

Lehrstuhl für Ökologische Chemie und Umweltanalytik
der Technischen Universität München

**Reinigung sprengstoffbelasteter Wässer mit Hilfe einer
Pflanzenkläranlage**

Ina Hoffmann

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. rer. nat. J. Pfadenhauer

Prüfer der Dissertation:

1. Univ. Prof. Dr. rer. nat. Dr. h. c. (RO) A. Kettrup

2. Univ.-Prof. Dr. rer. nat. Dr. agr. habil. H. Parlar

Die Dissertation wurde am 30.04.2002 bei der Technischen Universität München eingereicht und
durch die Fakultät für Wissenschaftszentrum Weihenstephan für Ernährung, Landnutzung und
Umwelt am 28.08.2002 angenommen.

Danksagung

Mein Dank gilt Herrn Prof. Kettrup für die interessante und aktuelle Themenstellung und das stetige Interesse am Fortkommen dieser Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt weiterhin der Firma Umweltschutz Nord GmbH für das entgegengebrachte Vertrauen, die stete Unterstützung und die finanzielle Sicherstellung der Arbeit. Besonders danke ich in diesem Rahmen Herrn U. Walter.

Dr. T. Machate danke ich für die Unterstützung bei der Arbeit, die Diskussionsbereitschaft und das entgegengebrachte Interesse.

Herrn Prof. Parlar danke ich für die freundliche Übernahme des Koreferates.

Besonders möchte ich mich bei Jutta Ruberg bedanken, die mir im Labor tatkräftig zur Seite stand und immer an mich und meine Arbeit glaubte. Besten Dank auch an Xuemin Xiang für die gemeinsame Zeit an der Pflanzenkläranlage, die vielen fachlichen Diskussionen und die immerwährende Hilfsbereitschaft. Ebenfalls möchte ich Dr. Oliver Eikenberg für die Unterstützung bei den HPLC-Messungen danken.

Mein Dank gilt auch Sören Hartmann, Gabi Sigl, Wolfgang Jaser und Sandra Theimer, die durch die Anfertigung von Diplomarbeit und durch Praktika großes Interesse und Spaß an dieser Arbeit gezeigt haben.

Herrn Behecti, Frau Grande und Katja Popp danke ich für die Durchführung der ökotoxikologischen Untersuchungen. Speziellen Dank auch an Herrn Dr. L. Vollner für die Einweisung ins radioaktive Arbeiten und für die Aufreinigung der ^{14}C [TNT]-Standards. Den Kollegen aus dem Institut für Bodenökologie danke ich für die Anfertigung der TOC-Messungen. Ich möchte mich in diesem Rahmen auch bei der Betriebstechnik der GSF für die unkomplizierte Hilfe bei technischen Problemen bedanken.

Danken möchte ich weiterhin all denen, die mir mit hilfreichen Tipps und wertvollen Diskussionen zur Seite standen. Im Besonderen sind dies Dr. Andrea Hofmaier, Dr. Gaby Severin, Martin Blumenstock, Stefan Achatz, Kristian Fried und Dr. Christian Klimm. Weiterhin danke ich meinen anderen Mitdoktoranden Hannes Hofbauer, Friederike Jäckle, Michael Schneider, Dr. Konstanze Ebert, Dr. Oliver Klobasa, Alexandros Papaderos und Karin Doods für die heitere und nette Atmosphäre. Den Physikern, besonders Fabian Mühlberger, möchte für das stets offene Ohr bei Problemen und die zum Teil kuriose Hilfe bei kleinen technischen Pannen danken.

DANKSAGUNG

Es ist mir ein besonderes Anliegen, auch meinen Eltern herzlich für das entgegengebrachte Vertrauen und die Hilfe zu danken. Und Rüdiger danke ich von ganzem Herzen für die intensive Unterstützung und das große Verständnis.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abkürzungsverzeichnis	IV
1 Einleitung und Problemstellung	1
2 Hintergrund	3
2.1 Rüstungsaltposten	3
2.1.1 Altposten aus der TNT-Produktion	3
2.1.2 Umweltverhalten von TNT und Nitroaromaten aus der TNT-Produktion	4
2.1.3 Gefährdungspotential von TNT und Nitroaromaten aus der TNT-Produktion	7
2.1.4 Zusammenfassung	9
2.2 Sanierungsmethoden für sprengstoffbelastete Grundwässer und Böden	10
2.2.1 Abiotische Sanierungsverfahren	10
2.2.1.1 Bodenextraktion	10
2.2.1.2 Thermische Verfahren	11
2.2.1.3 Physikalische Verfahren (Adsorption)	11
2.2.1.4 Chemische Verfahren	11
2.2.2 Biotische Sanierungsverfahren	13
2.2.2.1 Abbau durch Mikroorganismen	15
2.2.2.2 Abbau durch Pilze	16
2.2.2.3 Abbau durch Pflanzen	17
2.2.2.4 Bioreaktorverfahren	17
2.2.2.5 Kompostierungsverfahren	17
2.2.2.6 Dekontaminierungsverfahren mit Pilzen	18
2.2.2.7 Dekontaminierungsverfahren mit Pflanzen	18
2.2.3 Zusammenfassung	18
2.3 Pflanzenkläranlagen	20
2.3.1 Funktionsprinzip	20
2.3.2 Verfahrensprinzip	21
2.3.3 Einsatzmöglichkeiten	22
2.3.4 Zusammenfassung	23

3	Material und Methoden	24
3.1	Geräte und Materialien	24
3.2	Pilotanlage 'Pflanzenkläranlage'	27
3.3	Untersuchungen an der Pflanzenkläranlage	31
3.3.1	Wasserproben	31
3.3.2	Lavaproben	37
3.3.3	Pflanzenproben	41
3.4	Versuchsanlage 'Modellanlage'	47
3.5	Untersuchungen an der Modellanlage	54
3.5.1	Bestimmung der Durchgangskurven	54
3.5.2	Versuche mit nicht markiertem TNT	56
3.5.3	Versuche mit [¹⁴ C]TNT	59
3.5.3.1	Wasserproben	61
3.5.3.2	Gasphasenproben	67
3.5.3.3	Lavaproben	69
3.5.3.4	Wurzelproben	72
3.5.3.5	Pflanzenproben	72
3.5.3.6	Untersuchung der Schläuche	73
4	Ergebnisse und Diskussion	74
4.1	Anwendungsbezogene Untersuchungen an der Pflanzenkläranlage	74
4.1.1	Einfluß der Fließstrecke auf die Eliminierung von TNT (Vegetationsperiode 1998 und Vegetationsperiode 1999)	74
4.1.2	Einfluss der Bepflanzung auf die Eliminierung von TNT	77
4.1.3	Einfluss der Temperatur auf die Eliminierung von TNT	82
4.1.4	Einfluß der Wasserparameter auf die Eliminierung von TNT und Bestimmung der Wasserbestandteile	88
4.1.4.1	Wassertemperatur, Redoxpotential und Sauerstoffgehalt	88
4.1.4.2	Nitritgehalt	99
4.1.5	Zusammenfassung	102

4.2 Bildung und Nachweis von Metaboliten an der Pflanzenkläranlage	104
4.2.1 Bildung von TNT-Metaboliten	104
4.2.2 Einfluß der Bepflanzung auf die Bildung von TNT-Metaboliten	108
4.2.3 Einfluss der Temperatur auf die Bildung von TNT-Metaboliten	113
4.2.4 Adsorptionsuntersuchungen an Lava aus der Pflanzenkläranlage	116
4.2.5 Untersuchungen von Adsorption und Aufnahme durch Pflanzen an der Pflanzenkläranlage	123
4.2.6 Zusammenfassung	124
4.3 Untersuchungen am Modellsystem	125
4.3.1 Bestimmung der Durchgangskurven an der Modellanlage	127
4.3.2 Untersuchungen mit nicht markiertem TNT	128
4.3.2.1 Einfachdosierung von nicht markiertem TNT	129
4.3.2.2 Einfachdosierung von nicht markiertem TNT in Gegenwart einer zusätzlichen Kohlenstoffquelle (Glucose)	133
4.3.2.3 Vergleichende Betrachtungen der Versuche mit nicht markiertem TNT	136
4.3.3 Untersuchungen mit [¹⁴ C]TNT	144
4.3.3.1 Mehrfachdosierung von [¹⁴ C]TNT	145
4.3.3.2 Einfachdosierung von [¹⁴ C]TNT	153
4.3.3.3 Einfachdosierung von [¹⁴ C]TNT in Gegenwart einer zusätzlichen Kohlenstoffquelle (Glucose)	158
4.3.3.4 Vergleichende Betrachtung der Versuche mit [¹⁴ C]TNT	161
4.3.4 Zusammenfassung	163
4.4 Untersuchungen mit anderen Nitroaromaten an der Pflanzenkläranlage	164
4.4.1 Eliminierung der Nitroaromaten	164
4.4.2 Zusammenfassung	166
5 Zusammenfassung und Ausblick	167
6 Literaturverzeichnis	170
Veröffentlichungen	i
Erklärung	ii
Lebenslauf	iii

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzungen

Abb.	Abbildung
Bq	<i>Becquerel</i> (SI-Einheit für radioaktiven Zerfall pro Sekunde)
DAD	Diodenarraydetektor
dest. Wasser (dest. H ₂ O)	Destilliertes Wasser
DFG	Deutsche Forschungsgemeinschaft
dpm	<i>disintegrations per minute</i>
EPA	<i>Environmental Protection Agency</i> (Umweltbehörde der USA)
Gl.	Gleichung
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i> (Hochleistungsflüssigchromatographie)
Kap.	Kapitel
K _{oc}	Verteilungskoeffizient (Boden/Wasser)
k.A.	keine Angaben
LD ₅₀	Tödliche Dosis für 50 % der Versuchstiere
LSC	<i>Liquid Scintillation Counter</i> (Flüssigszintillationszähler)
n.g.	nicht gemessen
NMR	<i>Nuclear Magnetic Resonance</i> (Kernmagnetische Resonanz)
NWG	Nachweisgrenze
RP	<i>Reversed Phase</i> (Umkehrphase)
rpm	<i>routes per minutes</i>
SPE	<i>Solid Phase Extraction</i> (Festphasenextraktion)
STABW	Standardabweichung
UV	Ultraviolett
UV/VIS	<i>Ultraviolet/visible</i> (ultraviolett/sichtbar)
TLC	<i>Thin Layer Chromatography</i> (Dünnschichtchromatographie)
TOC	<i>Total Organic Carbon</i> (Gesamter organischer Kohlenstoff)
TS	Trockensubstanz
v/v	Volumen pro Volumen
w/v	Masse pro Volumen

Substanzen

ADNT	Amino-Dinitrotoluole (2-Amino-4,6-Dinitrotoluol, 4-Amino-2,6-Dinitrotoluol)
AMP	Adenosin-Monophosphat
ATP	Adenosin-Triphosphat
2-A-4,6-DNT	2-Amino-4,6-Dinitrotoluol
4-A-2,6-DNT	4-Amino-2,6-Dinitrotoluol
4-A-3,5-DNT	4-Amino-3,5-Dinitrotoluol
2-A-6-NT	2-Amino-6-Nitrotoluol
DAHAT	Diamino-Hydroxylamino-Toluole (2,6-Diamino-4-Hydroxylaminotoluol, 2,4-Diamino-6-Hydroxylaminotoluol)
DANT	Diamino-Ninitrotoluole (2,4-Diamino-6-Nitrotoluol, 2,6-Diamino-4-Nitrotoluol)
2,4-DA-6-NT	2,4-Diamino-6-Nitrotoluol
2,6-DA-4-NT	2,6-Diamino-4-Nitrotoluol
2,4-DAT	2,4-Diamino-Toluol
2,4-DHA-NT	2,4-Dihydroxylamino-Nitrotoluol
DNT	Dinitrotoluole (2,6-Dinitrotoluol, 2,4-Dinitrotoluol)
2,6-DNT	2,6-Dinitrotoluol
2,4-DNT	2,4-Dinitrotoluol
EMME	Ethylenglykolmonomethylether
HADNT	Hydroxylamino-Dinitrotoluole (2-Hydroxylamino-4,6-Dinitrotoluol, 4-Hydroxylamino-2,6-Dinitrotoluol)
2-HA-4,6-DNT	2-Hydroxylamino-4,6-Dinitrotoluol
4-HA-2,6-DNT	4-Hydroxylamino-2,6-Dinitrotoluol
HS-CoA	Coenzym A
HMQ	2-Hydroxy-5-Methyl-Benzochinon
HMX	Oktahydro-1,3,5,7-Tetranitro-1,3,5,7-Tetrazin (Octogen)
MeOH	Methanol
MNC	4-Methyl-5-Nitro-Catechol
MnP	Mangan-Peroxidase
NA	Nitroaromaten
NADH / NAD ⁺	Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid
NADPH / NADP ⁺	Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat
NB	Nitrobenzol

NT	Nitrotoluole (2-Nitrotoluol, 3-Nitrotoluol, 4-Nitrotoluol)
2-NT	2-Nitrotoluol
3-NT	3-Nitrotoluol
4-NT	4-Nitrotoluol
PP _i	anorganisches Phosphat
RDX	Hexahydro-1,3,5-Trinitro-1,3,5-Triazin (Hexogen, <i>Royal Demolition Explosive [RDX]</i>)
TAT	2,4,6-Triaminotoluol
Tetryl	Methyl-2,4,6-Trinitrophenylnitramin
THT	2,4,5-Trihydroxytoluol
TNB	1,3,5-Trinitrobenzol
TNT	2,4,6-Trinitrotoluol

1 Einleitung und Problemstellung

Altlasten stellen ein erhebliches Risiko für Mensch und Umwelt dar, da sie toxisches, mutagenes bzw. kanzerogenes Potential besitzen [1,2]. Aufgrund dieser bestehenden Gefahren ist es notwendig, Altlasten zu beseitigen.

Eine besondere Form von Altlasten sind Rüstungsalblasten, deren Entstehung eng mit ehemaligen Munitionsproduktionsanlagen verbunden sind [3]. Durch unsachgemäßen Umgang gelangten Sprengstoffe in die Umwelt. Ein besonders relevanter Schadstoff ist hierbei 2,4,6-Trinitrotoluol (TNT), der am häufigsten verwendete Sprengstoff [4]. Das hohe Gefährdungspotential ist durch die toxische, mutagene und kanzerogene Wirkung von TNT gegeben [1,5-11].

Innerhalb der Rüstungsalblasten weist der Boden die höchste Belastung durch den Eintrag von Sprengstoffen auf [1]. Durch Auswaschungsprozesse ist das Grundwasser ebenfalls kontaminiert. Belastete Grundwässer sind besonders problematisch, da dieses Medium ein ideales Transportmittel für Kontaminanten darstellt. Damit ist eine potentielle Gefährdung des Trinkwassers gegeben [1]. Aus diesem Aspekt leitet sich ein dringender Sanierungsbedarf von kontaminierten Grundwässern ab.

Zur Dekontamination von belasteten Böden wurden bereits Sanierungsverfahren entwickelt. Durch den Einsatz solcher Verfahren konnten kontaminierte Böden an einer Vielzahl von Altlastenstandorten gereinigt werden [12-18]. Aus den oben genannten Gründen ist es nun erforderlich, solche Sanierungsverfahren auch für kontaminierte Grundwässer zu entwickeln und schnellstmöglich zum Einsatz zu bringen. Das Ziel besteht dabei in der Entwicklung von Methoden zur vollständigen Entfernung der Kontaminanten aus dem Wasser.

Eine Möglichkeit für die Grundwassersanierung ist die Adsorption der Schadstoffe an Aktivkohle [19]. Dieses Verfahren stellt jedoch nur eine Verlagerung und keine Beseitigung des Schadstoffes dar. Sinnvoller sind daher Verfahren, welche die Schadstoffe in nichttoxische Abbauprodukte umwandeln.

Ein Ansatz zur Grundwassersanierung ist die Anwendung bekannter mikrobieller Verfahren aus der Bodenreinigung. Bei Bodensanierungsverfahren wird TNT durch Mikroorganismen abgebaut [13-18]. Es entstehen Abbauprodukte, die irreversibel an die Bodenmatrix gebunden werden [12,20,21]. Ökotoxikologische Untersuchungen haben ergeben, dass diese sanierten Böden ein stark herabgesetztes Gefährdungspotential aufweisen [22]. Dieses Sanierungsprinzip ist auf die Grundwasserreinigung übertragbar. Dazu können Pflanzenkläranlagen eingesetzt werden. Eine Pflanzenkläranlage besteht aus bepflanzten Becken, durch die das aus dem Untergrund geförderte kontaminierte Wasser geleitet wird. Dabei stellt die Bepflanzung einen günstigen Lebensraum für die Mikroorganismen dar und unterstützt damit den mikrobiellen Abbau des Schadstoffes [23]. Pflanzenkläranlagen sind besonders vorteilhaft, da sie geringe Betriebskosten aufweisen, einen geringen Wartungsaufwand besitzen und leicht zu bedienen sind [24].

Pflanzenkläranlagen wurden in der Vergangenheit bereits zur Sanierung von TNT-belasteten Wässern eingesetzt [25-27]. Es wurden dazu Studien der mikrobiologischen und molekularen Grundlagen des Sanierungsverfahrens durchgeführt. Bei diesen Untersuchungen standen

hauptsächlich Fragen der Aufnahme von TNT in die Pflanzen und die mikrobiologischen sowie molekularen Grundlagen des Schadstoffabbaus im Mittelpunkt. Aus den erhaltenen Erkenntnissen konnten jedoch keine systematischen Folgerungen für den Einsatz von Pflanzenkläranlagen für die Sanierung sprengstoffbelasteter Wässer abgeleitet werden, da jeweils nur Teilaspekte der Sanierungsverfahren an zum Teil völlig unterschiedlichen Anlagen untersucht worden sind. Daraus leitet sich der Bedarf nach einer umfassenden Studie ab, welche die Leistungsaspekte und die molekularen Grundlagen der Sanierung mit Pflanzenkläranlagen an einem realen System betrachtet.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit bestand darin, eine umfassende Studie für die Nutzung einer Pflanzenkläranlage zur Sanierung von TNT-belasteten Wässern durchzuführen. Zum Einsatz kam dabei eine Pilotanlage, die potentiell an einem realen Altlastenstandort verwendet werden kann. Im Rahmen der Arbeit wurden verschiedene Aspekte der Sanierung mit einer Pflanzenkläranlage betrachtet. Dies waren im ersten Teil Untersuchungen zur Leistungsfähigkeit der Pflanzenkläranlage, in der die jahreszeitlichen Einflüsse sowie Effekte der Bepflanzung studiert wurden. Im zweiten Teil wurden Untersuchungen zum Abbauweg und Verbleib des Schadstoffes in der Pflanzenkläranlage durchgeführt. In einer Modellanlage mit einem radioaktiven *Tracer* wurde im dritten Teil der Arbeit der Verbleib des Schadstoffes bilanziert und quantifiziert. Um die Leistungsfähigkeit der Sanierungsmethode auch für chemisch verwandte Kontaminanten (Nitroaromaten) nachzuweisen, wurden darüber hinaus vergleichende Studien mit anderen ökotoxikologisch relevanten Nitroaromaten durchgeführt.

Im Rahmen der Arbeit sollten Erkenntnisse gewonnen werden, die direkt für den Einsatz der Pflanzenkläranlage für Sanierungszwecke genutzt werden können. Der Schwerpunkt lag daher auf anwendungsorientierten Untersuchungen, die einerseits die praxisrelevanten Parameter der Anlage und andererseits den Verbleib der Schadstoffe in der Anlage zum Inhalt hatten.

2 Hintergrund

2.1 Rüstungsaltslasten

Unter Altlasten werden Altstandorte bzw. Altablagerungen verstanden, von denen nachgewiesenermaßen eine Gefahr für die öffentliche Sicherheit und Ordnung ausgeht [2]. Dies schließt die direkte Gefährdung von Mensch und Tier oder der natürlichen Lebensgrundlagen ein.

Eine Sonderform von Altlasten sind militärisch bedingte Altlasten. Zu dieser Kategorie werden alle Verdachtsflächen gezählt, durch die ein Risiko für Mensch und/oder Umwelt aufgrund militärischer Einwirkungen jeglicher Art besteht [1]. Diese werden weiterhin unterteilt in militärtechnische Altlasten und Rüstungsaltslasten [3]. Da für Altlasten und somit auch für militärisch bedingte Altlasten keine einheitliche gesetzliche Definition existiert, ist auch in der Fachliteratur keine genaue Abgrenzung zwischen diesen beiden Gruppen zu finden. Diese zusätzliche Einteilung resultiert eher aus rechtlichen Gründen als aus praktischen Erwägungen für die Sanierung.

Ein Unterscheidungskriterium zwischen Rüstungsaltslasten und militärtechnischen Altlasten besteht in der zeitlichen Festlegung der Schadensursache. So liegt bei Rüstungsaltslasten der Zeitpunkt der Verursachung im Jahre 1945 und früher, während militärtechnische Altlasten auf Aktivitäten von Streitkräften nach 1945 zurückzuführen sind. Ein anderer Definitionsansatz basiert auf einer stofforientierten Zuordnung. So werden den militärtechnischen Altlasten alle Schadensfälle, die auf eine unsachgemäße Herstellung, Entsorgung, Lagerung bzw. einen unsachgemäßen Umgang mit Militärtechnik und militärischer Ausrüstung zurückzuführen sind, zugeordnet. Unter Rüstungsaltslasten versteht man danach alle Boden-, Wasser- und Luftverunreinigungen durch Chemikalien aus konventionellen und chemischen Kampfstoffen [1].

2.1.1 Altlasten aus der TNT-Produktion

Ausgehend von der stofforientierten Einteilung sind Rüstungsaltslasten demnach eng mit der Herstellung und dem Umgang von Kampfstoffen verbunden. Dabei umfaßt das Schadstoffinventar konventionelle Munition und Explosivstoffe, chemische Kampfstoffe, Nebel- und Brandmittel, Phytogifte, Entgiftungsmittel sowie radioaktive Stoffe [1].

Von besonderem Interesse sind aufgrund des großen Produktionsumfanges die Rüstungsaltslasten, die durch die Herstellung von konventioneller Munition und Explosivstoffen sowie mit dessen Umgang entstanden sind. Die mengenmäßig bedeutendste Rolle spielt in dieser Kategorie der Sprengstoff TNT. So wurden während des Zweiten Weltkrieges von insgesamt 1,66 Millionen Tonnen Explosivstoffe allein 800 000 Tonnen TNT hergestellt [4].

TNT fand als militärischer Explosivstoff in Verbindung mit Initialsprengstoffen eine sehr breite Anwendung aufgrund seiner guten Handhabungssicherheit und Stossunempfindlichkeit. TNT avancierte zum meist hergestellten Sprengstoff, da es sich infolge seines niedrigen

Schmelzpunktes (80,6 °C) mit Wasserdampf schmelzen und gefahrlos vergießen sowie zu Presskörpern verformen lässt [28].

TNT wird durch eine stufenweise Nitrierung von Toluol aus einem Gemisch von Schwefelsäure und Salpetersäure hergestellt. Zur Entfernung von unerwünschten Isomeren und Nebenprodukten werden die Reaktionslösungen der Zwischenstufen und des Endproduktes TNT jeweils mehrfach mit Wasser gewaschen. Das hochreine TNT wird durch zusätzliches Waschen mit einer Sulfitlösung aufgereinigt [29].

Der größte Anteil der mit TNT verunreinigten Rüstungsaltslasten stammt aus der Zeit des Zweiten Weltkrieges [4]. Das im TNT-Herstellungsprozess anfallende hochbelastete Abwasser wurde nur unzureichend aufbereitet, vorwiegend durch Abscheidung von Feststoffen und Neutralisation mit Ätzkalk. Das Abwasser wurde im allgemeinen in Vorfluter geleitet, auf dem Werksgelände versickert oder in Schluckbrunnen verpreßt. Die festen Abfälle und der entstandene Neutralisationsschlamm wurden auf meist ungesicherten Halden deponiert. Weitere Kontaminationen der Umwelt mit TNT und dessen Zwischenprodukten bei der Herstellung ergaben sich durch folgende Ursachen [1,4,30]:

- undichte Verbindungs- und Abwasserleitungen
- Austreten von TNT-haltigen Stäuben beim weiteren Verarbeiten des Sprengstoffes
- Verbrennen von Sprengstoffabfällen
- Zerstörung von Produktionsanlagen durch Unfälle und Bombardierungen
- Delaborieren und Sprengen der Produktionsanlagen nach Kriegsende

Die Hauptkontaminationen von Rüstungsaltslasten bestehen somit aus TNT und anderen herstellungsbedingt auftretenden Nitroaromaten, letztere sind hauptsächlich Mono- (NT) bzw. Dinitrotoluole (DNT).

Sprengstoffproduktionsanlagen wurden aufgrund des herstellungsbedingten Wasserbedarfs an wasserreichen Standorten errichtet. Durch die dort existierenden oberflächennahen Grundwässer kam es zu einer schnellen Auswaschung der Schadstoffe in das Grundwasser. Weiterhin wurde aus Sicherheitsgründen weitläufig in ländlichen Gebieten gebaut, was großflächige Verunreinigungen zur Folge hatte [4]. Die Konzentrationsverhältnisse in einem realen Grundwasser, wie z.B. bei der Rüstungsaltslast „Werk Tanne“ vorgefunden, liegen bei ca. 1,7 mg/l für TNT [31].

2.1.2 Umweltverhalten von TNT und Nitroaromaten aus der TNT-Produktion

Das Umweltverhalten von TNT und den herstellungsbedingt vorhandenen Nitroaromaten wird durch die physikalisch-chemischen Eigenschaften und die biologische Abbaubarkeit der Stoffe bestimmt. Durch diese Eigenschaften werden die Ausbreitungswege und die Persistenz der Schadstoffe gekennzeichnet. Wichtige physikalisch-chemische Eigenschaften sind in Tabelle 2-1

anhand von ausgewählten Parametern dargestellt. In der Tabelle sind zusätzlich die physikalisch-chemischen Eigenschaften von potentiellen TNT-Reduktionsprodukten, wie der Amino-Dinitrotoluole (ADNT) und der Diamino-Nitrotoluole (DANT) aufgeführt.

Tabelle 2-1: Physikalisch-chemische Eigenschaften von TNT und anderer Nitroaromaten

Verbindung	Wasserlöslichkeit bei 20 °C [mg/l]	Dichte bei 20 °C [g/cm³]	log K_{ow}	Dampfdruck bei 20 °C [mPa]
TNT	130 ^a	1,654 ^a	1,86 ^b	0,74 ^a
2,4-DNT	166 ^a	1,52 ^a	2,02 ^b	17 ^a
2,6-DNT	145 ^a	1,539 ^a	1,98 ^b	31 ^a
2-NT	440 ^a	1,163 ^a	2,30 ^b	19500 ^a
3-NT	420 ^a	1,157 ^a	2,42 ^b	19900 ^a
4-NTI	350 ^a	1,286 ^a	2,40 ^b	13000 ^a
2-A-4,6-DNT	2800 ^a	k.A.	0,90 ^b	5,3 ^a
4-A-2,6-DNT	2800 ^a	k.A.	0,90 ^b	0,27 ^a
2,4-DA-6-NT	k.A.	k.A.	-1,1 ^b	k.A.
2,6-DA-4-NT	k.A.	k.A.	-1,1 ^b	k.A.

^a Quelle: [1]

^b Quelle: [32]

Der K_{OW}-Wert als Verteilungskoeffizient Oktanol/Wasser kennzeichnet die Lipophilie von Stoffen, durch diesen ist eine grobe Abschätzung der Bindung an die organischen Bestandteile des Bodens möglich. Ein höherer K_{OW}-Wert deutet somit auf eine verstärkte Bindung der Stoffe an die organischen Bestandteile des Bodens hin. Die Wasserlöslichkeit beschreibt die Auswaschbarkeit der Stoffe durch Aufnahme in die Wasserphase des Bodens. Diese beiden Parameter bestimmen jedoch nicht allein die Aufnahme der Kontaminanten in die Wasserphase. Für eine absolute Betrachtung muss die Bindung der Stoffe an bestimmte Bodenkompimente, die für verschiedene Böden und Stoffe differieren können, ebenso betrachtet werden. Ein Beispiel dafür ist die Bindung an Tonminerale oder Huminstoffe. Eine solche Betrachtung ist allerdings nur bei genauer Kenntnis der jeweiligen Bodenmatrix möglich. Da für verschiedene Bodenmatrizes keine einheitlichen

Aussagen gemacht werden können, wird auf die Bindung der hier betrachteten Stoffe an verschiedene Bodenkompimente nicht eingegangen. Bei der Betrachtung des Umweltverhaltens hinsichtlich der Verbreitung der Schadstoffe auf dem Wasserpfad werden deshalb nur die Wasserlöslichkeit und der K_{OW} -Wert berücksichtigt. TNT besitzt eine relativ geringe Wasserlöslichkeit und einen hohen K_{OW} -Wert. Dies legt eine langsame Auswaschbarkeit aus dem Boden nahe. Im Fall der DNT liegen ebenfalls Wasserlöslichkeiten sowie K_{OW} -Werte im gleichen Bereich vor. Daraus resultiert eine zu erwartende ähnliche Auswaschbarkeit der DNT. Die NT zeigen eine wesentlich höhere Wasserlöslichkeit, was eine erhöhte Auswaschung dieser Stoffe aus dem Boden erwarten läßt. Von besonderem Interesse ist die Auswaschbarkeit der ADNT und der DANT, da diese als Zwischenprodukte beim Abbau von TNT auftreten (*vide infra*). Die ADNT weisen eine hohe Wasserlöslichkeit, verbunden mit einem relativ geringen K_{OW} -Wert auf, wobei eine pH-Abhängigkeit der Wasserlöslichkeit besteht. Durch die Aminogruppen ist bei einem geringeren pH-Wert durch Protonierung und damit Erhöhung der Polarität mit einer höheren Wasserlöslichkeit zu rechnen. Für die DANT bestehen ebenfalls geringe K_{OW} -Werte. Damit sollten sowohl die ADNT als auch die DANT einer schnellen Auswaschung aus dem Boden unterliegen. Für die ADNT und DANT ist jedoch eine Bindung an Huminstoffe des Bodens bekannt, wodurch diese Auswaschbarkeit herabgesetzt wird [20]. Die Stärke der Bindung an Huminstoffe nimmt dabei mit der Anzahl der Aminogruppen zu [33].

Der Dampfdruck als Maß für die Flüchtigkeit der Stoffe ist von entscheidendem Einfluss auf die Verbreitung der Kontaminanten über die Atmosphäre. Für TNT und die ADNT sind diese Werte sehr klein, was praktisch keine Verbreitung dieser Stoffe über den Luftweg impliziert. Auch für die DNT ist trotz erhöhtem Dampfdruck eine Verbreitung über die Atmosphäre unwahrscheinlich. Lediglich die NT zeigen einen erheblichen Dampfdruck, daraus läßt sich eine mögliche Verteilung dieser Stoffe über den Luftweg schlußfolgern.

TNT weist, ebenso wie die anderen betrachteten Stoffe, eine hohe chemische Stabilität, insbesondere gegen Hydrolyse, auf. Somit ist eine langandauernde Persistenz auch in feuchten Böden gegeben. Die betrachteten Stoffe sind empfindlich gegenüber Photolyse, allerdings spielt diese bei Kontaminationen im Boden und im Grundwasser nur eine untergeordnete Rolle.

Die betrachteten Stoffe sind mikrobiell im Boden nur schwer abbaubar. So sind die NT nur durch adaptierte Mikroorganismen metabolisierbar, DNT können im Boden nur zu sehr geringen Anteilen abgebaut werden. Lediglich TNT, die ADNT und die DANT sind unter bestimmten Milieubedingungen mikrobiell abbaubar (*vide infra*).

2.1.3 Gefährdungspotential von TNT und Nitroaromaten aus der TNT-Produktion

Von TNT und anderen Nitroaromaten geht ein beträchtliches Gefährdungspotential aus. In Toxizitätsversuchen mit Mikroorganismen wurden hohe Toxizitäten nachgewiesen [5-8,10,11,34-37]. Zur Veranschaulichung sind in Tabelle 2-2 der LD₅₀-Wert, Mutagenitäten und Kanzerogenitäten der Stoffe aufgeführt.

Tabelle 2-2: Toxizität (LD₅₀ – Werte für Ratten bei oraler Aufnahme), Mutagenität und Kanzerogenität von TNT und anderer Nitroaromaten aus der TNT-Produktion [38]

Verbindung	LD ₅₀ Ratte (oral) [mg/kg]	Mutagene Wirkung	Kanzerogenität
TNT	795	<i>in vitro</i> Nachgewiesen <i>In vivo</i> Nachgewiesen	Ratte Bildung von Blasenpapillomen, -karzinomen und hepatozellulären Hyperblasien Einstufungen Gruppe C (EPA) Gruppe III B (DFG)
2,4-DNT	268	<i>In vitro</i> Gentoxisch mit geringer Aktivität <i>In vivo</i> Verdachtsmomente für Induktion dominant letaler Mutation in der Ratte, Bildung von DNA -Addukten	Ratte Hepatozelluläre Karzinome und Fibroadenome Einstufungen Gruppe B2 (EPA) Gruppe III A2 (DFG)
2,6-DNT	177	<i>In vitro</i> Nachgewiesen <i>In vivo</i> Schwesterchromatidaustausch, Chromosomenbrüche u. -deletionen, Bildung von DNA -Addukten in Rattenleber	Ratte Schwer hepatokanzerogen Einstufungen Gruppe B2 (EPA) Gruppe III A2 (DFG)
2-NT	891	<i>in vitro</i> Überwiegend negative Resultate, Induktion von Schwesterchromatidaustausch <i>In vivo</i> Unplanmäßige DNA -Synthese in Ratten und Mäusen	Ratte z.T. Induktion von Mesotheliomen (Bildung von Hyperblasien der Mesothelialzellen) Einstufungen Gruppe III A2 (DFG)

Tabelle 2-2 (Fortsetzung)

Verbindung	LD ₅₀ Ratte (oral) [mg/kg]	Mutagene Wirkung	Kanzerogenität
3-NT	k.A.	<i>in vitro</i> Überwiegend negative Resultate, z.T. Induktion von Schwesterchromatidaustausch <i>in vivo</i> Keine Wirkung	k.A.
4-NT	k.A.	<i>in vitro</i> Überwiegend negative Resultate, Induktion von Schwesterchromatidaustausch <i>in vivo</i> Keine Wirkung	k.A.
2-A-4,6-DNT	1400	<i>in vivo</i> z.T. mutagen in <i>Salmonella typhimurium</i>	k.A.
4-A-2,6-DNT	k.A.	<i>In vivo</i> z.T. mutagen in <i>Salmonella typhimurium</i>	k.A.
2,4-DA-6-NT	k.A.	k.A.	k.A.
2,6-DA-4-NT	k.A.	k.A.	k.A.

Anhand der LD₅₀-Werte ist eine Einschätzung der Toxizität möglich. Somit sind die DNT toxischer als TNT. 2NT besitzt im Vergleich zu TNT eine ähnliche Toxizität. Aufgrund der chemischen Struktur sind auch für 3-NT- und 4-NT-Toxizitäten in diesem Bereich zu erwarten. Die ADNT sind im Vergleich zu den anderen Stoffen weniger toxisch.

Betrachtet man die Mutagenität der einzelnen Stoffe, so besitzen TNT und die DNT ein erhöhtes mutagenes Potential. Für die anderen Substanzen wurde eine geringere Mutagenität nachgewiesen.

Auch bei der kanzerogenen Wirkung der betrachteten Stoffe weisen, ebenso wie 2NT, TNT und die DNT erhöhte kanzerogene Potentiale auf. Die DNT werden laut EPA und DFG als krebserzeugend eingestuft. TNT wird als Substanz mit begründetem Verdacht auf krebserzeugendes Potential klassifiziert.

TNT kann von Mensch und Tier inhalativ, oral bzw. dermal aufgenommen werden [38]. Eine akute Toxizität von TNT wurde beim Menschen durch Effekte auf das blutbildende System nachgewiesen [39,40]. Bei Tieren konnten Auswirkungen auf das Zentralnervensystem bzw. den Atemtrakt, aber

auch auf andere Organe festgestellt werden [39]. Die chronische Toxizität von TNT äußert sich beim Menschen, ebenso wie die akute Toxizität, durch Effekte auf das blutbildende System, Hepatotoxizität sowie Kartarbildung im Auge [39,40]. Eine gentoxische Wirkung von TNT ist ebenfalls beschrieben [34,39,41,42]. So konnte im Urin von beruflich exponierten Personen erhöhte Mutagenität nachgewiesen werden [39]. Die Kanzerogenität von TNT ist bei Langzeittierversuchen mit oraler TNT-Verabreichung beobachtet worden [39,41].

2.1.4 Zusammenfassung

Aufgrund der chemischen und physikalischen Eigenschaften sowie der geringen biologischen Abbaubarkeit sind Rüstungsaltpasten aus der TNT-Produktion sehr persistent. Es existieren bis heute Verunreinigungen im Boden, die eine anhaltende Auswaschung in das Grundwasser bewirken. Diese Verunreinigungen führen im Zusammenspiel mit toxischen, mutagenen und kanzerogenen Wirkungen der Kontaminanten zu einem erheblichen Gefährdungspotential für Mensch und Umwelt. Daraus ergibt sich ein dringender Bedarf für die Sanierung solcher Altlasten.

2.2 Sanierungsmethoden für sprengstoffbelastete Grundwässer und Böden

Zur Vermeidung einer direkten Gefährdung von Mensch und Umwelt durch TNT-Kontaminationen im Boden wurden in der Vergangenheit in erster Linie Sicherungsmethoden angewandt. Ein Auswaschen der Schadstoffe durch Regenwasser und der damit verbundene mögliche Transport ins Trinkwassersystem wurde z.B. in Stadtallendorf durch eine oberflächige Abdichtung einer hochkontaminierten Neutralisationshalde unterbunden [43]. Eine andere Variante war der Abtrag von hochbelasteten Böden und deren Lagerung auf Sondermülldeponien, dieses Verfahren wurde zum Beispiel am Altlastenstandort Hessisch Lichtenau angewandt [12].

Neben den Sicherungsverfahren existiert bereits eine Vielzahl von Untersuchungen, die eine Beseitigung der Kontaminationen durch Umwandlungsprozesse der Schadstoffe zum Ziel haben. Diese Sanierungsmethoden werden in abiotische und biotische Verfahren unterteilt.

2.2.1 Abiotische Sanierungsverfahren

2.2.1.1 Bodenextraktion

Das Prinzip der Bodenextraktion besteht in der physikalischen Separation der Schadstoffe von der Bodenmatrix durch spezielle Extraktionsmittel. Die Kontaminationen werden gezielt mobilisiert und herausgelöst, nachfolgend werden die verunreinigten Extraktionsmittel aufkonzentriert und gesondert entsorgt bzw. behandelt. Die Wirksamkeit dieser Verfahren kann durch den Einsatz von mechanischer Energie oder Wärme gesteigert werden [2]. Nachteilig bei der Bodenextraktion ist die weitgehende Zerstörung der biologischen Aktivität des Bodens [44]. Diese Verfahren sind zudem nur dann wirtschaftlich, wenn der Boden nur einen kleinen Feinanteil besitzt.

In der Praxis sind die herkömmlichen Bodenextraktionsverfahren mit organischen Separationsmitteln zur Dekontamination von TNT-belasteten Böden nicht geeignet [1]. Problematisch ist besonders der Umgang mit leicht flüchtigen Lösungsmitteln im Zusammenhang mit Explosivstoffen. Diese müssen nach der Extraktion aufkonzentriert werden, was einen Umgang mit hochkonzentrierten, undefinierten Explosivstoffmischungen impliziert.

In diesem Zusammenhang wurde ein Verfahren zur Hochdruckextraktion von 2,4-DNT- bzw. 4-A-3,5-DNT-kontaminierten Böden im Labormaßstab mit überkritischem CO₂ als Extraktionsmittel entwickelt [45]. Es umgeht den Einsatz von leichtflüchtigen Lösungsmitteln, dabei konnte eine 85 %ige Eliminierung der Schadstoffe gezeigt werden.

2.2.1.2 Thermische Verfahren

Thermische Verfahren zur Dekontamination von verunreinigten Böden basieren auf einer thermische Desorption der Schadstoffe und anschließender Nachverbrennung der Gase und Abgasreinigung [2]. Der Boden ist nach einer thermischen Behandlung biologisch tot [44].

Sprengstoffbelastete Böden können mittels thermischer Verfahren dekontaminiert werden, diese Methoden waren für Sprengstoffkontaminationen lange Zeit die effektivsten Mittel [1,46]. Der Reaktionsverlauf und die Verbrennungsprodukte sind bei diesem Verfahren gut untersucht. Im Gegensatz zu Extraktionsverfahren findet keine Aufkonzentrierung der Schadstoffe statt, die Verbrennung wird bei 500 °C durchgeführt. Nachteilig für den Einsatz in der Praxis sind der höhere Primärenergieverbrauch und die teilweise Sinterung des Bodens. Der dekontaminierte Boden ist nachfolgend für den Gartenbau nicht mehr geeignet und kann auch als Füllmaterial nur bedingt verwendet werden. Weiterhin bedarf es einer Abluftreinigungsanlage.

