | -1,424 | -0,060 | X | |
| Molli-Low | -11,554 | -6,568 | -4,308 | -1,657 | X |

| 60 % WHK + Stroh | | | | | |
|------------------|----------------|----------|------------|------------|-----------|
| | Incept-Int | Alfi-Con | Molli-High | Molli-Norm | Molli-Low |
| Incept-Int | X | | | | |
| Alfi-Con | -13,949 | X | | | |
| Molli-High | -6,256 | -2,690 | X | | |
| Molli-Norm | -2,990 | -1,237 | -0,565 | X | |
| Molli-Low | -4,538 | -1,682 | 0,366 | 0,691 | X |

| Incept-Int | | | | | |
|--------------|---------------|----------|---------------|--------------|--------------|
| | 20% | 40% | 60% | 40 % + Stroh | 60 % + Stroh |
| 20% | X | | | | |
| 40% | 9,649 | X | | | |
| 60% | 16,180 | 1,302 | X | | |
| 40 % + Stroh | 18,546 | -1,094 | -5,192 | X | |
| 60 % + Stroh | 15,512 | 1,056 | -0,468 | 4,389 | X |

| Alfi-Con | | | | | |
|--------------|----------|----------|----------|--------------|--------------|
| | 20% | 40% | 60% | 40 % + Stroh | 60 % + Stroh |
| 20% | X | | | | |
| 40% | 1,255 | X | | | |
| 60% | 1,730 | 0,992 | X | | |
| 40 % + Stroh | 0,419 | -1,034 | -1,577 | X | |
| 60 % + Stroh | 1,865 | 1,482 | -0,230 | 1,754 | X |

| Molli-High | | | | | |
|--------------|----------|----------|--------------|--------------|--------------|
| | 20% | 40% | 60% | 40 % + Stroh | 60 % + Stroh |
| 20% | X | | | | |
| 40% | -0,554 | X | | | |
| 60% | -2,107 | -3,245 | X | | |
| 40 % + Stroh | -1,684 | -1,315 | 2,286 | X | |
| 60 % + Stroh | 0,687 | 2,196 | 5,269 | 3,581 | X |

| Molli-Norm | | | | | |
|--------------|----------------|----------|----------|--------------|--------------|
| | 20% | 40% | 60% | 40 % + Stroh | 60 % + Stroh |
| 20% | X | | | | |
| 40% | -7,632 | X | | | |
| 60% | -44,731 | -1,859 | X | | |
| 40 % + Stroh | -3,548 | 0,277 | 0,977 | X | |
| 60 % + Stroh | -1,631 | 0,700 | 1,307 | 0,370 | X |

| Molli-Low | | | | | |
|--------------|----------------|---------------|---------------|--------------|--------------|
| | 20% | 40% | 60% | 40 % + Stroh | 60 % + Stroh |
| 20% | X | | | | |
| 40% | -0,416 | X | | | |
| 60% | -10,999 | -5,581 | X | | |
| 40 % + Stroh | -12,760 | -7,894 | -5,276 | X | |
| 60 % + Stroh | -0,834 | -0,537 | 2,790 | 6,058 | X |

| Alfi-Con | | | | |
|-------------|-------------|------------|-------------|------------|
| | 40 % locker | 40 % dicht | 60 % locker | 60 % dicht |
| 40 % locker | X | | | |
| 40 % dicht | -0,040 | X | | |
| 60 % locker | 0,908 | 1,244 | X | |
| 60 % dicht | 0,326 | 0,375 | -2,041 | X |

Tabelle 9.3: Werte des T-Tests zur Bestimmung der Signifikanz von Unterschieden bei den nicht extrahierbaren Rückständen von Benazolin-Ethyl zwischen den untersuchten Ansätzen.

| 40 % WHK | | | | | |
|------------|--------------|----------|------------|------------|-----------|
| | Incept-Int | Alfi-Con | Molli-High | Molli-Norm | Molli-Low |
| Incept-Int | X | | | | |
| Alfi-Con | 0,136 | X | | | |
| Molli-High | 4,930 | 2,779 | X | | |
| Molli-Norm | 3,830 | 2,251 | -0,622 | X | |
| Molli-Low | 1,800 | 0,917 | -2,719 | -1,930 | X |

| 20 % WHK | | | | | |
|------------|---------------|----------|------------|------------|-----------|
| | Incept-Int | Alfi-Con | Molli-High | Molli-Norm | Molli-Low |
| Incept-Int | X | | | | |
| Alfi-Con | -2,865 | X | | | |
| Molli-High | -7,591 | -1,060 | X | | |
| Molli-Norm | -6,254 | -1,500 | -0,873 | X | |
| Molli-Low | -4,986 | -1,078 | -0,278 | 0,408 | X |

| 60 % WHK | | | | | |
|------------|---------------|----------|------------|------------|-----------|
| | Incept-Int | Alfi-Con | Molli-High | Molli-Norm | Molli-Low |
| Incept-Int | X | | | | |
| Alfi-Con | 1,093 | X | | | |
| Molli-High | 5,218 | 2,569 | X | | |
| Molli-Norm | 19,094 | 2,268 | -1,283 | X | |
| Molli-Low | 11,417 | 3,420 | 0,338 | 3,554 | X |

| 40 % WHK + Stroh | | | | | |
|------------------|---------------|----------|--------------|------------|-----------|
| | Incept-Int | Alfi-Con | Molli-High | Molli-Norm | Molli-Low |
| Incept-Int | X | | | | |
| Alfi-Con | 0,300 | X | | | |
| Molli-High | 17,524 | 2,494 | X | | |
| Molli-Norm | 3,178 | 2,019 | 0,316 | X | |
| Molli-Low | 18,932 | 4,368 | 7,199 | 1,643 | X |

| 60 % WHK + Stroh | | | | | |
|------------------|--------------|--------------|------------|------------|-----------|
| | Incept-Int | Alfi-Con | Molli-High | Molli-Norm | Molli-Low |
| Incept-Int | X | | | | |
| Alfi-Con | 1,931 | X | | | |
| Molli-High | 1,809 | 0,897 | X | | |
| Molli-Norm | 9,059 | 6,656 | 1,957 | X | |
| Molli-Low | 6,470 | 6,002 | 4,214 | 3,561 | X |

| Incept-Int | | | | | |
|--------------|----------------|----------|----------------|--------------|--------------|
| | 20% | 40% | 60% | 40 % + Stroh | 60 % + Stroh |
| 20% | X | | | | |
| 40% | -12,624 | X | | | |
| 60% | -21,111 | 1,855 | X | | |
| 40 % + Stroh | -45,296 | -2,567 | -10,173 | X | |
| 60 % + Stroh | -14,118 | -2,326 | -4,588 | -0,737 | X |

| Alfi-Con | | | | | |
|--------------|---------------|----------|----------|--------------|--------------|
| | 20% | 40% | 60% | 40 % + Stroh | 60 % + Stroh |
| 20% | X | | | | |
| 40% | -3,472 | X | | | |
| 60% | -2,494 | 1,149 | X | | |
| 40 % + Stroh | -4,983 | -0,485 | -1,536 | X | |
| 60 % + Stroh | -9,823 | -0,534 | -2,421 | 0,176 | X |