2.2.1.3 Physikalische Verfahren (Adsorption)

Adsorptive Verfahren beinhalten die Bindung der Schadstoffe aus der flüssigen Phase an eine feste Matrix. Demnach handelt es sich bei diesen Sanierungsverfahren um eine Verlagerung der Schadstoffe, jedoch nicht um eine Transformation im chemischen Sinne.

Die Reinigung von belasteten Wässern über Aktivkohle wird bis heute zur Sicherung der Trinkwasserqualität im großen Maßstab angewendet [19]. Nach dem Adsorptionsschritt muss eine sorgfältige Behandlung und Entsorgung der verbrauchten und mit Explosivstoffen gesättigten Aktivkohle realisiert werden, was zu hohen Betriebskosten führt. Problematisch ist weiterhin, dass bei der Reinigung von natürlichen Wässern organische Wasserinhaltsstoffe in Konkurrenz zu den Nitroaromaten Adsorptionsplätze der Aktivkohle belegen. Dies führt zu einer schnelleren Sättigung der Aktivkohle [19].

Die Methode ist daher als Gesamtsanierungsverfahren nicht vorteilhaft. Sie kann jedoch durch den Einsatz von Aktivkohlefiltern bei der Sanierung von sprengstoffbelasteten Wässern als Sicherungsmaßnahme vor der Rückführung in den Wasserkreislauf angewandt werden. Dies setzt allerdings eine Vorreinigung des Wassers mittels anderer Verfahren voraus.

2.2.1.4 Chemische Verfahren

Das Prinzip der chemischen Verfahren besteht im Abbau von Kontaminationen durch chemische Reaktionen, wobei gezielt chemische Reagenzien eingesetzt werden [2]. Dabei können verschiedene Verfahren angewandt werden.

Hydrolytische Spaltung

Bei einer hydrolytischen Spaltung wird ein Stoff durch die Reaktion mit Wasser transformiert. Findet diese Reaktion im basischen pH Bereich statt, so spricht man von einer alkalischen Hydrolyse.

Verfahren auf der Basis von hydrolytischen Spaltungen wurden bereits zur Dekontamination von Böden und Wässern angewendet. Für sprengstoffbelastete Böden waren insbesondere die Möglichkeit einer alkalischen Hydrolyse bei erhöhter Temperatur mit nachgeschalteter thermischer Behandlung Gegenstand von Untersuchungen [47]. Es konnte eine 85 %ige Umsetzung von TNT beobachtet werden. Ein anderer Ansatz der Nachbehandlung der Hydrolysate besteht in einem anaerob biologischen Verfahren. Der Einsatz der alkalischen Hydrolyse kommt auch zur Dekontamination von belasteten Wässern in Frage [47].

Chemische Reduktion

Bei der chemischen Reduktion wird der Schadstoff durch Elektronenaufnahme reduziert, die erforderlichen Elektronen werden durch die Oxidation eines Reduktionsmittels gewonnen. Mittels solcher Verfahren können Nitroaromaten durch Reduktion im Boden bzw. Wasser abgebaut werden.

Das Prinzip der chemischen Reduktion von TNT wurde mit dem Einsatz von elementarem Eisen als Reduktionsmittel bereits angewandt [48]. Es konnte gezeigt werden, dass mit diesem Verfahren das extrahierbare TNT aus einem hoch kontaminierten Boden zu 99,7 % eliminierbar ist. In anderen Studien, die dieses Verfahren verwenden, wurden jedoch 80 % des eingesetzten Schadstoffes bzw. seiner Abbauprodukte als nichtextrahierbarer Rückstand im Boden nachgewiesen [49,50]. Weitere Untersuchungen zeigten, dass TNT durch Bestrahlung mit ultraviolettem Licht in Gegenwart von verschiedenen Katalysatoren (TiO_2) vollständig reduziert wird [51]. Weiterhin wurde eine mit einer Fentonreaktion gekoppelten Photoreaktion genutzt, um eine Reduktion von TNT zu erzielen [52]. Dies ist ebenfalls mit Ozon möglich [53]. Nachteilig ist hier jedoch die große Menge an notwendigem Oxidationsmittel. Auch in Wasser gelöstes TNT kann durch die Anwesenheit eines starken Reduktionsmittels, wie elementares Eisen, zu TAT reduziert werden [54]. Das Prinzip der Sanierung besteht dabei in einer Reduktion von TNT zu TAT und einer anschließenden irreversiblen Adsorption von TAT an die Bodenmatrix.

Eine abiotische Reduktion von TNT kann im Untergrund selbständig ablaufen. Eine Studie untersuchte den Einfluss von eisenhaltigen Materialien im Untergrund auf die Reduktion von Nitrogruppen in Aminogruppen [55]. Dabei wurde eine im Untergrund stattfindende abiotische Umwandlung von Nitrogruppen in Aminogruppen durch eine oxidative Umwandlung von zweiwertigem Eisen zu dreiwertigem Eisen gezeigt. Durch die im Gegenzug ablaufende Reduktion von dreiwertigem Eisen zu zweiwertigem Eisen sind eisenreduzierende Bakterien in der Lage, Formaldehyd zu CO_2 und Wasser zu metabolisieren. Somit finden im Untergrund parallel

ablaufende Prozesse statt, wobei die Oxidation des Eisens und die damit verbundene Reduktion der Nitrogruppen sehr schnell und die Reduktion des Eisens durch Bakterien sehr langsam abläuft.

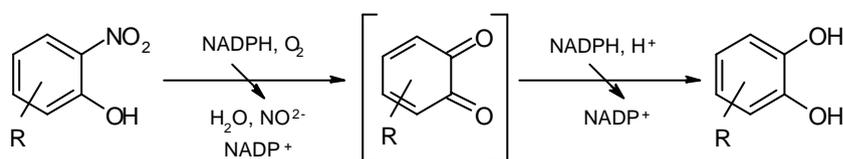
2.2.2 Biotische Sanierungsverfahren

Biotische Sanierungsverfahren beruhen auf dem Prinzip des mikrobiellen Umbaus der Schadstoffe, im Idealfall zu CO_2 , Wasser und anorganischen Salzen. Um dieses Verfahren auf TNT-belastete Böden anwenden zu können, muss der Schadstoff mikrobiell abbaubar sein.

Obwohl TNT sehr persistent und ökotoxisch ist, sind viele Mikroorganismen in der Lage, TNT zu transformieren [56]. Die vollständige Mineralisierung zu CO_2 , Wasser und Nitrit bzw. Ammoniak stellt allerdings ein großes Problem dar. Eine direkte oxidative Decarboxylierung über Alkohol-, Aldehyd- Säurebildung und CO_2 -Abspaltung (direkte Ringspaltung) konnte bisher nicht beobachtet werden. Der nachgewiesene mikrobielle Angriff erfolgt über die Nitrogruppen (*vide infra*). Erst nach Abspaltung dieser Gruppen ist eine Ringspaltung und somit eine vollständige Mineralisierung möglich. Dabei können die Nitrogruppen wie folgt abgespalten bzw. transformiert werden [1]:

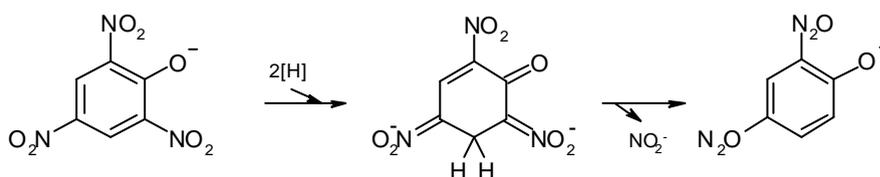
- **oxidative Nitritabspaltung**

elektrophiler Angriff, z.B. durch Mono- oder Dioxygenasen am Aromatensystem des Schadstoffes



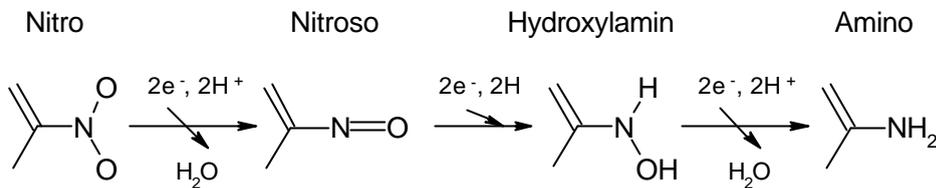
- **reduktive Nitritabspaltung**

Eliminierung der Nitrogruppen durch Addition von Hydridionen an das Aromatensystem unter Bildung eines Intermediates (Hydrid-TNT-Meisenheimer-Komplex)



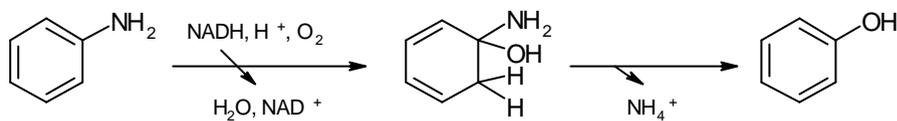
- **Transformation durch Reduktion der Nitrogruppen**

Reduktion der Nitrogruppe zu Aminogruppen durch Nitroreduktasen
(über Nitro-, Nitroso-, Hydroxylamin-, Aminogruppe)

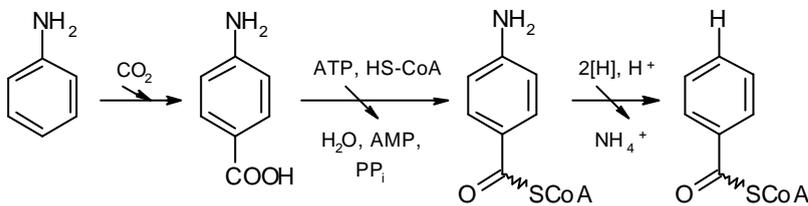


- **oxidative bzw. reduktive Ammoniumabspaltung**

oxidative Ammoniumabspaltung



reduktive Ammoniumabspaltung



Die verschiedenen Abbauewege sind von einer Vielzahl von Faktoren abhängig und können sich zum Teil gegenseitig überlagern. In der Literatur sind diese Abbauewege eingehend beschrieben [57].

Auf der Grundlage der Kenntnisse über den mikrobiellen Abbau von TNT wurden biologische Methoden zur Dekontamination von Altlasten entwickelt. Die Reinigung sprengstoffbelasteter Wässer wurde in diesem Zusammenhang ebenfalls eingehend untersucht [58].

Eine wesentliche Voraussetzung für eine biologische Sanierung, insbesondere für Bodendekontaminationsmethoden, ist neben der prinzipiellen Machbarkeit des mikrobiellen Abbaus die Verfügbarkeit der Schadstoffe für die abbauenden Mikroorganismen. Diese Bioverfügbarkeit kann durch Fixierungsprozesse, wie Inkorporation in organischen Bestandteilen des Bodens (Huminstoffe), Immobilisierung in bakteriellen Proteinen und Lipiden sowie Adsorption an mineralischen Oberflächen stark herabgesetzt sein [2].

2.2.2.1 Abbau durch Mikroorganismen

Reduktive Nitritabspaltung

Verschiedene Bakterien sind in der Lage, TNT durch sukzessive reduktive Nitritabspaltung zu transformieren. Diese Abspaltung erfolgt unter aeroben Bedingungen. Dabei werden die Nitrogruppen durch Addition von Hydridionen an das Aromatensystem unter Bildung eines Intermediates, des Hydrid-TNT-Meisenheimer-Komplexes, entfernt [1]. Die Reduktion wurde in *Enterobacter cloacae* bzw. *Escherichia coli* nachgewiesen [59] und auch in Anwesenheit von *Pseudomonas savastanoi* beobachtet [60-62]. Dabei wurde die Bildung von 2,6-DNT, aber auch 2,4-DNT, 2-NT und Toluol nachgewiesen [63-65]. Eine teilweise Aufnahme von TNT in Zellmaterial bestätigt gleichfalls diese Aussage [66]. Dabei sind aerobe Bedingungen bzw. eine zusätzliche Kohlenstoffquelle notwendig. *Pseudomonas*-Stämme können auch unter anoxischen Bedingungen TNT als Stickstoffquelle nutzen und damit metabolisieren [67]. Bei *Desulfovibrio spain* konnte gleichfalls eine quantitative Eliminierung des Stickstoffanteils des TNT durch reduktive N-Abspaltung beobachtet werden [63,68-70]. Hier fand eine Reduktion bis zum Toluol statt.

Somit könnte TNT prinzipiell durch eine anschließende Ringspaltung mineralisiert werden. Dem steht jedoch in komplexen Mikroorganismengruppen die Reduktion der Nitrogruppen zu Aminogruppen als Konkurrenzreaktion gegenüber [64]. Die reduktive Nitritabspaltung läuft aus diesem Grund nur in untergeordnetem Mass ab. Problematisch ist die Bildung von 2,6-DNT, das um ein vielfaches toxischer und mobiler ist als TNT.

In einer Untersuchung des mikrobiellen Abbaus in oberflächennahen Aquiferen konnte gezeigt werden, dass ca. die Hälfte des eingesetzten TNT zu DNT umgewandelt wurde, davon wurden rund 30 % zu CO₂ mineralisiert [70]. Eine andere Studie zeigte hingegen, dass unter diesen Bedingungen nur 8 % CO₂ entstanden [71].

Transformation durch Reduktion der Nitrogruppen

Der bakterielle Abbau von TNT erfolgt hauptsächlich durch Reduktion der Nitrogruppen. Dabei werden die Nitrogruppen durch Nitroreduktasen in Aminogruppen umgewandelt. Die Transformation verläuft cometabolisch, d.h. der Einsatz von zusätzlichen Kohlenstoff- und Stickstoffquellen begünstigt die Reduktion.

Unter anaeroben Bedingungen sind Bakterien mit der Fähigkeit, Nitrogruppen zu reduzieren, ubiquitär verteilt. Dies sind u.a. die Bakterienstämme *Pseudomonas* und *Desulfovibrio* [61,71-77]. Die Reduktion von TNT verläuft über ADNT zu DANT bis zu TAT. Der geschwindigkeitsbestimmende Schritt ist dabei die Umwandlung von DANT zum TAT, der letzte Reduktionsschritt verläuft nur unter strikt anaerob und wahrscheinlich biokatalytischen Bedingungen. Somit ist ein niedriges Redoxpotential Voraussetzung zur vollständigen Reduktion. Möglichkeiten zur Schaffung solcher Bedingungen sind zum einen die Bereitstellung von

Redoxsystemen wie Glucose-Vergärung oder Sulfatreduktion, zum anderen die Schaffung methanogener Bedingungen, wobei die Bakterien in diesem Milieu nur ein geringes Wachstum zeigen. So können z.B. sulfatreduzierende Bakterien (*Desulfovibrio*) mittels des Enzyms Sulfitreduktase DANT über DAHAT zum TAT reduzieren [61,75-77]. Allerdings ist nicht jede Kohlenstoffquelle als Cosubstrat geeignet. Bei der Verwendung von Kohlenmonoxid findet eine Hemmung des zweiten Schrittes durch die Inhibierung der Sulfitreduktase statt. Letzteres ist von untergeordneter Bedeutung, wenn als Kohlenstoffquelle organische Säuren vorliegen.

Clostridium pasteurianum und *Clostridium thermoaceticum* sind in der Lage, mit molekularem Wasserstoff bzw. Kohlenmonoxid als Elektronenakzeptor TNT über die Zwischenstufe DAHAT zum TAT zu reduzieren [61,66]. Dabei wurde nachgewiesen, dass das Enzym CO-Dehydrogenase aus *Clostridium thermoaceticum* für die Reduktion von TNT zu 2,4-DHA-NT verantwortlich ist.

2.2.2.2 Abbau durch Pilze

Auch Pilze sind in der Lage, TNT zu transformieren. Der Abbau erfolgt durch Lignin-Peroxidasen. In einer Studie über den Mechanismus des reduktiven Abbaus konnte gezeigt werden, dass die Abbauprodukte ADNT, DANT sowie Azoxyverbindungen sowohl unter ligninolytischen als auch nicht-ligninolytischen Bedingungen entstehen [78]. Unter ligninolytischen Bedingungen konnte im Abbauprozess nach der Bildung von ADNT ein Anstieg der Lignin-Peroxidase-Konzentration beobachtet werden. Dies führte teilweise zur Mineralisierung von TNT unter Bildung von CO₂. Unter nicht-ligninolytischen Bedingungen wurde das ADNT weiter zu 2,4-DNT und 2,6-DNT umgewandelt.

Die Lignin-Peroxidase wird von Pilzen u.a. als abbauendes Enzym zum reduktiven Abbau von TNT genutzt [78-81]. Dabei wird TNT in den Pilz aufgenommen, dort reduziert und die Metaboliten anschließend ausgeschieden. Problematisch ist dabei die Toxizität von TNT, die zu Wachstumshemmungen der Pilze führt. Es existieren jedoch in Abhängigkeit der Pilzart verschiedene Resistenzen gegenüber TNT.

TNT kann ebenfalls durch eine oxidative Abspaltung mittels Peroxidase mineralisiert werden [78]. Die Abbaumechanismen sind dabei ähnlich wie beim Lignin-Abbau. Durch den unspezifischen oxidativen Mechanismus des Enzyms ist auch eine Mineralisierung anderer Schadstoffe möglich. Eine besondere Form der Peroxidasen bei Pilzen ist die Mangan-Peroxidase (MnP) [81-83]. Dieses Enzym besitzen unter anderem Weißfäulepilze (*Phanerochaete chrysosporium*). Es ist außerhalb der Zelle wirksam und katalysiert die unspezifische Oxidation. Mit diesem Enzym ist der Weißfäulepilz in der Lage, Lignin extrazellulär zu verdauen und bis zum CO₂ abzubauen. Dieser Vorgang wird auch als enzymatische Verbrennung bezeichnet: es handelt sich dabei prinzipiell um einen Vorgang, bei dem ein Abbau von Lignin erfolgt, die toxischen Spaltprodukte des Lignins jedoch nicht in die Zelle aufgenommen werden. Untersuchungen haben ergeben, dass Weißfäulepilze TNT hauptsächlich bis zum 4-A-2,6-DNT abbauen [84]. Die Mineralisierungsrate lag bei ca. 10 %. Grundlagen für den Mineralisierungsprozess sind radikalische Decarboxylierungsreaktionen.

2.2.2.3 Abbau durch Pflanzen

Pflanzen sind grundsätzlich in der Lage, TNT zu metabolisieren. Die Metabolisierungsvorgänge sind jedoch dabei noch nicht genau geklärt. Untersuchungen mit Buschbohnen haben ergeben, dass in den Pflanzen vorwiegend ADNT gebildet wurde [85]. Es findet dabei insbesondere eine Akkumulation in der Wurzelzone statt. In einer anderen Pflanze (Luzerne) konnten neben ADNT auch 2,4-DA-6-NT, 2,4-DNT und 2,6-DNT in den Pflanzen detektiert werden [85]. Dies deutet auf ein in der Pflanze existierendes Enzym für die Nitritabspaltung hin.

Aquatische Pflanzen können TNT ebenfalls transformieren. Es findet dabei teilweise eine Aufnahme in die Pflanzen statt. Als Hauptabbauprodukt wurde neben verschiedenen nicht identifizierbaren Produkten ebenfalls ADNT nachgewiesen. Eine Mineralisierung konnte nicht beobachtet werden [86].

Der Abbau von TNT in Anwesenheit von *Myriofullum aquaticum* zeigte ähnliche Ergebnisse [87]. Hier wurden 30 % der Abbauprodukte im wässrigen Medium detektiert, der Rest wurde in den Pflanzen wiedergefunden. Eine maximale Aufnahme von TNT wurde in den Wurzeln beobachtet.

2.2.2.4 Bioreaktorverfahren

Das Ziel dieser Verfahren besteht in der Reduktion von TNT zu TAT, somit ist keine vollständige Mineralisierung der Schadstoffe beabsichtigt. Diese Methode ist besonders für Bodensuspensionen geeignet. Das gebildete TAT soll dabei irreversibel an der Bodenmatrix gebunden werden. Bioreaktoren erlauben eine genaue Anpassung der Versuchsbedingungen und somit eine aerobe bzw. anaerobe Versuchsführung [1,12,72].

2.2.2.5 Kompostierungsverfahren

Bei diesem Verfahren werden die TNT-kontaminierten Böden mit organischem Abfallmaterial gemischt und anschließend inkubiert. Vorteilhaft sind dabei die großen Mengen an organischen Kohlenstoffquellen und die aufgrund der mikrobiellen Aktivität erhöhten Temperaturen. Um jedoch eine zu große Aufheizung zu verhindern, muss eine intensive Belüftung gewährleistet sein. Bei diesem Verfahren findet ebenfalls keine Mineralisierung statt. Die Metaboliten werden hauptsächlich an der Bodenmatrix bzw. am Kompostmaterial gebunden. Da das Kompostverfahren aufgrund der Prozessführung ein aerobes Verfahren ist, ist noch unklar, inwieweit die Bindung reversibel ist [13-16,88].

2.2.2.6 Dekontaminationsverfahren mit Pilzen

Aufgrund der Fähigkeit von Weißfäulepilzen, mit Hilfe des Enzyms MnP TNT zu mineralisieren, werden diese Pilze zur Sanierung von TNT-belasteten Wässern bzw. Böden genutzt [89]. Es wurde dafür ein Verfahren entwickelt, bei dem die Pilze auf einem rotierenden Scheibentauchkörper aufwachsen und auf diese Weise TNT-belastetes Abwasser reinigen [90]. Die Methode hat sich allerdings in der Praxis noch nicht bewährt, da die Pilze sehr anfällig gegenüber der Bewegung sind. Zudem ist eine Kultivierung dieser Pilze sehr schwierig.

2.2.2.7 Dekontaminationsverfahren mit Pflanzen

Verfahren zur Sanierung von TNT-belasteten Böden mittels Pflanzen sind aufgrund der hohen Anreicherung der Schadstoffe in der Wurzelzone zur Zeit wenig verbreitet. Die Sanierung durch Pflanzen (Phytoremediation) wird für die Dekontamination von TNT-belasteten Wässern genutzt. Untersuchungen hinsichtlich des Abbaus von TNT durch Phytoremediation haben gezeigt, dass TNT bis unterhalb der Nachweisgrenze aus den Wässern entfernt werden kann [25]. Dabei haben aufstrebende Wasserpflanzen, insbesondere Baumwolle, hohe spezifische Umsatzraten. Bei den Unterwasserpflanzen hat sich Wassergras als effektiv erwiesen. Es konnte eine teilweise Aufnahme in die Pflanzen beobachtet werden. Eine Mineralisierung, ebenso wie die Bildung von flüchtigen organischen Substanzen, war nur in sehr geringem Umfang nachzuweisen.

In einer weiteren Studie konnte eine Biotransformation in Pflanzen nachgewiesen werden [26]. Dabei wurde TNT in die Pflanzen aufgenommen und anschließend zu ADNT, drei nicht identifizierten Metaboliten und anderen polaren Abbauprodukten transformiert. ADNT, ein nicht identifizierter Metabolit sowie polare Abbauprodukte konnten gleichzeitig im Boden analysiert werden. Sowohl in den Pflanzen als auch im Boden war nachfolgend kein TNT mehr detektierbar.

Eine andere Untersuchung beschreibt eine geringe Aufnahme von TNT in die Pflanzen und die anschließende Transformation zu ADNT [27]. Dabei wurden gleichzeitig ADNT und DANT in der wässrigen Phase nachgewiesen.

2.2.3 Zusammenfassung

Abiotische Sanierungsverfahren für sprengstoffbelastete Wässer sind durchführbar, weisen sich aber durch einen hohen Betriebsaufwand und damit verbunden durch hohe Unterhaltskosten aus. Häufig erfordern abiotische Sanierungsverfahren nachgeschaltete Behandlungsschritte, um toxische Abbauprodukte zu eliminieren. Teilweise stellen die Verfahren auch nur eine Verlagerung des Schadstoffes dar.

Biotische Sanierungsverfahren zeigen demgegenüber wesentliche Vorteile. Obwohl bei diesen Verfahren nicht immer eine vollständige Transformation zu ungefährlichen Abbauprodukten stattfindet, sind diese Methoden aufgrund der natürlichen Grundlagen der Schadstoffumwandlung

meist mit weniger Aufwand und damit mit weniger Betriebskosten verbunden. Besonders günstig sind biotische Sanierungsverfahren, wenn der Abbau im Selbstlauf betrieben werden kann. Interessant sind insbesondere biotische Sanierungsverfahren, bei denen die Symbiose verschiedener Organismen für den Abbau des Schadstoffes ausgenutzt werden kann. Eine mögliche Anwendung stellt dafür die Nutzung von Pflanzenkläranlagen zur Sanierung dar.

2.3 Pflanzenkläranlagen

Als Pflanzenkläranlage wird sinngemäß ein mit Sumpfpflanzen bewachsen Bodenfilter bezeichnet, der nach unten abgedichtet ist und horizontal und/oder vertikal vom zu reinigenden Abwasser durchflossen wird [91].

2.3.1 Funktionsprinzip

Die Abwasserreinigung in Pflanzenkläranlagen gründet sich auf das Reinigungspotential natürlicher Ökosysteme wie Feuchtgebiete und Sandkörper. Bereits Ende der 50er Jahre wurde die potentielle Möglichkeit der Ausnutzung des komplexen, selbstregulierenden Systems zur Abwasserreinigung erkannt und die Entwicklung von Pflanzenkläranlagen vorangetrieben [23].

Pflanzen

Die aktive Rolle der Pflanzen innerhalb des Abbauprozesses wird in der Literatur unterschiedlich diskutiert. Man geht jedoch zunehmend davon aus, dass die Pflanzen nicht Träger der Reinigungsleistung sind, sondern als „Motor“ für verschiedene milieuhabhängige Vorgänge, die für den Reinigungsprozess essentiell sind, fungieren [23].

So schaffen Sumpfpflanzen (Helophyten) in einer Pflanzenkläranlage mittels Durchwurzelung des Bodens Hohlräume im Untergrund, die für die Aufrechterhaltung der Infiltrationsfähigkeit des Abwassers in den Bodenfilter wichtig sind. Dies trägt durch Offenhaltung und Vergrößerung des Porenraumes auch indirekt zur Sauerstoffversorgung bei. In diesem Fall ist sogar eine direkte Einbringung von Sauerstoff in den Untergrund durch ein Luftkanalsystem (*Aerenchym*) der Helophyten gegeben. Der Sauerstoff wird über die Blätter und Halme aufgenommen und dann über das Luftkanalsystem bis in die Wurzeln geleitet. Dort wird der Sauerstoff teilweise an die Umgebung abgegeben (Wurzelatmung) und führt gleichzeitig durch Oxidation von Stoffen zur Entgiftung der Rhizosphäre. Die Helophyten sind durch die Ausprägung des *Aerenchym*s somit in der Lage, einen Gasaustausch auch im Wurzelraum zu ermöglichen und schaffen dadurch eine Mosaikstruktur von aeroben und anaeroben Bezirken im Sediment, die als Reaktionsgefüge für Abbau- und Umbauprozesse dient. Zudem generieren die Pflanzen durch die Ausscheidung von Wurzelexsudaten ein zusätzliches Substrat, welches die Mikroorganismen verwerten können. Dies begünstigt die Ausbildung einer konzentrierten, hochaktiven Mikroflora im Rhizosphärenbereich. Die Pflanzen verhindern außerdem durch Beschattung einen massiven Algenaufwuchs und bieten gleichzeitig Schutz vor Auskühlung des Bodens [23].

Mikrobengesellschaft

Durch die Schaffung von günstigen Bedingungen findet sich eine hohe Mikrobendichte im wurzelnahen Bereich. Die Mikrobengesellschaft spielt eine entscheidende Rolle bei der Abwasserreinigung. Sie ist im Rhizosphärenbereich für die eigentlichen Abbauprozesse verantwortlich. Die Mikroben mineralisieren die Abwasserinhaltsstoffe, insofern diese vollständig biologisch abbaubar und bioverfügbar sind, zu CO₂, Wasser und einigen anorganischen Salzen. Schwer abbaubare Substanzen können abgebaut oder in Humusstoffe überführt werden (Humifizierung). Aber auch Adsorptionsprozesse der Wasserinhaltsstoffe an der Bodenmatrix führen zu einer Eliminierung der Schadstoffe aus dem Abwasser [23].

Die Reinigungsleistung ist somit das Resultat des Zusammenwirkens von Pflanzen, Mikroorganismen, Aufwuchsmatrix und Wasserinhaltsstoffen in einem komplexen ökosystemaren Wirkgefüge [92]. Eine Eliminierung der Abwasserinhaltsstoffe beruht auf der kombinierten Wirkung physikalischer, chemischer und biologischer Prozesse.

2.3.2 Verfahrensprinzip

Es existieren grundsätzlich zwei Verfahrensprinzipien bei Pflanzenkläranlagen: das „Hydrobotanische System“ und das „Prinzip der Wurzelraumentorgung“, die durch Verwendung von unterschiedlichen Bodenkörpermaterialien (nichtbindige bzw. bindige) hauptsächlich in der Wirkungsweise differenzieren [93]. Weiterhin wurden viele Mischformen dieser beiden Verfahrensprinzipien entwickelt. Die Anlagen können auf unterschiedliche Art und Weise beschickt werden. Es ist eine horizontale oder vertikale Zufuhr möglich. Ebenfalls können die kontaminierten Wässer intermittiert zugegeben werden. Diese Art ist z.B. bei der Nitrifikation vorteilhaft.

„Hydrobotanisches System“

Das „Hydrobotanisches System“ beruht auf dem Prinzip der Abwasserreinigung mit Sumpfpflanzen auf Beeten mit nichtbindigen Füllmaterial [93]. Die Wasserreinigungsleistung ist durch die besonderen Wirkmechanismen in der Rhizosphäre der höheren Pflanzen gegeben. Eine Verwendung von nichtbindigen Böden bewirkt neben der Durchwurzelung eine gute Wasserdurchlässigkeit, so dass gleichzeitig eine Aufkonzentrierung der Abwasserinhaltsstoffe im Untergrund verhindert wird.

Prinzip der „Wurzelraumsorgung“

Das Verfahren „Wurzelraumsorgung“ ist im Gegensatz zum „Hydrobotanischen System“ ein Abwasserreinigungsverfahren mit Sumpfpflanzen auf einem bindigen Bodenkörper mit hohen Filtrations- und Adsorptionswirkungen [94-96]. Die Durchlüftung und der Erhalt der Wasserdurchlässigkeit werden durch eine intensive Durchwurzelung gewährleistet. Dies führt zur Ausbildung zweier Bodenschichten unterschiedlicher Struktur (durchwurzelte durchlässige Schicht und nicht durchwurzelte undurchlässige Schicht). Die Ausprägungen dieser zwei Schichten sind verantwortlich für einen horizontalen Durchfluss des Abwassers in der durchwurzelten Schicht und schaffen in Abhängigkeit der Distanz zu den Wurzeln aerobe und anaerobe Regionen.

2.3.3 Einsatzmöglichkeiten

Reinigung kommunaler Abwässer

Pflanzenkläranlagen wurden anfangs für den Einsatz in der häuslichen Abwasserreinigung entwickelt und werden auch heute noch hauptsächlich im Bereich der dezentralen kommunalen Abwasserreinigung eingesetzt. Sie stellen eine kostengünstige Alternative zur herkömmlichen Abwasserreinigungsanlage dar, wenn der Anschluss an die Kanalisation schwierig bzw. kostspielig ist oder der Bau einer Kläranlage für das Abwasseraufkommen im Vergleich zur Pflanzenkläranlage zu teuer ist [24,97]. Vorteilhaft bei Pflanzenkläranlagen sind geringere Kosten für Instandhaltung und Betrieb sowie die dezentrale Einsatzfähigkeit. Nachteilig kann sich der hohe Platzbedarf auswirken, wodurch der Einsatz von Pflanzenkläranlagen limitiert ist. Ein weiterer Vorteil von Pflanzenkläranlagen ist eine weitgehende jahreszeitliche Unabhängigkeit, da auch im Winter die Funktionsfähigkeit grundsätzlich erhalten bleibt. So konnte gezeigt werden, dass die Ablaufwerte für den CSB und den BSB₅ kaum jahreszeitlichen Schwankungen unterliegen. [98]. Im Gegensatz dazu nimmt jedoch die Effektivität der Phosphor- und Stickstoffeliminierung während der kalten Jahreszeit ab. Dies kann durch eine größere Dimensionierung der Anlage kompensiert werden.

Reinigung industrieller Abwässer

Der Einsatz von Pflanzenkläranlagen findet zunehmendes Interesse bei der Behandlung von Deponiesickerwässern und industriellen Abwässern [99]. Wenn die Abwasserinhaltsstoffe biologisch abbaubar sind, können Pflanzenkläranlagen genutzt werden. So wurden z.B. Pflanzenkläranlagen erfolgreich zur Reinigung von öl- und fetthaltigen Abwässern aus der Stahlproduktion eingesetzt [100]. Der mikrobielle Abbau wurde an zwei verschiedenen Anlagen nachgewiesen. Außerdem wurde der Einsatz von Pflanzenkläranlagen zur Reinigung von

Spülfeldabwässern, Deponiesickerwässern, Kühl- und Betriebsabwässern eines Hüttenwerkes sowie von Abwässern eines Holzimprägnierstandortes gezeigt [101-103].

Die in der vorliegenden Arbeit verwendete Pflanzenkläranlage wurde bereits für Untersuchungen hinsichtlich des Abbaus von Schadstoffen genutzt. Es konnte gezeigt werden, dass polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe mikrobiell abbaubar sind [104,105].

2.3.4 Zusammenfassung

Eine Pflanzenkläranlage bietet sehr günstige Bedingungen für den Abbau von Schadstoffen. Sie kombiniert verschiedene biotische Abbaumethoden durch die Ausnutzung symbiotischer Verhältnisse von Pflanzen und Mikroorganismen. Damit ist eine unaufwändige und kostengünstige Sanierung von sprengstoffbelasteten Wässern möglich.

Aus diesen Umständen heraus ergibt sich der Gegenstand der vorliegenden Arbeit, in der ein Einsatz von Pflanzenkläranlagen zur Sanierung sprengstoffbelasteter Wässer untersucht wurde.

3 Material und Methoden

3.1 Geräte und Materialien

Geräte

Pflanzenkläranlage

Tauchpumpen	Grundfoss KP 300
Verdrängerpumpe	NEMO®-Blockpumpen Typ 3 NU 10 Netzsch Monopumpen GmbH, Waldkraiburg
Zelt	Modell Kombi-Fix I Karl Höcker Stahlbau GmbH, Bad Salzuflen
Folien-Auffangwanne (Nenndicke 2 mm)	R. + J. – Abdichtungsplanen HeBeKo-Plastic GmbH & Co. KG, Aurich

HPLC-Anlagen für Analytik von nicht radioaktiven Proben

Autosampler	ISS 200 Autosampler, Perkin Elmer
Pumpe	410 Pumpe, Perkin Elmer
Detektor	235C Photodiodenarray-Detektor, Perkin Elmer
Säulenthermostat	Säulenthermostat SPH99, Spark Holland

Untersuchungen an der Pflanzenkläranlage und im Labor

Rotationsverdampfer	Labor Rota S 300, Resona Technics, Labo-Therm SW 200, Resona Technics, MLT AG
Kryostaten	MGW LAUDA KHR Electronics, Königshofen
Ultra Turrax	IKA, Typ T25 (8000-24000 rpm Leerlauf), Jahnke & Kunkel GmbH & Co KG, Staufeu i. Breisgau
Ultraschallbad	Sonovex Super RK 510H, Bandelin, Berlin
Spektrophotometer	UV/VIS Einstrahl-Gerät mit variabler Wellenlänge Typ 5675, Fa. ATI Unicam
Schüttler	Kreisschüttler RT, 100 rpm, Typ SM 25, Fa. Edmund Bühler, Tübingen
Waage	R 200 D +/- 10 µg, Fa. Sartorius GmbH, Göttingen
Waage	U 4100, Fa. Sartorius

Bestimmung Wasserparameter

Lufttemperaturthermometer	Maxima-Minima-Thermometer, Fa. Objecta
Wassertemperaturthermometer	Digitalthermometer, Typ 'ama-digit' -20 bis 80 °C
Sauerstoffgehalt bzw. -sättigung	Sauerstoffelektrode: Typ EO 96, Fa. WTW, Weilheim Messgerät: Typ Oxi 537, Fa. WTW, Weilheim
Redoxpotential	Ag/AgCl-Einstabmesskette, Typ Inlab 501 Redox 0 bis 80 °C, Fa. Mettler-Toledo Messgerät, Typ pH 90, Fa. WTW, Weilheim
pH-Wert	pH-Elektrode, Typ EGA 133, Meinsberger Elektroden, Meinsberg Messgerät, Typ pH 90, Fa. WTW, Weilheim

HPLC-Anlage für Analytik von [¹⁴C]-Proben

Autosampler	Merck-Hitachi 655 A-400
Pumpe	Merck-Hitachi L-6200 A Intelligent Pump
Detektor	Merck-Hitachi L-400 UV
Radioaktivitätsdetektor	Ramona 2000 C, Raytest Isotopenmessgeräte GmbH, Straubenhardt
Säulenthermostat SPH99	Spark Holland
Entgaser	Degasys DG-1310

Radioaktivuntersuchungen

Oxidizer	Packard Sampler Oxidizer Model 307, Dreieich
Szintillationszähler	Packard 1600 TR Tri-Carb Liquid Scintillation Analyzer, Dreieich
Dünnschichtscanner	Berthold, TLC linear Analyzer, Tracemaster 20, Bad Wildbach
Kugelmühle	Schwingmühle, Typ MM 2000, Retsch, Haan
Schlauchpumpe	IKA, Typ PA-SF, Jahnke & Kunkel GmbH & Co KG, Staufen i. Breisgau
Membranvakuumpumpe	KNF Neuberger GmbH, Freiburg

Verwendete Chemikalien und Materialien mit Bezugsquellen

TNT:	Fraunhofer-Institut für Chemische Verfahrenstechnik, Pfinztal
Nitroaromaten-Standardgemisch MIX 1:	Fa. Promochem GmbH, Wesel
Nitroaromaten-Standardgemisch MIX 2:	Fa. Promochem GmbH, Wesel
Wasser:	Milli-Q (Vorstufe Milli-RO), Millipore, Eschborn
Methanol, Aceton, Benzol, Hexan:	Chromosolv, HPLC-grade, Merck
Acetonitril, Toluol, Cyclohexan, Dichlormethan:	Chromosolv, HPLC-grade, Riedel-de Haen
Schwefelsäure:	25 % zur Analyse, Merck
Salzsäure:	37 % zur Analyse, Merck
Natriumhydroxid:	Merck, Darmstadt
Natriumsulfat, wasserfrei, p.a.:	Merck, Darmstadt
Quecksilberchlorid:	Merck, Darmstadt
Kieselgel 60:	Merck, Darmstadt
Glucose:	Merck, Darmstadt
Mikropartikel – Supercarboxyl (COOH, 300 nm):	Polymer Laboratories, UK
NaH[¹⁴ C]CO ₃ :	Sigma Chemical Company
[¹⁴ C]TNT (ring-U-[¹⁴ C], Reinheitsgrad > 95%, spezifische Aktivität 85,41 µCi/mg):	Institute of Isotopes Co., Ltd., Budapest, Ungarn
Messgefäße:	20 ml Super Polyethylen Vial, Canberra Packard, Frankfurt
Ethylenglykolmonomethylether:	Merck, Darmstadt
Carbo-Sorb [®] E, Permaflour [®] E, Permablend, Hionic-Flour [™] , Ultima Gold XR:	Fa. Canberra Packard, Dreieich
Extraktionsröhrchen:	Chromabond HR-P (200 mg, 3 ml), Fa. Macherey-Nagel
Florisil-Kartuschen:	Baker, UK
Filter:	45-µm, Spartan 13/20, Schleicher & Schuell
Küvettentests:	Merck, Darmstadt
UVA-Lampe:	40 Watt
Pflanzenwachstumslampe:	Warmton, 36 Watt
Kryptonlampe:	60 Watt
HPLC-Vorsäule:	LiChroCart 4-4, LiChrospher 100 RP-18 (5µm), Lichrosphere, Merck
HPLC-Trennsäule:	Nucleosil 120-5 C18, 250x4 mm, Macherey- Nagel
Schläuche:	Viton, Innendurchmesser 8 mm, Wanddicke 2 mm, Grad Shore 75

3.2 Pilotanlage 'Pflanzenkläranlage'

Die in der vorliegenden Arbeit dargestellten Untersuchungen zur Reinigung sprengstoffbelasteter Wässer mittels Pflanzenkläranlage wurden an einer Pflanzenkläranlage Aquaplant® der Firma Umweltschutz Nord GmbH & Co. durchgeführt. Diese Anlage befindet sich auf dem Gelände der GSF in Neuherberg.

Aufbau

Die genutzte Pflanzenkläranlage besteht aus vier Strängen, die jeweils eine eigenständige Einheit darstellen und unabhängig voneinander betrieben werden können. Der allgemeine Aufbau ist in Abb. 3-1 dargestellt.