| Molli-High | | | | | |
|--------------|---------------|----------|----------|--------------|--------------|
| | 20% | 40% | 60% | 40 % + Stroh | 60 % + Stroh |
| 20% | X | | | | |
| 40% | -0,147 | X | | | |
| 60% | 1,318 | 1,132 | X | | |
| 40 % + Stroh | -6,388 | -1,532 | -2,729 | X | |
| 60 % + Stroh | -3,751 | -3,030 | -3,784 | -2,530 | X |

| Molli-Norm | | | | | |
|--------------|----------|----------|---------------|--------------|--------------|
| | 20% | 40% | 60% | 40 % + Stroh | 60 % + Stroh |
| 20% | X | | | | |
| 40% | -0,523 | X | | | |
| 60% | 1,135 | 1,032 | X | | |
| 40 % + Stroh | -0,413 | 0,002 | -0,550 | X | |
| 60 % + Stroh | -2,827 | -1,097 | -4,589 | -0,631 | X |

| Molli-Low | | | | | |
|--------------|--------------|--------------|----------|--------------|--------------|
| | 20% | 40% | 60% | 40 % + Stroh | 60 % + Stroh |
| 20% | X | | | | |
| 40% | -3,403 | X | | | |
| 60% | 2,885 | 5,391 | X | | |
| 40 % + Stroh | 5,006 | 5,858 | 0,535 | X | |
| 60 % + Stroh | 2,341 | 4,006 | 1,149 | 0,940 | X |

| Alfi-Con | | | | |
|-------------|-------------|------------|-------------|------------|
| | 40 % locker | 40 % dicht | 60 % locker | 60 % dicht |
| 40 % locker | X | | | |
| 40 % dicht | -0,018 | X | | |
| 60 % locker | 1,881 | 0,861 | X | |
| 60 % dicht | 1,464 | 0,362 | -1,571 | X |

9.1.2 T-Tests für Benzo(a)pyren

Tabelle 9.4: Werte des T-Tests zur Bestimmung der Signifikanz von Unterschieden bei den mit Lösungsmittel extrahierbaren Rückständen von Benzo(a)pyren zwischen den untersuchten Ansätzen.

| 40 % WHK | | | | | |
|------------|----------|------------|------------|------------|--------------|
| | Alfi-Con | Incept-Int | Molli-High | Molli-Norm | Molli-Low |
| Alfi-Con | X | | | | |
| Incept-Int | -2,451 | X | | | |
| Molli-High | -1,430 | 1,076 | X | | |
| Molli-Norm | -2,585 | 0,531 | -0,733 | X | |
| Molli-Low | -2,500 | 0,847 | -0,461 | 0,392 | X |
| High-Cont | -0,223 | 1,408 | 0,646 | 1,167 | 4,875 |

| Alfi-Con 40 % WHK | | | | | |
|-------------------|--------------|----------|-----------|---------------|----------|
| | ohne | +Pril | + High-C. | +Pril+High-C. | zu 60 % |
| ohne | X | | | | |
| +Pril | 6,205 | X | | | |
| + High-C. | 7,226 | 1,782 | X | | |
| +Pril+High-C. | 4,433 | 0,133 | -0,524 | X | |
| zu 60 % | 5,708 | -0,359 | 3,211 | 1,150 | X |

| Alfi-Con 60 % WHK | | | | |
|-------------------|--------------|----------|-----------|---------------|
| | ohne | +Pril | + High-C. | +Pril+High-C. |
| ohne | X | | | |
| +Pril | 1,532 | X | | |
| + High-C. | 5,798 | 4,135 | X | |
| +Pril+High-C. | 4,995 | 2,852 | -1,733 | X |

| Incept-Int 60 % WHK | | | | | |
|---------------------|----------|----------|------------|----------|-----------------|
| | ohne | +Low-C. | +Middle-C. | +High-C. | +Alfic.+High-C. |
| ohne | X | | | | |
| +Low-C. | -0,791 | X | | | |
| +Middle-C. | -0,267 | 0,537 | X | | |
| +High-C. | -0,526 | -0,117 | -0,399 | X | |
| +Alfic.+High-C. | -0,840 | -0,148 | -0,622 | 0,023 | X |

| Incept-Int (I) und Alfi-Con (A) | | | | | |
|---------------------------------|--------------|--------------|--------------|---------------|----------|
| | I 40 % | I 60 % | A 40 % | A 45 % | A 60 % |
| I 40 % | X | | | | |
| I 60 % | 3,498 | X | | | |
| A 40 % | 2,451 | -1,439 | X | | |
| A 45 % | 2,743 | -2,282 | 0,030 | X | |
| A 60 % | 5,848 | 6,341 | 5,708 | 14,412 | X |

| Alfi-Con 45 % | | | | | | |
|---------------|----------|----------|----------|------------|----------|------------|
| | ohne | + FK B | + Stroh | + M.-Stroh | + Späne | + M.-Späne |
| ohne | X | | | | | |
| + FK B | 0,365 | X | | | | |
| + Stroh | 4,388 | 1,959 | X | | | |
| + M.-Stroh | -0,593 | -0,450 | -4,514 | X | | |
| + Späne | -0,150 | -0,401 | -3,998 | 0,089 | X | |
| + M.-Späne | 0,354 | -0,315 | -4,413 | 0,880 | 0,299 | X |

| Rego-Norm 60 % WHK | | |
|--------------------|----------|-------------|
| | ohne | + High-Cont |
| 20% | X | |
| 40% | -1,244 | X |

| Incept-Int | | | | | | |
|------------|------------|----------|-----------|----------|----------|-------------|
| | | 40% WHK | | 60 % WHK | | |
| | | ohne | Ser. FK B | ohne | + FK B | + Ser. FK B |
| 40 % WHK | ohne | X | | | | |
| | + Ser.FK B | -1,555 | X | | | |
| 60 % WHK | ohne | 1,956 | 2,739 | X | | |
| | + FK B | 3,266 | 3,233 | -1,210 | X | |
| | + Ser.FK B | 0,983 | 2,021 | -1,027 | -0,456 | X |

Tabelle 9.5: Werte des T-Tests zur Bestimmung der Signifikanz von Unterschieden bei den nicht extrahierbaren Rückständen von Benzo(a)pyren zwischen den untersuchten Ansätzen.

| 40 % WHK | | | | | |
|------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| | Alfi-Con | Incept-Int | Molli-High | Molli-Norm | Molli-Low |
| Alfi-Con | X | | | | |
| Incept-Int | 2,888 | X | | | |
| Molli-High | 2,426 | -1,017 | X | | |
| Molli-Norm | 2,770 | -0,358 | 0,722 | X | |
| Molli-Low | 1,830 | -1,098 | -0,479 | -0,922 | X |
| High-Cont | 5,469 | 8,281 | 8,087 | 8,987 | 4,875 |

| Alfi-Con 40 % WHK | | | | | |
|-------------------|----------|----------|-----------|---------------|----------|
| | ohne | +Pril | + High-C. | +Pril+High-C. | zu 60 % |
| ohne | X | | | | |
| +Pril | 0,028 | X | | | |
| + High-C. | 1,010 | 0,727 | X | | |
| +Pril+High-C. | 1,024 | 0,742 | 0,064 | X | |
| zu 60 % | 0,327 | 0,218 | 2,044 | 0,991 | X |

| Alfi-Con 60 % WHK | | | | |
|-------------------|--------------|---------------|-----------|---------------|
| | ohne | +Pril | + High-C. | +Pril+High-C. |
| ohne | X | | | |
| +Pril | 0,008 | X | | |
| + High-C. | 4,848 | 22,723 | X | |
| +Pril+High-C. | 3,788 | 10,187 | -2,453 | X |

| Incept-Int 60 % WHK | | | | | |
|---------------------|----------|----------|------------|----------|------------------|
| | ohne | +Low-C. | +Middle-C. | +High-C. | +Alfi-C.+High-C. |
| ohne | X | | | | |
| +Low-C. | -1,288 | X | | | |
| +Middle-C. | -1,237 | -0,476 | X | | |
| +High-C. | -1,814 | -1,547 | -1,376 | X | |
| +Alfi-C.+High-C. | -0,475 | 0,172 | 0,389 | 1,482 | X |

| Incept-Int (I) und Alfi-Con (A) | | | | | |
|---------------------------------|---------------|---------------|----------|----------|----------|
| | I 40 % | I 60 % | A 40 % | A 45 % | A 60 % |
| I 40 % | X | | | | |
| I 60 % | -0,170 | X | | | |
| A 40 % | -2,888 | -2,899 | X | | |
| A 45 % | -2,545 | -2,938 | 1,986 | X | |
| A 60 % | -6,858 | -8,037 | 0,327 | -4,474 | X |

| Alfi-Con 45 % | | | | | | |
|---------------|---------------|---------------|--------------|------------|----------|------------|
| | ohne | + FK B | + Stroh | + M.-Stroh | + Späne | + M.-Späne |
| ohne | X | | | | | |
| + FK B | -0,482 | X | | | | |
| + Stroh | -5,785 | -7,039 | X | | | |
| + M.-Stroh | -1,028 | -0,506 | 4,772 | X | | |
| + Späne | -0,033 | 0,846 | 7,147 | 0,871 | X | |
| + M.-Späne | -1,096 | -1,276 | 6,204 | -0,086 | -2,541 | X |

| Rego-Norm 60 % WHK | | |
|--------------------|----------|-----------|
| | ohne | + High-C. |
| ohne | X | |
| + High-C. | 1,253 | X |

| | Incept-Int | | | | | |
|----------|------------|----------|----------------|----------|----------|-------------|
| | | 40% WHK | | 60 % WHK | | |
| | | ohne | Ser. FK B | ohne | + FK B | + Ser. FK B |
| 40 % WHK | ohne | X | | | | |
| | + Ser.FK B | 0,021 | X | | | |
| 60 % WHK | ohne | -1,169 | -5,271 | X | | |
| | + FK B | -1,406 | -10,462 | 1,189 | X | |
| | + Ser.FK B | -0,890 | -5,423 | 1,071 | 0,529 | X |

9.2 Weitere Tabellen zu Benazolin-Ethyl

Tabelle 9.6: Minimum, Maximum und mittlerer Anteil aller in der HPLC nachgewiesenen Metabolite von ^{14}C -Benazolin-Ethyl im CaCl_2 - und Aceton-Extrakt der Böden Alfi-Con, Incept-Int, Molli-High, Molli-Norm und Molli-Low

| | CaCl ₂ -Extrakt (Anteil %) | | | Aceton-Extrakt | | |
|-----------------|---------------------------------------|---------|------------|----------------|---------|------------|
| | Minimum | Maximum | Mittelwert | Minimum | Maximum | Mittelwert |
| Metabolit 1 | 0 | 100 | 25 | 0 | 6 | 0 |
| Metabolit 2 | 0 | 6 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Benazolinsäure | 0 | 100 | 63 | 0 | 28 | 10 |
| Metabolit 3 | 0 | 36 | 11 | 3 | 87 | 70 |
| Metabolit 4 | 0 | 7 | 1 | 0 | 6 | 2 |
| Benazolin-Ethyl | 0 | 0 | 0 | 2 | 68 | 14 |
| Metabolit 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Metabolit 6 | 0 | 7 | 0 | 0 | 15 | 3 |
| Summe | | | 100 | | | 100 |

Tabelle 9.7: Extrahierbare Bodenlösung (Extr. Wasser), ^{14}C -Konzentration in der Bodenlösung (^{14}C -Konz.) und ^{14}C -Gesamt jeweils in % des applizierten ^{14}C -Benazolins bei unterschiedlichen Zentrifugationsgeschwindigkeiten (3500, 6400 und 7600 Umdrehungen in der Minute, $U \cdot \text{min}^{-1}$) in den Böden Alfi-Con, Molli-High und Molli-Low bei 40 % und 60 % WHK ($n = 3$ und Standardabweichung in Klammern)

| Boden | Fraktion $U \cdot \text{min}^{-1}$ | 60 % WHK | | | 40 % WHK | | |
|------------|---------------------------------------|-----------------|------------------------|-------------------------|-----------------|------------------------|-------------------------|
| | | Extr. Wasser | ^{14}C -Konz. | ^{14}C -Gesamt | Extr. Wasser | ^{14}C -Konz. | ^{14}C -Gesamt |
| | | (ml) | (%/100 μl) | (%) | (ml) | (%/100 μl) | (%) |
| Alfi-Con | 3500 | 1,56 (+/- 0,06) | 4,09 (+/- 0,08) | 63,6 (+/- 3,2) | 0,3* | 5,17* | 16,6* |
| | 6400 | 1,04 (+/- 0,02) | 3,36 (+/- 0,07) | 35,1 (+/- 1,4) | 0,23 (+/- 0,32) | 2,43 (+/- 2,12) | 8,6 (+/- 12,9) |
| | 7600 | 0,33 (+/- 0,04) | 3,12 (+/- 0,07) | 10,3 (+/- 0,9) | 0,18 (+/- 0,16) | 3,59 (+/- 0,17) | 6,0 (+/- 0,6) |
| | Rest | 3.3 | 3.12 | 103.0 | 3.71 | 3.59 | 133.2 |
| Molli-High | 3500 | 0,78 (+/- 0,06) | 0,72 (+/- 0,04) | 5,7 (+/- 0,7) | 0,38 (+/- 0,02) | 1,21 (+/- 0,04) | 4,6 (+/- 0,3) |
| | 6400 | 0,64 (+/- 0,02) | 0,52 (+/- 0,03) | 3,3 (+/- 0,3) | 0,50 (+/- 0,05) | 0,90 (+/- 0,01) | 4,5 (+/- 0,4) |
| | 7600 | 0,32 (+/- 0,02) | 0,50 (+/- 0,03) | 1,6 (+/- 0,2) | 0,30 (+/- 0,03) | 0,83 (+/- 0,01) | 2,5 (+/- 0,2) |
| | Rest | 6.1 | 0.50 | 30.5 | 4.72 | 0.83 | 39.2 |
| Molli-Low | 3500 | 0,62 (+/- 0,08) | 0,87 (+/- 0,04) | 5,4 (+/- 0,9) | 0 | - | - |
| | 6400 | 0,58 (+/- 0,03) | 0,58 (+/- 0,02) | 3,3 (+/- 0,3) | 0,23 (+/- 0,02) | 0,41 (+/- 0,07) | 1,0 (+/- 0,1) |
| | 7600 | 0,29 (+/- 0,02) | 0,51 (+/- 0,03) | 1,5 (+/- 0,2) | 0,15 (+/- 0,02) | 0,39 (+/- 0,02) | 0,6 (+/- 0,0) |
| | Rest | 4.3 | 0.51 | 21.9 | 3.44 | 0.39 | 13.4 |