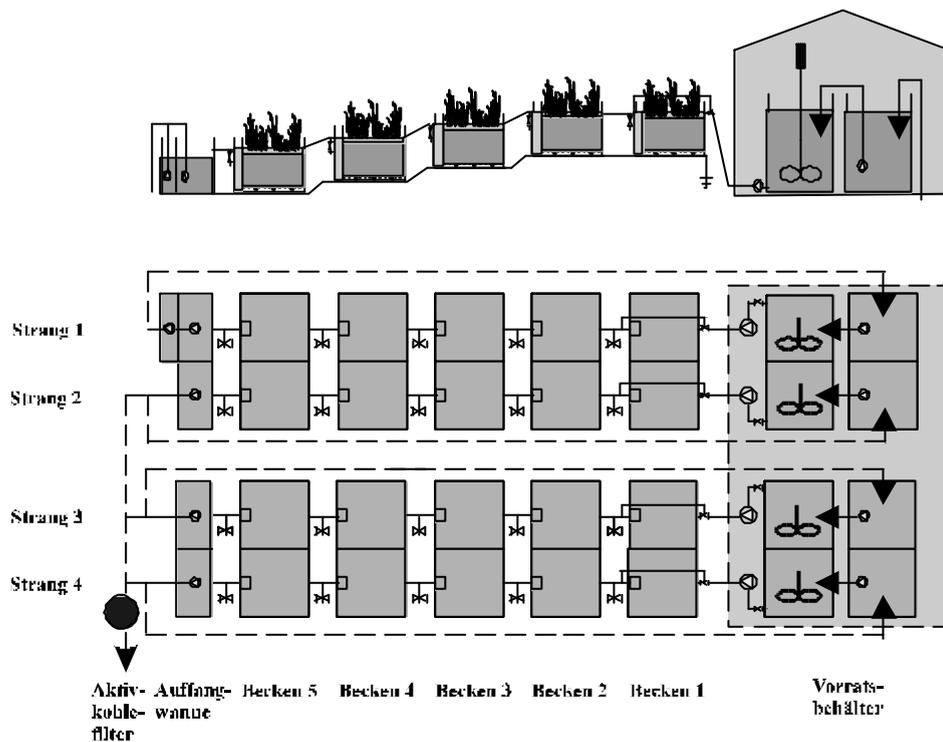


Abb. 3-1: Ansicht der verwendeten Pflanzenkläranlage

Jeder Strang ist aus fünf miteinander verbundenen Becken (Höhe: 1,5 m, Breite: 2,3 m, Tiefe: 2,35 m) aufgebaut. Die ersten beiden Becken stehen dabei auf gleicher Höhe und können in Abhängigkeit der Versuchsführung durch Umfahrung des ersten Beckens als Einlaufbecken verwendet werden. Die anderen drei Becken sind kaskadenförmig angeordnet (Höhenunterschied: 25 cm). Das kontaminierte Wasser wird über Pumpen zum ersten bzw. zweiten Becken geführt und

durchfließt die Becken aufgrund der Schwerkraft im freien Gefälle. Die zur Beschickung der Anlage mit Abwasser notwendigen Vorlage- und Mischbehälter bzw. die zur Herstellung des Abwassers notwendigen Dosierstationen sind in einem benachbarten Zelt untergebracht. Das Abwasser kann entweder im Kreislauf geführt oder direkt nach der Passage eines Aktivkohlefilters in die Kanalisation geleitet werden. Der Strang 1 der Anlage steht für Radioaktivuntersuchungen zur Verfügung und hat deswegen keine Verbindung zur Kanalisation, er ist zudem zusätzlich mit einem Sicherheitsbehälter im Anschluss an das fünfte Becken ausgestattet. Die gesamte Wasserführung wird über schwimmergeschaltete Tauchpumpen gesteuert.

Alle Pflanzenbecken sind mit Lava als nichtbindigem Bodenmaterial gefüllt (Korngröße: 2-10 mm, Porosität: 55 %, Füllhöhe: 1 m). Dieses Material stellt eine ideale Besiedlungsfläche für Mikroorganismen dar. Als Sumpfpflanzen wurden die Helophyten Teichbinsen (*Scirpus lacustris*) bzw. Rohrkolben (*Typha latifolia*) verwendet. Konstruktionsbedingt wird jedes Becken ca. 10 cm über der Lavaoberkante überstaut. Am Boden der einzelnen Becken befindet sich ein Drainagesystem, in dem sich das Wasser sammelt und über einen Überlaufschacht dem nachfolgendem Becken zugeführt wird. Somit wird eine überwiegend vertikale Durchströmung des Bodenfilters erreicht und ein horizontaler Kurzschluss ausgeschlossen. Dies führt gleichzeitig zur Ausprägung von aeroben Zonen im Wurzelbereich sowie anaeroben Zonen unterhalb der Rhizosphäre, womit ein optimaler biologischer TNT-Abbau erzielt werden sollte. Der Beckenquerschnitt ist in Abb. 3-2 gezeigt.

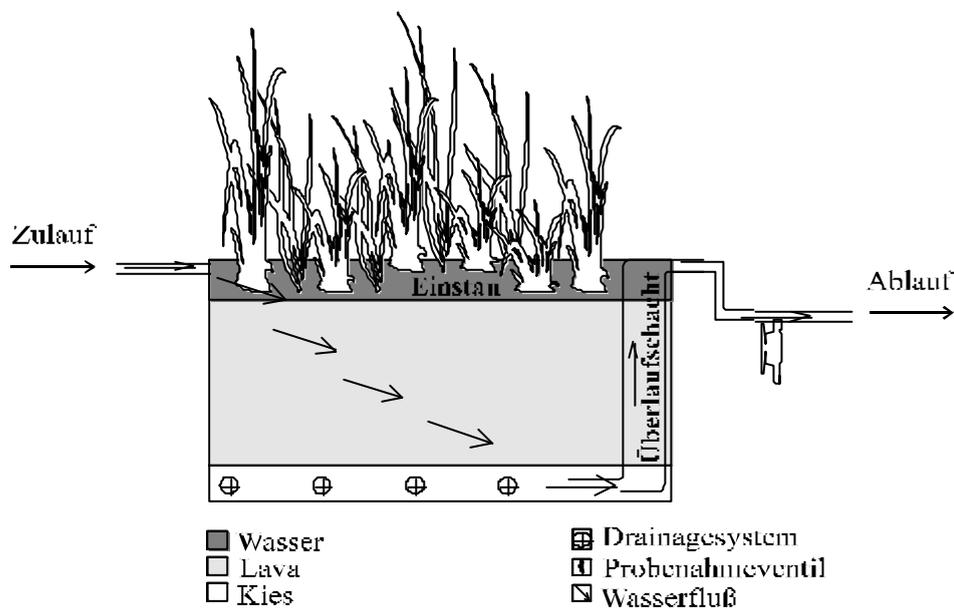


Abb. 3-2: Querschnitt eines Beckens der Pflanzenkläranlage

Dosierung von TNT / Nitroaromaten

Für die durchgeführten Studien wurden künstlich hergestellte sprengstoffbelastete Wässer verwendet. In der Vegetationsperiode 1998 fanden Untersuchungen mit TNT-Wässern statt. Die Experimente in der Vegetationsperiode 1999 erfolgten mit Wässern, denen neben TNT fünf weitere kritische Nitroaromaten (2,6-DNT, 2,4-DNT, 2-NT, 3-NT, 4-NT) zugegeben wurden.

Zur Herstellung der TNT-belasteten Wässer (Vegetationsperiode 1998) förderte eine Dosierpumpe Frischwasser aus einem Vorratsfass zu einer mit kristallinem TNT befüllten Generatorsäule (Innendurchmesser: 2,5 cm, Länge: 25 cm). Am Ein- und Ausgang der Generatorsäule wurden engmaschige Stahlsiebe eingebracht, um einen Austrag von ungelöstem TNT zu verhindern. Beim Durchströmen der Generatorsäule löste sich das TNT. Die erzeugte Lösung wurde dem Wasser aus dem Vorratsbehälter, das mittels Verdrängerpumpe in die Pflanzenkläranlage eingeleitet wurde, über eine Filterglocke zudosiert (Abb. 3-3).

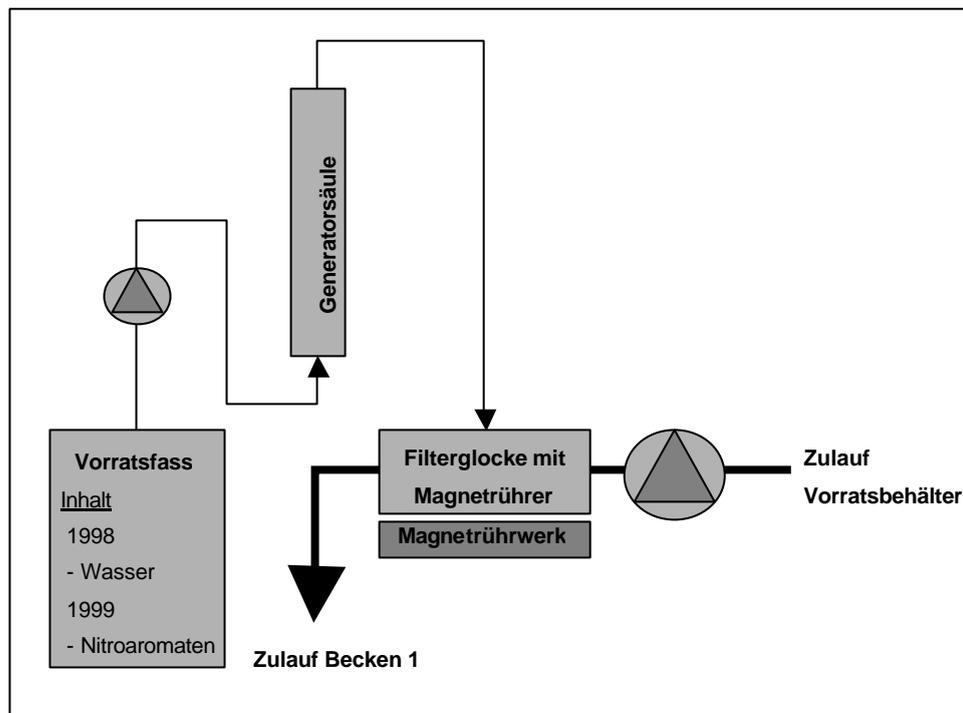


Abb. 3-3: Aufbau der Dosierstation

Zur Herstellung der TNT-/Nitroaromaten-Lösung (Vegetationsperiode 1999) fand eine Modifizierung der Dosierstation statt. Die Fünf-Nitroaromaten-Lösung wurde im Labor hergestellt (Stammlösung: 120 mg/l) und anschließend im Vorratsfass (Volumen: 120 l) mit Wasser verdünnt. Aus diesem Vorratsfass wurde mittels Dosierpumpe die Nitroaromatenlösung in die Generatorsäule gepumpt, in der sich wiederum kristallines TNT befand. Die konzentrierte TNT-/Nitroaromaten-Lösung wurde dem Wasserstrom über eine Filterglocke aus dem

Vorratsbehälter zudosiert. Die Pumpenfördermengen und die geplanten Zulaufkonzentrationen sind in Tabelle 3-1 dargestellt.

Tabelle 3-1: Zulaufkonzentration der künstlich hergestellten TNT / NA - Lösungen

	Pumpenfördermenge [l/min]		Ausgangskonzentration im Vorratsfass [mg/l]	Zulaufkonzentration in der Pflanzenkläranlage [mg/l]
	Dosierpumpe	Verdränger- pumpe		
TNT-Lösung	0,05	1		2
Nitroaromaten- Lösung	0,05	1	1 (Stammlösung: 120 mg·l ⁻¹)	0,05

Die gewählten Zulaufkonzentrationen entsprechen realen Konzentrationen eines Grundwassers in der Nähe der ehemaligen Sprengstoffproduktionsanlage „Werk Tanne“.

3.3 Untersuchungen an der Pflanzenkläranlage

Die Studien an der Pflanzenkläranlage, die während der Vegetationsperioden 1998 und 1999 durchgeführt wurden, beinhalteten Untersuchungen der Kompartimente Wasser, Lava und Pflanzen sowie spezieller meteorologischer Parameter.

Die Wasserproben wurden hinsichtlich des Gehaltes an Nitroaromaten sowie an Nitriten als Wasserbestandteil untersucht. Gleichzeitig fand die Bestimmung der Wasserparameter Redoxpotential und gelöster Sauerstoffgehalt statt. Bei den Lavaproben erfolgte eine Betrachtung der reversiblen Bindung der Nitroaromaten an der Bodenmatrix. Bei den Pflanzenproben wurde der Gehalt an adsorptiv gebundenen bzw. aufgenommenen Nitroaromaten bestimmt.

3.3.1 Wasserproben

Analytik der Nitroaromaten

Die quantitative und qualitative Bestimmung der Schadstoffe in Wasserproben (Ablaufproben, Zulaufproben Vegetationsperiode 1999) basierte auf der Anreicherung der Wasserinhaltsstoffe durch Festphasenextraktion (quantitative und qualitative Bestimmung der Wasserinhaltsstoffe der Zulaufproben Vegetationsperiode 1998 ohne Festphasenextraktion) und der anschließenden Messung mittels HPLC.

Probenahme

Zur Bestimmung des Gehaltes an TNT (Vegetationsperiode 1998) sowie an TNT, 2,4-DNT, 2,6-DNT, 2-NT, 3-NT, 4-NT (Vegetationsperiode 1999) und der gebildeten Umbauprodukte im Wasser wurden zweimal pro Woche Wasserproben am Ablauf der Becken genommen. Die Ermittlung der Zulaufkonzentrationen erfolgte zeitgleich mit der Befüllung der TNT-Generatorsäule durch Probenahme am Zulauf des jeweiligen ersten Beckens. Dabei wurde die Probenahme zum einen unmittelbar vor der Befüllung der TNT-Generatorsäule und zum anderen 20 min danach (Fließdauer bis zum Zulaufhahn) vorgenommen. Die Probenahmen der Ablaufproben erfolgte in 1-l Braunhals-Steilbrustflaschen, die der Zulaufproben in 100-ml Schottflaschen.

- Probenahmeort
 - Ablauf: Ablaufhahn der Becken 1 bis 5
 - Zulauf: Zulauf Becken 1

- Probenvolumen

Ablauf: $V = 1000$ ml

Zulauf: $V = 10$ ml (Vegetationsperiode 1998)

$V = 100$ ml (Vegetationsperiode 1999)

Probenaufbereitung

Die Wasserproben wurden anschließend im Labor aufbereitet. Die Probenaufbereitung der Ablaufproben beider Vegetationsperioden und der Zulaufproben der Vegetationsperiode 1999 erfolgte mittels Festphasenextraktion nach der Festphasenextraktionsmethode *Chromabond HR-P* [107]. Die Zulaufproben der Vegetationsperiode 1998 wurden ohne Festphasenextraktion aufbereitet.

- Festphasenextraktion (Ablauf- bzw. Zulaufproben, Vegetationsperiode 1999)

Probenvorbereitung: - Ansäuern der Wasserprobe auf pH 2

- Bestimmung des Probenvolumens

Anreicherung:

- Konditionierung der Extraktionsröhrchen

(2 x 3 ml Methanol und 1 x 3 ml dest. H₂O)

Beachte: Vermeidung des Trockenlaufens der Kartuschen

- vor dem ersten Ansaugen vollständige Befüllung der Extraktionsröhrchen und Ansaugschläuche mit Probenwasser (Vermeidung des Leerlaufens der Kartuschen)

- Überleitung des Probevolumen über die konditionierte Extraktionsröhrchen durch Anlegen von Unterdruck (Wasserstrahl-pumpe, 10 bar) an einer Festphasenextraktionsapparatur

- Trocknen der Extraktionsröhrchen im Luftstrom

- Bestimmung des Restvolumens für Berechnung der extrahierten Wassermenge

Elution:

- Aufgabe von 3 x 1 ml Acetonitril/Methanol (1:1, v/v) über Kartuschen

- Reinigung des Eluates über 400 mg Kieselgelkartusche

- Einengung des Eluates im Stickstoffstrom

- Aufnahme in 1 ml Methanol

- Probenvorbereitung für HPLC-Messung (für alle Proben durchgeführt)

Überführung der Probe über einen 45- μ m-Filter in HPLC-Vials (aufgenommene Eluate bzw. Zulaufproben, Vegetationsperiode 1998)

HPLC

Die aufbereiteten Proben wurden anschließend direkt in der HPLC gemessen oder bis zur Messung bei -18 °C eingefroren.

- Analyseparameter für die Bestimmung der Nitroaromaten
 - Vorsäule: LiChrosphere 100 RP-18 ($5\mu\text{m}$)
 - Trennsäule: Nucleosil 120-5 C_{18} (250 x 4 mm)
 - Laufmittel: Methanol/Wasser
 - Flussrate: 0.8 ml/min
 - Druck: 220 bar
 - Säulentemperatur: 18 °C
 - Messwellenlänge: 254 nm
 - Probeninjektionsvolumen: $10\ \mu\text{l}$

- Gradientenmethode zur Messung der Ablaufproben beider Vegetationsperioden und der Zulaufproben der Vegetationsperiode 1999 (Tabelle 3-2)

Tabelle 3-2: Gradientenmethode für Ablaufproben und Zulaufproben (Vegetationsperiode 1999)

Zeit	Gradient	Laufmittelzusammensetzung
Ausgangsbedingung		
0-15 min	Isokratisch	41 % MeOH und 59 % H_2O
Beginn Chromatogrammaufzeichnung		
16-18 min	Isokratisch	41 % MeOH und 59 % H_2O
19-32 min	Linear	53 % MeOH und 47 % H_2O
33-36 min	Isokratisch	53 % MeOH und 47 % H_2O
37-39 min	Linear	70 % MeOH und 30 % H_2O
40-49 min	Isokratisch	70 % MeOH und 30 % H_2O
Ende Chromatogrammaufzeichnung		
Spülvorgang		
50-54 min	Linear	100 % MeOH
55-70 min	Isokratisch	100 % MeOH
Rekonditionierung		
70-75 min	Linear	41 % MeOH und 59 % H_2O

- Gradientenmethode zur Messung der Zulaufproben der Vegetationsperiode 1998 und zur Messung der Ablaufproben hinsichtlich der speziellen Detektion von 2,6-DA-4-NT und 2,4-DA-6-NT (Tabelle 3-3)

Tabelle 3-3: Analysemethode für Zulaufproben (Vegetationsperiode 1998)

Zeit	Gradient	Laufmittelzusammensetzung
Ausgangsbedingung		
0-15 min	Isokratisch	60 % MeOH und 40 % H ₂ O
Beginn Chromatogrammaufzeichnung		
16-36 min	Isokratisch	60 % MeOH und 40 % H ₂ O
Ende Chromatogrammaufzeichnung		
Spülvorgang		
37-41 min	Linear	100 % MeOH
42-57 min	Isokratisch	100 % MeOH
Rekonditionierung		
58-62 min	Linear	60 % MeOH und 40 % H ₂ O

Identifikation der Nitroaromaten

Die Identifikation der Nitroaromaten im Wasser erfolgte durch Vergleich der Retentionszeiten und UV-Spektren von bekannten Standards. Zur Integration der Peaks für die Konzentrationsbestimmung wurde die Software 'Turbochrom Navigator', Version 4.0 der Fa. Perkin Elmer genutzt.

Kalibrierung

Die Kalibrierung der HPLC-Anlage wurde mit kommerziell erhältlichen Chemikalien durchgeführt. Die Referenzsubstanzen des Nitroaromaten-Standardgemische MIX 1 und MIX 2 (Ausgangskonzentration: 1000 µg/ml) wurden vereinigt und als Multistandard im Konzentrationsbereich von 0,25 – 50 µg/ml in zehn unterschiedlichen Konzentrationen je dreifach mittels Gradientenmethode (Tabelle 3-2, Tabelle 3-3) analysiert. Ein Gemisch aus 2,6-DA-4-NT (Ausgangskonzentration: 1000 µg/ml) und 2,4-DA-6-NT (Ausgangskonzentration: 100 µg/ml) wurde im Konzentrationsbereich von 1,25 – 50 µg/ml ebenfalls dreifach gemessen. Die Kalibrationskurven zeigten jeweils einen linearen Verlauf und konnten mit Regressionsgeraden ($r^2 > 0,99$) beschrieben werden.

Wiederfindungsraten

Zur Validierung der Probenaufbereitung mittels Festphasenextraktion wurden Wiederfindungsraten bestimmt. Die Ermittlung (Tabelle 3-4) erfolgte jeweils mit drei parallelen Wasserproben (unbelastetes Wasser aus der Pflanzenkläranlage). Die Wasserproben wurden mit einer definierten Menge des entsprechenden Standards versetzt, nach der oben beschriebenen Methode (Festphasenextraktion) aufbereitet und mittels HPLC gemessen.

- Eingesetztes Probenvolumen (vor Festphasenextraktion)
 $V = 1000 \text{ ml}$
- Konzentrationen der Standards in Wasserprobe (vor Festphasenextraktion)
Nitroaromaten-Standardgemische MIX 1 und MIX 2:
 - $c_1 = 2 \text{ } \mu\text{g/l}$
 - $c_2 = 5 \text{ } \mu\text{g/l}$
 - $c_3 = 1 \text{ } \mu\text{g/l}$*2,6-DA-4-NT- und 2,4-DA-6-NT-Standard:*
 - $c_1 = 0,5 \text{ } \mu\text{g/l}$
 - $c_2 = 25 \text{ } \mu\text{g/l}$
 - $c_3 = 50 \text{ } \mu\text{g/l}$

Tabelle 3-4: Darstellung der Wiederfindungsraten der für diese Arbeit relevanten Nitroaromaten

Nitroaromaten	Retentionszeit	Wiederfindungsraten [%]	Standardabweichung [n = 9]
TNT	22,02	97,9	8,10
4-A-2,6-DNT	24,79	88,0	3,96
2-A-4,6-DNT	25,84	93,7	3,22
2,6-DNT	27,36	91,8	3,88
2,4-DNT	28,17	87,6	4,43
2-NT	29,81	72,3	14,68
4-NT	30,24	79,0	11,69
3-NT	30,89	75,0	13,17
2,6-DA-4-NT	5,32	90,9	4,17
2,4-DA-6-NT	6,02	77,5	7,75

Die Wiederfindungsraten wurden zur Berechnung der Konzentrationen in den realen Wasserproben herangezogen.

Analytik weiterer Wasserbestandteile

Zur Bestimmung der Nitritkonzentrationen wurden Küvettentests verwendet. Die Auswertung erfolgte über ein Spektrophotometer mit variabler Wellenlänge.

Probenahme

Die Probenahme zur Bestimmung des Gehaltes an Nitriten erfolgte parallel zur Probenahme für die Bestimmung der Nitroaromatengehalte im Wasser. Als Probenahmegefäße kamen 100-ml Schottflaschen zum Einsatz.

- Probenahmeort
Ablauf: Ablaufhahn der Becken 1 und 2
Zulauf: Zulauf Becken 1
- Probenvolumen
Ablauf: V = 50 ml
Zulauf: V = 50 ml

Aufbereitung

Die Aufbereitung der Wasserproben erfolgte entsprechend der Probenaufbereitung nach *Merck-Küvettentest* (verwendete Tests: siehe Tabelle 3-5).

Spektroskopie

Der Gehalt der anorganischen Stickstoffionen im Wasser wurde mittels Farbreaktion und anschließender Spektrometrie bestimmt.

Tabelle 3-5: Verwendete Küvettentests und Wellenlängen zur UV/VIS-Messung

Analyt	Küvettentest-Nr.	Wellenlänge [nm]
Nitrit	14476	525

Bestimmung der Wasserparameter und spezieller meteorologischen Parameter

Die Außen- und Wassertemperaturen wurden täglich während der gesamten Versuchsphase erfaßt. Die Messung der Wassertemperatur erfolgte dabei *in situ* im oberen Bereich des Überlaufschachtes des zweiten Beckens. Als weiterer Parameter zur Erfassung der meteorologischen Parameter wurde der Niederschlag täglich bestimmt. Die Messung der Wasserparameter (gelöster Sauerstoffgehalt im Wasser, Redoxpotential) erfolgte parallel zu den Probenahmen zur Analytik der Nitroaromaten zweimal pro Woche *in situ* im unteren Bereich der jeweiligen Überlaufschächte sowie im eingestauten Bereich der Becken.

3.3.2 Lavaproben

Zur Bestimmung der reversibel gebundenen Rückstände der Nitroaromaten an Lava wurden Lavaproben aus der Kläranlage genommen. Die Proben wurden im Labor in Anlehnung einer Aufbereitungsvorschrift der EPA aufbereitet [108], das Extraktionsmittel anschließend aufkonzentriert und die extrahierbaren Inhaltsstoffe im Extraktionsmittel mittels HPLC-Messung analysiert.

Probenahme

Die Probenahmen erfolgten jeweils am Ende der Vegetationsperioden (Vegetationsperiode 1998, Vegetationsperiode 1999) sowie im Sommer der Vegetationsperiode 1998. Die Proben wurden aus drei unterschiedlichen Tiefen in jeweils drei unterschiedlichen Entfernungen vom Wasserzulauf genommen (Abb. 3-4).

- Probenahmeorte

horizontale Verteilung (in Abb. 3-4)

- Einlaufbereich (A)
- Mitte (B)
- Ablaufbereich (C)

vertikale Verteilung

- 10 cm (1)
- 50 cm (2)
- 90 cm (3)

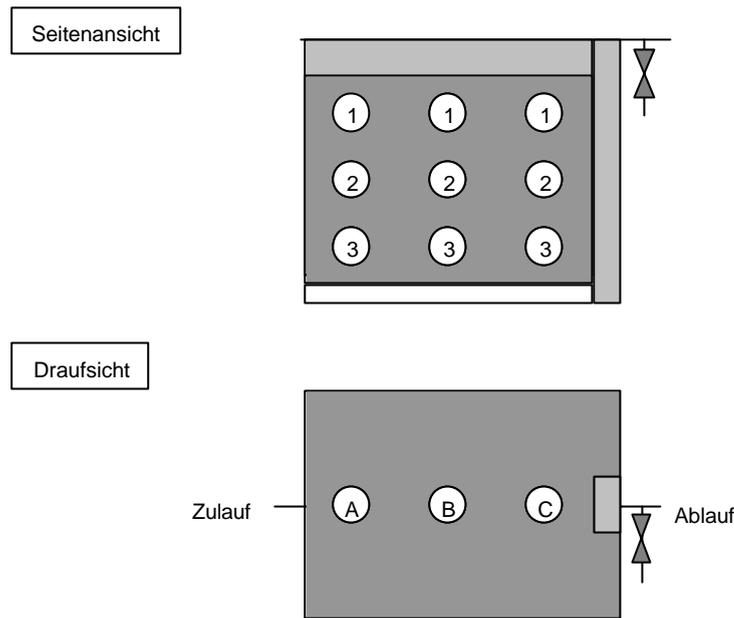


Abb. 3-4: Probenahmeorte zur Untersuchung der Bodenmatrix in der Pflanzenkläranlage

- Probenahme

- Einschlagen eines Stahlrohrs (Innendurchmesser: 6,5 cm) in Pflanzenbeet am entsprechenden Probenahmeort
- Eindrehen eines Spiralbohrers (\varnothing 5 cm) in das Stahlrohr entsprechend der jeweiligen Probenahmetiefe
- Gleichzeitiges Herausziehen des Stahlrohres mit Spiralbohrer
- Entleeren der mittels Spiralbohrer gehobenen Lavaprobe in Probenahmegefäß (100 ml Schottflasche)

Die Lavaproben wurden bis zur Aufbereitung bei $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ eingefroren.

Aufbereitung [108]

Die Probenaufbereitung erfolgte mit jeweils drei Proben eines jeden Probenahmeortes. Die Lavaproben wurden zuvor intensiv gemischt und dann parallel aufbereitet.

- Einwaage abtropffechter Lavaprobe in verschließbares Glasröhrchen
(vorher Entfernung von Wurzel- und Pflanzenrückständen)
 $m = 10 \text{ g}$
- Zugabe Natriumsulfat zur Bindung des Wassers
 $m = 3 \text{ g}$
- Zugabe von Acetonitril als Extraktionsmittel
 $V = 10 \text{ ml}$
- Schütteln der Probe
- Extraktion der Probe im Ultraschallbad
 $t = 1 \text{ h}$
- nach Extraktion Aufbewahrung der Glasröhrchen im Kühlschrank bei $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ zum Sedimentieren der Lava
 $t = 12 \text{ h}$
- Abdekantieren des Überstands (Extraktionsmittel)
- Abnahme definiertes Volumens des Extraktionsmittels und Zugabe in Reagenzglas
 $V = 5 \text{ ml}$
- Einengen des Extraktionsmittels im Stickstoffstrom
 $V \approx 0,5 \text{ ml}$
- quantitative Überführung des eingengten Extraktionsmittels in 1 ml Messkölbchen und Aufnahme in Acetonitril
 $V = 1 \text{ ml}$

HPLC

- Analytik analog Kap. 3.3.1

Bestimmung Trockengewicht

- Einwaage luftgetrockneter Lava in Glasröhrchen
 $m = 10 \text{ g}$
- Ausheizen bis zur Gewichtskonstanz im Trockenschrank
 $\vartheta = 60 \text{ }^{\circ}\text{C}$

Der Wasseranteil betrug zwischen 10 – 25 %.

Wiederfindungsrate

Die Lavaprobenaufbereitung wurde durch Bestimmung von Wiederfindungsraten validiert. Die Ermittlung (Tabelle 3-6) erfolgte mit jeweils drei parallelen (TNT, 2-A-4,6-DNT, 4-A-2,6-DNT) sowie zwei parallel Lavaproben (2,6-DNT, 2,4-DNT, 2-NT, 4-NT, 3-NT). Die Lavaproben wurden mit einer definierten Menge des in Acetonitril gelösten Standards versetzt, nach der oben beschriebenen Methode aufbereitet, das Extraktionsmittel aufkonzentriert und mittels HPLC jeweils dreimal gemessen.

- Probenmenge der zur Validierung eingesetzten Lava

TNT, 2-A-4,6-DNT, 4-A-2,6-DNT:

- m = 3 g, abtropfeuchte unbelastete Lava

2,6-DNT, 2,4-DNT, 2-NT, 4-NT, 3-NT:

- m = 10 g, abtropfeuchte unbelastete Lava

- Eingesetzte Konzentrationen

TNT, 2-A-4,6-DNT, 4-A-2,6-DNT:

- c₁ = 0,21 mg/kg Lava (TS)

- c₂ = 0,53 mg/kg Lava (TS)

- c₃ = 0,84 mg/kg Lava (TS)

2,6-DNT, 2,4-DNT, 2-NT, 4-NT, 3-NT:

- c₁ = 0,22 mg/kg Lava (TS)

- c₂ = 0,55 mg/kg Lava (TS)

- c₃ = 0,87 mg/kg Lava (TS)

Tabelle 3-6: Darstellung der Wiederfindungsraten bei der Lavaextraktion, bezogen auf mg/kg Lava (TS)

Nitroaromaten	Wiederfindungsraten [%]	Standardabweichung
TNT ¹	92,16	2,77
4-A-2,6-DNT ¹	100,95	9,99
2-A-4,6-DNT ¹	100,24	8,87
2,6-DNT ²	65,61	3,30
2,4-DNT ²	61,12	4,19
2-NT ²	49,30	6,34
3-NT ²	49,81	7,03
4-NT ²	48,60	6,73

¹ Standardabweichung berechnet mit [n = 9]

² Standardabweichung berechnet mit [n = 6]

TNT, 4-A-2,6-DNT und 2-A-4,6-DNT wurden nahezu vollkommen wiedergefunden. Die Wiederfindungsraten für 2,6-DNT und 2,4-DNT lagen über 60 %, die für 2NT, 4-NT, 3NT bei 50 %. Eine Ursache für die niedrigen Wiederfindungsraten besonders für NT kann in der hohen Flüchtigkeit dieser Stoffe (siehe Tabelle 2-1) begründet sein. Eine Anreicherung der Nitroaromaten ist jedoch aufgrund der geringen Konzentrationen notwendig.

Die Wiederfindungsraten wurden zur Berechnung der Konzentrationen in den realen Lavaproben berücksichtigt.

3.3.3 Pflanzenproben

Zum Nachweis der Aufnahme von TNT und dessen Metaboliten in die Pflanzenmatrix wurden zum Ende der Vegetationsperioden Pflanzen aus der Pflanzenkläranlage geschnitten, die Sprossen extrahiert und die Extrakte zur Bestimmung der extrahierbaren Inhaltsstoffe mittels HPLC gemessen.

Probenahme

Die Pflanzenproben wurden oberhalb der Lavoberfläche geschnitten. Um repräsentative Proben zu erhalten, wurden über die gesamte Beetfläche verteilt Stichproben aus dem jeweiligen Becken entnommen. Die Sprossen wurden anschließend kleingeschnitten (Länge: ca. 20 cm), vermischt und daraus Teilproben zur Aufbereitung in Probengefäße gefüllt.

Die Pflanzenproben wurden bis zur Aufbereitung bei -30 °C eingefroren.

Aufbereitung

Die Probenaufbereitung des Pflanzenmaterials erfolgte in Anlehnung an eine bereits verwendete Methode [85]. Mittels dieser Aufbereitung war eine Analyse der aufgenommenen und adsorbierten Nitroaromaten möglich. Durch Zellaufschluss wurden die in der Pflanze befindlichen Stoffe für eine Analyse zugänglich gemacht. Das aufgeschlossene Material wurde mit Dichlormethan als Extraktionsmittel versetzt und im Ultraschallbad behandelt. Da TNT und dessen Metaboliten in der Pflanze teilweise in einer mittels Dichlormethan nicht extrahierbaren Form vorliegen können [85,109], erfolgte nach Abfiltern des Extraktionsmittels sowohl eine Aufbereitung des Filterkuchens als auch des Filtrats. Durch Zugabe eines sauren Extraktionsmittels zum Filterkuchen und anschließender Extraktion können die mittels Dichlormethan nicht extrahierbaren Formen erfaßt werden [85,109].

Die Untersuchungen wurden jeweils mit drei parallelen Proben eines jeden Beckens durchgeführt. Dazu wurden die entsprechenden Teilproben noch einmal intensiv gemischt und die Sprossen auf eine Länge von ca. $l = 0,5$ cm geschnitten.

- Vorarbeit
 - Einwaage des geschnittenen Pflanzenmaterials in einen Rundkolben
 $m = 4 \text{ g}$
 - Gefriertrocknung des Pflanzenmaterials
 $t = 24 \text{ h}$
 - Bestimmung des Trockengewichtes

- Zellaufschluss
 - Einwaage des getrockneten Pflanzenmaterials in Rundkolben
 $m = 1 \text{ g}$
 - Zugabe Extraktionsmittel
Dichlormethan, $V = 75 \text{ ml}$
 - Zellaufschluss mit UltraTurrax
 - Spülen des UltraTurrax-Stabes
Dichlormethan, $V = 20 \text{ ml}$

- Extraktion
 - Ultraschallbad, $t = 1 \text{ h}$ (gekühlt)

- Filtration und Aufbereitung des Filtrats
 - Quantitatives Abfiltrieren der Probe über Glasfritte (P 3) in Waschflasche
 - Spülen des Filterkuchens mit Dichlormethan bis Chlorophyll ausgewaschen ist
 $V = 150 \text{ ml}$
 - Volumenbestimmung des Filtrats
 - Quantitative Überführung in Rundkolben
 - Einengung mittels Rotationsverdampfer

- Aufbereitung des Filterkuchens mittels saurem Aufschluss
 - Einwaage des Filterkuchens in Zentrifugenglas
 - Zugabe H_2SO_4 (25 %ig)
 $V = 30 \text{ ml}$
 - Kochen des Filterkuchens
 $\vartheta = 95 \text{ }^\circ\text{C}$, $t = 90 \text{ min}$
 - Abkühlung auf Raumtemperatur
 - Quantitative Überführung in Glasfritte (P 3)
 - Zugabe H_2O
 $V = 30 \text{ ml}$
 - Absaugen des Eluates in Waschflasche
 - Neutralisation des Eluates mit NaOH
 - Überführung in Scheidetrichter

- 3 x Extraktion des Filterkuchens
- Zugabe Extraktionsmittel
Dichlormethan, $V = 20 \text{ ml}$
- Absaugen des Extraktionsmittel in Waschflasche
- Überführung in Scheidetrichter

- Extraktion im Scheidetrichter (wässrige Phase aus saurem Aufschluss)
 - 3 x Extraktion des Eluates
 - Zugabe Extraktionsmittel
Dichlormethan, $V = 20 \text{ ml}$
 - Ausschütteln
 $t = 1 \text{ min}$
 - Ablassen des Extraktionsmittels in zweiten Scheidetrichter
 - Zugabe des Extraktionsmittels nach Extraktion des Filterkuchens in zweiten Scheidetrichter
 - Ausschütteln
 $t = 1 \text{ min}$
 - Zugabe der organischen Phasen zum einrotierten Filtrat (Filtrat nach Zellaufschluss mit Ultra Turrax)
 - Einengung mittels Rotationsverdampfer
 - Quantitative Überführung in 2 ml Masskolben

- Reinigung des aufkonzentrierten Filtrates
 - Aufgabe des aufkonzentrierten Filtrat auf Florisil-Kartusche
 $V = 500 \mu\text{l}$
 - Elution der Nitroaromaten durch Zugabe Cyclohexan / Dichlormethan (1:1)
 $V = 3 \times 1 \text{ ml}$
 - Einengung des Eluates
 - schrittweiser Austausch der Cyclohexan / Dichlormethan - Phase mit Acetonitril
 - Aufnahme des Eluates in $V = 1 \text{ ml}$ Acetonitril

HPLC

- Analytik analog Kap. 3.3.1

Wiederfindungsrate

Die Pflanzenprobenaufbereitung wurde durch Bestimmung von Wiederfindungsraten validiert. Die Ermittlung erfolgte sowohl für die Aufbereitung der Proben der Vegetationsperiode 1998 (Aufbereitung ohne sauren Aufschluss) als auch für die Aufbereitung der Proben der Vegetationsperiode 1999 (Aufbereitung mit saurem Aufschluss) mit drei jeweils parallelen Pflanzenproben. Es wurde dazu unbelastetes Material aus der Pflanzenkläranlage entnommen, mit einer definierten Menge des entsprechenden Standards versetzt, nach der oben beschriebenen Methode aufbereitet und mittels HPLC je dreimal gemessen.

Wiederfindungsrate Vegetationsperiode 1998

- Probenmenge (Pflanzenmaterial, TS)
 $m = 1 \text{ g}$
- Eingesetzte Konzentrationen
Aufbereitung ohne sauren Aufschluss
TNT, 2-A-4,6-DNT, 4-A-2,6-DNT:
 - $c_1 = 15 \text{ mg/kg}$ Pflanzen (TS)
 - $c_2 = 25 \text{ mg/kg}$ Pflanzen (TS)

Wiederfindungsrate Vegetationsperiode 1999

- Probenmenge (Pflanzenmaterial, TS)
 $m = 1 \text{ g}$
- Eingesetzte Konzentrationen
Aufbereitung ohne sauren Aufschluss
14er Nitroaromatenstandard:
 - $c_1 = 50 \text{ mg/kg}$ Pflanzen (TS)
 - $c_2 = 75 \text{ mg/kg}$ Pflanzen (TS)Aufbereitung mit saurem Aufschluss
14er Nitroaromatenstandard:
 - $c_1 = 50 \text{ mg/kg}$ Pflanzen (TS)

In Tabelle 3-7 sind die Wiederfindungsraten für die Vegetationsperioden 1998 und 1999 dargestellt.