* Extrahiertes Wasser und ^{14}C -Konzentration von nur einer Wiederholung

Tabelle 9.8: Werte für IPC bei unterschiedlichem Wassergehalt in den Böden Alfi-Con, Incept-Int, Molli-High, Molli-Norm und Molli-Low; Mittelwerte ($n = 3$) und Standardabweichungen (in Klammern)

| Boden | 60 % WHK | | 40 % WHK | | pF = 2,5 |
|-------------------|-----------------------|----------------------|------------------------|----------------------|----------------------|
| | B.-Ethyl | B.-Säure | B.-Ethyl | B.-Säure | B.-Säure |
| Alfi-Con | 36,32 ($\pm 0,65$) | 3,71 ($\pm 0,09$) | 56,01 ($\pm 7,47$) | 5,54 ($\pm 0,45$) | 5,54 ($\pm 0,45$) |
| Incept-Int | 60,72 ($\pm 11,14$) | 7,34 ($\pm 0,57$) | 78,06 ($\pm 4,41$) | 4,91 ($\pm 0,56$) | 6,09 ($\pm 0,41$) |
| Molli-High | 101,42 ($\pm 6,33$) | 23,31 ($\pm 1,68$) | 114,60 ($\pm 9,46$) | 18,72 ($\pm 0,08$) | 18,72 ($\pm 0,08$) |
| Molli-Norm | - | - | - | - | 22,98 ($\pm 1,56$) |
| Molli-Low | 127,24 ($\pm 6,27$) | 29,92 ($\pm 1,90$) | 169,82 ($\pm 10,51$) | 65,55 ($\pm 2,25$) | 65,55 ($\pm 2,25$) |

9.3 Ausgewählte Chromatogramme

9.3.1 Ausgewählte Chromatogramme von Benazolin-Ethyl und seiner Metabolite

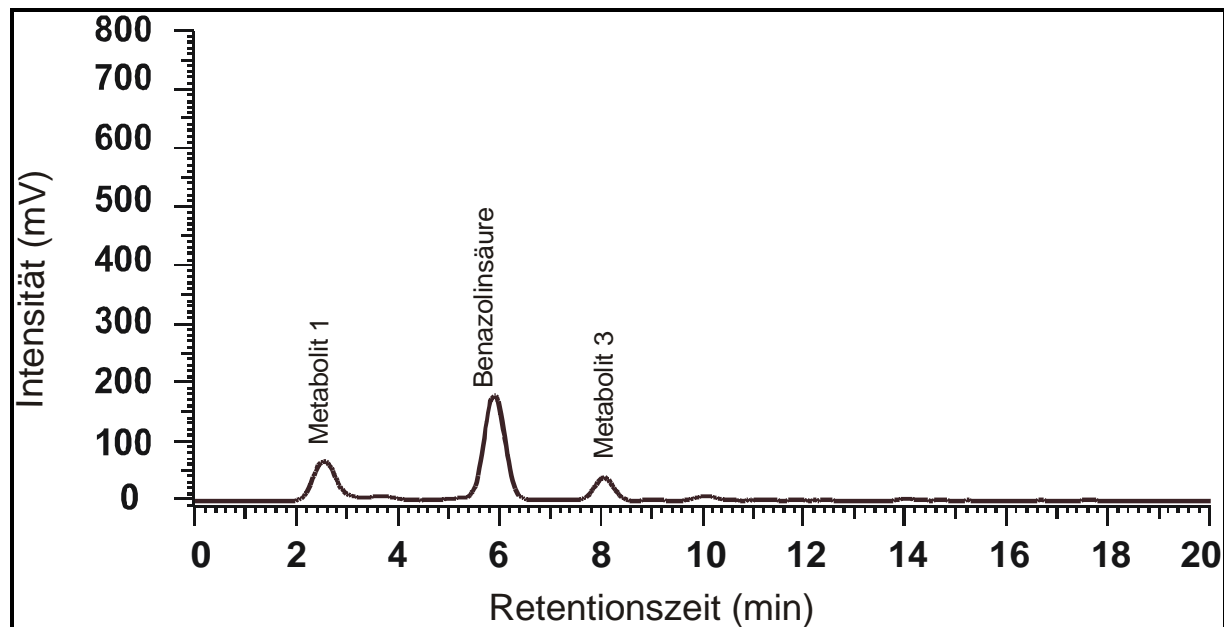


Abbildung 9.1: HPLC-Chromatogramm von ^{14}C -Benazolin-Ethyl und seiner Metabolite im CaCl_2 -Extrakt des Bodens Alfi-Con bei einer Bodenfeuchte von 60 % WHK

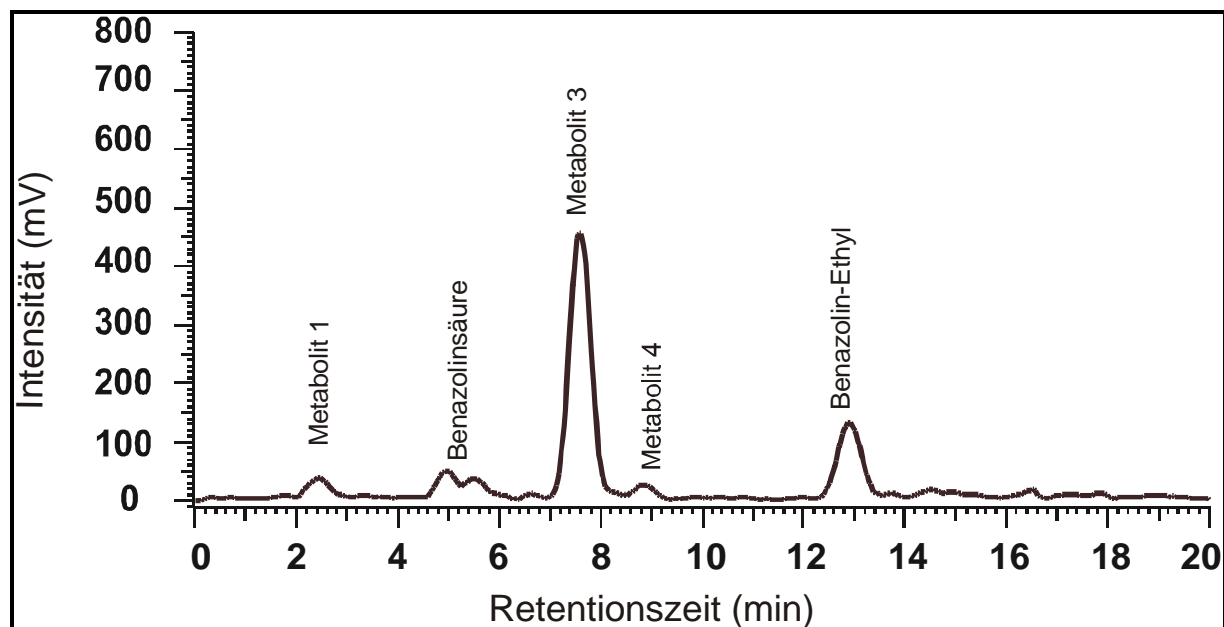


Abbildung 9.2: HPLC-Chromatogramm von ^{14}C -Benazolin-Ethyl und seiner Metabolite im Aceton-Extrakt des Bodens Alfi-Con bei einer Bodenfeuchte von 60 % WHK.

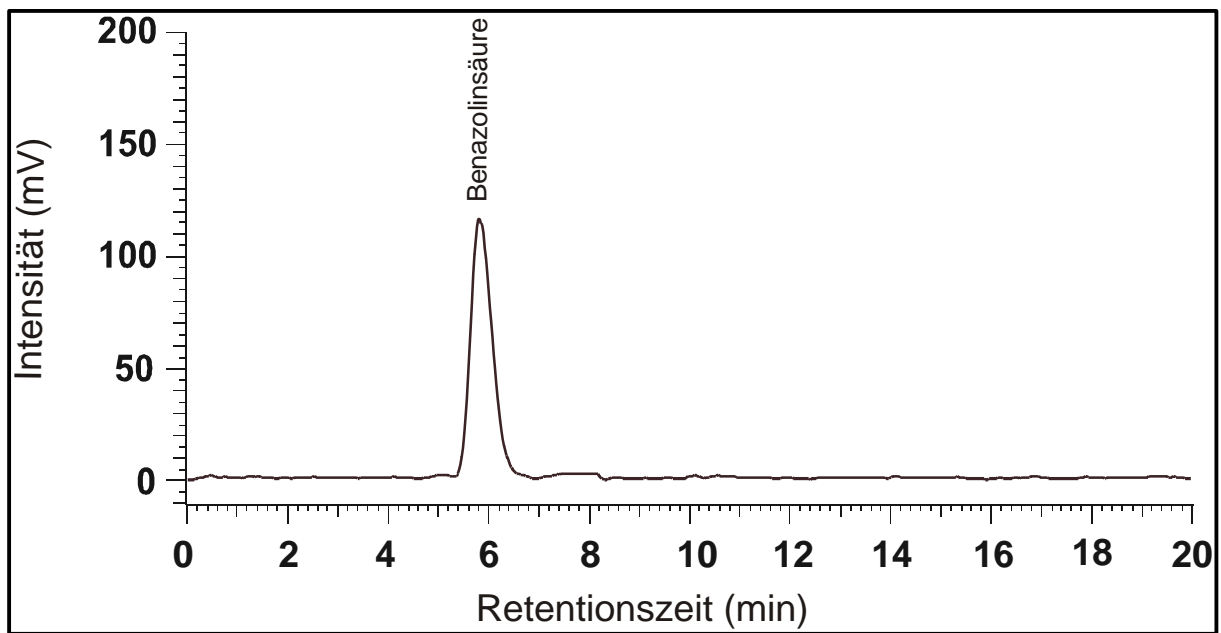


Abbildung 9.3: HPLC-Chromatogramm von ^{14}C -Benzazolin-Ethyl und seiner Metabolite im CaCl_2 -Extrakt des Bodens Mollis-Low bei 40 % WHK

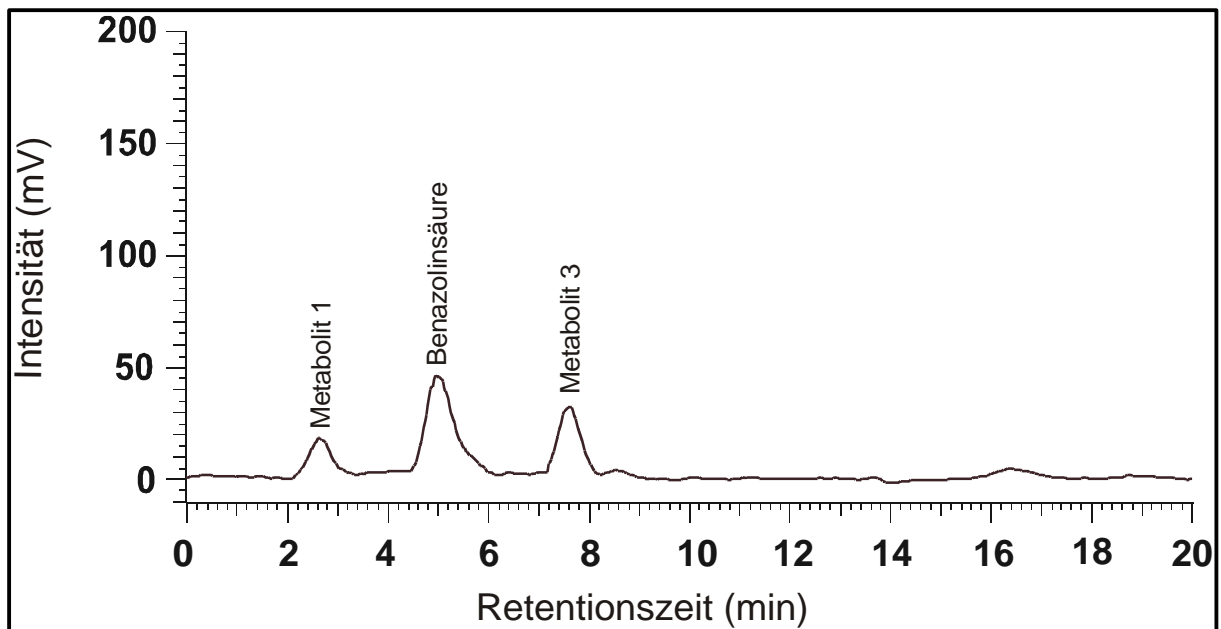


Abbildung 9.4: HPLC-Chromatogramm von ^{14}C -Benzazolin-Ethyl und seiner Metabolite im CaCl_2 -Extrakt des Bodens Incept-Int bei 40 % WHK