Tabelle 3-7: Bestimmung der Wiederfindungsrate bei der Aufbereitung des Pflanzenmaterials

Mittlere Wiederfindungsrate [%]								
Vegetationsperiode 1998	TNT	4-A-2,6-DNT			2-A-4,6-DNT			
Aufbereitung des Pflanzenmaterials ohne sauren Aufschluss des Filterkuchens								
c ₁ = 15 mg/kg Pflanzen (TS)	24	15			15			
STABW (n = 9)	1,42	1,12			0,99			
c ₂ = 25 mg/kg Pflanzen (TS)	60	33			35			
STABW (n = 9)	1,85	1,14			0,95			
Vegetationsperiode 1998	TNT	4-A-2,6-DNT	2-A-4,6-DNT	2,6-DNT	2,4-DNT	2-NT	4-NT	3-NT
Aufbereitung des Pflanzenmaterials ohne sauren Aufschluss des Filterkuchens								
c ₁ = 50 mg/kg Pflanzen (TS)	54	10	15	69	57	22	24	23
STABW (n = 6)	0,14	0,07	0,39	0,24	0,15	0,20	0,21	0,20
c ₂ = 75 mg/kg Pflanzen (TS)	57	11	16	66	55	26	27	27
STABW (n = 6)	0,29	0,31	0,41	0,36	0,91	0,34	0,38	0,33
Aufbereitung des Pflanzenmaterials mit saurem Aufschluss des Filterkuchens								
c ₁ = 50 mg/kg Pflanzen (TS)	43	7	6	78	48	31	34	32
STABW (n = 9)	0,91	0,46	0,43	0,65	0,81	1,28	1,35	1,27

Die Bestimmungen für die Vegetationsperiode 1998 ergaben in Abhängigkeit der eingesetzten Konzentration unterschiedliche Wiederfindungsraten. Die Wiederfindungsraten für TNT sind dabei um 50 % höher als die Raten für ADNT. Ebenso liegen die Raten im niedrigerem Konzentrationsbereich um 50 % unterhalb derer im höheren Konzentrationsbereich. Die Untersuchungen der Vegetationsperiode 1999 zeigten ein ähnliches Bild. Auch hier sind die Wiederfindungsraten für TNT höher als für ADNT. Sie liegen für TNT im gleichen Bereich wie die

Wiederfindungsraten der höheren Ausgangskonzentration in der Vegetationsperiode 1998. Die Raten für ADNT sind trotz höherer Ausgangskonzentration nicht identisch mit den Werten in Vegetationsperiode 1998. Sie liegen im gleichen Bereich wie die Wiederfindungsraten mit niedrigerer Ausgangskonzentration. In beiden Fällen sind die Standardabweichungen jedoch sehr gering. Die Verluste der ADNT müssen daher auf anderem Wege erfolgen und können mit der Art der Applikation (Aufgabe der Standards aufs Pflanzenmaterial und damit kein Einbau der Schadstoffe in Pflanzenmatrix) zusammenhängen. Der saure Aufschluss des Filterkuchens brachte erwartungsgemäß keine Erhöhung der Wiederfindungsrate, da die Schadstoffe nicht im Pflanzenmaterial aufgenommen, sondern von aussen zugegeben wurden. Die Wiederfindungsraten für DNT liegen im ähnlichen Bereich wie für TNT. Die Wiederfindungsraten für NT sind ca. 50 % geringer gegenüber DNT.

Für die Evaluierung der Pflanzenaufbereitungsmethode läßt sich feststellen, dass die verwendete Methode nur bedingt für die Untersuchung der Aufnahme von Schadstoffen in die Pflanzen geeignet ist. Das Pflanzenmaterial wurde trotzdem mittels dieser Methode untersucht, da aufgrund der geringen Standardabweichungen von einer validen Pflanzenaufbereitungsmethode ausgegangen werden kann. Die mit dieser Methode erhaltenen Ergebnisse sind jedoch nur bedingt aussagekräftig für eine Einschätzung der Schadstoffaufnahme in die Pflanzen. Eindeutige Ergebnisse in dieser Hinsicht sind nur durch Versuche mit radioaktiven *Tracern* an einer Modellanlage zugänglich (*vide infra*).

3.4 Versuchsanlage 'Modellanlage'

Die Studien hinsichtlich der Eliminierung von [¹⁴C]TNT aus dem Wasser wurden aus sicherheitstechnischen Gründen an einer Modellanlage in einem Laborcontainer durchgeführt. Diese Anlage wurde in Zusammenarbeit der Arbeitsgruppe Pflanzenkläranlage des Instituts für Ökologische Chemie und der Betriebstechnik der GSF entworfen und entwickelt.

Aufbau

Die verwendete Modellanlage, schematisch in Abb. 3-5 dargestellt, stellt eine kontrollierte Modellökosystem-Anlage dar. Die Anlage setzt sich dabei aus zwei Hauptelementen (Inkubatoreinheit und Klimatisierungseinheit) zusammen. Die Inkubatoreinheit besteht aus zwei identischen, gläsernen Versuchskammern, in denen die Radioaktivuntersuchungen durchgeführt werden können. Die Klimatisierungseinheit ermöglicht eine kontinuierliche Konditionierung der Außenluft entsprechend der innerhalb der Inkubatoren gewünschten Klimabedingungen. Wobei die Simulation eines breiten Spektrums an klimatischen Bedingungen gegeben ist. Regelgrößen stellen die Temperatur und die relative Luftfeuchte dar. Gleichzeitig ist eine Simulation der Windgeschwindigkeit (minimal: 3,4 m s⁻¹, maximal: 6,8 m s⁻¹) durch Regelung des Zu- und Abluftstromes möglich. Die starke Belüftung der Inkubatoren ist neben der Einstellung der Windgeschwindigkeit zusätzlich notwendig, um eine Adsorption votaler Untersuchungssubstanzen an der Oberfläche sowie die Refixierung von CO₂ aus Abbauvorgängen durch die Pflanzen zu minimieren [110].

Klimatisierungseinheit

Die Funktionsweise der Modellanlage und der Klimatisierungseinheit kann wie folgt beschrieben werden:

Über einen Motor wird Außenluft im Zuluftkanal angesaugt, über einen Schwebstofffilter geleitet und mittels Heizregister bzw. Kältemaschine temperiert (Steuerung über Temperaturmesssonde). Die Luft wird anschließend zur Entfernung von organischen Verbindungen über Aktivkohlefilter geleitet. Durch eine Defensorheit findet eine Befeuchtung der Luft statt (Steuerung über Messsonde für relative Feuchte). Eine Schikane verwirbelt die Luft, bevor sich der Zuluftkanal in zwei Zweigkanäle teilt. Volumenstromregler in der Zuluft und in der Abluft regeln den Luftdurchsatz in den Inkubatoren (Simulation der Windgeschwindigkeit). Aus den Abluftkanälen der Inkubatoren kann mittels Massenflussregler ein definierter Teilstrom entnommen und über Absorptionsfallen geleitet werden (Erfassung flüchtiger Abbauprodukte). Im Abluftkanal ist eine Messsonde für Temperatur und relative Luftfeuchte installiert. Die Abluft wird, bevor sie durch den Ablüfter ins Freie abgegeben wird, über Aktiv- und Partikelfilter gereinigt [110].

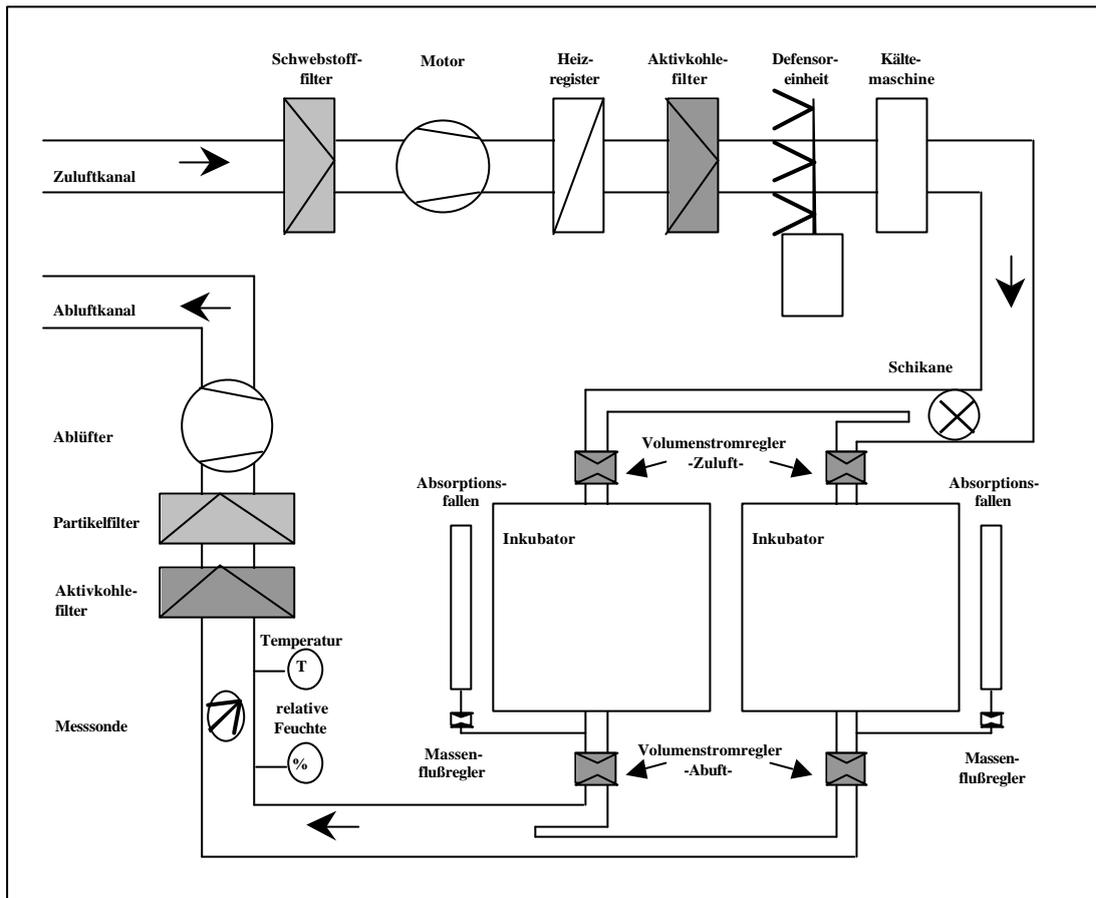


Abb. 3-5: Vereinfachte schematische Darstellung der Modellanlage [110]

Die genaue Regelung der Temperatur und der relativen Luftfeuchte erfolgt automatisch durch eine Regeleinheit. Die Regelgrößen sind dabei die Sollwerte von Temperatur und relativer Luftfeuchte. Die Messgrößen stellen dabei die Werte in der Außenluft (Messsonde auf dem Dach des Gebäudes) und der Ist-Werte in der Anlage (Messsonden im Abluftkanal) dar.

Inkubatoreinheit

In den Inkubatoreinheiten (Höhe: 1,2 m, Länge: 1,0 m, Breite: 0,6 m) befanden sich die für die Studien benötigten Pflanzenbecken (Abb. 3-6).

Aufgrund der Arbeit mit radioaktiv markierten Stoffen mußten beim Aufbau der Inkubatoren besondere sicherheitstechnische Abforderungen berücksichtigt werden. Die Inkubatoren bestehen aus zwei Teilen, wobei der obere Teil mittels Hebebühne abgenommen werden kann. Zur Verhinderung von Gasdiffusionen in bzw. aus den Reaktionskammern wurde auf der unteren Hälfte der Inkubatoren eine Teflonlippe aufgebracht und die beiden Hälften mit nicht-klebendem Karosierdichtstoff abgedichtet. Ausserdem wurde, um einen Austrag von radioaktiv belasteter

Luft in den Außenraum zu vermeiden, in den Glasinkubatoren aufgrund der Luftströmung (Abluft: leicht erhöhter Durchfluss gegenüber Zufluss) ein Unterdruck erzeugt.

Der Zu- bzw. Abluftkanal an den Inkubatoren ist jeweils mittig installiert. Durch die oben beschriebene Luftführung, wurden die Versuchskammern stets mit frischer Luft durchströmt. Um eine bessere Durchwirbelung der Luft in den Reaktionskammern zu verwirklichen, befindet sich vertikal 100 cm hinter dem Zuluftkanal sowie 100 cm vor dem Abluftkanal eine mit Löchern versehene Glasplatte, die jeweils horizontal an der Inkubatorausenwand befestigt ist (horizontale Platte: 3 Löcher, vertikale Platte: 12 Löcher).

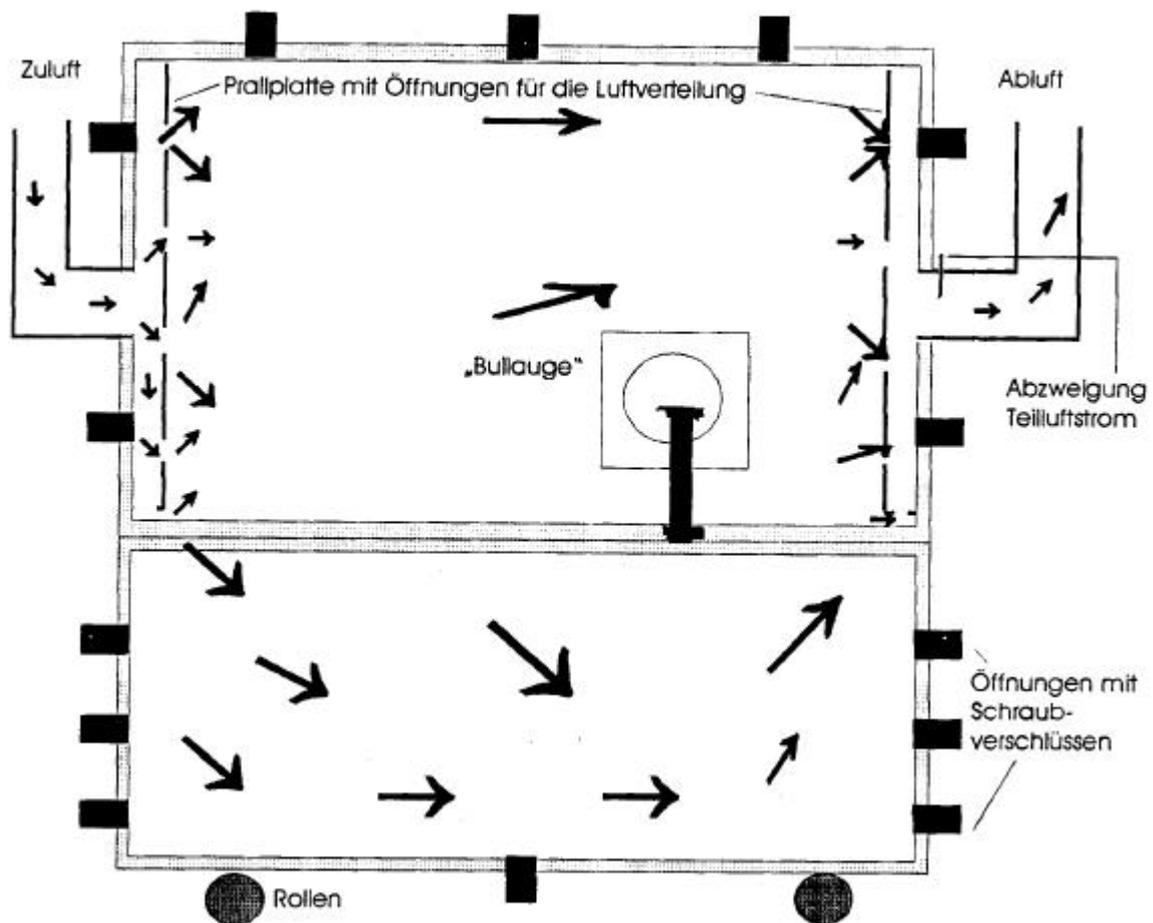


Abb. 3-6: Schematischer Aufbau der Inkubatoreinheit [110]

Damit während der laufenden Versuche die Pflanzenaquarien zugänglich bleiben, befinden sich an den Seitenwänden der Inkubatoren Bullaugen. Zusätzlich können an Öffnungen, die mittels Schraubverschlüssen abgeschlossen werden können, Messsonden in die Inkubatoren eingeführt werden.

Die Simulation unterschiedlicher Tageszeiten wurde durch eine Beleuchtungseinheit realisiert, die über den Inkubatoreinheiten angebracht war. Die Beleuchtung der Inkubatoren erfolgte dabei mit Pflanzenwachstums-, UV- und Kryptonlampen, die mittels Schaltzeituhren separat voneinander geschaltet werden konnten. Der obere Teil der Glasinkubatoren bestand aus diesem Grund aus UV-durchlässigem Tempaxglas. Die Modellanlage befand sich in einem klimatisierten, abgedunkelten Laborraum.

Die für alle in der Modellanlage durchgeführten Untersuchungen gewählten Klimaparameter sind in Tabelle 3-8 dargestellt.

Tabelle 3-8: Eingestellte Klimaparameter für alle drei Versuche in den Versuchskammern

Parameter		Eingestellte Bedingungen für alle Versuche
Relative Luftfeuchte		60 %
Temperatur		18 °C
Windgeschwindigkeit		3,4 m s ⁻¹
Tageszeiten	Dämmerphase:	07.00 Uhr – 08.00 Uhr
	Tag:	08.00 Uhr – 19.00 Uhr
	Dämmerphase:	19.00 Uhr – 20.00 Uhr
	Nacht:	20.00 Uhr – 07.00 Uhr

Absorptionsfallen

Zur Beprobung der Gasphase konnte ein Teilstrom der Luft aus dem Abluftkanal abgezweigt und über drei hintereinander geschaltete Absorptionsfallen geleitet werden. In den Fallen befanden sich die Absorptionsmedien, an welchen die Bestandteile der Gasphase absorbieren konnten. Es wurde nur ein Teilluftstrom zur Analyse der Gasphase verwendet, da bei einer stündlichen Luftwechselrate pro Kammer von 486 bis 972 (Luftvolumen pro Inkubator: 700 m³/h – 1400 m³/h) die Absorptionsmedien zu schnell verbraucht wären. Eine Anreicherung der flüchtigen Stoffe (Testsubstanz und Abbauprodukte) war aufgrund einer geringen Einsatzkonzentration an radioaktiv markierten Substanzen notwendig. Der Aufbau einer Absorptionsfalle ist in Abb. 3-7 dargestellt.

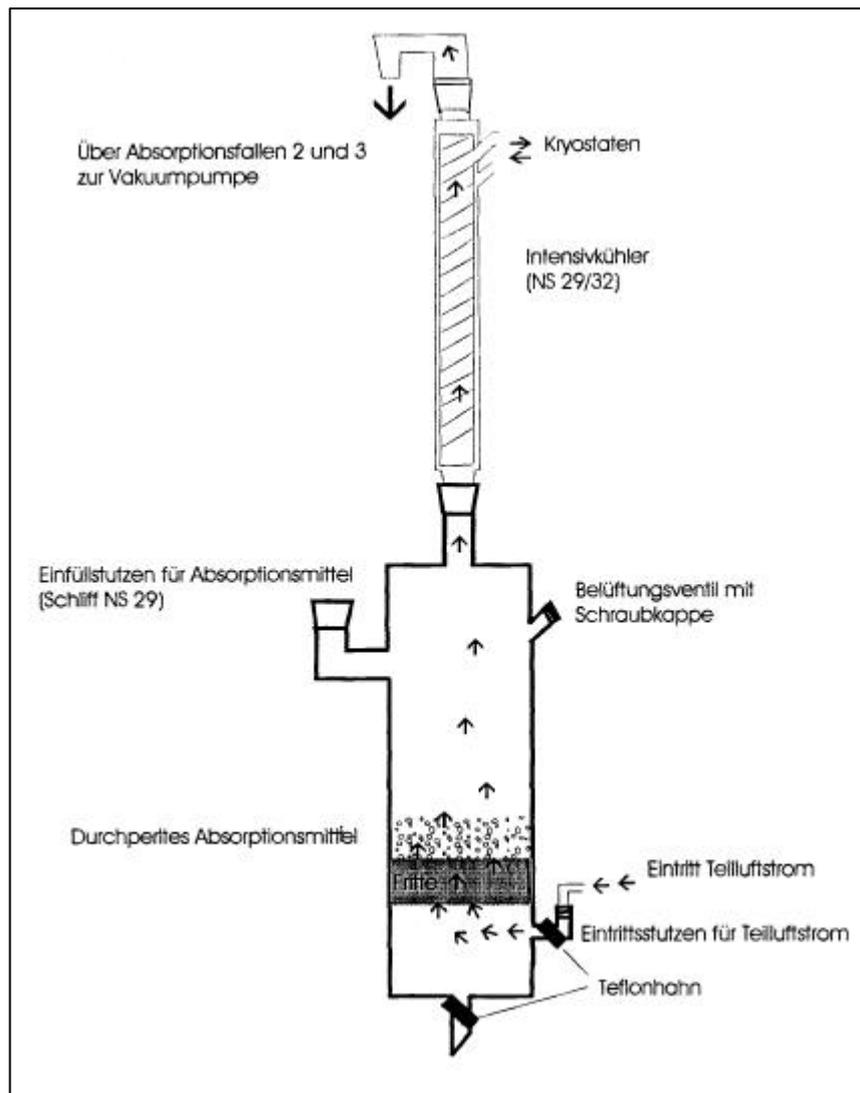


Abb. 3-7: Aufbau einer Absorptionsfalle [110]

Der Teilluftstrom (Menge definiert über Massenflussregler) wurde mittels Vakuumpumpen durch die Absorptionsfallen geführt und durchströmte diese von unten nach oben. Eine Feinverteilung der Luft erfolgte durch die Passage einer Fritte. Die Absorptionsmedien wurden durch den Luftstrom in Schwebe gehalten. Beim Abschalten der Pumpe sickerten die Absorptionsmedien durch die Fritte in den unteren Teil der Absorptionsfallen und konnte durch einen Ablassstutzen entnommen werden (verwendete Absorptionsmedien und Teilluftstromvolumen siehe Kap. 3.5.3.2).

Bepflanzung und Aufbewahrung der Aquarien

Die Versuche in der Modellanlage wurden mit unbelasteter Lava aus der Pflanzenkläranlage durchgeführt. Das verwendete Pflanzenmaterial stammte gleichfalls aus der Pflanzenkläranlage. Es wurden ca. acht Wochen vor Versuchsbeginn unbelastete Pflanzen (Binsen mit Wurzeln) aus einem Becken der Pflanzenkläranlage (Strang 4) gestochen und die Wurzelballen von der Lava befreit. Die Pflanzen wurden mit der unbelasteten Lava in Vollglasaquarien (Volumen: 16 l) gestellt und die bepflanzten Aquarien bis zur Verwendung in den Versuchen in einem Phytotron im GSF - Institut für Ökologische Chemie untergebracht. Bei der Befüllung der Aquarien wurde auf eine gleichmäßige Verteilung der Lava (Vermeidung von bevorzugten Fließwegen) im Becken geachtet. Im Phytotron erfolgte die Aufbewahrung bei einer Temperatur von 15 °C, einer Luftfeuchte von 60 % und bei konstanten Langtagbedingungen (Beleuchtungsdauer: 16 h). Drei Tage vor Versuchsbeginn wurden die Aquarien in der Modellanlage akklimatisiert.

Versuchsaufbau und Versuchsführung

Der allgemeine Versuchsaufbau für alle Versuche in der Modellanlage ist in Abb. 3-8 schematisch dargestellt.

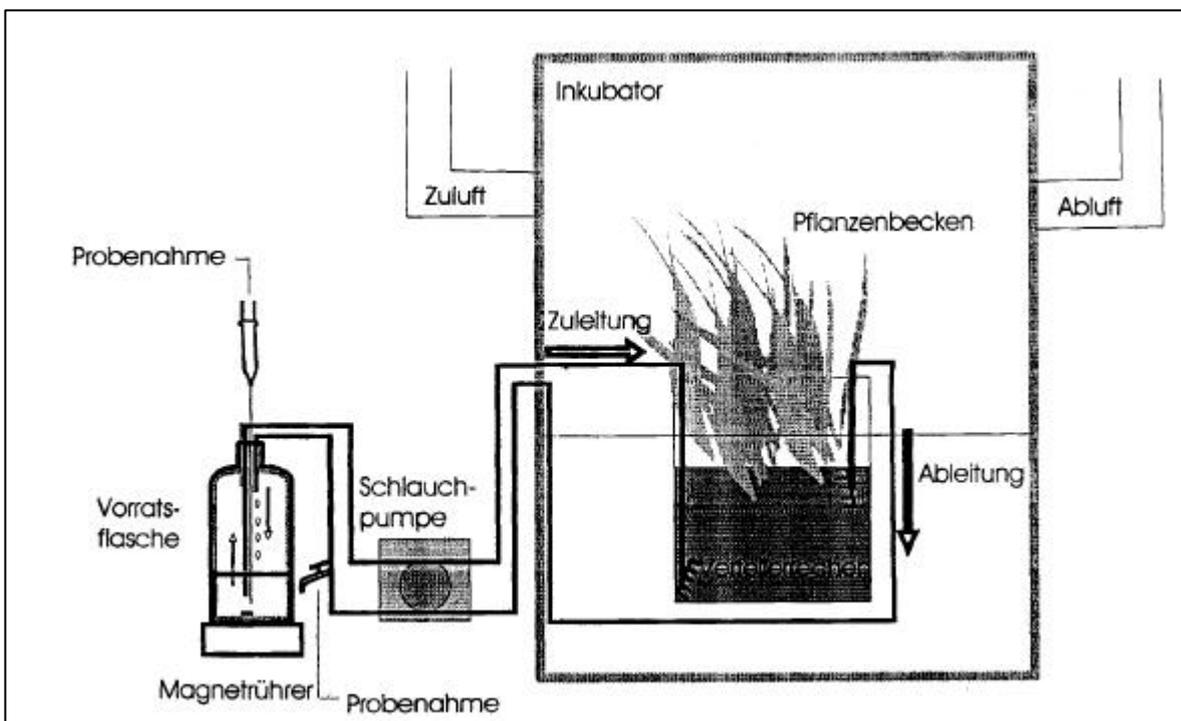


Abb. 3-8: Schematischer Versuchsaufbau der Versuche in der Modellanlage

In einer Vorratsflasche befindet sich das im Labor hergestellte TNT-Wasser (mit bzw. ohne markiertem TNT). Über ein Glasrohr wird das Wasser mittels Schlauchpumpe aus der Flasche ins Aquarium gepumpt. Durch einen Verteilerrechen im unteren Bereich der Aquarien erfolgt der Eintrag des gelösten TNT über die Breite verteilt. Am anderen Ende des Beckens befindet sich wiederum ein Verteilerrechen, über den das Wasser aus dem Aquarium herausfließt und über eine Schlauchpumpe in die Vorratsflasche gepumpt wird. Aufgrund der luftdicht abgeschlossenen Flasche ist die Kreislaufführung in dieser Form möglich. Die Durchmischung des Wassers in der Vorratsflasche wurde durch die Verwendung eines Magnetrührers realisiert. Proben aus der Vorratsflasche wurden mittels einer Spritze genommen und in Probengefäße gefüllt, Probenahmen am Auslauf der Becken erfolgten am Hahn.

3.5 Untersuchungen an der Modellanlage

Die Studien an der Modellanlage gliederten sich in zwei Abschnitte. Im ersten Abschnitt wurden Untersuchungen mit nicht markiertem TNT, im zweiten Abschnitt mit uni-ringmarkiertem [^{14}C]TNT durchgeföhrt. Die Untersuchungen des ersten Abschnittes beinhalteten die Bestimmung der Durchgangskurven sowie Untersuchungen des Kompartimentes Wasser hinsichtlich des Gehaltes an Nitroaromaten sowie an Glucose als zusätzliche Kohlenstoffquelle. Gleichzeitig fand die Bestimmung der Wasserparameter Redoxpotential, gelöster Sauerstoff und pH-Wert statt. Bei den [^{14}C]TNT-Studien wurden ebenfalls Durchgangskurven bestimmt. Gleichzeitig erfolgten Studien der Kompartimente Wasser, Boden, Pflanzen und Luft. Für die Wasserproben wurden dabei die Gesamtradioaktivität (LSC-Messung), der Gehalt an Nitroaromaten (Radio-HPLC) sowie der gelöste Anteil, der mittels Ansäuern und Stickstoffbegasung aus dem Wasser entfernbar ist, ermittelt. Für die Bodenproben wurden einerseits die Gesamtradioaktivitätsmengen und andererseits durch Extraktionsversuche, die reversiblen Anteile der gebundenen Nitroaromaten bestimmt. Die Wurzeln und Pflanzensprossen wurden hinsichtlich der adsorptiv gebundenen oder aufgenommen Gesamtradioaktivitätsmenge untersucht. Die Untersuchungen der Luftproben sollten Aufschluss über die Entstehung von flüchtigen Nitroaromaten oder [^{14}C]CO₂ geben.

3.5.1 Bestimmung der Durchgangskurven

Zur Festlegung der Probenahmezeitpunkte wurde die Durchgangskurve im jeweiligen Aquarien bestimmt. Die Ermittlung der Durchgangskurve erfolgte durch Verwendung von Mikropartikeln als *Tracer*.

Evaluierung der Methode mittels HPLC

Die Methode der Durchgangskurvenbestimmung mit Mikropartikeln wurde in Vorversuchen mittels HPLC-Anlage evaluiert. Dazu wurde unbelastete Lava aus der Pflanzenkläranlage entnommen, in einer Glassäule (Höhe: 60 cm, Innendurchmesser: 1,6 cm) gepackt und an die HPLC-Anlage angeschlossen. Durch die Säule wurde kontinuierlich Wasser gepumpt. Zu einem definierten Zeitpunkt wurden TNT bzw. die Mikropartikel in die HPLC-Anlage injiziert und am Ende der Säule permanent die Absorption durch UV-Detektion gemessen. Die Auswertung erfolgte durch Vergleich der Absorptions-Durchfluss-Kurven von TNT und Mikropartikeln.

- Säule
 - Höhe: 60 cm
 - Innendurchmesser: 1,6 cm

- Eingesetzte Mengen
 - Lava: $m = 115,4 \text{ g}$ (Trockengewicht)
 - Partikel: $V = 100 \mu\text{l}$, 10 % Partikelsuspension (w/v)
 - TNT: $V = 500 \mu\text{l}$, $c = 50 \text{ mg/l}$
- Bedingungen
 - Wellenlänge : $\lambda = 254 \text{ nm}$
 - Fluss: 5 ml/min

Bestimmung der Durchgangskurven in den Aquarien

Die Bestimmung der Durchgangskurven im Aquarium wurde jeweils vor Beginn der Untersuchungen durchgeführt. Dazu wurden Mikropartikel in den Zulaufschlauch injiziert, Proben am Ablauf der Becken genommen (Abb. 39) und diese mittels Spektrophotometer gemessen. Nach Beendigung der Durchgangskurvenbestimmung erfolgte ein intensives Spülen der Aquarien durch dreimaligen Austausch des Aquarienwassers.

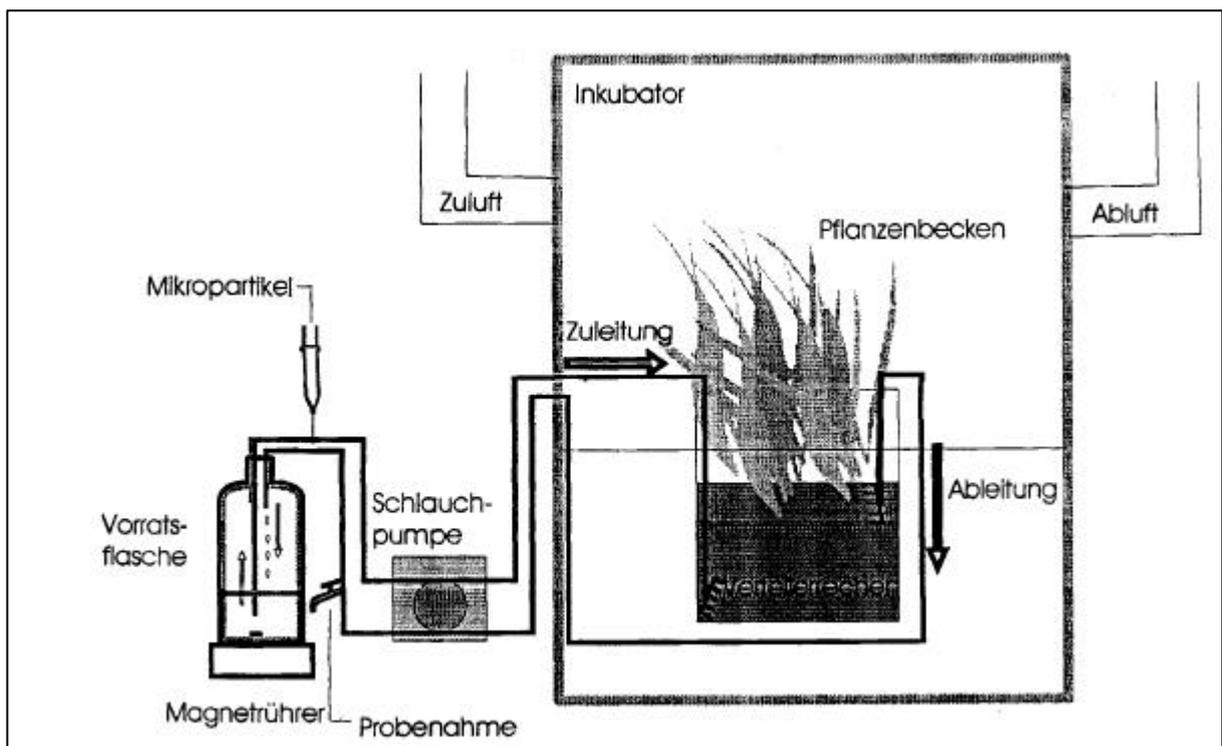


Abb. 3-9: Verweilzeitbestimmung in den Aquarien mittels Mikropartikel

Applikation

Die Applikation der Mikropartikel erfolgte durch punktförmige Injektion in den Zulaufschlauch.

- Mikropartikel: $V = 500 \mu\text{l}$, 10 % Partikelsuspension (w/v)
- Fluss: 30 ml/min

Probenahme

Vor der Injektion wurde die erste Probe am Hahn des Ablaufschlauches genommen. Die weiteren Probenahmen wurden im Abstand von jeweils 5 min durchgeführt.

- Probenahmeabstände: $\Delta t = 5 \text{ min}$
- Probenahmegefäße: Einmalküvetten
- Probenvolumen: $V = 1 \text{ ml}$

Analytik

Am Ende des Versuches wurde die Absorption der Proben im Labor mittels Spektrophotometer gemessen. Die Bestimmung erfolgte im Gegensatz zur Evaluierung der Methode bei einer Wellenlänge von $\lambda = 300 \text{ nm}$. Der Wechsel der Wellenlänge wurde durchgeführt, da eine höhere Absorption und damit größere Empfindlichkeit für die Mikropartikel in diesem Bereich gegeben ist.

- Messprinzip: Bestimmung der Absorption
- Messgerät: Spektrophotometer
- Wellenlänge : $\lambda = 300 \text{ nm}$

Zur Bestimmung der Durchgangskurven wurden die Absorptions-Zeit-Kurven dargestellt.

3.5.2 Versuche mit nicht markiertem TNT

Es wurden zwei Versuche mit nicht markiertem TNT in der Modellanlage durchgeführt.

- 1. Versuch:
 - TNT-Reduktion ohne Zugabe einer zusätzlichen Kohlenstoffquelle
- 2. Versuch:
 - TNT-Reduktion mit Zugabe von Glucose als zusätzliche Kohlenstoffquelle

Eingesetzte Mengen

Für beide Versuchsansätze wurden die gleichen Mengen an Lava und Wasser eingesetzt. Die verwendeten Pflanzen wurde nicht gewogen.

- Lava: $m = 6 \text{ kg}$ (Trockengewicht)
- Wasser im Aquarium: $V = 6 \text{ l}$
- Wasser in der Vorratsflasche: $V = 2 \text{ l}$

Die Herstellung der TNT-Stammlösung erfolgte im Labor. Dazu wurde TNT ($m = 2 \text{ g}$) in einen Messkolben ($V = 2 \text{ l}$) gegeben und mit $2 \text{ l H}_2\text{O}$ dest. aufgefüllt, über Nacht auf einem heizbaren Rührer ($\vartheta = 50 \text{ }^\circ\text{C}$) gerührt und anschließend auf Zimmertemperatur abgekühlt.

- TNT-Stammlösung: $c_{\text{TNT}} = 50 \text{ mg/l}$
 $V = 2 \text{ l}$

Im 2. Versuch wurde Glucose als zusätzliche Kohlenstoffquelle eingesetzt.

- Glucose: Masse pro Zugabe
 $m = 2,5 \text{ g}$ (0,03 % w/v)

Applikation

Die im Labor hergestellte TNT-Stammlösung wurde vor Versuchsbeginn in eine Vorratsflasche überführt. Für den Versuch mit Glucose als zusätzliche Kohlenstoffquelle erfolgte gleichzeitig eine Zugabe von Glucose. Das Probenwasser aus der Vorratsflasche wurde über eine Schlauchpumpe (Flussrate: 30 ml/min) dem Aquarium zugeführt und das aus dem Aquarium ausfließende Wasser über die gleiche Schlauchpumpe wieder in die Vorratsflasche geleitet. Die Wasserführung geschah im Kreislaufprinzip über den gesamten Versuchszeitraum hinweg. Es erfolgte für beide Versuche eine Einmaldosierung von TNT zu Versuchsbeginn. Im zweiten Versuch wurde Glucose im Zeitabstand von 2 Tagen durch Öffnen und Zugabe in die Vorratsflasche mehrfach zudosiert.

- Injektionsart: *TNT-Stammlösung*
Einmaldosierung
- $t_1 = 0 \text{ d}$
Glucose
Mehrfachdosierung
- $\Delta t = 2 \text{ d}$
- Wasserführung: Kreislaufprinzip über den gesamten Versuchszeitraum
- Fluss: 30 ml/min

Probenahme

Die Probenahme zur Bestimmung des Nitroaromatengehaltes im Wasser erfolgte am Auslauf des Beckens. Es wurden zu Beginn der eigentlichen Probenahme ca. 20 ml Wasser in einen Abfallbehälter abgelassen, anschließend wurden die Proben in 500 ml Schottflaschen genommen und im Labor mittels Festphasenextraktion (siehe Kap. 3.3.1) aufbereitet. Zur Messung des *TOC* wurden Proben aus der Vorratsflasche mittels Spritze genommen und in 20 ml Schottflaschen gefüllt. Die Proben wurden im Labor aufbereitet.

- Probenahmeorte: *Nitroaromatengehalt*
Hahn am Beckenablauf
TOC
Vorratsflasche
- Probenvolumen: *Nitroaromatengehalt*
 $V = 100 \text{ ml} - 500 \text{ ml}$
(Anreicherung: Festphasenextraktion)
TOC
 $V = 20 \text{ ml}$
- Probenahmeabstände: *Nitroaromatengehalt*
 $\Delta t = 5 \text{ min}$ (zu Beginn des Versuches) bis $\Delta t = 48 \text{ h}$
TOC
1. Versuch
- $t =$ sporadische Probenahme
2. Versuch
- t_1 : jeweils vor Glucoseapplikation
- t_2 : jeweils nach Glucoseapplikation

Analytik der Nitroaromaten

- analog Kap. 3.3.1

Bestimmung des *TOC*

Die Bestimmung des *TOC* wurde im Institut für Bodenökologie, GSF durchgeführt.

Bestimmung der Wasserparameter

Die Bestimmung der Wasserparameter Redoxpotential, gelöster Sauerstoffgehalt im Wasser und pH-Wert erfolgte in der Vorratsflasche. Dazu wurde die Vorratsflasche geöffnet und die Messelektroden direkt ins Wasser gehalten.

3.5.3 Versuche mit [¹⁴C]TNT

Um die TNT-Eliminierungswege nachvollziehen zu können, wurden Versuche mit markiertem [¹⁴C]TNT durchgeführt. Der radioaktiv markierte Stoff wurde dabei dem nicht markierten TNT in Spuren zugesetzt. Die Untersuchungen erfolgten anhand von drei verschiedenen Versuchen.

- 1. Versuch:
 - [¹⁴C]TNT Mehrfachdosierung
- 2. Versuch:
 - [¹⁴C]TNT Einfachdosierung ohne Zugabe einer zusätzlichen Kohlenstoffquelle
- 3. Versuch:
 - [¹⁴C]TNT Einfachdosierung mit Zugabe von Glucose als zusätzliche Kohlenstoffquelle

[¹⁴C]TNT-Reinigung

Das [¹⁴C]TNT mit einer Reinheit von 95 % wurde vor der Verwendung aufgereinigt.

- Ausgangssubstanz
[¹⁴C]TNT: 4,4 · 10⁶ Bq, 1,3 mg TNT (91,47 µCi/mg)
- Aufreinigung des Standards mittels Dünnschichtchromatographie
Laufmittel: Benzol : Hexan = 1 : 1
- Überprüfung der Reinheit mittels TLC-Scanner (Reinheit 98,5 %)
- Aufnahme des aufgereinigten [¹⁴C]TNT in Dichlormethan (c = 250 µCi/ml)

Eingesetzte Mengen

Die eingesetzten Mengen an Lava, Wurzeln, Pflanzen und Wasser für die jeweiligen Versuche waren wie folgt (Tabelle 3-9):

Tabelle 3-9: Eingesetzte Mengen der einzelnen Kompartimente für die Abbauprobungen mit [¹⁴C]TNT

Abbauprobung	Eingesetzte Mengen [g] bzw. [l]				
	Lava	Lava (wurzelnahe Bereich)*	Wurzeln*	Pflanzen (Halme)*	Wasser
[¹⁴ C]TNT Mehrfachdosierung	8500	2500	380	90	6
[¹⁴ C]TNT Einfachdosierung ohne Glucosezugabe	6400	5500	820	60	6,2
[¹⁴ C]TNT Einfachdosierung mit Glucosezugabe	7000	5500	830	70	6

* Gewichtsbestimmung von Pflanzensprossen, Wurzeln und Lava im wurzelnahen Bereich erfolgte nach Beendigung der Versuche

- TNT-Stammlösung: $c_{\text{TNT}} = 50 \text{ mg/l}$
 $V = 2 \text{ l}$
- Radioaktivitätsmenge [¹⁴C]TNT:
 - [¹⁴C]TNT Mehrfachdosierung*
 - 1. Dosierung: 50 µCi
 - 2. Dosierung: 100 µCi
 - 3. Dosierung: 100 µCi
 - [¹⁴C]TNT Einfachdosierung*
 - 1. Dosierung 125 µCi
 - [¹⁴C]TNT Einfachdosierung mit Glucosezugabe*
 - 1. Dosierung 157,5 µCi

Die Herstellung der TNT- / [¹⁴C]TNT-Stammlösung wurde im Labor durchgeführt. Zuerst wurde analog Kap. 3.5.2 eine TNT-Stammlösung hergestellt. Anschließend wurde [¹⁴C]TNT-Standard (gelöst in Dichlormethan) entsprechend den unten genannten Aktivitäten in eine separate 2,5l-Ansatzflasche gegeben und das Dichlormethan im Stickstoffstrom abgedampft. Zum

Bestimmung der Gesamtradioaktivität (LSC-Messung)

Die Gesamtradioaktivität im Wasser wurde durch LSC-Messungen bestimmt. Dazu wurden in Polyethylen-Messfläschchen Szintillationscocktail und Probenwasser gefüllt und die Proben im Flüssigkeits-Szintillationsspektrometer gemessen. Jede Probe wurde zweimal $t = 10$ min gezählt.