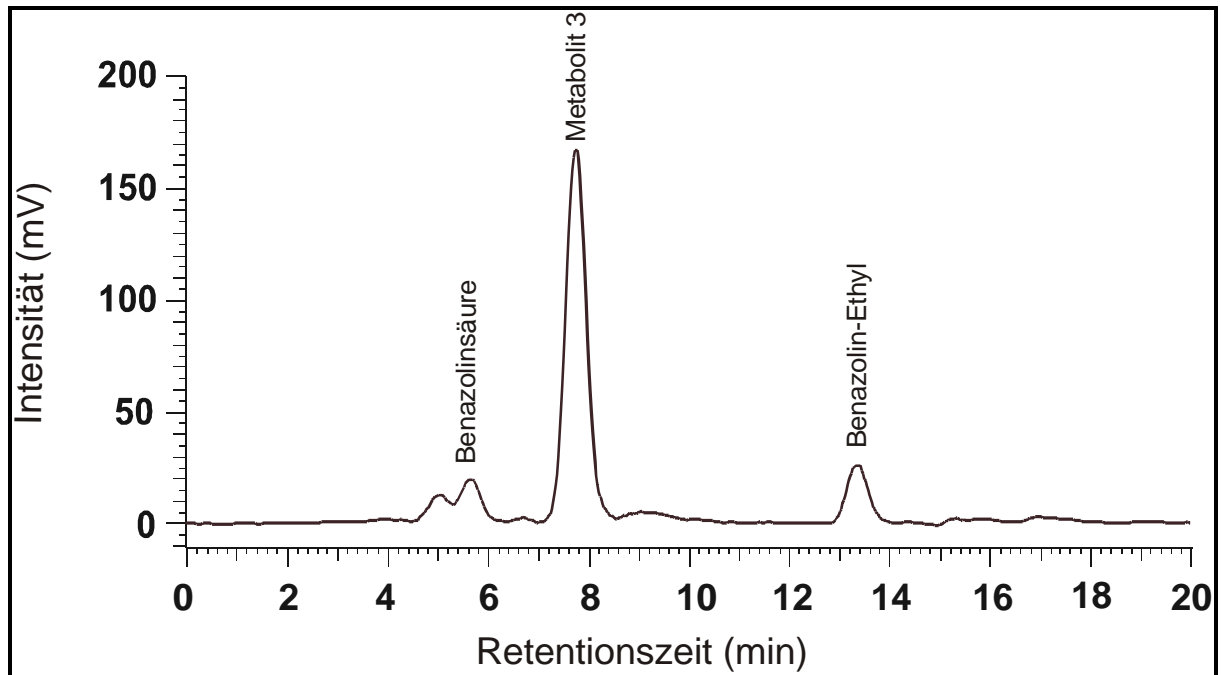


Abbildung 9.5: Chromatogramm des Aceton-Extraktes des Bodens Molli-Low bei 40 % WHK

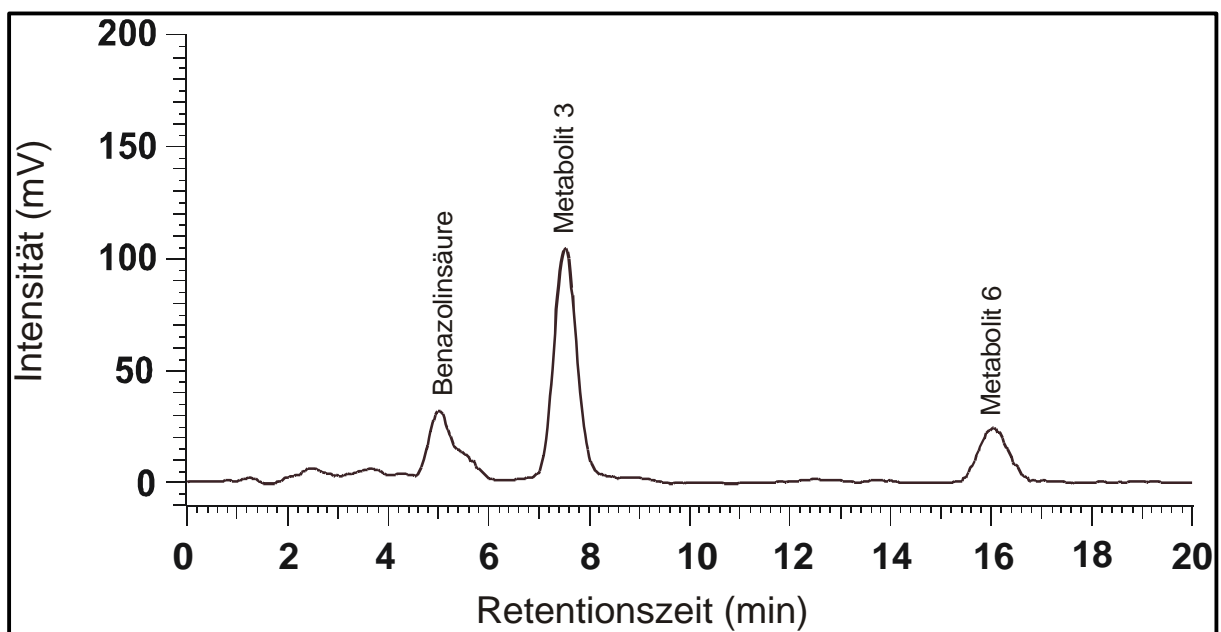
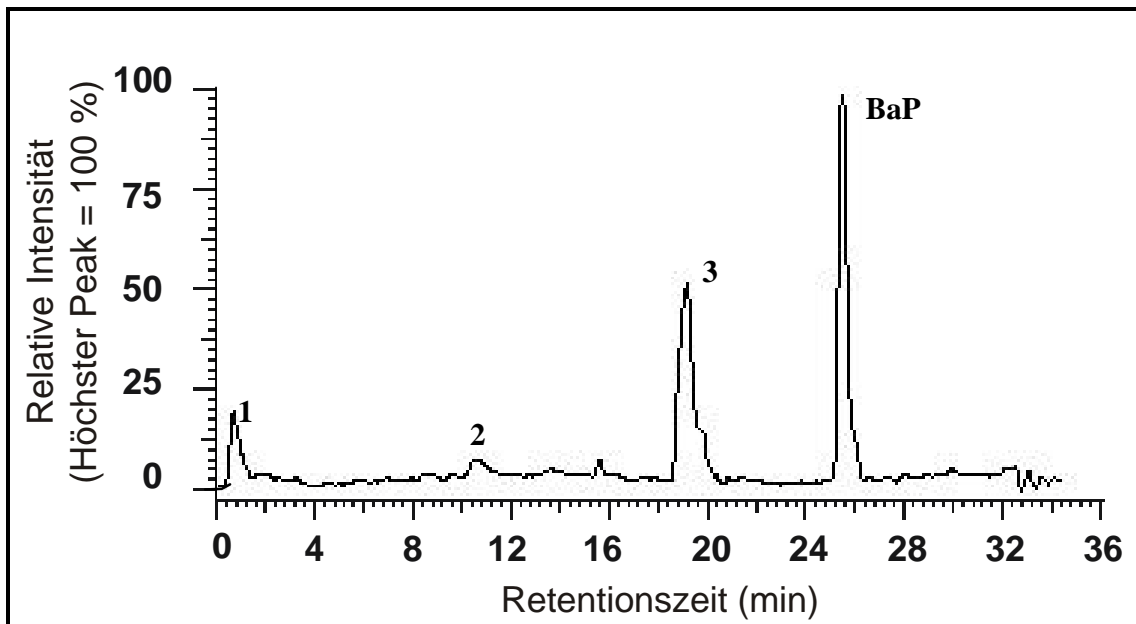
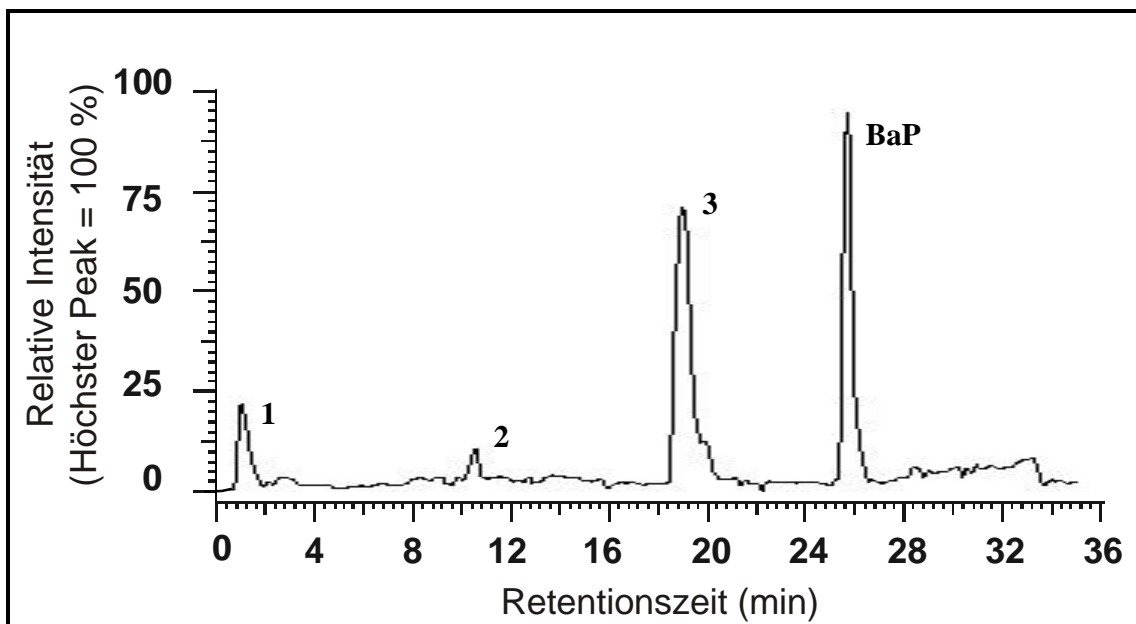