Probenahme

Die Probenahmen zur Bestimmung der Gesamtradioaktivität erfolgten in der Vorratsflasche durch Entnahme mittels Spritze und am Beckenauslauf durch Ablassen am Hahn. Das Wasser wurde in Schottflaschen ($V = 20$ ml) gefüllt.

- Probenahmeorte: Vorratsflasche
(zu Beginn des Versuches, bis Einstellung gleicher Konzentrationen in Vorratsflasche und am Hahn)
Hahn am Beckenablauf
- Probenvolumen: $V = 10$ ml
- Probenahmeabstände: $\Delta t = 5$ min (zu Beginn des Versuches)
bis $\Delta t = 48$ h (in Abhängigkeit der Versuchszeit)

Aufbereitung und LSC-Messung

Die Aufbereitung der Proben erfolgte im Labor. Zur LSC-Messung wurden definierte Mengen von Szintillationscocktail und Wasserprobe in Polyethylen-Messfläschchen ($V = 22$ ml) gegeben und die Proben im Flüssigkeits-Szintillationsspektrometer gezählt.

- Verwendeter Szintillationscocktail
Ultima GOLD XR
 $V = 15$ ml
- Zugabe Wasserprobe zum Szintillationscocktail
 $V = 5$ ml
- Messdauer: 2×10 min
automatische Quenchkorrektur durch vorhergehende Ermittlung einer Quenchkurve (gespeichert)

Analytik der Nitroaromaten (Radio-HPLC)

Die quantitative und qualitative Bestimmung der radioaktiv markierten Schadstoffe in Wasserproben basierte auf der Anreicherung der Wasserinhaltsstoffe durch Festphasenextraktion und der anschließenden Messung mittels Radio-HPLC.

Probenahme

Die Probenahmen zur Bestimmung der radioaktiv markierten Schadstoffe im Wasser erfolgte analog Kap. 3.5.2.

- | | |
|-----------------------|--|
| - Probenahmeorte: | <i>Nitroaromatengehalt</i>
Hahn am Beckenablauf |
| - Probenvolumen: | <i>Nitroaromatengehalt</i>
V = 100 ml - 500 ml
(Anreicherung: Festphasenextraktion) |
| - Probenahmeabstände: | <i>Nitroaromatengehalt</i>
$\Delta t = 5 \text{ min}$ (zu Beginn des Versuches) bis $\Delta t = 48 \text{ h}$ |

Aufbereitung und HPLC

Die genommenen Proben wurden mittels Festphasenextraktion angereichert und entsprechend der Gradientenmethode zur Bestimmung des 14er Nitroaromatenstandards (Kap. 3.3.1) gemessen.

Bestimmung des gelösten und mittels Ansäuern und Stickstoffbegasung entfernbaren Anteils an [¹⁴C] im Wasser

Eine vollständige Mineralisierung von [¹⁴C]TNT kann mit der Bildung von [¹⁴C]CO₂ nachgewiesen werden. Das entstandene [¹⁴C]CO₂ geht dabei zum Teil in die Atmosphäre über, es kann aber auch in gelöster Form im Wasser vorliegen. Zur Untersuchung, inwieweit gelöstes [¹⁴C]CO₂ im Wasser während der Versuche vorhanden war, wurden Wasserproben genommen. Der Nachweis des gelösten [¹⁴C] im Wasser erfolgte durch die Überführung dieses Stoffes in die Gasphase (Absenken des pH-Wertes der Wasserproben / Zufuhr von Stickstoff) und anschließender Absorption des gasförmigen [¹⁴C] an Absorptionsmedien durch Überleitung des Gases über Absorptionsfallen.

Probenahme

Die Probenahme zur Bestimmung des gelösten [^{14}C]-Gehaltes im Wasser erfolgte am Beckenauslauf.

- Probenahmeort:
 - Hahn am Beckenablauf
- Probenvolumen
 - $V = 70 \text{ ml}$
- Probenahmeabstände
 - $\Delta t = 2 \text{ d}$

Aufbereitung und LSC-Messung

Die Bestimmung des gelösten [^{14}C] wurde auf indirekte Weise realisiert. Zuerst wurde die Gesamtradioaktivität durch LSC-Messung ermittelt. Anschließend wurde das Probenwasser in eine Ansatzflasche überführt und diese an drei hintereinander geschaltete Absorptionsfallen angeschlossen (Abb. 3-10).

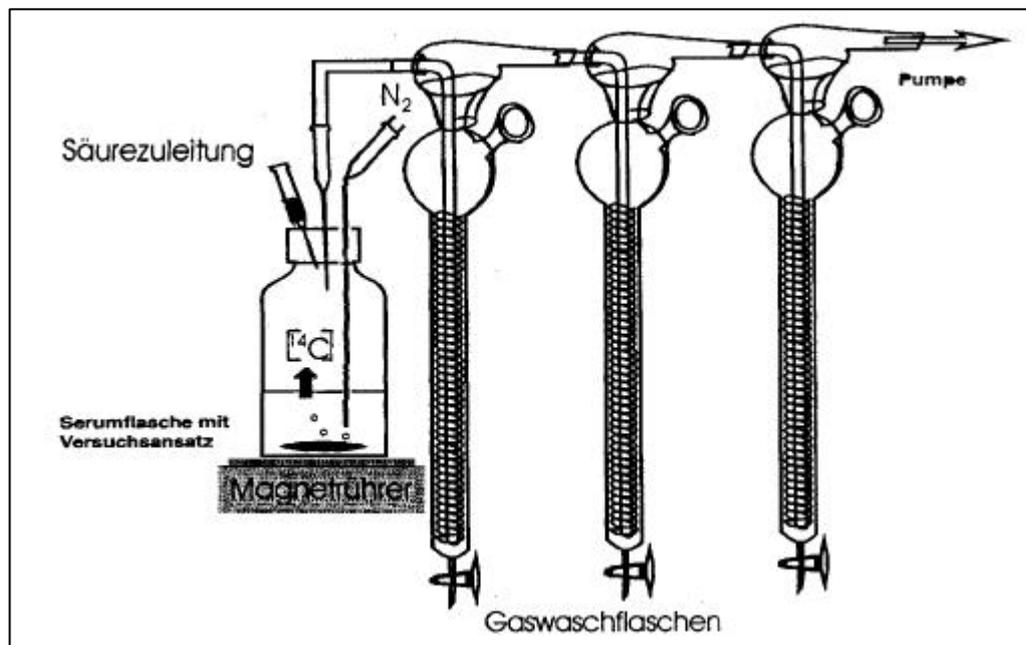


Abb. 3-10: Aufbau der Apparatur zur Bestimmung gelösten und mittels Ansäuern und Stickstoffbegasung entfernbaren Anteils an [^{14}C] im Wasser

Das Probenwasser wurde mit HCl (37 %) angesäuert (pH-Wert 2) und in die auf einem Magnetrührer befindliche Ansatzflasche Stickstoff eingeleitet. Nach einer Stunde erfolgte wiederum eine Bestimmung der Gesamtradioaktivitätsmenge nach der [^{14}C]-Austreibung im Wasser. Der Gehalt an gelöstem [^{14}C] im Wasser wurde durch Differenzbildung der Eingangs- und Ausgangsaktivität ermittelt.

1. Bestimmung der Gesamtradioaktivitätsmenge im Wasser mittels LSC
 - siehe Bestimmung der Gesamtradioaktivität (LSC-Messung)

2. Austreiben des gelösten [^{14}C]
 - pH-Wert 2
 - HCl (37 %)
 - Einleitung von N_2 (t = 60 min)

3. Bestimmung der Gesamtradioaktivitätsmenge nach der [^{14}C]-Austreibung im Wasser
 - Verwendeter Szintillationscocktail
 - Hionic - FlourTM
 - V = 13ml
 - Zugabe Wasserprobe zum Szintillationscocktail
 - V = 1 ml

4. Berechnung durch Differenzbildung

Wiederfindungsrate

Die Methode zum Nachweis des gelösten [^{14}C]CO₂ im Wasser wurde evaluiert. Zur Bestimmung der Wiederfindungsraten wurde NaH[^{14}C]CO₃ (gelöst in H₂O dest.) in eine Ansatzflasche gegeben und der Versuch entsprechend der oben beschriebenen Methode durchgeführt (Abb. 3-11). Der Versuch wurde zweimal wiederholt.

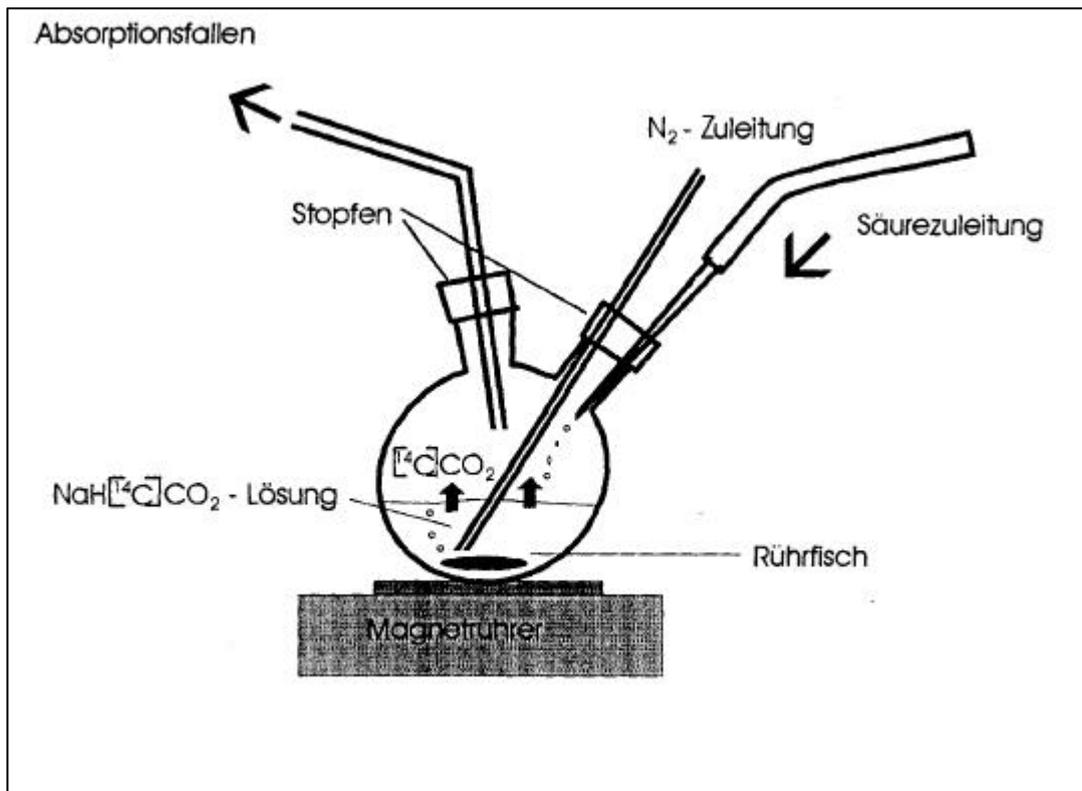


Abb. 3-11: Aufbau der Apparatur zur Bestimmung des gelösten $[^{14}\text{C}]\text{CO}_2$

Versuchsdurchführung

- Zugabe von $\text{NaH}[^{14}\text{C}]\text{CO}_3$
250 μCi
- Bestimmung der Gesamtradioaktivitätsmenge im Wasser mittels LSC
siehe Kap. „Bestimmung der Gesamtradioaktivität (LSC-Messung)“
- Ansäuern der Probe
pH-Wert 2
HCl (37 %)
- Einleitung von N_2
 $t = 60 \text{ min}$
- Bestimmung der Gesamtradioaktivitätsmenge nach der $[^{14}\text{C}]\text{CO}_2$ -Austreibung
siehe oben

$\text{NaH}[^{14}\text{C}]\text{CO}_3$ konnte zu 98 % ausgetrieben werden.

3.5.3.2 Gasphasenproben

Zur Bestimmung von absorbierbaren flüchtigen organischen Stoffen und von flüchtigem [^{14}C]CO₂, die durch den Abbau von TNT entstanden, wurde ein Teil des Luftstromes in der Modellanlage über drei hintereinander geschaltete Absorptionsfallen geleitet (siehe Abb. 3-7). In den Absorptionsfallen befanden sich zwei verschiedene Absorptionsmedien. Die erste Falle war zur Absorption von flüchtigen organischen Stoffen mit Ethylenglykolmonomethylether (EMME) gefüllt. In den beiden anderen Fallen befand sich zur Absorption von gebildeten [^{14}C]CO₂ Natronlauge. Die Fallen wurden wie im Kap. 3.4 beschrieben durchströmt. Der Gehalt an flüchtigen Stoffen in der Atmosphäre wurde durch weitere Aufbereitung der Absorptionsmedien im Labor und durch Messung im LSC ermittelt.

Aufgrund der hohen Luftaustauschrate in den Inkubatoren wurde nur ein Teil der Luft über die Absorptionsfallen geleitet. Der Teilluftstrom betrug 1,36 l/min.

Befüllung der Absorptionsfallen

Zur Befüllung der Fallen mit Absorptionsmedien wurde die Vakuumpumpe eingeschaltet und das Absorptionsmedium mittels Schlauch über den Einfüllstutzen durch den entstandenen Unterdruck in die Fallen eingesogen. Der durch die Vakuumpumpe erzeugte Luftstrom hielt das Medium über der Fritte in Schwebe.

- $\Delta t = 3$ d (danach Neubefüllung der Fallen)

- eingesetzte Mengen

1. Falle: EMME

$V = 300$ ml

2. Falle: NaOH (1 M)

$V = 200$ ml

3. Falle: NaOH (1 M)

$V = 200$ ml

Probenahme

Die Absorptionsmedien wurden nach 3 Tagen aus den Fallen abgelassen. Dazu wurde die Vakuumpumpe abgeschaltet, was ein Abfließen der Medien in den unteren Bereich bewirkte. Die Medien wurden am unten befindlichen Teflonhahn in Erlenmeyerkolben überführt. Anschließend erfolgte ein dreimaliges Spülen der Fallen mit H₂O dest. zur Vermeidung von Verschleppungen.

- Ablassen der Absorptionsmedien
Erlenmeyerkolben (V = 500 ml)
- Spülen mit H₂O dest.
V = 50 ml

Aufbereitung und LSC-Messung

Zur Bestimmung der Radioaktivität wurden die Absorptionsmedien einem entsprechendem Szintillationscocktail zugegeben und die Proben im LSC gezählt.

- Absorptionsmedium für flüchtige organische Stoffe = Ethylenglykolmonomethylether (EMME)
 - Verwendeter Szintillationscocktail
Perablend (gelöst in Toluol c = 11 g/l)
V = 10ml
 - Zugabe Absorptionsmedium zum Szintillationscocktail
V = 10 ml

- Absorptionsmedium für CO₂ = NaOH (1M)
 - Verwendeter Szintillationscocktail
Hionic - FlourTM
V = 13 ml
 - Zugabe Absorptionsmedium zum Szintillationscocktail:
V = 1 ml

Durch Addition der gemessenen Radioaktivitätsmengen unter Berücksichtigung der Teilstrommenge wurde die Gesamtradioaktivitätsmenge an flüchtigen Stoffen ermittelt.

3.5.3.3 Lavaproben

Die Lavaproben wurden nach Beendigung der Versuche genommen und hinsichtlich ihres Anteils an [¹⁴C]TNT und dessen Abbauprodukte untersucht. Es wurde dabei zum einen die Gesamtradioaktivitätsmenge bestimmt und in einem weiteren Experiment die extrahierbare Menge an gebundenem [¹⁴C] ermittelt.

Probenahme

Zur Untersuchung der reversibel und irreversibel gebundenen Rückstände an der Lava wurden nach Versuchsende die Aquarien vollständig entleert und die Lava in fünf Bereiche aufgeteilt.

- Lava im wurzelnahen Bereich
- Lava aus dem Einlaufbereich
- Lava aus der Mitte
- Lava aus dem Ablaufbereich
- Lava Rest

Die Lava der einzelnen Bereiche wurde intensiv vermischt und anschließend Proben zur Untersuchung der Anlagerungen von TNT und dessen Metaboliten eingewogen und bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Bestimmung der Gesamtradioaktivitätsmenge

Die Bestimmung der Gesamtradioaktivität erfolgte durch Verbrennung der Lava im Oxidizer. Die Lava wurde dafür in einer Kugelmühle zermahlen, in Verbrennungshütchen eingewogen und verbrannt. Die bei der Verbrennung entstehenden Gase wurden im Oxidizer durch Szintillationscocktails gebunden und diese mit LSC gemessen.

Aufbereitung

- Einwaage von luftgetrockneter, von Wurzeln vollkommen befreiter Lava
m = 30 g
- Zermahlen der Lava in Kugelmühle
t = 3 min
- Einwaage von zermahlener Lava in Verbrennungshütchen
m = 1 g

Bestimmung der Radioaktivität im Oxidizer

- Verbrennung der Lava
- Adsorption des [¹⁴C]CO₂ in Szintillationscocktail
- Bestimmung der Gesamtradioaktivitätsmenge mittels LSC-Messung
Verwendetes Absorptionsmedium bzw. Szintillationscocktail im Oxidizer
Carbo-Sorb[®] E (Absorptionsmedium) : Permaflour[®] E (Szintillationscocktail)
8 ml : 12 ml

Wiederfindungsrate

Die Evaluierung der oben beschriebenen Methode erfolgte mit unbelasteter, luftgetrockneter Lava. Es wurden zweimal vier parallele Proben mit [¹⁴C]TNT-Standard versetzt.

- Einwaage unbelasteter, luftgetrockneter Lava (2 x 4 Parallelproben)
m = 30 g
- Zugabe [¹⁴C]TNT-Standard
1,25 µCi
- Zermahlen der Probe in Kugelmühle
t = 3 min
- Einwaage von Lava in Verbrennungshütchen
m = 1 g
- Verbrennung der Lava im Oxidizer (siehe oben)

Die Wiederfindungsrate betrug 93 %.

Extraktion

Der Anteil an reversibel gebundenen Rückständen wurde mit drei verschiedenen Extraktionsmittel ermittelt. Die Bestimmung des extrahierbaren Anteils erfolgte auf indirektem Wege. Die Lava wurde entsprechend der oben beschriebenen Probe hinsichtlich ihrer Gesamtradioaktivitätsmenge untersucht. Dann erfolgte die Extraktion der Lava und nach Spülen der Lava und anschließender Trocknung wurde der Restgehalt an Radioaktivität durch Verbrennung im Oxidizer bestimmt.

Probenvorbereitung

- Einwaage von Lava (wurzelnaher Bereich)
m = 150 g
- Mischen der Probe
- Aufteilen in 4 Teile für
 1. Bestimmung der Gesamtradioaktivitätsmenge
 2. Extraktion mit 1M HCl
 3. Extraktion mit 1M NaOH
 4. Extraktion mit Acetonitril

1. Bestimmung der Gesamtradioaktivitätsmenge vor Extraktion

- Einwaage der Lava
m = 30 g
- Zermahlen der Lava in Kugelmühle
- Einwaage von Lava in Verbrennungshütchen
m = 1 g
- Verbrennung im Oxidizer

2. Extraktion der Lava mit 1M HCl, 1M NaOH, Acetonitril (dreifache Bestimmung)

- Einwaage der Lava
m = 10 g
- Zugabe des jeweiligen Extraktionsmittel
V = 15 ml
- Extraktion im Ultraschallbad
t = 1 h

3. Bestimmung der Gesamtradioaktivitätsmenge nach Extraktion

- Spülen der Lava
- Trocknen der Lava
- Zermahlen der Lava in Kugelmühle
- Einwaage von Lava in Verbrennungshütchen
m = 1 g
- Bestimmung der Restradioaktivitätsmenge durch Verbrennung im Oxidizer

Analytik

Messen der Szintillationscocktails im LSC (siehe oben)

Die Berechnung der reversibel gebundenen Rückstände in Abhängigkeit des Extraktionsmittels erfolgte durch Differenzbildung der Gesamtradioaktivitätsmenge vor Extraktion und nach Extraktion.

3.5.3.4 Wurzelproben

Die Bestimmung der aufgenommen bzw. adsorbierten Menge an [^{14}C] in bzw. an Wurzeln erfolgte durch Verbrennung der Wurzeln im Oxidizer.

Probenahme

Für die Untersuchungen der Adsorption von TNT und dessen Metaboliten an den Wurzeln wurden nach Beendigung der jeweiligen Versuche die Wurzeln von den restlichen Kompartimenten getrennt und bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Aufbereitung

- Zerkleinern der Wurzeln
- Vermischen der Wurzeln zum Erhalt von repräsentativen Proben
- Einwaage der Wurzeln in Verbrennungshütchen

$$m = 100 \text{ mg}$$

Oxidizer

Verbrennung der Wurzeln im Oxidizer (siehe Kap. 3.5.3.3)

3.5.3.5 Pflanzenproben

Der Gehalt an [^{14}C]TNT in den Pflanzen wurde ebenfalls durch Verbrennung der Pflanzen im Oxidizer und Zählen der Absorptionsmedien im LSC bestimmt.

Probenahme

Die Untersuchung der aufgenommenen Metaboliten in die Pflanzensprossen erfolgte am Ende der Versuche. Dazu wurden die Pflanzen oberhalb der Lavoerfläche geschnitten und bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Probenaufbereitung zur Bestimmung der Gesamtradioaktivitätsmenge in den Pflanzensprossen

- Zerkleinern der luftgetrockneten Pflanzenhalme mittels Schere
- Vermischen der Pflanzensprossen zur Herstellung von repräsentativen Mischproben
- Einwaage von Pflanzensprossen in Verbrennungshütchen
m = 100 mg

Oxidizer

Verbrennung der Pflanzen im Oxidizer (siehe Kap. 3.5.3.3)

3.5.3.6 Untersuchung der Schläuche

Nach Versuchsende wurden von jedem verwendeten Schlauch Mischproben zur Feststellung der adsorbierten Radioaktivitätsmenge hergestellt. Die Schläuche (m = 2 g) wurden im Oxidizer verbrannt (siehe Kap. 3.5.3.3).

4 Ergebnisse und Diskussion

4.1 Anwendungsbezogene Untersuchungen an der Pflanzenkläranlage

Die anwendungsbezogenen Untersuchungen in der Pflanzenkläranlage hatten zum Ziel, die allgemeine Anwendbarkeit einer Pflanzenkläranlage zur Entfernung von TNT aus dem Wasser zu zeigen. Im Mittelpunkt standen dabei Fragen zur Eliminierbarkeit von TNT in Abhängigkeit der Fließstrecke, der Einfluss der Bepflanzung, der jahreszeitlichen Temperaturschwankungen sowie allgemeine Parameter der Pflanzenkläranlage. Es wurden für diesen Untersuchungsabschnitt folgende Schwerpunkte gesetzt:

- **Konzentrations-Zeit-Kurven von TNT**
Einfluss von Fließstrecke, Bepflanzung und Jahreszeit
- **Bestimmung von Wasserparametern und -bestandteilen**
Wassertemperatur, Redoxpotential, Sauerstoff-, Nitritgehalt

4.1.1 Einfluss der Fließstrecke auf die Eliminierung von TNT (Vegetationsperiode 1998 und Vegetationsperiode 1999)

Für die Untersuchungen der Eliminierungsraten von TNT in Abhängigkeit der Fließstrecke in der Pflanzenkläranlage wurde dem System kontinuierlich TNT zugeführt. Die Bestimmung der Zulaufkonzentrationen des Schadstoffes erfolgte durch Probenahme am Zulauf von Becken 1 und anschließende HPLC-Analyse. Die Ablaufkonzentrationen nach Durchströmen der Becken der Pflanzenkläranlage wurden durch Probenahme am Ablauf der folgenden Becken und anschließende HPLC-Analyse mit vorgeschalteter Festphasenextraktion ermittelt. In Abb. 4-1 sind die mittleren Zu- und Ablaufkonzentrationen von TNT von Becken 1 und 2 dargestellt. Im Ablauf von Becken 3 konnte mittels HPLC in beiden Vegetationsperioden kein TNT mehr detektiert werden (NWG 10 ng/l).

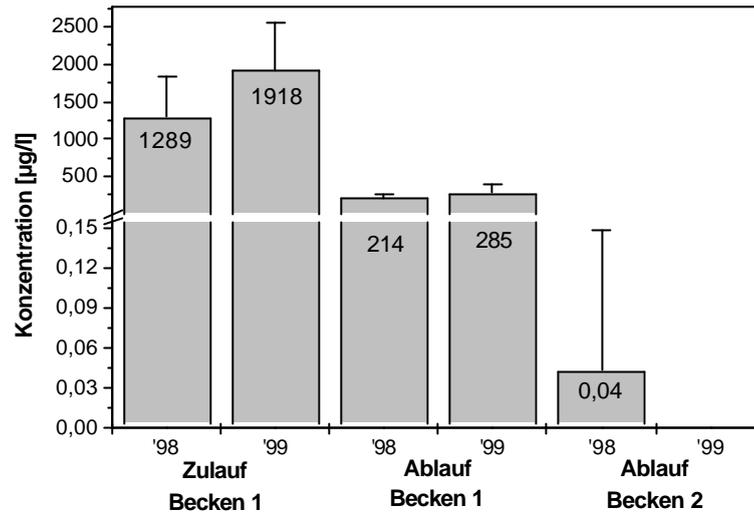


Abb. 4-1: Mittelwerte der TNT-Zulauf- bzw. TNT-Ablaufkonzentration in der Vegetationsperiode 1998 und 1999 (Sommerwerte).

Die bei den Zulaufkonzentrationen gefundene Streuung der Daten erklärt sich aus der Technik der TNT-Dosierung. Bei der TNT-Zugabe wurde mit einer Generatorsäule gearbeitet, wobei die Konzentration des eluierten TNT stark vom Füllstand der Säule abhängig war. Die TNT-Zulaufkonzentrationen wurden jeweils vor und nach den Säulenbefüllungen gemessen, daraus ergibt sich die Streuung der Zulaufdaten. Bei den mittleren Zulaufkonzentrationen von 1998 und 1999 sind Unterschiede festzustellen, da eine vollständig identische Feineinstellung der Zudosierpumpen über die beiden betrachteten Vegetationsperioden nicht realisierbar war. Trotz dieser unterschiedlichen mittleren Zulaufkonzentrationen wurden sehr ähnliche Eliminierungsraten im ersten Becken der Pflanzenkläranlage ermittelt (83 % bzw. 85 %). Dies zeigt, dass die TNT-Zulaufkonzentration innerhalb des betrachteten Konzentrationsbereiches keinen wesentlichen Einfluss auf die TNT-Eliminierungsrate hat.

Die Streuung der TNT-Konzentrationen im Ablauf von Becken 1 ist wesentlich geringer als im Zulauf. Es erfolgte beim Durchfließen der Becken eine Abpufferung der Zulaufkonzentrationsspitzen.

Die Bestimmung der Flächenbelastungen und der Zulauf- und Ablaufrachten für die einzelnen Becken ist in Tabelle 4-1 dargestellt. Die flächenspezifischen Daten berechnen sich dabei wie folgt [111]:

Gl. 4-1 $B_A = F_Z / A_{\text{Beet}}$

Gl. 4-2 $\eta = 100 * [1 - (F_A / F_Z)]$

Gl. 4-3 $F_Z = Q_d * c_Z$

Gl. 4-4 $F_A = Q_d * c_A$

- B_A: Flächenbelastung [g/(d*m²)]
- A_{Beet}: Pflanzenbeetfläche [m²]
- η: Wirkungsgrad [%]
- Q_d: Tagesdurchfluss [l/d]
- F_Z: Zulauf Fracht [g/d]
- F_A: Ablauf Fracht [g/d]
- c_Z: mittlere Zulaufkonzentration [g/l]
- c_A: mittlere Ablaufkonzentration [g/l]

Tabelle 4-1: Flächenbelastung, Fracht, Wirkungsgrad der TNT-Zulauf- bzw. TNT-Ablaufkonzentration in den Vegetationsperioden 1998 und 1999 (Sommerwerte)

		Flächenspezifische Daten			
		Flächenbelastung [g/(d*m ²)]	Zulauf Fracht [g/d]	Ablauf Fracht [g/d]	Wirkungsgrad [%]
Vegetations - periode '98	Insgesamt ^a	0,34	1,86	0,000058	99,9
	Becken 1	0,34	1,86	0,31	83
	Becken 2	0,057	0,31	0,000058	99,9
Vegetations - periode '99	Insgesamt ^a	0,53	2,76	< 0,0000144 ^b	> 99,9 ^b
	Becken 1	0,53	2,76	0,41	85
	Becken2	0,076	0,41	< 0,0000144 ^b	> 99,9 ^b

^a Beide Becken werden in der Berechnung der spezifischen Daten berücksichtigt. Der Wirkungsgrad wird erst nach Passage des zweiten Beckens bestimmt.

^b In der Vegetationsperiode wurde kein TNT am Auslauf des zweiten Beckens nachgewiesen. Unter Berücksichtigung der NWG = 10 ng/l (bezogen auf die detektierbare Konzentration bei Anreicherungsfaktor 1000) wird die Ablauf Fracht mit c = 10 ng/l berechnet.

In beiden Vegetationsperioden ist nach Durchfließen von Becken 1 eine Reduktion der TNT-Konzentration im Wasser um ca. 80 % gegeben. Im Ablauf von Becken 2 konnte eine Reduktion um mindestens 99 % festgestellt werden. Für die Vegetationsperiode 1999 war für den betrachteten Zeitabschnitt nach Becken 2 kein TNT mehr detektierbar.

Für die Eliminierung von TNT ist somit bei einer Flächenbelastung von 0,5 g TNT pro d und m² mindestens eine Beetfläche von 11 m² erforderlich. Diese Aussage trifft jedoch nur für die reine

Eliminierung von TNT unabhängig von der Bildung anderer Metaboliten und für die in diesem Versuchszeitraum vorherrschenden Klimabedingungen zu.

Mit dieser Versuchsreihe konnte gezeigt werden, dass TNT beim Durchfließen der Pflanzenkläranlage aus dem Wasser eliminiert werden kann.

4.1.2 Einfluss der Bepflanzung auf die Eliminierung von TNT

Die Pflanzen einer Pflanzenkläranlage spielen bei der Eliminierung von Schadstoffen eine wichtige Rolle. Sie sind zwar nur indirekt am Abbau von Schadstoffen beteiligt, stellen jedoch für die am Abbau der Abwasserinhaltsstoffe beteiligten Mikroorganismen günstige Lebensbedingungen bereit. Inwieweit die Pflanzen auch bei diesen Untersuchungen wichtig für die Eliminierung von TNT aus dem Wasser sind, wurde durch Experimente mit bepflanzten und unbepflanzten Becken untersucht. Diese Studie wurde an den ersten Becken der Stränge 2 und 3 durchgeführt. Dazu wurden im Becken 1 des zweiten Stranges die Teichbinsen bzw. Rohrkolben entfernt. Außerdem wurde zur Verhinderung eines photolytischen Abbaus von TNT dieses Becken mit einer Platte abgedeckt. Der Versuchsaufbau ist in Abb. 4-2 dargestellt.

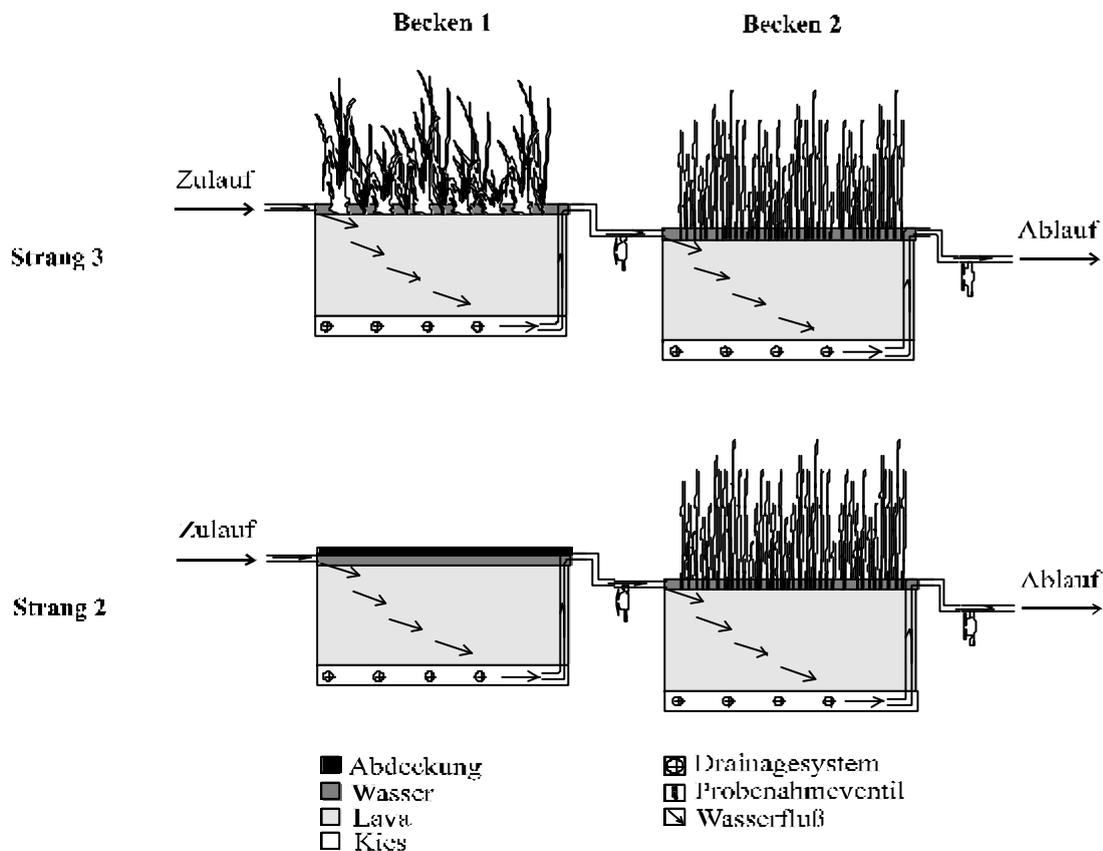


Abb. 4-2: Versuchsaufbau zur Untersuchung des Einflusses der Pflanzen auf die Eliminierung von TNT aus dem Wasser

Die entsprechenden TNT-Zulauf- und Ablaufkonzentrationen an den Becken wurden durch Probenahme und anschließende HPLC-Analyse ermittelt, wobei für die Ablaufproben der HPLC-Analyse eine Festphasenextraktion vorgeschaltet wurde. In Abb. 4-3 bzw. Abb. 4-4 sind die Konzentrations-Zeit-Kurven für das bepflanzte bzw. unbepflanzte Becken dargestellt.

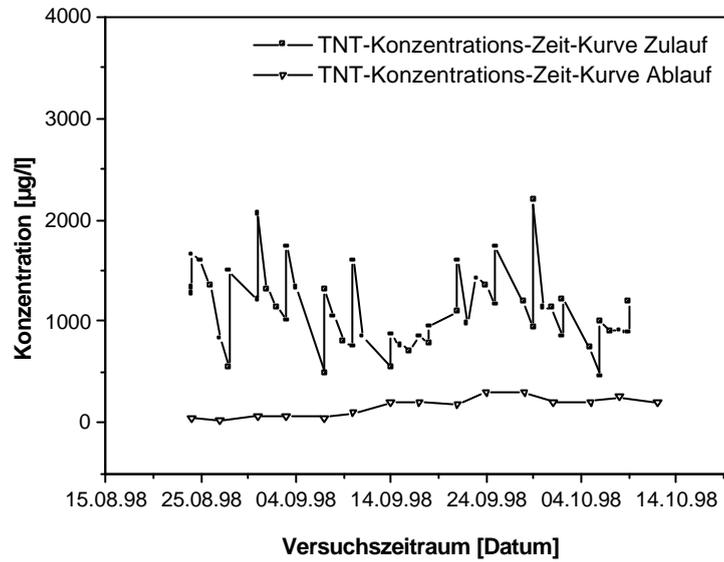


Abb. 4-3: Konzentrations-Zeit-Kurven von TNT vor bzw. nach dem Durchfließen des bepflanzten Beckens, Vegetationsperiode 1998

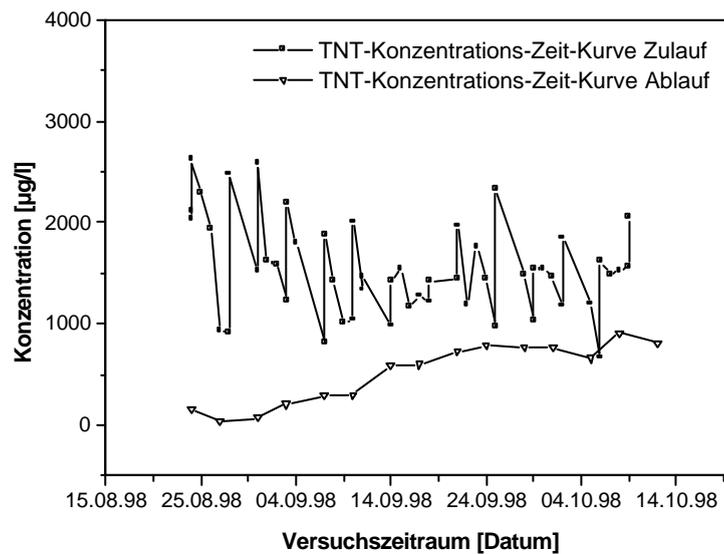


Abb. 4-4: Konzentrations-Zeit-Kurven von TNT vor bzw. nach dem Durchfließen des unbepflanzten Beckens, Vegetationsperiode 1998

Die Schwankungen der TNT-Zulaufkonzentrationen in beiden Becken sind wiederum auf das Dosierverfahren von TNT zurückzuführen. So wurden auch in diesem Versuch in Abhängigkeit des Füllstandes an TNT in der Generatorsäule Schwankungen im Zulauf festgestellt. Die TNT-Zulaufkonzentrationen wurden ebenfalls jeweils vor und nach den Säulenbefüllungen gemessen.

Die gemessenen TNT-Konzentrationen sind für beide Becken nach dem Durchfließen der ersten Becken geringer als im Zulauf. Es erfolgt somit in beiden Fällen eine Eliminierung von TNT aus dem Wasser. In den Konzentrations-Zeit-Kurven des unbepflanzten Beckens ist ein Anstieg der Ablaufkonzentrationen innerhalb der ersten 20 Tage von ca. 30 µg/l auf ca. 600 µg/l zu beobachten, in der folgenden Plateauphase liegen die Ablaufkonzentrationen bei ca. 700 µg/l. Im bepflanzten Becken wurde hingegen innerhalb der ersten 20 Tage ein Anstieg der TNT-Ablaufkonzentration von ca. 30 µg/l auf ca. 200 µg/l beobachtet, im weiteren Verlauf liegen die Ablaufkonzentrationen bei ca. 250 µg/l. Aus diesen Daten ist bereits eine höhere Eliminierungsrate im bepflanzten Becken zu erkennen. Um die Eliminierungsraten der beiden Becken vergleichen zu können, wurden Mittelwerte der Zu- bzw. Ablaufkonzentrationen des betrachteten Versuchszeitraumes ermittelt. Diese sind in Abb. 4-5 dargestellt. Die unterschiedlichen mittleren Zulaufkonzentrationen im bepflanzten und unbepflanzten Becken kommen zustande, da auch in diesem Fall keine vollständig identische Feineinstellung der Zudosierpumpen bei beiden betrachteten Strängen realisierbar war.

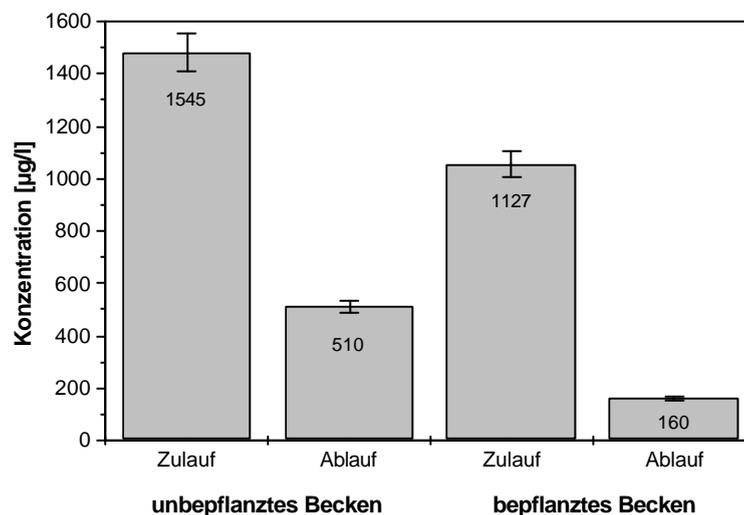


Abb. 4-5: Vergleich der gemittelten Zu- und Ablaufkonzentrationen im bepflanzten und unbepflanzten Becken, Vegetationsperiode 1998

Wie jedoch in den Untersuchungen des Konzentrationsverlaufes von TNT in Abhängigkeit von der Fließstrecke gezeigt werden konnte, hat dieser Unterschied in dem Zulaufkonzentrationsbereich keinen Einfluss auf die Eliminierungsraten von TNT.

Die berechneten Flächenbelastungen, Frachten und Wirkungsgrade sind in Tabelle 4-2 dargestellt. Um den Einfluss der Bepflanzung zu verdeutlichen wurden die flächenspezifischen Daten sowohl für den gesamten Versuchszeitraum berechnet, als auch jeweils für die erste (24.08.1998 - 14.09.1998) und zweite Phase (15.09.1998 – 12.10.1998).

Tabelle 4-2: Flächenbelastung, Fracht, Wirkungsgrad der TNT-Zulauf- bzw. TNT-Ablaufkonzentration in Abhängigkeit der Bepflanzung

		Flächenspezifische Daten			
		Flächenbelastung [g/(d*m ²)]	Zulauffracht [g/d]	Ablauffracht [g/d]	Wirkungsgrad [%]
Bepflanztes Becken	Insgesamt ^a	0,30	1,62	0,23	86
	1. Phase ^b	0,32	1,75	0,11	99
	2. Phase ^c	0,28	1,52	0,33	78
Unbepflanztes Becken	Insgesamt ^a	0,41	2,22	0,73	67
	1. Phase ^b	0,44	2,37	0,34	86
	2. Phase ^c	0,38	2,07	1,08	48

^a Die flächenspezifischen Daten beziehen sich auf den gesamten Versuchszeitraum.

^b Phase 1 berücksichtigt Daten vom Zeitraum 24.08.1998 - 14.09.1998.

^c Phase 2 berücksichtigt Daten vom Zeitraum 15.09.1998 - 12.10.1998.

Die Eliminierungsrate von TNT bezogen auf den gesamten Versuchszeitraum liegt im bepflanzten Becken bei ca. 86 %, im unbepflanzten Becken wird ca. 67 % eliminiert. Betrachtet man die erste Phase (Anstieg der TNT-Ablaufkonzentration) so ist die Eliminierungsrate im bepflanzten Becken (99 %) ebenfalls größer als im unbepflanzten Becken (86 %). Die gleiche Aussage trifft für die zweite Phase (Plateauphase) zu (bepflanztes Becken: 78 %, unbepflanztes Becken 48 %).

Eine schnellere Abnahme von TNT in bepflanzten Böden wurde bereits nachgewiesen [112]. Dabei konnte gezeigt werden, dass in einem durchwurzelten Boden eine Beschleunigung der Reduktion von TNT gegeben ist. Nach 15 Stunden wurde im durchwurzelten Boden über 99 % des eingesetzten TNT eliminiert, wohingegen im unbepflanzten Boden nur 95 % des TNT nicht mehr nachgewiesen werden konnten. Die Eliminierung des TNT erfolgte aufgrund von Transformation und Bindung am Boden. Im durchwurzelten Boden findet somit eine schnellere Transformation und

eine höhere Bodenbindung statt. Die Rolle der Pflanzen zeigt sich dabei dadurch, dass in durchwurzelten Böden mehr Mikroorganismengesellschaften wachsen, die eine Transformation und Bindung am Boden unterstützen [112]. Dazu wurde bereits in Studien nachgewiesen, dass eine biotische TNT-Reduktion durch die Anwesenheit von Kohlenstoffquellen begünstigt wird [113]. In einem durchwurzelten Boden ist im Gegensatz zu einem unbepflanzten Boden der Anteil an gelöstem organischem Material größer. Aufgrund dessen ist ein Anstieg der mikrobiellen Biomasse zu verzeichnen und ein größeres Potential an mikrobieller Aktivität vorhanden [112].

Somit kann eine weitere Ursache in der schnelleren Eliminierung des TNT im bepflanzten Becken aus dem Wasser an einer höheren Bakteriendichte im Boden liegen. Wie im Kapitel 1.3 dargestellt, schaffen die Pflanzen günstige Lebensbedingungen für Bakterien. Aufgrund der mikrobiellen Abbaubarkeit von TNT (siehe Kap. 1.2.2) begünstigt eine höhere Bakteriendichte im Boden die Eliminierung von TNT.

Die Mikroorganismen reduzieren TNT dabei cometabolisch. Als 'cometabolisch' wird die Reduktion des TNT bezeichnet, weil TNT nicht als Kohlenstoff- oder Energiequelle genutzt wird. Der 'Cometabolismus' wird definiert als die Umwandlung eines Substrates, das kein Wachstum ermöglicht, durch wachsende Zellen in Gegenwart eines Wachstumssubstrates, durch Ruhezellen in Abwesenheit eines Wachstumssubstrates oder durch Ruhezellen in Gegenwart eines Energiesubstrates. Ein Wachstumssubstrat wird definiert als Elektronen-Donator, der Reduktionskraft und Energie für Zellwachstum und Energiestoffwechsel liefert. Ein Energiesubstrat wird definiert als ein Elektronen-Donator, der Reduktionskraft und Energie liefert, aber selbst kein Wachstum unterstützt [114]. In jedem der genannten Fälle ist zum Aufbau und zur Erhaltung von Zellmasse die Anwesenheit eines Elektronen-Donators notwendig. Die Zellen können nur mit einem Elektronen-Donator wachsen und leben, sind aber auf die Reduktion von TNT nicht angewiesen [12]. Durch die Abgabe von Wurzelexudaten stellen Pflanzen zusätzliches organisches Material zur Verfügung, das als Elektronen-Donator genutzt werden kann bzw. durch die Verwertung der Mikroorganismen das Milieu beeinflusst.

Die höhere Eliminierungsrate vom TNT im bepflanzten Becken kann gleichfalls mit einer Aufnahme des TNT in die Wasserpflanzen einhergehen. So wurde eine Aufnahme von TNT in *Myriophyllum* bereits nachgewiesen [26,86]. Eine nahezu vollständige Eliminierung von TNT aus Grundwasser durch aquatische Pflanzen ist ebenfalls dargestellt worden [25].

Es existieren somit mehrere Wege, über die das TNT eliminiert werden kann. Die aufgezeigten Wege sind dabei jeweils durch das Vorhandensein der Pflanzen begünstigt.

Neben der höheren Eliminierungsrate von TNT im bepflanzten Becken ist jedoch gleichzeitig zu beobachten, dass in beiden Becken der Wirkungsgrad der Anlage im Laufe der Versuchsdauer abnimmt. Bei einer unterschiedlichen mittleren Außentemperatur von 14 °C (erste Phase) zu 11 °C

(zweite Phase) und einer mittleren Wassertemperatur von 14 °C zu 12 °C kann der Anstieg mit Temperaturunterschieden zusammenhängen.

Eine Ursache kann dabei der Rückgang der Bakterienleistung aufgrund der geringeren Temperatur sein. Eine niedrigere Adsorption von TNT in Abhängigkeit der Temperatur am Boden ist ebenfalls denkbar. Der allgemeine Temperatureinfluss auf die Eliminierung von TNT in der Pflanzenkläranlage wird im Kapitel 4.1.3 dargestellt.

In diesen Untersuchungen ist in diesem Zusammenhang festzustellen, dass im unbepflanzten Becken der Rückgang die Reinigungsleistung größer ist als im bepflanzten Becken. Eine mögliche Erklärung besteht darin, dass die Pflanzen unter anderem einen gewissen Schutz vor Auskühlung des Bodens bieten [23]. Gleichzeitig sind aufgrund der Abspaltung von Wurzelexsudaten noch Nährstoffquellen für die Bakterien vorhanden, die auch nach dem Pflanzenrückzug im Winter als Puffer zur Verfügung stehen.

Somit kann im Ergebnis der hier durchgeführten Studie eine Abhängigkeit der Eliminierungsrate vom Vorhandensein der Pflanzen festgestellt werden, die TNT-Konzentration im Wasser kann mit bepflanzten Becken effektiver reduziert werden. Diese Beobachtung entspricht ebenso der Aussage von [27], wo auch eine vollständige Eliminierung von TNT aus dem Wasser beobachtet wurde. Bei Kontrollen ohne Pflanzen erfolgte keine Abnahme.

4.1.3 Einfluss der Temperatur auf die Eliminierung von TNT

Die Anwendung einer Pflanzenkläranlage kann durch eine hohe Abhängigkeit der Reinigungsleistung von der Außen- bzw. Wassertemperatur beeinträchtigt werden. Bei der Beurteilung, inwieweit eine Pflanzenkläranlage zur Eliminierung eines Schadstoffes aus dem Wasser genutzt werden kann, ist somit zu überprüfen, ob die Eliminierungsrate abhängig von den jahreszeitlichen Temperaturschwankungen ist. Wie bereits im Kapitel 4.1.2 aufgezeigt, besteht eine Abhängigkeit der Reinigungsleistung von der Temperatur.

Um eine genauere Aussage über die Anwendbarkeit der Pflanzenkläranlage zur Reinigung von sprengstoffbelasteten Wässern unter dem oben genannten Aspekt machen zu können, wurde die TNT-Eliminierung mit den jeweils gemessenen Wassertemperaturen verglichen. In Abb. 4-6 ist der Verlauf der mittleren Wasser- und Außentemperatur der Vegetationsperiode 1998 dargestellt. Dabei wurde als Grenztemperatur zwischen Sommer und Winter pauschal eine Wassertemperatur von 7,5 °C angenommen. Diese Grenze wurde auf den 01.11.1998 festgelegt. Die Untersuchungen wurden am Strang 3 der Pflanzenkläranlage durchgeführt.

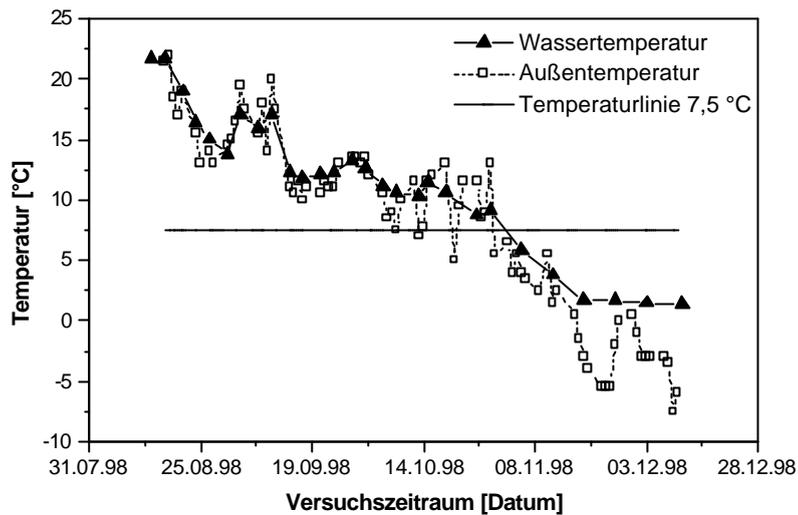


Abb. 4-6: Darstellung der mittleren Außentemperatur über den betrachteten Versuchszeitraum, Vegetationsperiode 1998

In Abb. 4-7 sind die Konzentrations-Zeit-Kurven von Zu- und Ablauf des Beckens 1 für den betrachteten Versuchszeitraum (Vegetationsperiode 1998) dargestellt. In der betrachteten Vegetationsperiode wurde keine kontinuierliche TNT-Zufuhr realisiert, weshalb nicht alle Daten vor bzw. nach dem 01.11.1998 für die Gegenüberstellung der Eliminierungsrate von TNT in Abhängigkeit der Jahreszeit herangezogen wurden. Die für den Vergleich genutzten Daten sind in Abb. 4-7 markiert.

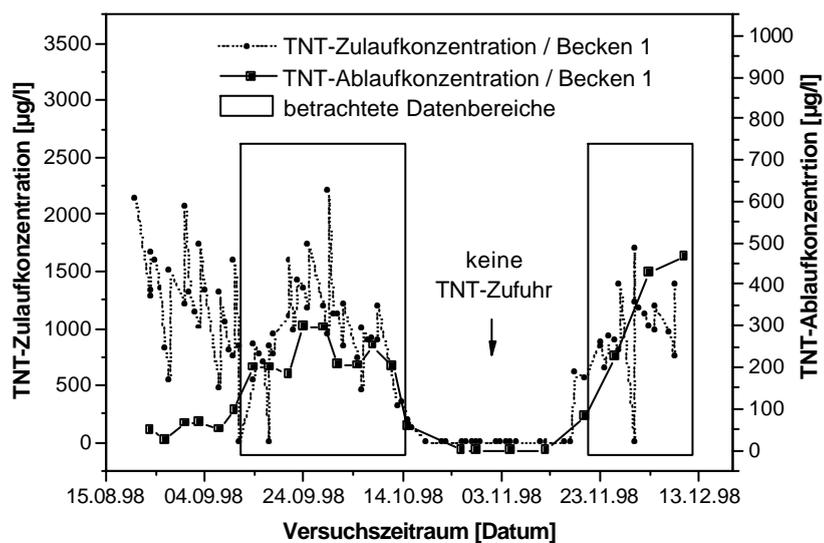


Abb. 4-7: TNT-Konzentrations-Zeit-Kurven von Zu- und Ablauf des Beckens 1 (Strang 3) während der Vegetationsperiode 1998

Aus diesen Daten wurden die mittlere Zu- und Ablaufkonzentration entsprechend der Jahreszeit bestimmt. Diese sind in Abb. 4-8 vergleichend dargestellt.

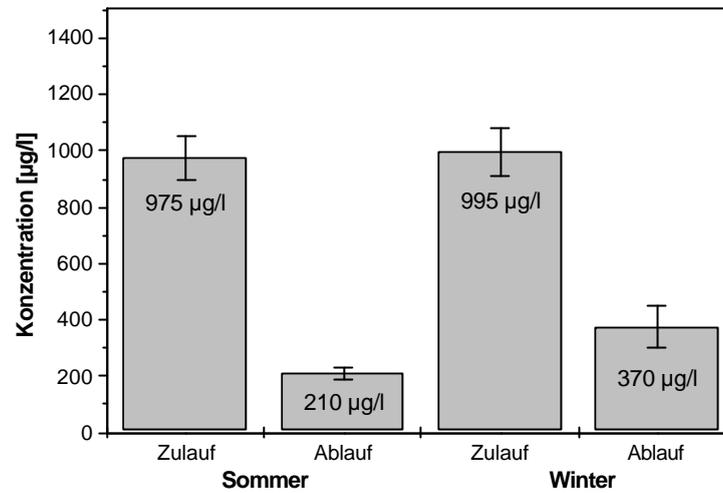


Abb. 4-8: Darstellung der Abhängigkeit der mittleren TNT-Zulauf- bzw. Ablaufkonzentrationen von Becken 1, Strang 3 (Abbauleistung vom Sommer- und Winterbetrieb, 1998)

Die flächenspezifischen Daten für die Sommer- und Winterperiode sind Tabelle 4-3 zu entnehmen.

Tabelle 4-3: Flächenbelastung, Fracht, Wirkungsgrad der TNT-Zulauf- bzw. TNT-Ablaufkonzentration in Abhängigkeit der Temperatur (Becken 1, Strang 3)

Flächenspezifische Daten					
		Flächenbelastung [g/(d*m ²)]	Zulauffracht [g/d]	Ablauffracht [g/d]	Wirkungsgrad [%]
Sommer ^a	Mittlere Wassertemperatur ϑ = 13 °C	0,26	1,40	0,30	79
Winter ^b	Mittlere Wassertemperatur ϑ = 2 °C	0,26	1,43	0,53	63

^a Sommer berücksichtigt Daten vom Zeitraum 15.09.1998 - 15.10.1998.

^b Winter berücksichtigt Daten vom Zeitraum 20.11.1998 – 10.12.1998.

Es ist zu erkennen, dass eine jahreszeitliche Abhängigkeit der Eliminierungsrate in Becken 1 besteht. Im Sommer wird trotz vergleichbarer mittlerer TNT-Zulaufkonzentration im Ablauf eine

geringere TNT-Konzentration gemessen als im Winter. Die Reduzierung der TNT-Konzentration beträgt im Sommer ca. 80 %, im Winter ca. 63 %. Aufgrund der Streuung bei den Zulaufkonzentrationen ist jedoch einschränkend zu bemerken, dass es sich bei den angegebenen Eliminierungsraten lediglich um Abschätzungen handelt, da eine konstante Zudosierung von TNT technisch sehr schwer zu realisieren war.

Eine äquivalente Auswertung wurde mit den erhaltenen Daten aus Becken 2 durchgeführt. In Abb. 4-9 sind die TNT-Zu- und Ablaufkonzentrationen von Becken 2 dargestellt.

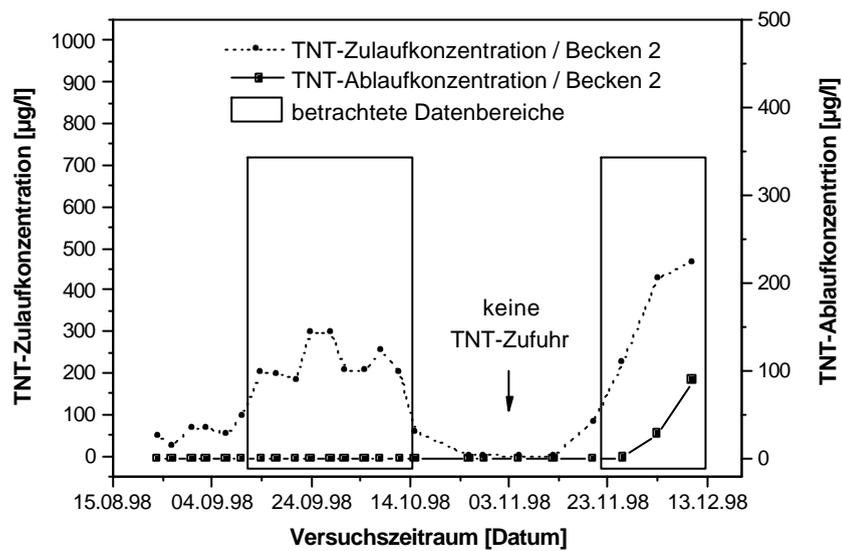


Abb. 4-9: TNT-Konzentrations-Zeit-Kurven von Zu- und Ablauf des Beckens 2 (Strang 3) während der Vegetationsperiode 1998

Abb. 4-10 zeigt den Vergleich der mittleren Zu- und Ablaufkonzentrationen.

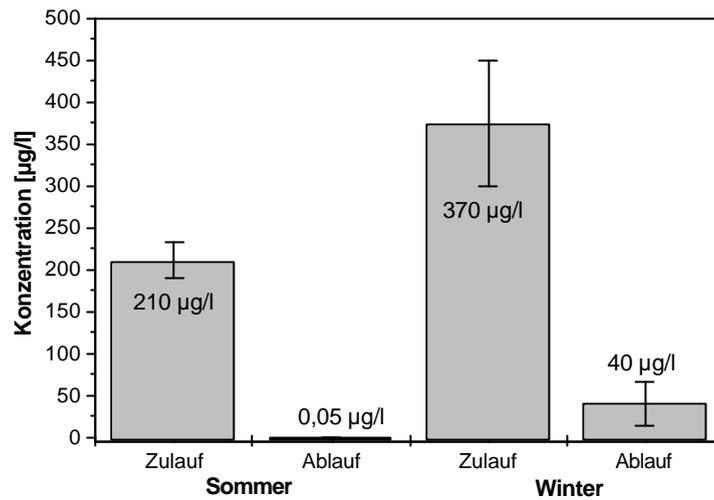


Abb. 4-10: Darstellung der Abhängigkeit der mittleren TNT-Zulauf- bzw. Ablaufkonzentrationen von Becken 2, Strang 3 (Umbauleistung von Sommer- und Winterbetrieb, 1998)

Die flächenspezifischen Daten vom zweiten Becken sind für die Sommer- und Winterperiode in Tabelle 4-4 dargestellt.

Tabelle 4-4: Flächenbelastung, Fracht, Wirkungsgrad der TNT-Zulauf- bzw. TNT-Ablaufkonzentration in der Temperatur (Becken 2, Strang 3)

Flächenspezifische Daten					
		Flächenbelastung [g/(d*m ²)]	Zulauffracht [g/d]	Ablauffracht [g/d]	Wirkungsgrad [%]
Sommer ^a	Mittlere Wassertemperatur ϑ = 13 °C	0,056	0,30	0,000035	99,9
Winter ^b	Mittlere Wassertemperatur ϑ = 2 °C	0,098	0,53	0,057	89

^a: Sommer berücksichtigt Daten vom Zeitraum 15.09.1998 - 15.10.1998.

^b: Winter berücksichtigt Daten vom Zeitraum 20.11.1998 – 10.12.1998.

Die mittlere TNT-Zulaufkonzentration liegt im Sommer unter der des Winters, da im Sommer in Becken 1 bereits mehr TNT als im Winter eliminiert wird. Generell ist auch in Becken 2 eine

reduzierte TNT-Eliminierungsrate unter Winterbedingungen zu erkennen. Diese beträgt im Sommer nahezu 100 %, unter Winterbedingungen liegt sie bei ca. 89 %.

Ein Rückgang der Eliminierungsrate unter geringeren Temperaturen ist bereits in anderen Studien festgestellt worden. Der optimale Temperaturbereich bei anaerober TNT-Transformation mittels bodengebundener Bakterien lag in diesen Untersuchungen bei 25 °C bis 37 °C. Eine Eliminierung konnte auch noch bei 15 °C festgestellt werden, jedoch langsamer [18]. Diese Ergebnisse zeigen eine Verringerung der Bakterienaktivität bei geringeren Temperaturen. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch weitere Studien, die bei 37°C (im Vergleich zu 20 °C) eine schnellere Transformation von TNT und geringere TNT-Restkonzentration im Wasser darstellen [115]. Dekontaminationsversuche durch Kompostierung zeigten ähnliche Resultate. Auch dort wurde unter thermophilen Bedingungen TNT in höheren Raten abgebaut als unter mesophilen Bedingungen [116].

Neben der Verringerung der mikrobiellen Aktivität durch Temperaturabnahme, kann die Bakterienleistung auch durch eine Minderung des Nährstoffangebotes im Winter begründet sein. Aufgrund des Pflanzenrückzugs im Winter fehlen die durch Ausscheidung von Wurzelexsudaten generierten zusätzlichen Substrate, welche die Mikroorganismen verwerten können [23]. Wie bereits erwähnt, haben zusätzlich vorhandene Kohlenstoffquellen einen positiven Einfluss auf die TNT-Eliminierung. So wurde ein Anstieg des TOC mit dem Vorhandensein von gelöstem organischen Material, welches vom Pflanzenmaterial in der Pflanzenkläranlage ausgeschieden wurde, in Zusammenhang gebracht [117].

Eine andere Ursache der geringen Eliminierungsrate von TNT unter winterlichen Temperaturen kann im temperaturabhängigen Adsorptionsverhalten von TNT liegen. Da die Adsorption jedoch stark abhängig vom TNT-Reduktionsgrad ist, muß die Ursache der temperaturabhängigen Adsorption vergleichend mit der Abhängigkeit der Bildung von Transformationsprodukten betrachtet werden. Für TNT und seine teilreduzierten Folgeprodukte konnte gezeigt werden, dass eine steigende Anzahl von Aminogruppen am Molekül die Geschwindigkeit der Adsorption beschleunigt und die Reversibilität der Bindung vermindert [33]. Wie oben beschrieben, nimmt die TNT-Reduktion unter winterlichen Bedingungen ab. Daraus resultiert eine verminderte Bildung von adsorbierbaren Metaboliten.

Zusammenfassend lässt sich für diese Studie feststellen, dass mit Hilfe der Pflanzenkläranlage TNT nahezu vollständig aus dem Wasser eliminiert werden kann. Dabei existiert eine jahreszeitliche Abhängigkeit der TNT-Eliminierungsrate. Trotz einer reduzierten Eliminierungsrate ist jedoch auch unter Winterbedingungen eine deutliche Eliminierung von TNT messbar.

4.1.4 Einfluss der Wasserparameter auf die Eliminierung von TNT und Bestimmung der Wasserbestandteile

4.1.4.1 Wassertemperatur, Redoxpotential und Sauerstoffgehalt

TNT kann im mikrobiellen System durch die Reduktion der Nitrogruppen zu Aminogruppen abgebaut werden, dabei wird TNT zu TAT transformiert. Die Reaktion verläuft hauptsächlich über die Zwischenstufen der ADNT und DANT. Die Umwandlung der ersten Nitrogruppe in die Aminogruppe erfolgt bevorzugt unter aeroben Bedingungen. Im weiteren Verlauf der Reduktion zu TAT sind jedoch anaerobe Milieubedingungen notwendig [33,118]. Ein reduktiver Abbau von TNT kann somit durch wechselnde aerobe und anaerobe Milieubedingungen in den Becken begünstigt werden. Gleichzeitig haben vorherrschende Bedingungen im Wasser Einfluss auf die Adsorption von TNT und dessen Metaboliten an der Bodenmatrix. So wurde gezeigt, dass unter oxidierenden Bedingungen ($E_h = + 450 \text{ mV}$) ein um 25 % reduzierter K_D -Wert gefunden wurde als bei einem Redoxpotential von $E_h = - 150 \text{ mV}$, d.h. die Adsorption unter aeroben Bedingungen ist niedriger [119].

Um hinsichtlich der Milieuparameter eine Aussage über günstige Bedingungen eines reduktiven Angriffes auf das TNT machen zu können bzw. um bevorzugte Adsorptionen darstellen zu können, wurden über die gesamte Versuchsdauer die Parameter Wassertemperatur, Redoxpotential und gelöster Sauerstoffgehalt im Wasser gemessen. Diese Messungen erfolgten sowohl im eingestauten Bereich (Wasseroberfläche) als auch im unteren Bereich des Überlaufschachtes der Becken (siehe Abb. 3-2).

In einer ersten Betrachtung der Milieuparameter stand der Vergleich der Wassertemperatur-, Redoxpotential- und Gelöstsauerstoffgehalt-Zeit-Kurven in Abhängigkeit der Bepflanzung im Mittelpunkt. Die Messungen der Parameter erfolgten während der Vegetationsperiode 1998 am jeweils ersten Becken der Stränge 2 (unbepflanzt) und 3 (bepflanzt).

Der Verlauf der Wassertemperatur-Zeit-Kurven für beide Becken (Abb. 411) zeigt für alle vier Probenahmeorte ähnliche Wassertemperaturen.

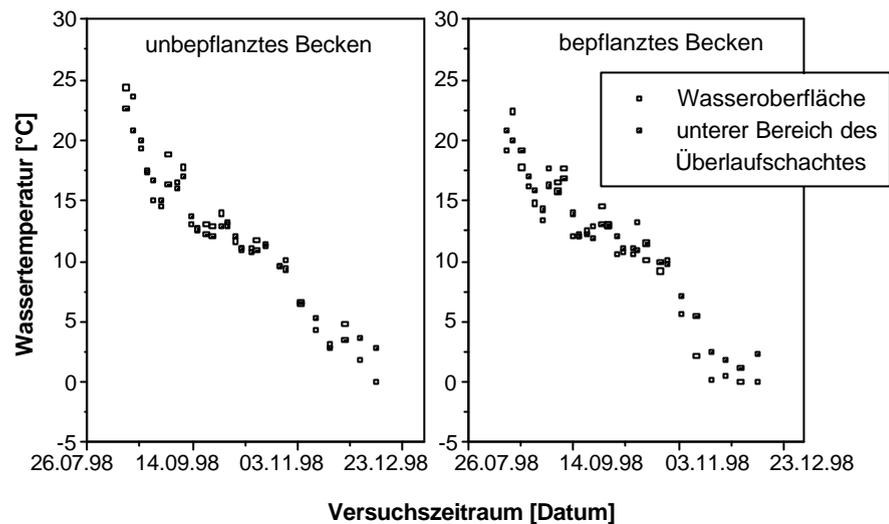


Abb. 4-11: Vergleich der Wassertemperatur-Zeit-Kurven in Abhängigkeit der Bepflanzung bzw. des Probenahmeortes im jeweiligen Becken, Vegetationsperiode 1998

Variationen der nachfolgend betrachteten Parameter sind somit nicht auf unterschiedliche Temperaturbedingungen zum jeweiligen Zeitpunkt zurückzuführen.

Mit Hilfe der Darstellung der Redoxpotentiale sollen die Bedingungen im bepflanzten und unbepflanzten Becken gegenübergestellt werden. Das Redoxpotential stellt dabei das Verhältnis zwischen dem Gehalt an elektronenaufnehmenden und elektronenabgebenden Wasserinhaltsstoffen dar. In Abhängigkeit des Verhältnisses stellt sich ein positives oder negatives Potential ein. Je niedriger das Redoxpotential ist, desto größer ist das Reduktionspotential.

Die Reduktion von TNT ist aufgrund eines vorhandenen hohen Elektronendefizites am Aromatenring des TNT möglich. Ein oxidativer mikrobieller Angriff am TNT ist problematisch, da die Nitrogruppen als stark elektronenziehender Substituent die initiale Oxygenierung erschweren. So finden bei aromatischen Verbindungen mit drei Nitrogruppen nur noch Initialreduktionen reduktiver Art statt. Wegen der stark elektronegativen Effekte der drei Nitrogruppen auf das π -Elektronensystem des aromatischen Ringes und das daraus resultierende Elektronendefizit am aromatischen Ringsystem ist der reduktive Angriff hier besonders begünstigt [113]. Durch eine Transformation der Nitrogruppen in Aminogruppen wird eine Verminderung des Elektronendefizites herbeigeführt [120]. Voraussetzung dieses Vorgangs ist das Vorhandensein eines Reduktionsmittels. Untersuchungen zeigten, dass die Reduktion von TNT zu ADNT bei einem positiven Redoxpotential von 250 mV bis 50 mV abläuft. Die Reduktion von DANT zu TAT sollte jedoch unter strikt anaeroben Bedingungen ablaufen (-200 mV) [18,120]. Zur Transformation von TNT

auf reaktivem Wege werden in Abhängigkeit der Reduktionsstufe somit unterschiedliche Reduktionspotentiale benötigt.

Da die Redoxpotentiale selbst temperaturabhängig sind, wurde eine Temperaturkorrektur der gemessenen Werte vorgenommen. Dazu wurden die Redoxpotentiale auf $t = 25 \text{ °C}$ bezogen. Gleichzeitig erfolgte zum Vergleich der erhaltenen Werte mit anderen Studien eine Umrechnung der gemessenen Potentiale ($E_{\text{Ag}/\text{AgCl}}$) auf das Potential der Wasserstoffelektrode (E_{h}).

Die Anpassung der Temperaturabhängigkeit der Redoxpotentiale und die Darstellung der Potentiale bezogen auf das Potential der Wasserstoffelektrode (bei $p = 10^5 \text{ Pa}$) erfolgte mittels rechnerischer Methoden nach [121]:

Dazu wurde im ersten Schritt eine Temperaturkorrektur der gemessenen Redoxpotentiale durchgeführt (Gl. 4-5).

$$\text{Gl. 4-5} \quad E_{0 (25 \text{ °C})} = E_t - 0,198 \cdot (t - 25)$$

$E_{0 (25 \text{ °C})}$: Standardpotential bezogen auf $t = 25 \text{ °C}$ [mV]

$E_{\text{Ag}/\text{AgCl}}(t)$: gemessenes Redoxpotential (Silber/Silberchlorid-Elektrode) [mV]

t: Wassertemperatur zur Zeit der Messung [$^{\circ} \text{C}$]

Anschließend erfolgte die Umrechnung des temperaturkorrigierten Potentials (gemessen mit Silber/Silberchlorid-Elektrode (KCl 3 mol/l)) auf das Potential der Wasserstoffelektrode (Gl. 4-6).

$$\text{Gl. 4-6} \quad E_{\text{h}}(25 \text{ °C}) = E_{0 (25 \text{ °C})} + E_{\text{Ag}/\text{AgCl}}(25 \text{ °C})$$

E_{h} : Redoxpotential der Lösung bezogen auf Wasserstoffelektrodenpotential bei $t = 25 \text{ °C}$ [mV]

$E_{0 (25 \text{ °C})}$: Standardpotential bezogen auf $t = 25 \text{ °C}$ [mV]

$E_{\text{Ag}/\text{AgCl}}(25 \text{ °C})$: Potential der Silber/Silberchlorid-Elektrode (KCl 3 mol/l) temperaturkorrigiert mittels Gleichung $E_{\text{Ag}/\text{AgCl}}(25 \text{ °C}) = (224,35833 - t) / 0,69762$ [mV]

t: Wassertemperatur [$^{\circ} \text{C}$]

In Abb. 4-12 sind die Redoxpotential-Zeit-Kurven dargestellt. Die Markierungen in den Diagrammen zeigen dabei den jeweiligen Zeitabschnitt, indem die Untersuchungen hinsichtlich des Einflusses der Bepflanzung auf die TNT-Eliminierung durchgeführt wurden.

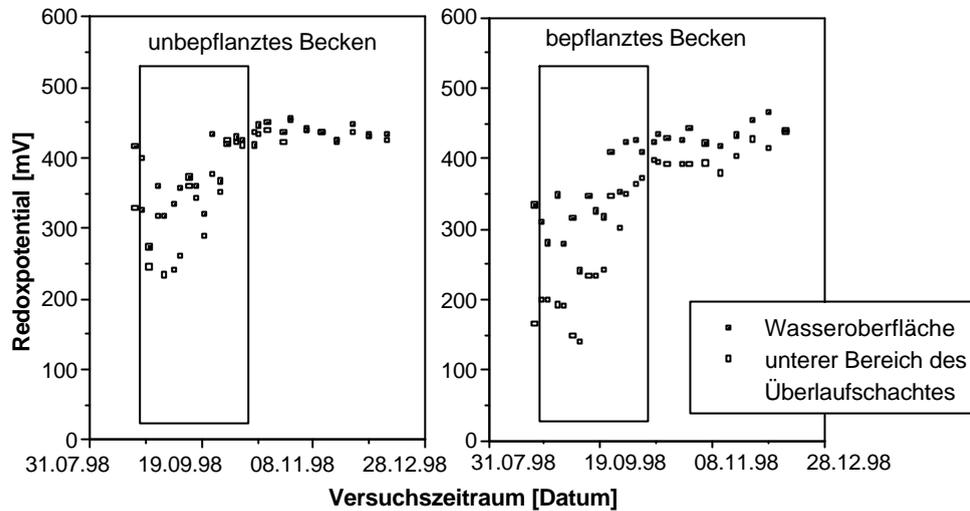


Abb. 4-12: Vergleich der Redoxpotential-Zeit-Kurven in Abhängigkeit der Bepflanzung bzw. des Probenahmeortes im jeweiligen Becken (bezogen auf das Potential der Wasserstoffelektrode bei 25 °C)

Beim Vergleich der Redoxpotential-Zeit-Kurven in Abhängigkeit der Probenahmetiefe ist zu erkennen, dass sowohl im bepflanzten als auch im unbepflanzten Becken an der Wasseroberfläche ein höheres Redoxpotential vorherrscht als im unteren Bereich des Überlaufschachtes. Die Differenz zwischen den gemessenen Redoxpotentialen in Abhängigkeit der Probenahmetiefe ist im unbepflanzten Becken (23 mV) jedoch geringer als im bepflanzten Becken (101 mV). Es liegen somit im bepflanzten Becken größere Redoxpotentialunterschiede vor. Im Vergleich des bepflanzten und unbepflanzten Beckens hinsichtlich der mittleren gemessenen Redoxpotentiale zeigen sich Unterschiede (Tabelle 45). Im unteren Bereich ist die Differenz mit 100 mV zwischen bepflanzten und unbepflanzten Becken größer als an der Wasseroberfläche (22 mV).

Im bepflanzten Becken herrschen zwar geringere Redoxpotentiale im Gegensatz zum unbepflanzten Becken vor, mit einem mittleren Redoxpotential von 240 mV im unteren Bereich des Überlaufschachtes im bepflanzten Becken ist das Redoxpotential jedoch nicht ausreichend, um eine Reduktion zum TAT zu begünstigen ($E_{h(\min)} = 140$ mV (bepflanztes Becken, unterer Bereich des Überlaufschachtes)).

Tabelle 4-5: Mittlere Redoxpotentiale im bepflanzt und unbepflanzten Becken an den Messorten Wasseroberfläche bzw. unterer Bereich des Überlaufschachtes

	Redoxpotential [mV]	
	Unbepflanztes Becken	Bepflanztes Becken
Wasseroberfläche	363	341
STABW (n = 13)	48,24	57,95
Unterer Bereich des Überlaufschachtes	340	240
STABW (n = 13)	72,97	75,77

Zusätzlich nähern sich im unbepflanzten Becken die Redoxpotentiale im oberen und unteren Bereich über den Versuchszeitraum an. Dadurch existieren keine unterschiedlichen Redoxpotentiale mehr im Becken, was auf die vollständige Reduktion von TNT zu TAT einen negativen Einfluss hat. Über die gesamte Versuchsdauer kann in beiden Fällen ein Anstieg des Redoxpotentials beobachtet werden. Am Ende der Messperiode (Winterbetrieb) findet eine Veränderung des Redoxpotentials nur noch im geringen Maße statt. Eine mögliche Ursache dafür ist die Abnahme der Bakterientätigkeit und die damit verbundene Verringerung des Stoffumsatzes. Die Abnahme der Bakterientätigkeit kann zum einen durch die Verringerung der Außentemperatur, zum anderen durch den Pflanzenrückzug im Winter begründet sein.

Als weiterer Parameter wurde der Gehalt an gelöstem Sauerstoff im Wasser gemessen. Der Sauerstoffgehalt gibt dabei Hinweise auf oxidierende oder reduzierende Verhältnisse [121]. Er wird durch mehrere Faktoren beeinflusst, die einerseits Sauerstoff in das System eintragen bzw. andererseits dem System entziehen können. Sauerstoffzuführende Prozesse sind der Eintrag von Luft ins Wasser über die Atmosphäre (bei vermindertem Sauerstoffgehalt im Wasser), der Eintrag von Sauerstoff durch das Luftkanalsystem (*Aerenchym*) der Pflanzen in den Untergrund und die Zufuhr von Sauerstoff durch den Sauerstoffgehalt im Zulaufwasser. Auch durch das Vorhandensein von anderen Pflanzen im System, wie z.B. Grünalgen, kann Sauerstoff ins Wasser eingetragen werden. Minderungen des Sauerstoffgehaltes werden hervorgerufen durch Stoffwechselprozesse im Untergrund.

Die Bestimmung des gelösten Sauerstoffgehaltes erfolgte ebenfalls über den gesamten Versuchszeitraum (Abb. 4.13). Die Messergebnisse, die für die Darstellung des Einflusses der Bepflanzung auf die TNT-Eliminierung herangezogen wurden, sind im Diagramm markiert.

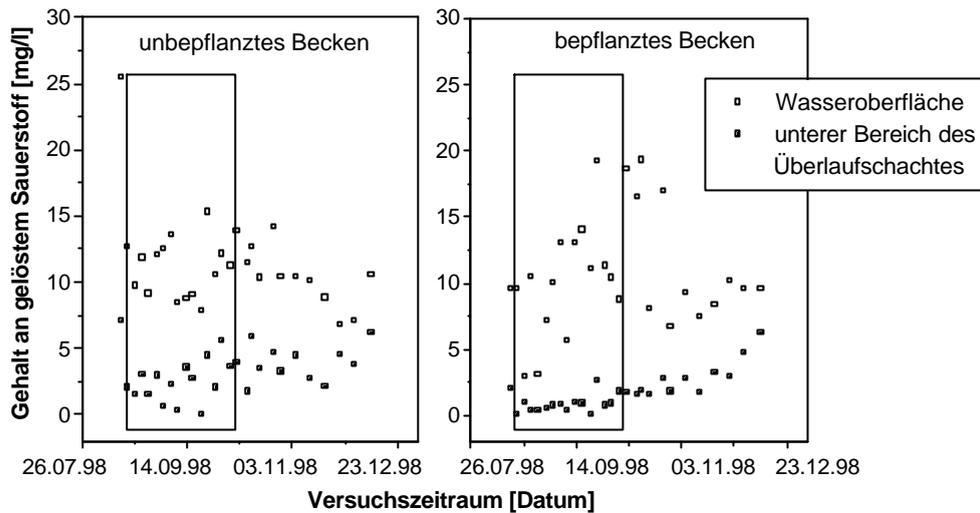


Abb. 4-13: Vergleich der Gelöstsauerstoffgehalt-Zeit-Kurven in Abhängigkeit der Bepflanzung bzw. des Probenahmeortes im jeweiligen Becken

Die Werte sind für den Versuchszeitraum 'Einfluss der Bepflanzung' (Markierung) im Einstaubereich ebenfalls in beiden Fällen höher als im unteren Bereich der Überlaufschächte (Tabelle 4-6). Es liegen somit auch beim Gehalt an gelöstem Sauerstoff im Wasser Unterschiede in Abhängigkeit der Probenahmetiefe vor.