Abbildung 9.6: Chromatogramm des Aceton-Extraktes des Bodens Incept-Int bei 40 % WHK

9.3.2 Ausgewählte Chromatogramme von Benzo(a)pyren und seiner Metabolite



a)



b)

Abbildung 9.7: HPLC-Chromatogramm von ^{14}C -Benzo(a)pyren (BaP) und seiner Metabolite (1 = unbek. A; 2 = BaP-7,8-dihydrodiol; 3 = unbek. C) im Extrakt des Bodens Incept-Int ohne (a) bzw. mit (b) Steuerung mit Flüssigkultur „B“ bei einer Bodenfeuchte von 60 % WHK

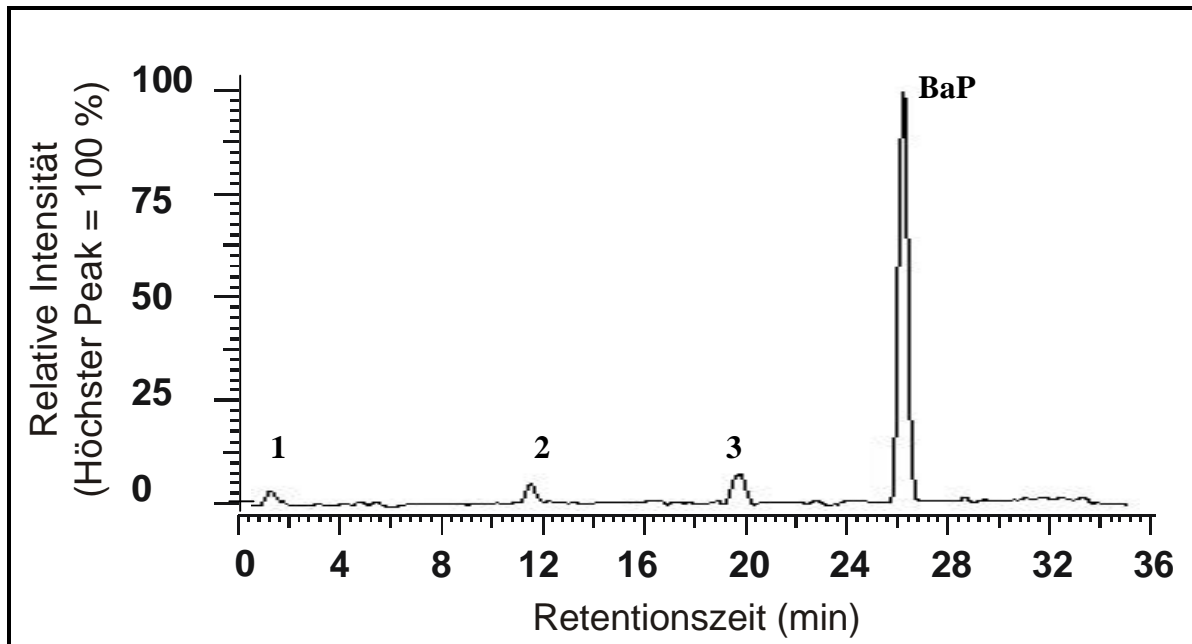


Abbildung 9.8: HPLC-Chromatogramm von ^{14}C -Benzo(a)pyren (BaP) und seiner Metabolite (1 = unbek. A; 2 = BaP-7,8-dihydrodiol; 3 = unbek. C) im Extrakt des Bodens Molli-Norm bei einer Bodenfeuchte von 40 % WHK

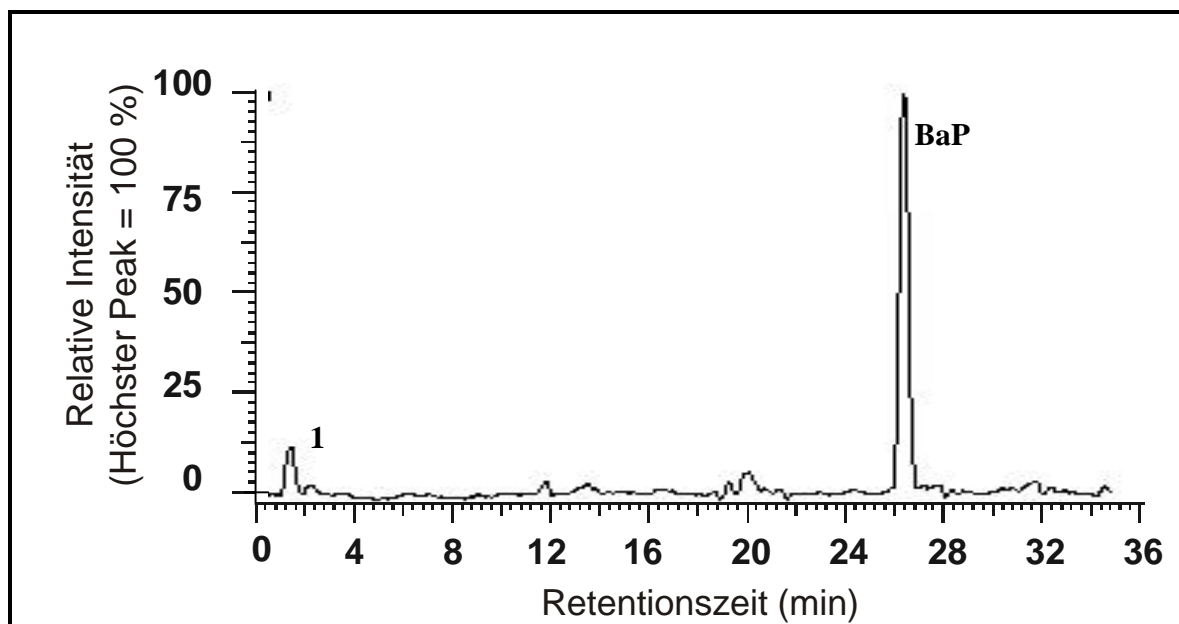


Abbildung 9.9: HPLC-Chromatogramm von ^{14}C -Benzo(a)pyren (BaP) und seiner Metabolite (1 = unbek. A; 2 = unbek. C) im Extrakt des Bodens Alfi-Con bei einer Bodenfeuchte von 40 % WHK

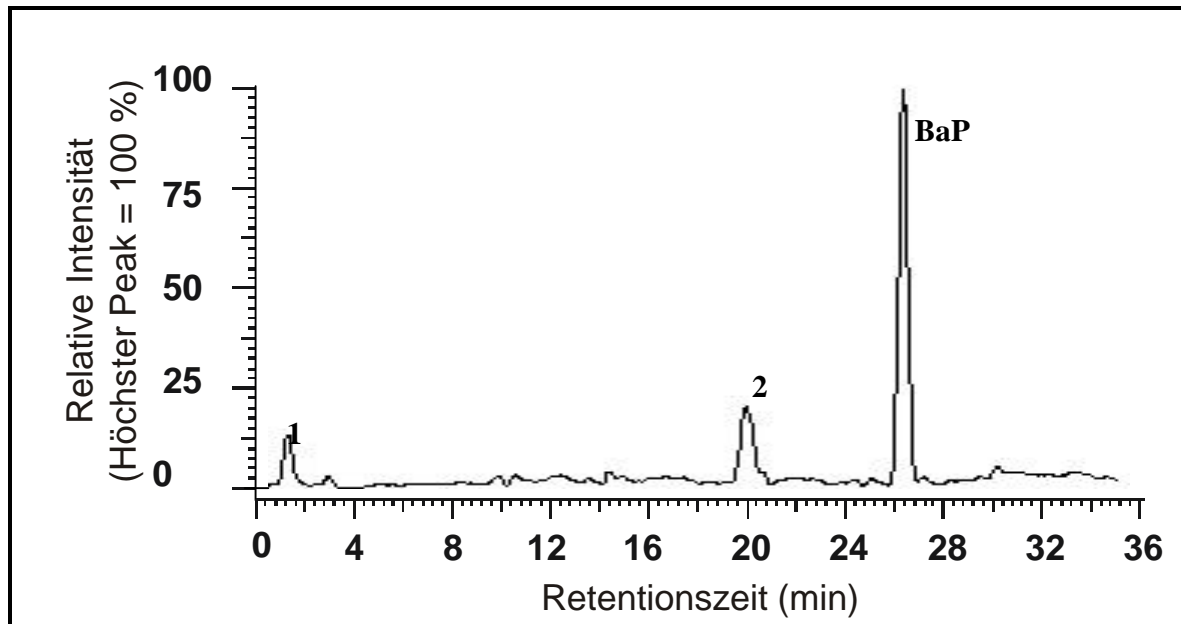


Abbildung 9.10: HPLC-Chromatogramm von ^{14}C -Benzo(a)pyren (BaP) und seiner Metabolite (1 = unbek. A; 2 = unbek. C) im Extrakt des Bodens Incept-Int bei einer Bodenfeuchte von 40 % WHK

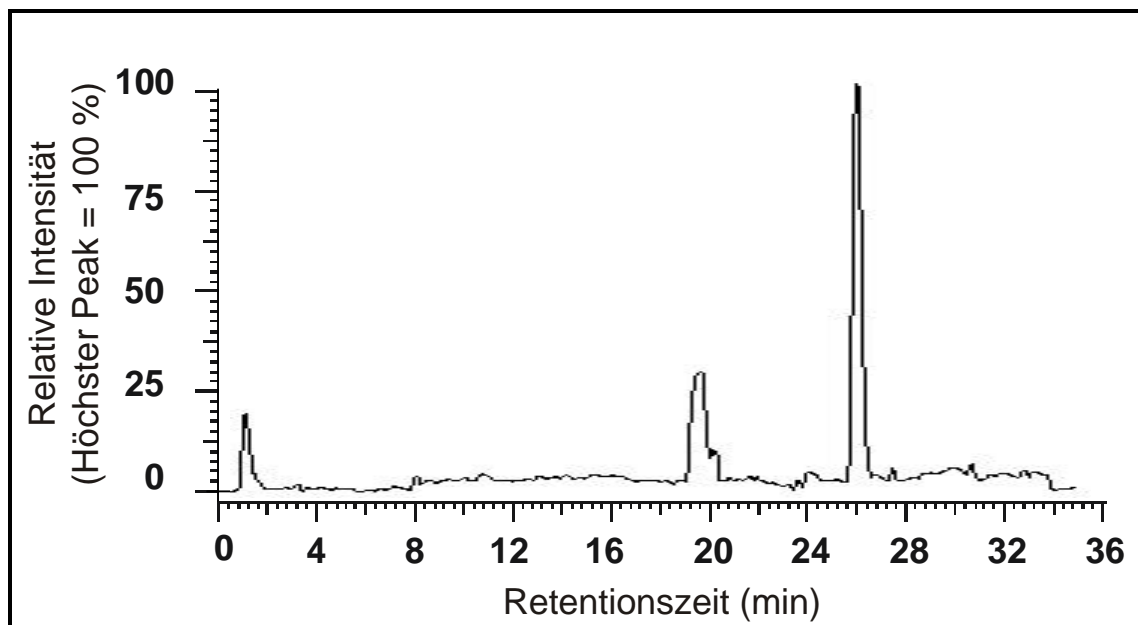


Abbildung 9.11: HPLC-Chromatogramm von ^{14}C -Benzo(a)pyren (BaP) und seiner Metabolite (1 = unbek. A; 2 = unbek. C) im Extrakt des Bodens Incept-Int bei einer Bodenfeuchte von 60 % WHK und Steuerung mit Bodeninokulum High-Cont