Tabelle 4-6: Mittlere Konzentration des gelösten Sauerstoffs im Wasser im bepflanzten und unbepflanzten Becken an den Messorten Wasseroberfläche bzw. unterer Bereich des Überlaufschachtes

	Gelöster Sauerstoffgehalt [mg/l]	
	Unbepflanztes Becken	Bepflanztes Becken
Wasseroberfläche	11,1	10,5
STABW (n = 13)	2,19	4,61
Unterer Bereich des Überlaufschachtes	2,5	0,8
STABW (n = 13)	1,52	4,61

Beim Vergleich der mittleren Sauerstoffgehalte in Abhängigkeit der Bepflanzung sind im unteren Bereich des Überlaufschachtes des bepflanzten Beckens geringere Schwankungen der

Konzentrationen als im unbepflanzten Becken zu beobachten. Dies bedeutet, dass im unteren Bereich des bepflanzten Beckens das Verhältnis zwischen Sauerstoffeintrag und -zehrung relativ konstant ist. Da an den meisten Probenahmetage der Gehalt an gelöstem Sauerstoff gleich 0 mg/l beträgt, ist jedoch eher davon auszugehen, dass die sauerstoffzehrenden Prozesse überwiegen. Im unbepflanzten Becken scheinen dahingegen die sauerstoffzuführenden und -zehrenden Prozesse im Wechselspiel zu sein. Die Stoffwechselprozesse, die zu einer Minderung des Gehaltes an gelöstem Sauerstoff im Wasser führen und abhängig unter anderem vom Bakteriengehalt und vom Gehalt an zur Verfügung stehenden Nährstoffquellen im System sind, sind im unbepflanzten Becken weniger ausgeprägt.

Im Einstaubereich treten in beiden Fällen größere Schwankungen der Messwerte auf. Eine mögliche Ursache hierfür liegt bei den im Einstaubereich wachsenden Pflanzen, Algen und niederen Wasserpflanzen. Diese können die Ergebnisse beeinflussen. In Abhängigkeit der Nähe der Probenahme zu den anderen Wasserpflanzen können unterschiedliche Sauerstoffgehalte im Wasser vorhanden sein. Findet z.B. die Messung in der Nähe von Grünalgen statt, sind aufgrund dessen Sauerstofferzeugung höhere Sauerstoffgehalte im Wasser vorhanden. Der Sauerstoffgehalt von über 8,4 mg/l ist ebenfalls durch den Kontakt mit der Atmosphäre erklärbar.

Die Bepflanzung hat somit einen Einfluss auf das Redoxpotential und den Gehalt an gelöstem Sauerstoff im Wasser. Im bepflanzten Becken sind insbesondere im unteren Bereich des Beckens sauerstoffzehrendere Verhältnisse als im unbepflanzten Becken vorhanden, da der Gehalt an gelöstem Sauerstoff geringer ist. Die Bepflanzung wirkt sich damit auf das Redoxpotential und den Gehalt an gelösten Sauerstoff aus und stellt hinsichtlich der angestrebten Reduktion von TNT günstigere Bedingungen zur Verfügung. Die Redoxpotentiale sind im ersten Becken jedoch sowohl im unbepflanzten als auch im bepflanzten Becken nicht ausreichend, um eine vollständige Reduktion bis zum TAT hervorzurufen. Ein Vergleich der vorherrschenden Redoxpotentiale mit den zur Transformation notwendigen Redoxpotentialen zeigt, dass in den dargestellten Verhältnissen in den ersten Becken der Pflanzenkläranlage nur eine Reduktion bis zum ADNT begünstigt würde. Die weitere Reduktion insbesondere zum TAT, die ein Redoxpotential von -200 mV benötigt, würde nicht unterstützt werden.

Ausgehend von der Beobachtung, dass im ersten Becken keine vollständige Reduktion des TNT zum TAT vonstatten gehen kann, wurde in weiteren Studien der Verlauf der einzelnen Parameter in Abhängigkeit von der Fließstrecke über die Zeit untersucht. Diesen Auswertungen liegen die Daten aus der Vegetationsperiode 1999 zugrunde.

In Abb. 4-14 sind die Wassertemperatur-Zeit-Kurven der jeweiligen Probenahmestellen (Wasseroberfläche, unterer Bereich des Überlaufschachtes) der vier Becken dargestellt.

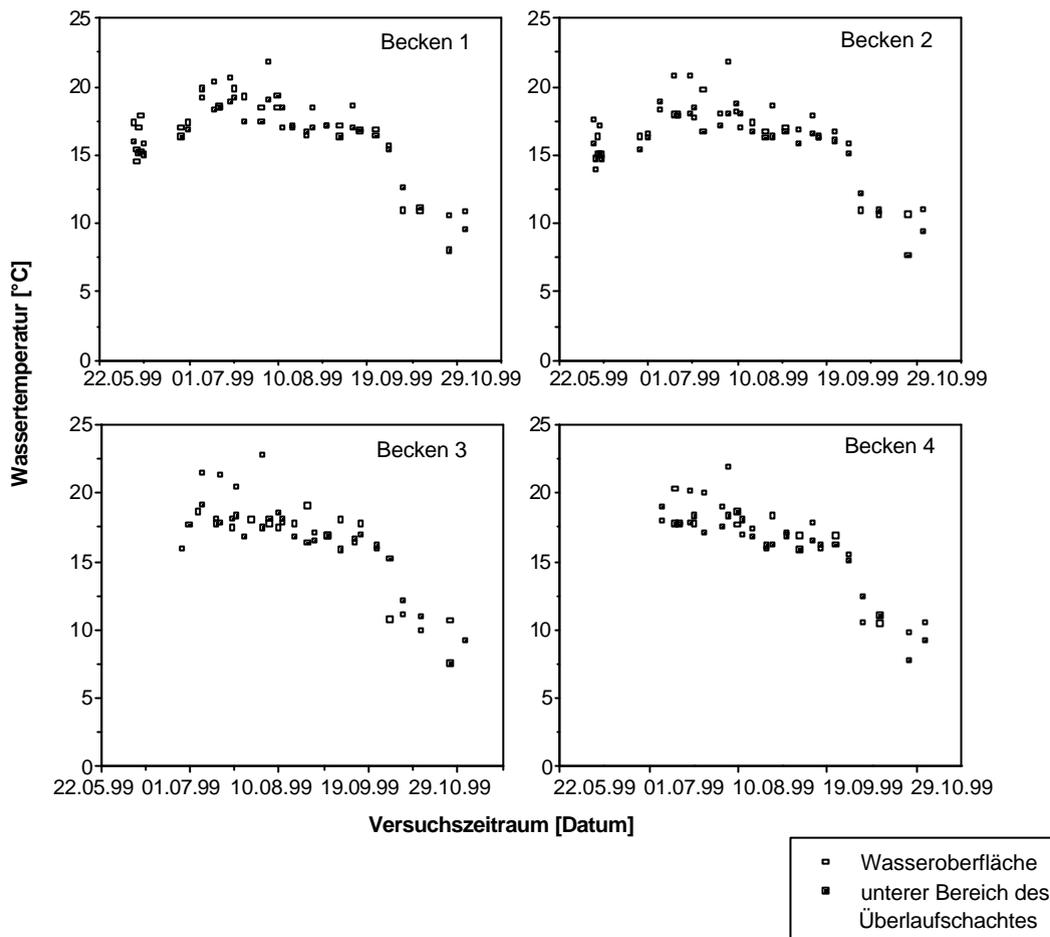


Abb. 4-14: Darstellung der Wassertemperatur-Zeit-Kurven der Becken 1-4, Strang 3 während der Vegetationsperiode 1999

Die Wassertemperaturen sind in den Becken an den jeweiligen Orten ähnlich. Erst bei einer mittleren Außentemperatur von über 25 °C sind die Temperaturen im eingestauten Bereich höher als im unteren Bereich des Überlaufschachtes. Bei niedrigeren Temperaturen wird dieser Effekt nicht beobachtet. Somit kann wiederum von einer Unabhängigkeit der Wassertemperatur hinsichtlich auftretender Unterschiede bei zeitgleich betrachteten Parametern ausgegangen werden.

In den Redoxpotential-Zeit-Kurven in Abhängigkeit der Fließstrecke (Abb. 415) ist zu erkennen, dass nach dem Durchfließen des ersten Beckens in den folgenden drei Becken geringere Redoxpotentiale vorliegen.

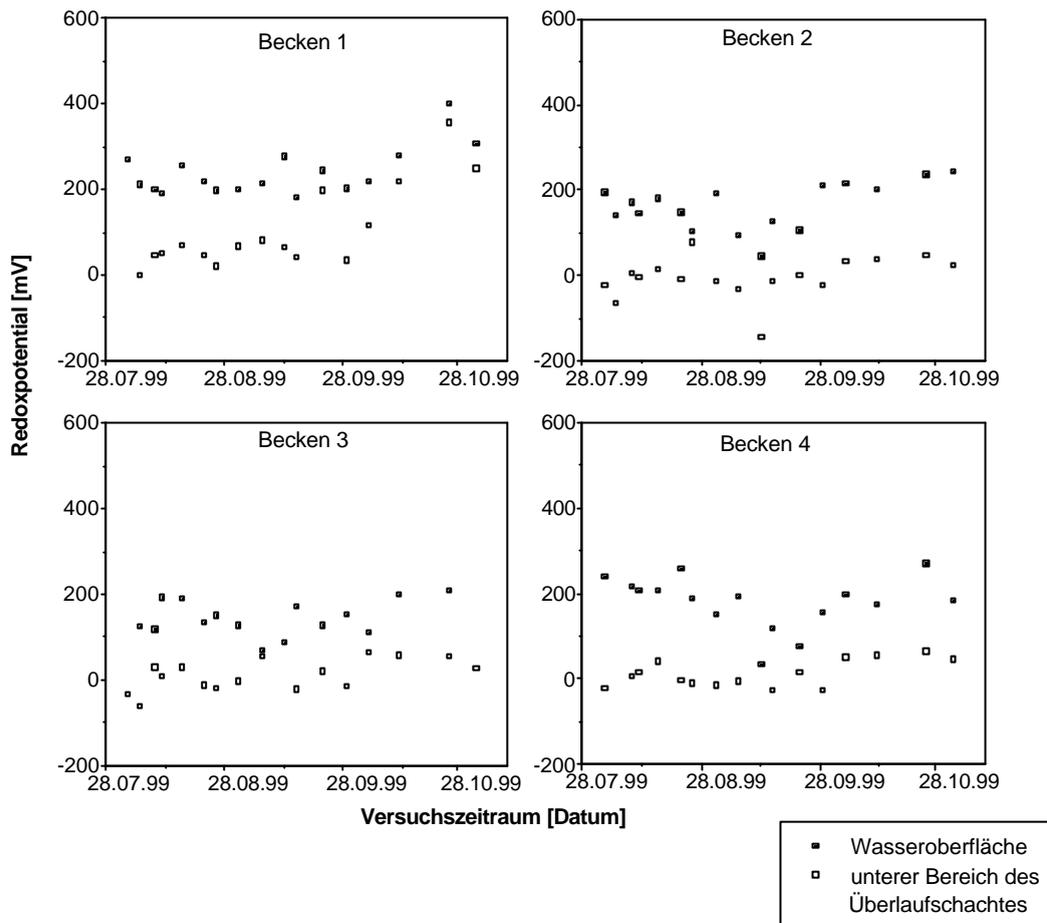


Abb. 4-15: Darstellung der Redoxpotential-Zeit-Kurven der Becken 1 - 4, Strang 3 während der Vegetationsperiode 1999

Die Becken 2, 3 und 4 weisen dabei ähnliche Potentiale auf (Tabelle 47). Der Vergleich der Redoxpotentiale innerhalb der jeweiligen Becken zeigt, dass im unteren Bereich in allen vier Becken geringere Potentiale als im Einstaubereich vorliegen.

Die mittleren Redoxpotentiale liegen dabei im ersten Becken im unteren Bereich bei 100 mV. In den anderen Becken liegen die Potentiale bei ca. 0 mV. Das Minimum konnte im zweiten Becken gemessen werden (-7 mV). Die Redoxpotentiale im Einstaubereich sind für alle vier Becken annähernd gleich (ca. 140 mV).

Tabelle 4-7: Mittlere Redoxpotentiale in Becken 1 bis 4 an den Messorten Wasseroberfläche und unterer Bereich des Überlaufschachtes in der Vegetationsperiode 1999

	Redoxpotential [mV]			
	Becken 1	Becken 2	Becken 3	Becken 4
Wasseroberfläche	137	160	142	177
STABW (n = 16)	55,81	54,96	41,57	62,61
Unterer Bereich des Überlaufschachtes	101	-6,7	9	10
STABW (n = 16)	99,17	49,03	37,10	31,58

Im Vergleich der Redoxpotentiale mit den mittleren Werten, die während der Vegetationsperiode 1998 (bepflanztes Becken) gemessen wurden, kann eine Minderung der Potentiale festgestellt werden. Eine mögliche Erklärung der verringerten Redoxpotentiale ist eine bessere Adaption der Mikroorganismen an die TNT-Wässer. Eine höhere Bakterienzahl führt aufgrund von verstärkten Stoffwechselforgängen zu anaeroberen Verhältnissen. Da die Potentiale von den vorherrschenden geladenen Wasserinhaltsstoffen beeinflusst werden, kann von einer Veränderung hinsichtlich der Vorkommensart ausgegangen werden.

Die Darstellungen der Konzentrations-Zeit-Kurven des gelösten Sauerstoffgehaltes im Wasser (Abb. 4-16) zeigen in allen vier Becken im unteren Bereich des Überlaufschachtes gelöste Sauerstoffgehalte von ca. 0 mg/l. Dies bedeutet, dass in dieser Zone sauerstoffzehrende Verhältnisse vorliegen. Im eingestauten Bereich sind die Werte im ersten Becken am höchsten. Ebenfalls ist im ersten Becken (ähnlich wie im Becken 2) ein leichter Anstieg der Konzentration im Wasser zu verzeichnen.

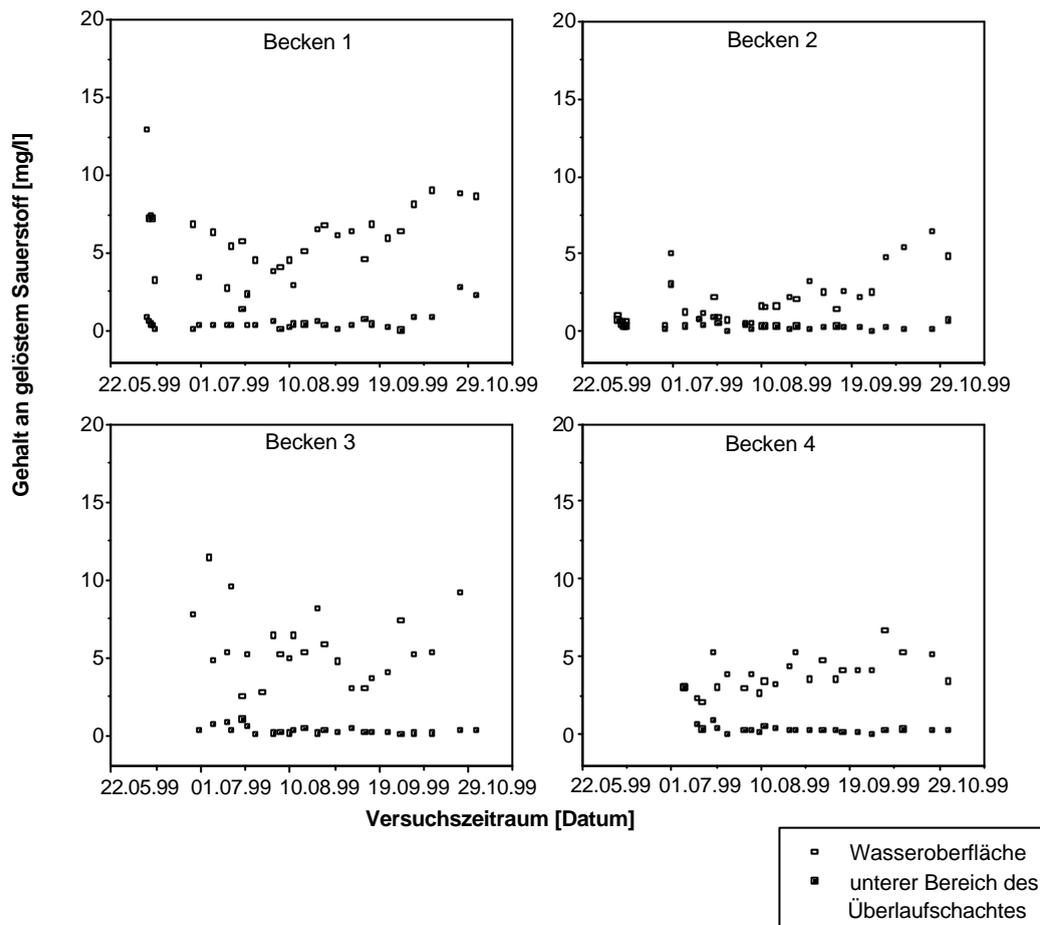


Abb. 4-16: Darstellung der Konzentrations-Zeit-Kurven von gelöstem Sauerstoff im Wasser der Becken 1 bis 4, Strang 3 während der Vegetationsperiode 1999

Vergleicht man die Redoxpotentiale und die Gehalte des gelösten Sauerstoffs im Wasser in Abhängigkeit der Fließstrecke, so herrschen am Ende des Fließweges in Becken 4 anaerobere Verhältnisse vor als in Becken 1. Dies kann sich ebenfalls positiv auf eine Reduktion von TNT im Wasser auswirken. Aber auch in diesem Fall sind die gemessenen Redoxpotentiale im unteren Bereich der Überlaufschächte nicht ausreichend, um eine Transformation des TNT bis zum TAT zu erzielen.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass durch die vertikale Durchströmung der Becken unterschiedliche Milieubedingungen geschaffen werden, da an der Oberfläche aerobere Verhältnisse als im unteren Bereich der Becken vorherrschen. Gleichzeitig wirkt sich die Bepflanzung positiv auf die Schaffung von differenziert aerob/anaeroben Verhältnissen aus. Zudem werden die Milieubedingungen über die gesamte Fließstrecke (Becken 1-4) zunehmend anaerob. Betrachtet man jedoch die mittleren Redoxpotentiale, so ist zu erkennen, dass diese für eine

Reduktion des TNT bis zum TAT nicht ausreichend sind. Dies kann sich negativ auf die Festlegung der Metaboliten an der Bodenmatrix auswirken. Unter den vorherrschenden Bedingungen ist mit keiner vollständigen Reduktion bis zum TAT zu rechnen. Die Messungen der Redoxpotentiale stellen jedoch nur Anhaltspunkte dar, da sie im unteren Bereich nur einem Punkt repräsentieren. In nachfolgenden Studien (Kap. 4.2) wird die Bildung der Reduktionsprodukte beschrieben.

4.1.4.2 Nitritgehalt

Der mikrobielle Abbau von TNT kann bei bestimmten Bedingungen zur Abspaltung einer Nitrogruppe führen, dies geht einher mit der Bildung von Nitrit [63]. Um zu untersuchen, ob dieser Abbauweg bei der Eliminierung von TNT in der Pflanzenkläranlage existiert, sollten während der Vegetationsperiode 1998 der Nitritgehalt im Zu- und Ablauf der Becken 1 und 2, Strang 3 repräsentativ für die anderen Becken bestimmt werden.

In Abb. 4-17 sind die Nitritgehalte im Zu- bzw. Ablauf des Beckens 1, Strang 3 dargestellt.

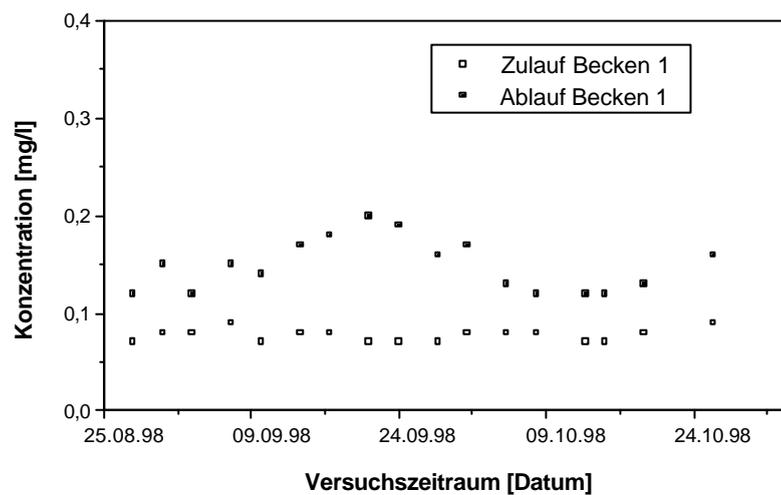


Abb. 4-17: Vergleich der Nitritgehalte im Zu- bzw. Ablauf vom Beckens 1, Strang 3

Im ersten Becken wurden im Ablauf höhere Nitritkonzentrationen als im Zulauf gemessen. Im Durchschnitt lagen die Ablaufkonzentrationen um 100 % über den Zulaufkonzentrationen. Vergleicht man diese Werte mit der Abnahme der TNT-Konzentration in diesem Zeitraum, so kann ein Zusammenhang zwischen der Eliminierung von TNT und der Erhöhung des Nitritgehaltes im Becken 1 gesehen werden. Aufgrund des hohen Nitrat-Hintergrundes im Zulauf kann die Nitriterrhöhung jedoch auch durch eine Denitrifikation hervorgerufen werden. Zur Dokumentation

des Nitrat-Hintergrundes im Zulauf sind in Tabelle 4-8 die Analysenwerte des Trinkwassers (Zulauf Becken 1) für das Münchner Stadtgebiet aufgelistet.

Tabelle 4-8: Analyseauszug für das Münchner Trinkwasser (gesamtes Stadtgebiet) und Grenzwerte nach TVO

	Konzentration [mg/l]	
	Münchner Trinkwasser	Grenzwerte nach TVO
Nitrit	<0,005	0,1
Nitrat	7,9 (min 4,7; max 11,3)	50
Ammonium	<0,05	0,5
pH-Wert	7,62	6,5-9,5
Sauerstoffgehalt	9,9	-

Bei der Denitrifikation werden Nitrationen in elementaren Stickstoff umgewandelt. Die Umwandlung erfolgt über folgende Stufen [122]:



Bei einer unvollständigen Denitrifikation ist somit die Bildung von Nitriten möglich. Eine quantitative Aussage bezüglich der Bildung von Nitrit aus den Reduktionsprozessen beim Abbau von TNT kann nicht gemacht werden. Der Gehalt an organischem Stickstoff, der bei einer durchschnittlichen Zulaufkonzentration von 2mg/l TNT in die Anlage eingetragen wurde, beträgt 120 µg/l.

Im Verlauf des Versuchszeitraumes wurde der Nitratgehalt im Wasser durch die Verwendung von Ablaufwasser des Stranges 4 (unbelastetes Wasser) als Zulaufwasser für Strang 3 gesenkt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4-9 gezeigt.

Tabelle 4-9: Gehalt an anorganischen Stickstoffverbindungen im Anlagenzulauf von Strang 3 (vor Umstellung) und im Anlagenablauf von Strang 4

Konzentration [mg/l]		
	Ablauf Strang 4	Zulauf Strang 3 (vor Umstellung)
Nitrit	0,10	0,09
Nitrat	3,97	10,4
Ammonium	0,16	0,26
Gesamtstickstoffgehalt	1,93	3,17

Durch die Verwendung des Ablaufwassers von Strang 4 in Strang 3 konnte der Nitratgehalt im Zulauf um 60 % reduziert werden, die Nitritgehalte sind in beiden Fällen im Zulauf gleich groß. Der Sprung der Nitritkonzentrationskurve im Herbst (Abb. 4-17) ist durch diese Senkung des Nitratgehaltes im Zulauf (geringere Bildung von Nitriten) zu erklären.

Aus der Messung der Nitritgehalte im zweiten Becken 2, Strang 3 ergibt sich folgendes Bild (Abb. 4-18)

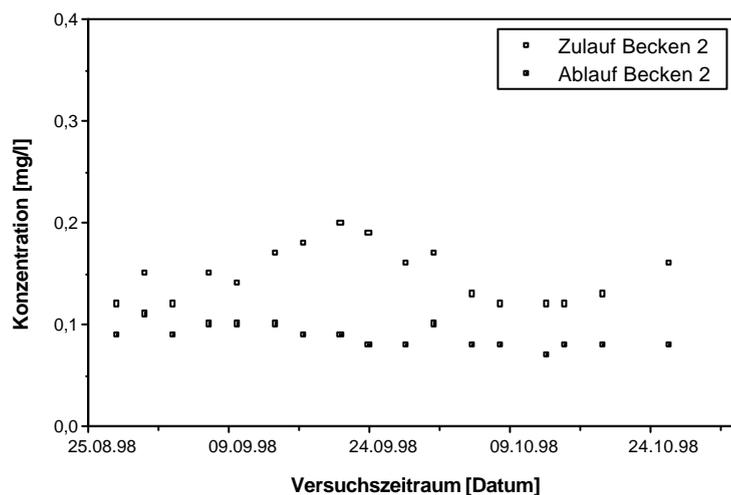


Abb. 4-18: Vergleich der Nitritgehalte im Zu- bzw. Ablauf der Becken 2, Strang 3

In Becken 2 der beiden Stränge wurden im Ablauf geringere Nitritkonzentrationen nach dem Durchströmen der Becken gemessen. Die gemittelten Werte sind in Tabelle 4-10 aufgeführt.

Tabelle 4-10: Mittlere Nitritkonzentrationen im Wasser und Standardabweichungen des Zu- bzw. Ablaufs der Becken 1 und 2, Strang 3

	Mittlere Nitritkonzentration [$\mu\text{g/l}$]
Zulauf Becken 1	77
STABW (n = 17)	0,00166
Ablauf Becken 1	149
STABW (n = 17)	0,00647
Ablauf Becken 2	88
STABW (n = 17)	0,00261

Die mittlere Nitritkonzentration im Ablauf verringerte sich um 40 %. Die Konzentrationen im Ablauf sind annähernd gleich denen im Zulauf zum Becken 1. Aufgrund der hohen Nitratbelastung im Trink- und Prozesswasser ist jedoch keine genaue Darstellung möglich.

Im Ergebnis dieser Untersuchung ergaben die durchgeführten Messungen der Stickstoffionenkonzentrationen einen erhöhten Nitritgehalt im Ablauf der ersten Becken. Eine mögliche Erklärung dafür ist der vonstatten gehende Abbau von TNT. Allerdings müssen die hohen Hintergrundwerte an Nitrit und Nitrat im Zulaufwasser in Betracht gezogen werden. Eine eindeutige Aussage ist somit nicht möglich.

4.1.5 Zusammenfassung

In den anwendungsbezogenen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass die verwendete Pflanzenkläranlage zur Reinigung von TNT-kontaminiertem Wasser eingesetzt werden kann. Nach Durchfließen der Pflanzenkläranlage wurde das zudosierte TNT nahezu vollständig aus dem Wasser eliminiert. Dabei kommt der Bepflanzung in den Becken eine wesentliche Rolle zu. Durch die Bepflanzung wird die Eliminierungsrate um ca. 30 % gesteigert. Hinsichtlich einer jahreszeitlichen Abhängigkeit der Eliminierungsrate konnte dargestellt werden, dass eine erniedrigte Außentemperatur zu einer reduzierten Eliminierungsrate führt. Diese sinkt jedoch auch im Winter nicht unter 50 % der TNT-Eliminierungsrate im Sommer ab. In der Betrachtung der Wasserparameter Redoxpotential und Sauerstoffgehalt konnten keine vollkommen günstigen

Milieubedingungen für eine mikrobielle Reduktion von TNT zu TAT festgestellt werden. Positiv sind jedoch die einerseits differenziert aerob/anaeroben Verhältnisse in den einzelnen Becken, andererseits die aerob/anaerobe Verhältnisse über die gesamte Fließstrecke hinweg. Über den möglichen Abbauweg von TNT über die Abspaltung einer Nitrogruppe konnte durch die Messung von Wasserionenparametern keine eindeutige Aussage gemacht werden. Eine Aussage über den Abbauweg ist erst durch die direkte Untersuchung auf molekularer Ebene möglich.

4.2 Bildung und Nachweis von Metaboliten an der Pflanzenkläranlage

In den bisherigen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass die TNT-Konzentration beim Durchfließen der Pflanzenkläranlage deutlich zurückgeht. Bereits nach dem dritten Becken wurde kein TNT mehr im Wasser nachgewiesen. Die Eliminierungsrate von TNT ist dabei von der Bepflanzung und der Außentemperatur abhängig. Nachdem durch diese anwendungsbezogenen Untersuchungen die generelle Anwendbarkeit der Pflanzenkläranlage für die TNT-Eliminierung dargestellt werden konnte, waren nun Fragen des Eliminierungsweges von TNT von Interesse. Um den Verbleib des Schadstoffes nachvollziehen zu können, wurden Untersuchungen mit folgenden Schwerpunkten durchgeführt:

- **Bestimmung nachweisbarer TNT-Metaboliten**
- **Konzentrations-Zeit-Kurven der TNT-Metaboliten**
Korrelation mit TNT-Eliminierung in Abhängigkeit von Bepflanzung und Temperatur
- **Adsorptionsuntersuchungen von TNT und ausgewählter TNT-Metaboliten an verschiedenen Matrices**

Mit Hilfe dieser Untersuchungen sollte geklärt werden, ob und über welchen Weg der Schadstoff TNT abgebaut wird. Dabei war insbesondere von Interesse, inwieweit es sich bei der TNT-Eliminierung um eine Transformation handelt bzw. TNT an verschiedene Matrices der Pflanzenkläranlage bindet.

4.2.1 Bildung von TNT-Metaboliten

Ein Nachweis potentieller Abbauprodukte ist ein Hinweis darauf, dass es sich bei der Eliminierung von TNT um eine Transformation des Stoffes handelt. Um Abbauprodukte identifizieren zu können, wurden die jeweils im Ablauf der Becken entnommenen Wasserproben mittels Festphasenextraktion aufkonzentriert, per HPLC gemessen und die erhaltenen Chromatogramme hinsichtlich der entstandenen Produkte analysiert. In Abb. 419 ist das HPLC-Chromatogramm einer Wasserprobe nach Durchfließen des ersten Beckens gezeigt.

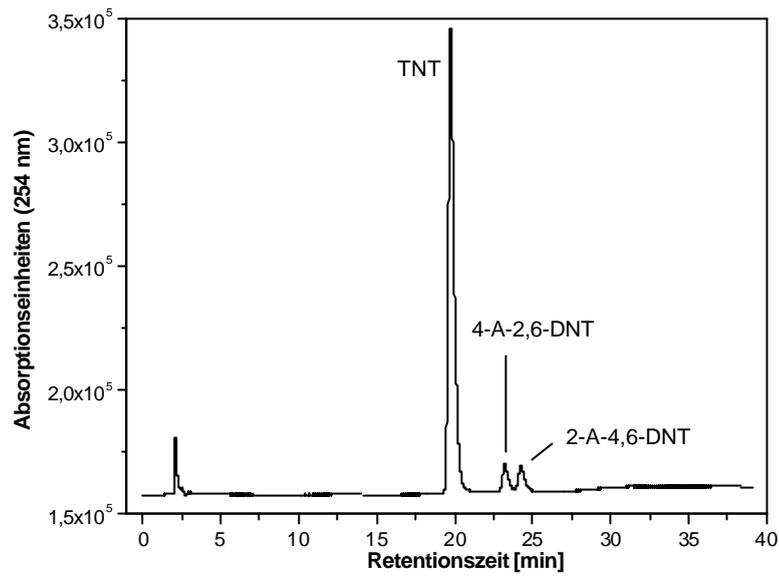


Abb. 4-19: Darstellung der potentiellen Abbauprodukte nach Durchfließen von Becken 1 (Vegetationsperiode 1998 – bepflanztes Becken)

In dieser Wasserprobe wurden neben TNT die ADNT (2-A-4,6-DNT und 4-A-2,6-DNT) als entstandene Metaboliten detektiert. Das Chromatogramm der Wasserprobe vom Ablauf des zweiten Beckens (Abb. 4-20) zeigt neben den obengenannten Nitroaromaten gleichfalls die DANT (2,4-DA-6-NT und 2,6-DA-4-NT) als Metaboliten.

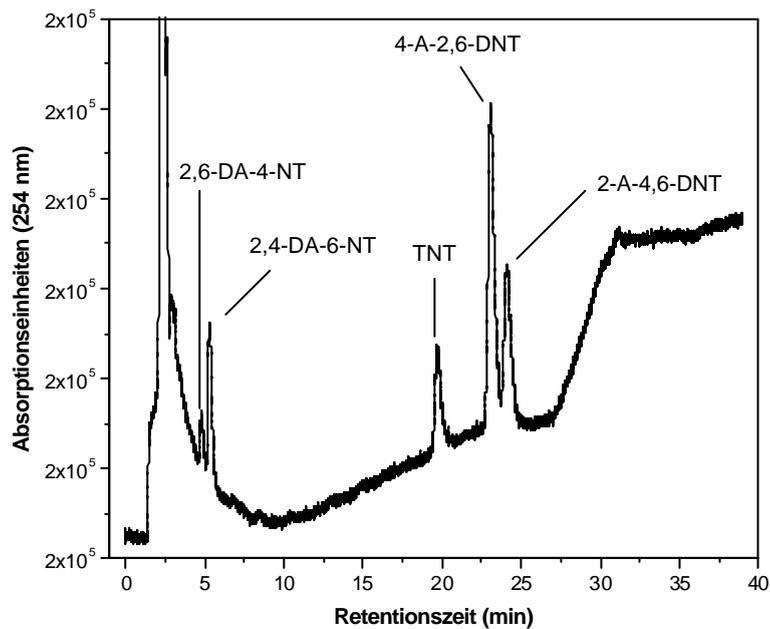


Abb. 4-20: Darstellung der potentiellen Abbauprodukte nach Durchfließen des Beckens 2 (Vegetationsperiode 1998 – bepflanztes Becken)

Durch den Nachweis von ADNT und DANT in den entnommenen Wasserproben kann von einem reduktiven Umbau von TNT in der Pflanzenkläranlage ausgegangen werden.

Die beobachtete Reduktion des TNT erfolgt dabei über folgende Hauptreduktionsstufen (Abb. 4-21):

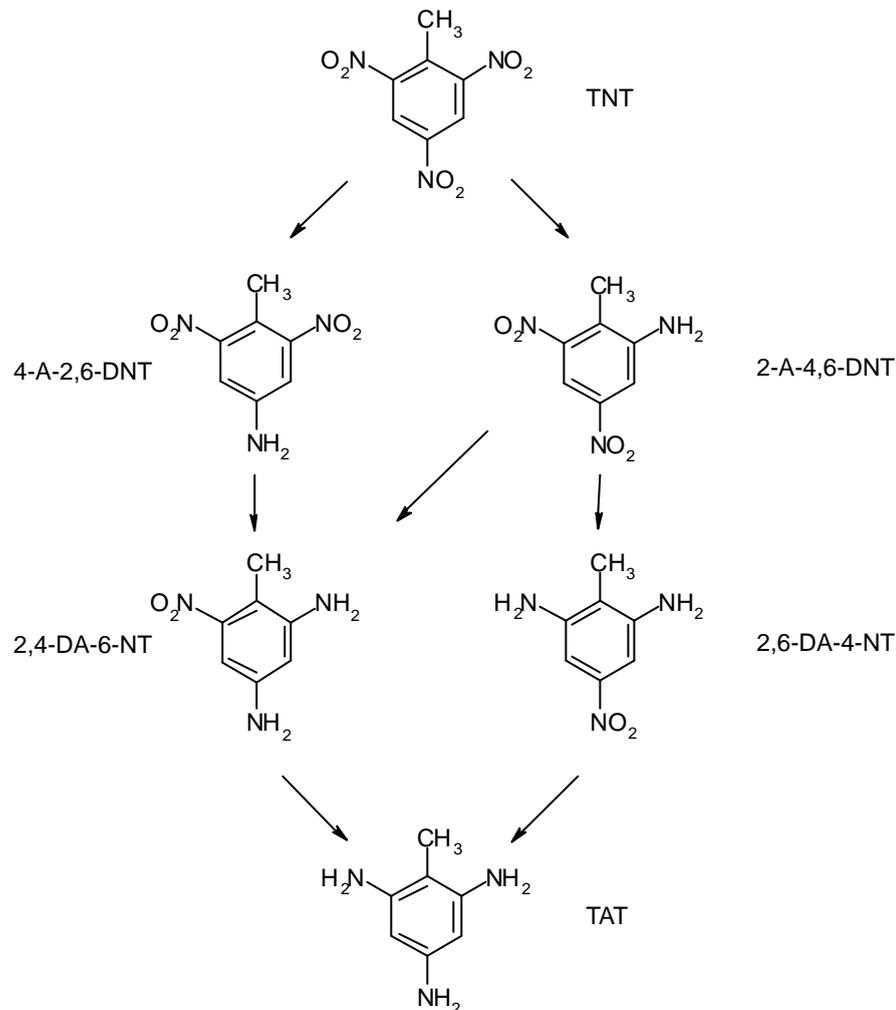


Abb. 4-21: Reduktion des TNT zum TAT (Darstellung der Hauptreduktionsstufen)

TAT konnte in den Wasserproben als Endprodukt dieses Abbauweges jedoch nicht nachgewiesen werden. Durch diese Experimente ist nicht feststellbar, ob TAT nicht gebildet wird oder durch die genutzte Nachweismethode analytisch nicht zugänglich ist. Der analytische Nachweis von TAT ist schwierig, da dieser Stoff schnell polymerisiert und sich damit der Detektion in der HPLC entzieht. So wurde auch in anderen Studien eine Instabilität von TAT in wässriger Lösung beobachtet [18]. Darüber hinaus ist auch eine Anlagerung von TAT an die Bodenmatrix denkbar, durch diesen Effekt wird TAT der Wasserphase entzogen. Dieser zweite Fall ist in den durchgeführten

Versuchen, falls TAT gebildet würde, sehr wahrscheinlich. In anderen Studien gelang in Anwesenheit von Boden bislang ebenfalls noch kein Nachweis von TAT [123]. Es wird dabei postuliert, dass TAT offenbar so stark an die Bodenmatrix bindet, dass eine Desorption nicht mehr möglich ist. Gleichfalls ist TAT auch in Bodensuspensionen nicht nachweisbar, da offenbar katalytische Zentren der Bodenmatrix eine Denaturierung mit anschließender Polymerisierung des TAT verursachen [124]. Da in der Pflanzenkläranlage immer ein Kontakt des Wassers zur Bodenmatrix besteht, wäre der Nachweis der TAT-Bildung nicht möglich. Der nachweisbare Reduktionsweg würde in den durchgeführten Experimenten demzufolge beim DANT enden.

Mit der Darstellung der Abbauprodukte konnte gezeigt werden, dass TNT einem reduktiven Angriff unterliegt. Wie bereits beschrieben ist die Reduktion der Nitrogruppen aufgrund der stark elektronegativen Effekte der drei Nitrogruppen auf das π -Elektronensystem des aromatischen Ringes und das daraus resultierende Elektronendefizit am aromatischen Ringsystem besonders begünstigt [22]. Es gelang bisher nicht, Bakterienstämme zu isolieren, die TNT produktiv abbauen, d.h. als Wachstumssubstrat nutzen. Ursachen der schwierigen Abbaubarkeit von TNT sind zum einen, dass durch die Nitrogruppen ein hohes Redoxpotential (Elektronendefizit des aromatischen Systems) bewirkt wird, wodurch ein Angriff durch Oxygenasen erschwert wird. Zum anderen kann durch den begünstigten reduktiven Angriff eine Vielzahl von Reduktionsprodukten entstehen, die bakteriell nicht weiter abbaubar sind [113].

Der Nachweis der in diesen Experimenten entstandenen Reduktionsprodukte, wurde bereits in anderen Studien dargestellt. So wurde die Entstehung von TNT-Metaboliten gezeigt, die von einer sukzessiven Reduktion der Nitrogruppen im TNT zu Aminogruppen begleitet ist. Einige Autoren beschrieben dabei die Reduktion von ein oder mehreren Nitrogruppen durch Mikroorganismen oder Pflanzen als hauptsächlich initialen Schritt der Biotransformation von Nitroaromaten sowohl unter aeroben als auch anaeroben Bedingungen [125-127]. Die Anzahl der reduzierten Nitrogruppen im TNT ist von den Milieubedingungen abhängig. So wurden unter anoxischen Bedingungen eine Transformation von TNT zu TAT durch *Desulfovibrio sp.* beobachtet [76]. Bei aeroben Verhältnissen fand nur eine Transformation bis zu 4-A-2,6-DNT als Hauptisomer über die Zwischenstufe des HADNT statt [76]. Reduktionen von TNT zu TAT unter strikt anaeroben Bedingungen wurden ebenfalls in anderen Studien gezeigt [18,33,128]. So wurde bei einer Reduktion von TNT bis TAT auf das notwendige Vorhandensein von stärker reduzierenden Bedingungen und auf die Anwesenheit von sulfatreduzierenden Bakterien hingewiesen [61]. Neben der Reduktion der Nitrogruppen zu Aminogruppen wurde durch Abspaltung der Aminogruppen beim TAT die Bildung von Toluol beobachtet [77,129]. Dabei ist die Transformation ebenfalls milieuhängig. Eine Abspaltung der Aminogruppen und die Bildung von Toluol nach Umwandlung von TNT über TAT durch *Desulfovibrio sp.* erfolgte unter anaeroben und stickstofflimitierten Bedingungen. Unter stickstoffreichen Bedingungen (Anwesenheit von Ammonium) wurde dahingegen eine Umwandlung von TNT zu DANT und keine Bildung von Toluol beobachtet [129].

Unter anaeroben Bedingungen ist neben der Reduktion von TNT zu TAT via ADNT und DANT auch die Bildung von Azo-Verbindungen bei Anwesenheit von TAT möglich [72].

Eine andere Studie zeigt eine Reduktion von TNT zu DANT unter aeroben Bedingungen bei der Untersuchung von Kompostierverfahren [89]. Ein weiterer möglicher Weg der Transformation von TNT ist die Beseitigung der Nitrogruppe durch Bildung von Nitrit. Dies konnte bei verschiedenen *Pseudomonas sp.* [60] oder durch *Mycobacterium* [130] beobachtet wurden. Ebenso wurde bei *Pseudomonas sp.* nach der Bildung von Hydrid-Meisenheimer-Komplexen die Abspaltung der Nitrogruppe zu 2,4-DNT, wenn Stickstoff als Stickstoffquelle genutzt wurde, gezeigt [64]. Die Bildung eines Hydrid-Meisenheimer-Komplexes wurde auch bei Pentaerythritol-Tetranitrat-Reduktasen (exprimiert aus *Enterobacter cloacae*) nachgewiesen [59]. Es konnten jedoch keine Bakterienstämme isoliert werden, die bei der Bildung eines Hydrid-Komplexes TNT produktiv abbauen [131].

Ausgehend von den Milieubedingungen in den Becken der Pflanzenkläranlage ist die beobachtete Transformation des TNT durch Reduktion der Nitrogruppen zu Aminogruppen möglich. Aufgrund der gemessenen Redoxpotentiale kann in diesem Stadium nicht davon ausgegangen werden, dass eine Bildung von TAT stattfindet.

4.2.2 Einfluss der Bepflanzung auf die Bildung von TNT-Metaboliten

Nachdem durch den Nachweis der Metaboliten der reduktive Umbau von TNT in der Pflanzenkläranlage gezeigt werden konnte, kam der Einfluss der Bepflanzung zur Untersuchung. Dazu wurden die zeitlichen Verläufe der Metabolitenkonzentrationen in Abhängigkeit dieses Parameters aufgenommen

In Abb. 4-22 sind die Konzentrations-Zeit-Kurven von 2-A-4,6-DNT bzw. 4-A-2,6-DNT im Ablauf der Becken 1 der Stränge 3 (bepflanztes Becken) bzw. 2 (unbepflanztes Becken) dargestellt. Für diese Vergleiche liegen die Daten des Sommers der Vegetationsperiode 1998 zugrunde. Zur besseren Verdeutlichung der Abhängigkeiten wurden die Konzentrations-Zeit-Kurven vom TNT (Vergleich Abb. 4-3 und Abb. 4-4) mit dargestellt.

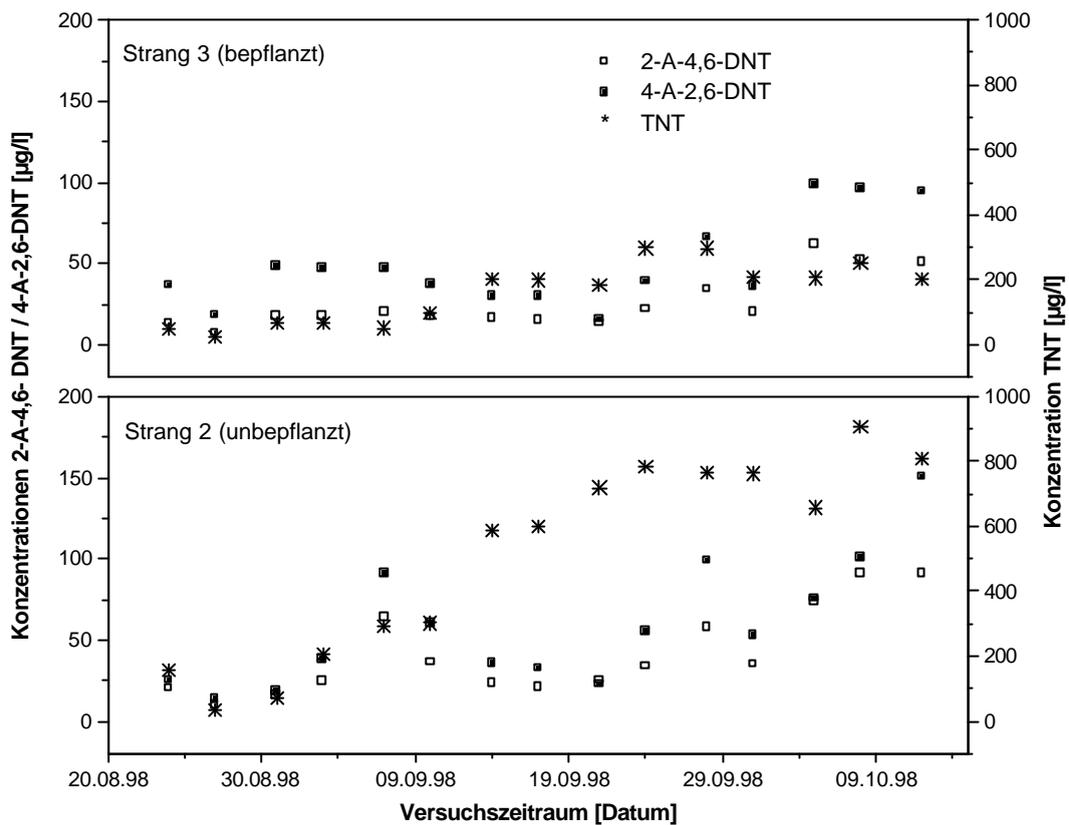


Abb. 4-22: Konzentrations-Zeit-Kurven (Vegetationsperiode 1998, Sommer) von 2-A-4,6-DNT und 4-A-2,6-DNT im Ablauf der Becken 1, Stränge 2 und 3 und Konzentrations-Zeit-Kurven von TNT im Ablauf der Becken 1, Stränge 2 und 3 (Daten von TNT entsprechen Abb. 4-3 und Abb. 4-4)

Die Konzentrations-Zeit-Kurven von ADNT sind den Kurven von TNT im Ablauf der jeweiligen Becken ähnlich. Sowohl im bepflanzten als auch im unbepflanzten Becken steigen die Ablaufkonzentrationen zum Ende des Betrachtungszeitraumes an (maximale Konzentrationen liegen in allen Fällen in diesem Zeitraum). Die ADNT-Konzentrations-Zeit-Kurven vom unbepflanzten Becken weisen jedoch im Vergleich zu den beiden Kurven aus dem bepflanzten Becken größere Schwankungen auf. Gleichfalls wird sowohl im bepflanzten als auch im unbepflanzten Becken 4-A-2,6-DNT in höheren Konzentrationen als 2-A-4,6-DNT gebildet. Im unbepflanzten Becken ist die Differenz jedoch nicht so groß, wie im bepflanzten Becken. Die verstärkte Bildung von 4-A-2,6-DNT wurde auch in anderen Studien festgestellt. So wurde bei der katalysierten Reduktion von TNT durch Carbon-Monoxide-Dehydrogenase vom *Clostridium thermoaceticum* 2-HA-4,6-DNT anteilig zu 20 % und 4-HA-2,6-DNT zu 80 % gebildet [66]. Ebenfalls wurde unter anoxischen Bedingungen TNT über HADNT zu 4-A-2,6-DNT als Hauptisomer durch *Desulfovibrio sp.* bevorzugt transformiert [76]. Zu gleichen Beobachtungen kamen auch [21,89]. Die unterschiedlichen Reduktionsraten werden durch die Elektronegativitätsregel erklärt. Danach wird die Reduktionsrate der Nitrogruppe von der

funktionellen Gruppe in der *para*-Position beeinflusst. Sie steigt mit steigender elektronenziehender Wirkung des *para*-Substituenten (d.h. hohe elektronenziehende Wirkung des Substituenten in der *para*-Stellung bewirkt eine steigende Reduktionsrate) [132]. Daraus ist zu erklären, warum 4-A-2,6-DNT bevorzugt gebildet wird.

Vergleicht man die mittleren Konzentrationen, so ist zu erkennen, dass trotz höherer Eliminierungsrate von TNT (bepflanztes Becken 85 %, unbepflanztes Becken 65 %) die mittlere Ablaufkonzentration von 2-A-4,6-DNT im bepflanzten Becken ($c = 20 \mu\text{g/l}$) geringer ist als im unbepflanzten Becken ($c = 32 \mu\text{g/l}$). Die mittlere Ablaufkonzentration vom 4-A-2,6-DNT verhält sich ähnlich zu 2-A-4,6-DNT-Konzentration. Auch hier ist die mittlere Konzentration nach dem Durchströmen des bepflanzten Beckens geringer ($c = 40 \mu\text{g/l}$) als nach dem unbepflanzten Becken ($c = 47 \mu\text{g/l}$).

In Abb. 4-23 sind die Konzentrations-Zeit-Kurven von 2,6-DA-4-NT und 2,4-DA-6-NT dargestellt.

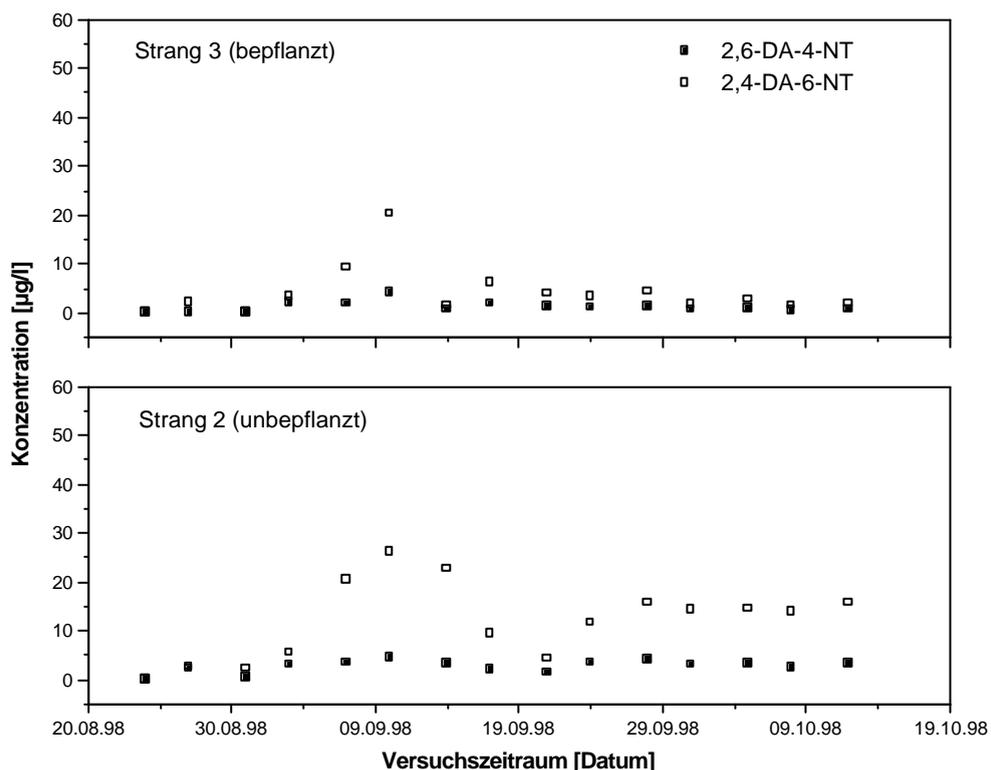


Abb. 4-23: Konzentrations-Zeit-Kurven (Vegetationsperiode 1998, Sommer) von 2,6-DA-4-NT und 2,6-DA-6-NT im Ablauf der Becken 1, Stränge 2 und 3

Die Konzentrations-Zeit-Kurven zeigen in beiden Becken eine verstärkte Bildung von 2,4-DA-6-NT gegenüber 2,6-DA-4-NT. Ursache dafür ist die Reduktion von 4-A-2,6-DNT, die bereits in höheren

Raten erfolgte, welche zur Bildung des 2,4-DA-6-NT führt. Ebenso ist auch eine formale Bildung des 2,4-DA-6-NT aus 2-A-4,6-DNT möglich. In anderen Studien wurde die erhöhte Entstehung des 2,4-DA-6-NT gleichfalls beobachtet [21]. Eine bevorzugte Bildung des 2,4-DA-6-NT kann ebenso mit der Elektronegativitätsregel erklärt werden.

Bei den Diaminen ist gleichfalls zu beobachten, dass im unbepflanzten Becken die mittlere Konzentrationen ($C_{(2,6DA-4-NT)} = 2,3 \mu\text{g/l}$, $C_{(2,4DA-6-NT)} = 8,9 \mu\text{g/l}$) höher sind als im bepflanzten Becken ($C_{(2,6DA-4-NT)} = 2,3 \mu\text{g/l}$, $C_{(2,4DA-6-NT)} = 3,3 \mu\text{g/l}$).

Um eine Aussage über die Metabolisierung von TNT in Abhängigkeit der Bepflanzung machen zu können, wurden die mittleren Zu- und Ablaufkonzentrationen der betrachteten Stoffe ermittelt. Diese sind in Abb. 4-24 vergleichend dargestellt.

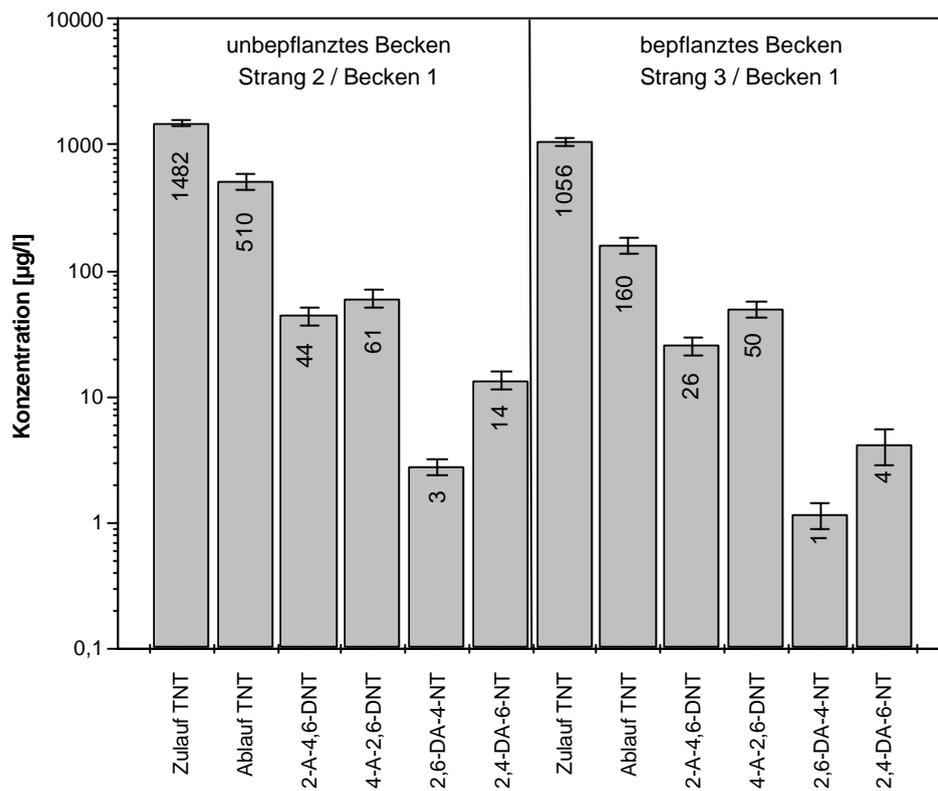


Abb. 4-24: Mittlere Zu- bzw. Ablaufkonzentrationen von TNT und Ablaufkonzentrationen der beiden Mono- und Diamine in Abhängigkeit der Bepflanzung, Vegetationsperiode 1998

Auf Grundlage dieser Daten wurden die TNT-Wiederfindungsraten (Verhältnis der im Ablauf detektierten TNT-Konzentration zur eingesetzten TNT-Konzentration) bzw. die

Metabolitenumwandlungsraten der einzelnen Stoffe berechnet (Tabelle 4-11). Es wurde dabei von einer Reduktion von TNT in ADNT und einer Reduktion von ADNT in DANT ausgegangen.

Tabelle 4-11: Wiederfindungs- und Umwandlungsraten von TNT

		TNT-Wiederfindungs- und Metabolitenumwandlungsraten¹ [%]		
			Unbepflanztes Becken	Bepflanztes Becken
Bezogen auf TNT-Zulauf	Wiederfindungsrate	TNT	34,41	15,15
	Umwandlungsrate	2-A-4,6-DNT	3,45	2,89
		4-A-2,6-DNT	4,78	5,51
		2,6-DA-4-NT	0,28	0,13
		2,4-DA-6-NT	1,31	0,53
Bezogen auf TNT-Ablauf	Umwandlungsrate	2-A-4,6-DNT	10,04	18,91
		4-A-2,6-DNT	13,93	36,35
Bezogen auf ADNT-Ablauf	Umwandlungsrate	2,6-DA-4-NT	8,17	4,60
		2,4-DA-6-NT	27,48	9,56

¹ Umwandlungsraten bestimmt durch Umrechnung der Konzentrationen in mol/l

Die Bildungsraten beider Stoffgruppen (ADNT und DANT) zeigen keine Abhängigkeit von der TNT-Zulaufkonzentration. Obwohl die Wiederfindungsrate von TNT im Ablauf des bepflanzten Beckens geringer ist als im unbepflanzten Becken, sind die Umwandlungsraten von ADNT, bezogen auf den TNT-Zulauf, in etwa gleich groß. Setzt man jedoch die Ablaufwerte von TNT ins Verhältnis zu den Ablaufwerten von ADNT, so ist eine höhere Bildungsrate von ADNT im bepflanzten Becken zu verzeichnen.

Ein Vergleich der Umwandlungsraten von DANT aus ADNT zeigt, dass im bepflanzten Becken prozentual weniger DANT nachgewiesen werden als im unbepflanzten Becken. Die Ursachen hierfür können nicht völlig geklärt werden. Es ist jedoch möglich, dass die Reduktion von DANT zu weiteren Abbauprodukten im bepflanzten Becken schneller vonstatten geht als im unbepflanzten Becken, weshalb trotz einer möglicherweise schnelleren Bildung von DANT aus ADNT die DANT nur in kleinerer Konzentration nachweisbar sind. Aufgrund der gemessenen Redoxpotentiale ist jedoch von einer weiteren Reduktion zu TAT nicht auszugehen. Andere Möglichkeiten der

Umwandlung von DANT liegen in der Transformation durch Abspaltung der Stickstoff-Funktion. So sind verschiedene Bakterien in der Lage, TNT durch sukzessive reduktive Nitritabspaltung zu transformieren. Dabei werden die Nitrogruppen durch Addition von Hydridionen an das Aromatensystem unter Bildung eines Intermediates, des Hydrid-TNT-Meisenheimer-Komplexes, entfernt [1] und die Bildung von 2,6-DNT, aber auch 2,4-DNT, 2-NT und Toluol hervorgerufen [63-65]. Für diese Transformation sind aerobe Bedingungen bzw. eine zusätzliche Kohlenstoffquelle notwendig. Im bepflanzten System würden aerobe Verhältnisse vorherrschen und durch die Anwesenheit der Pflanzen, die zusätzliche Kohlenstoffquellen freisetzen können (Ausscheidung von Wurzelexsudaten), auch die benötigte Kohlenstoffquelle vorhanden sein. Die Entstehung von DNT konnte in den Versuchen jedoch nicht nachgewiesen werden.

Eine andere mögliche Erklärung der geringeren DANT-Konzentrationen im bepflanzten Becken ist die Eliminierung der DANT durch Adsorption an der Bodenmatrix. In Abhängigkeit der Anteile an Huminsäure wurde in einer Studie eine höhere Bindung von 2,6-DA-4-NT nachgewiesen [133]. Die Menge aus dem Boden nicht extrahierbarer Stoffe nimmt tendenziell mit dem Kohlenstoffgehalt im Boden zu [20]. Eine schnellere TNT-Abnahme und eine höhere Bildung von nicht extrahierbaren, irreversibel gebundenen Rückständen im durchwurzelteten Boden als im unbepflanzten Boden wurde auch in anderen Untersuchungen beobachtet. Die Rhizosphäre beschleunigt dabei die reduktive Transformation von TNT und unterstützt die Bildung von irreversibel gebundenen Rückständen. Die schnellere TNT-Eliminierung und die erhöhte Bildung von irreversibel gebundenen Rückständen im Rhizosphärenboden wurden dabei der mikrobiologischen erleichterten biologischen Produktion und der Transformation zugeschrieben [112].

Die geringere Konzentration an DANT im bepflanzten Becken kann somit mit einer erhöhten Adsorption einhergehen, die wie beschrieben im bepflanzten Becken begünstigt ist.

4.2.3 Einfluss der Temperatur auf die Bildung von TNT-Metaboliten

Ein weiteres Kriterium für den Abbau von TNT ist die Bildung der Abbauprodukte in Abhängigkeit der Außentemperatur. In den vorangegangenen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass die Eliminierungsrate von TNT temperaturabhängig ist. Daraus abgeleitet wurde untersucht, ob die geringere Eliminierungsrate von TNT im Winter auch mit einer geringeren Bildungsrate der Abbauprodukte verbunden ist. Dazu wurden die Konzentrationen von TNT und seinen Metaboliten in der Sommer- und Winterperiode 1998 aufgezeichnet. In Abb. 4-25 sind die mittleren Ablaufkonzentrationen der Stoffe in Abhängigkeit der Außentemperatur dargestellt.

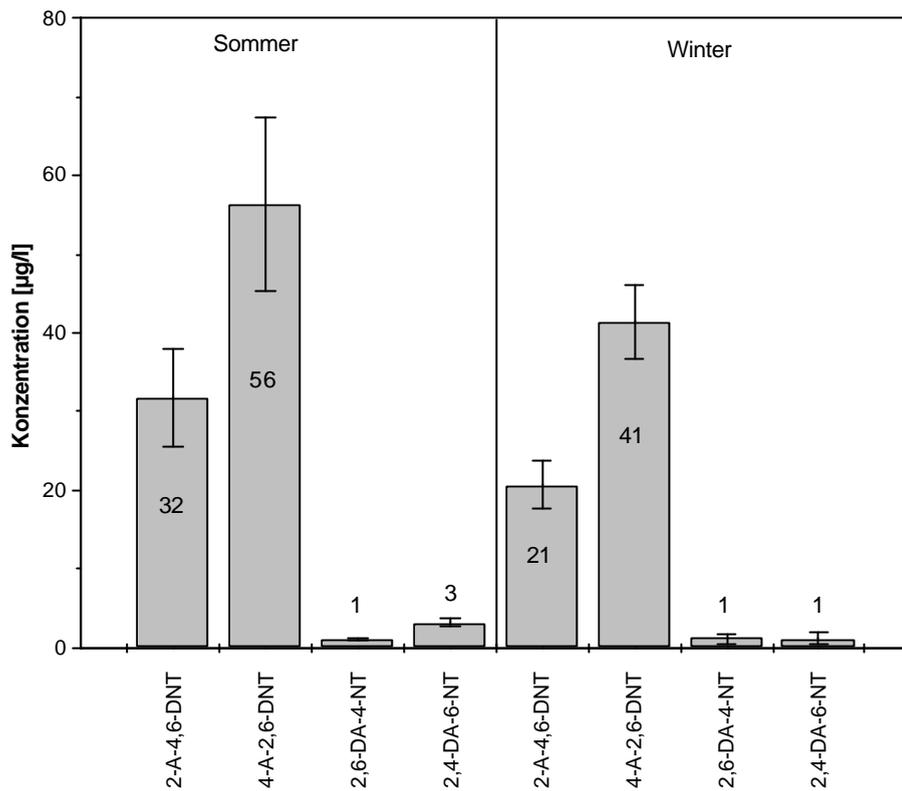


Abb. 4-25: Mittlere Ablaufkonzentrationen von Becken 1 in Abhängigkeit der Außentemperatur, Vegetationsperiode 1998 (Sommerzeitraum: 15.09.1998 - 15.10.1998, Winterzeitraum: 20.11.1998 – 10.12.1998)

Aus den Daten wurde ermittelt, zu welchen Prozentsätzen die Metaboliten im Winter verglichen mit den Sommerwerten gebildet wurden. Für ADNT ergab sich im Winter 64 % (2-A-4,6-DNT) bzw. 72 % (4A-2,6-DNT) der Sommerwerte. Im Fall von DANT wurde bei 2,6-DA-4-NT kein Unterschied festgestellt, für 2,4-DA-6-NT lag die mittlere Ablaufkonzentration im Winter bei 33 % des Wertes im Sommer. Im Ablauf des zweiten Beckens ist ebenfalls ein Zusammenhang zwischen Außentemperatur und Bildungsrate zu beobachten (Abb. 4-26).

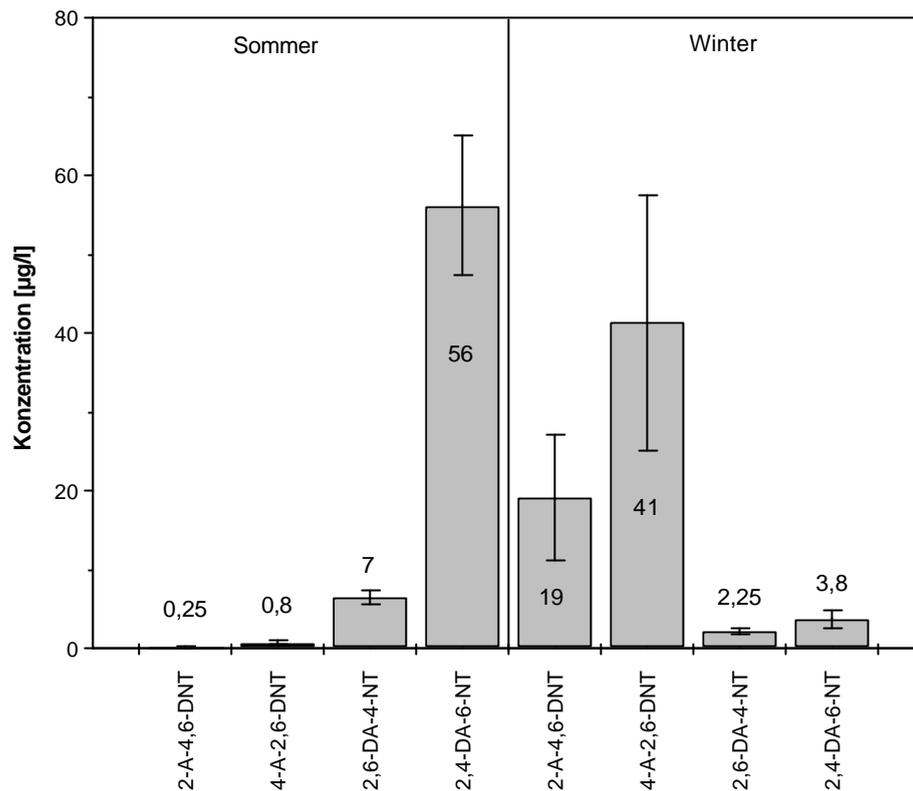


Abb. 4-26: Mittlere Ablaufkonzentrationen von Becken 2 in Abhängigkeit der Außentemperatur, Vegetationsperiode 1998 (Sommerzeitraum: 15.09.1998 - 15.10.1998, Winterzeitraum: 20.11.1998 – 10.12.1998)

ADNT werden im Winter in größeren Konzentrationen gebildet als im Sommer. Bei DANT nimmt die Bildungsrate dagegen bei niedrigeren Temperaturen ab. Dabei ist zu beobachten, dass beim Vorliegen einer höheren mittleren Konzentration von DANT (Sommer) die mittlere Konzentration von ADNT sehr klein ist. Umgekehrt ist im Winter die mittlere Konzentration von ADNT höher, die mittlere DANT-Konzentration ist hingegen niedriger. Die Ursache für diesen Effekt liegt in der Temperaturabhängigkeit der DANT-Bildung.

In vielen Studien wurde nachgewiesen, dass die Transformation von TNT zu TAT über ADNT und DANT immer langsamer abläuft. Der geschwindigkeitsbestimmende Schritt ist die Umwandlung von DANT zu TAT. Dies wird bestätigt durch Reduktionsraten von $23,2 \mu\text{Mol l}^{-1} \text{min}^{-1}$ (TNT), $2,3 \mu\text{Mol l}^{-1} \text{min}^{-1}$ (4-A-2,6-DNT) und $1,2 \mu\text{Mol l}^{-1} \text{min}^{-1}$ (2,4-DA-6-NT) bei der Reduktion von TNT unter anaeroben Bedingungen durch *Desulfovibrio* [124].

Die Reduktion von ADNT und DANT ist aufgrund der gemessenen Reduktionsraten langsamer als die Reduktion von TNT. Da die Reduktion von TNT zu ADNT aufgrund des Elektronendefizites spontan abläuft, ist die Temperaturabhängigkeit zwar im ersten Becken zu beobachten, eine Transformation läuft jedoch trotzdem ab. Im ersten Becken findet hauptsächlich die Reduktion von TNT zu ADNT statt. Die Temperaturabhängigkeit in diesem Becken kann mit einem Rückgang der Bakterienaktivität aufgrund der Temperaturverhältnisse erklärt werden, gleichfalls steht durch den

Rückzug der Pflanzen nicht mehr die gleiche Menge an Kohlenstoffquellen wie im Sommer zu Verfügung.

Im zweiten Becken ist eine stärkere Temperaturabhängigkeit zu beobachten. Aufgrund der im Wasser vorherrschenden Verhältnisse, die im Winter höhere Redoxpotentiale aufweisen als im Sommer, ist die Reduktion zu DANT gehemmt. Die höheren Redoxpotentiale im Winter stellen schlechtere Voraussetzungen für die DANT-Bildung dar. Die Reduktion läuft unter diesen Bedingungen nur bis zur Stufe ADNT ab. Dadurch liegen ADNT im Winter in höheren Konzentrationen vor, DANT existiert hingegen in geringeren Konzentrationen. Im ersten Becken ist dieses Phänomen nicht so stark ausgeprägt, da die Bildung von DANT vorwiegend in Becken 2 abläuft (siehe Abb. 4-20) und die Umwandlung von TNT in ADNT auch unter geringeren Außentemperaturen erfolgt. Allerdings ist hier zu beachten, dass TNT im Winter zum geringeren Prozentsatz in ADNT umgewandelt wird.

Im Ergebnis dieser molekularen Untersuchungen ist festzustellen, dass TNT in der Pflanzenkläranlage zumindest zum Teil reduktiv abgebaut wird. Dabei findet eine Metabolisierung von TNT zu ADNT und weiter zu DANT statt. Es ist möglich, dass die DANT weiter reduziert werden, die Metaboliten einer weiteren Reduktion konnten jedoch in der wässrigen Phase nicht nachgewiesen werden. Weiterhin wurde gezeigt, dass der Abbauweg von der Bepflanzung abhängig ist. Dabei bewirkt eine Bepflanzung besonders hinsichtlich der Festlegung der Schadstoffe an der Bodenmatrix eine höhere Bindung als in einer unbepflanzten Anlage. Der Abbau von TNT ist darüber hinaus temperaturabhängig. Im Sommer ist dieser vollständiger (Bildung von DANT) als im Winter, wo vorwiegend ADNT gebildet werden. Neben diesen nachgewiesenen Abbauwegen ist eine Eliminierung von TNT auch auf andere Weise möglich. Eine diesbezügliche Untersuchung erfordert jedoch eine Bilanzierung des gesamten Systems, was bei den hier durchgeführten Experimenten aufgrund der Größe des Systems nicht möglich war und nur an Modellsystemen machbar ist (*vide infra*).

4.2.4 Adsorptionsuntersuchungen an Lava aus der Pflanzenkläranlage

Aus den bisherigen Untersuchungen geht hervor, dass TNT durch die Pflanzenkläranlage aus dem Wasser entfernt werden kann. Durch den Nachweis der Reduktionsprodukte (2-A-4,6-DNT, 4-A-2,6-DNT, 2,4-DA-6-NT, 2,6-DA-4-NT) ist eine Reduzierung des TNT-Gehaltes durch Transformation gegeben. In einer folgenden Studie wurde untersucht, ob TNT bzw. seine Metaboliten durch die Bindung an anderen Matrices (z.B. Boden) der Pflanzenkläranlage aus dem Wasser eliminiert werden kann.

Dazu wurden Lavaproben aus der Pflanzenkläranlage entnommen und hinsichtlich der Bindung von Nitroaromaten untersucht. Durch Extraktion der Lava wurde der Gehalt an reversibel gebundenen Nitroaromaten bestimmt. Eine Aussage über irreversibel gebundene Nitroaromaten war damit jedoch nicht möglich. Dies ist erst durch die Verwendung eines radioaktiven *Tracers*

möglich. In dieser Untersuchung stand im Mittelpunkt, inwieweit die reversible Adsorption einen möglicher Eliminierungsweg von TNT aus dem Wasser darstellt und wie hoch der Gehalt an reversibel gebundenen TNT bzw. Reduktionsprodukten ist.

Die Adsorption von Nitroaromaten wurde schon in verschiedensten Studien dargestellt. Die Untersuchungen zeigten, dass die Transformation und Sorption Schlüsselprozesse im Untergrund sind [134]. Sorptionsexperimente mit reinen Sand/Bentonit-Böden ergaben eine völlig reversible Adsorption von TNT. Im natürlichen Boden wurden dagegen keine völlig reversiblen Prozesse wie bei Sand/Bentonit-Böden beobachtet. Es erfolgte eine Abnahme der TNT-Konzentration im Wasser durch Adsorption, aber gleichzeitig auch durch Transformation und dadurch durch Subadsorption der Transformationsprodukte am Boden [135]. In weiteren Untersuchungen wurden auf die Redoxbedingungen als wichtige Faktoren hingewiesen, da unter anaeroben Bedingungen höhere Transformationsraten beobachtet wurden [134]. Andere Studien zeigten, dass in Abhängigkeit der Reduktionsgrad im neutralen pH-Bereich die Bildung von irreversibel gebundenen Nitroaromaten in der Reihenfolge TNT, ADNT, DANT zunimmt [133]. Für TNT und seine teilreduzierten Folgeprodukte wurde nachgewiesen, dass eine steigende Anzahl von Aminogruppen am Molekül die Geschwindigkeit der Adsorption beschleunigt und die Reversibilität der Bindung vermindert [33].

Die Probenahmeorte in der Pflanzenkläranlage sind in Abb. 3-4 dargestellt. Es wurde eine vertikale und eine horizontale Sondierung realisiert.

In ersten Experimenten wurden am Ende der Vegetationsperiode 1998 Lavaproben aus dem bepflanzten und unbepflanzten Becken genommen und untersucht. In Abb. 4-27 sind die Konzentrationen der Nitroaromaten im Extraktionsmittel nach der Extraktion dargestellt.

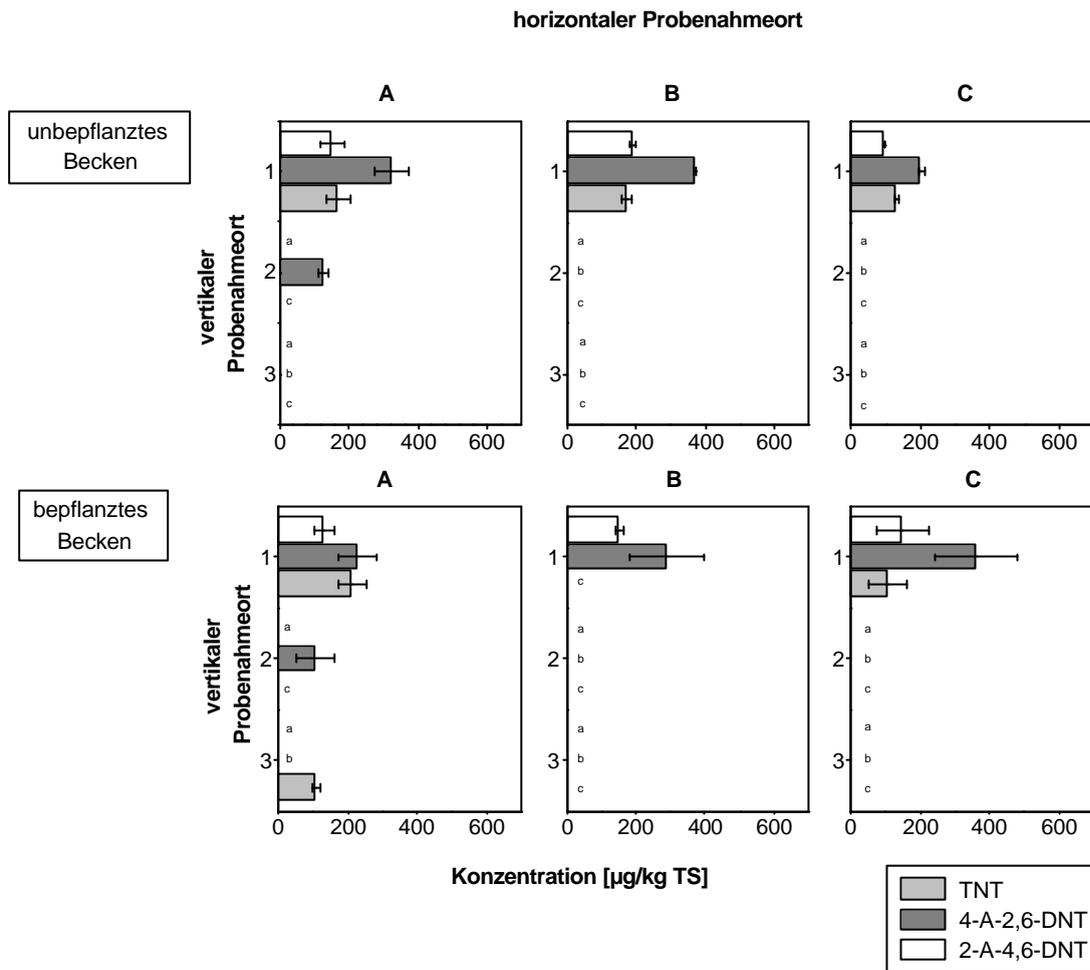


Abb. 4-27: Reversible Adsorption von TNT, 4-A-2,6-DNT und 2-A-4,6-DNT an die Bodenmatrix in Abhängigkeit der Bepflanzung (Vegetationsperiode 1998), unbepflanztes Becken: Becken 1, Strang 2; bepflanztes Becken: Becken 1, Strang 3, Probenahme am 02.12.1998, ^a 2-A-4,6-DNT, ^b 4-A-2,6-DNT, ^c TNT nicht nachweisbar (Nachweisgrenze: 100 $\mu\text{g}/\text{kg TS}$), Standardabweichung mit $n=3$

Sowohl im bepflanzten als auch im unbepflanzten Becken war der Gehalt an reversibel gebundenen Nitroaromaten im oberen Beckenbereich am größten. Dort konnten sowohl TNT als auch ADNT im Extraktionsmittel detektiert werden. Die Nitroaromatengehalte lagen für bepflanztes und unbepflanztes Becken in ähnlichen Konzentrationsbereichen. 4A-2,6-DNT wies bei diesen Proben die höchste Konzentration auf. Dieses Ergebnis spiegelt sich in anderen Studien wieder, in denen ebenfalls eine höhere Bindung von 2-A-4,6-DNT im Vergleich zu 4A-2,6-DNT beobachtet wurden. Dieses Phänomen wird dabei mit dem *ortho*-Effekt der Methylgruppe erklärt [33]. Setzt man die zugeführte TNT-Menge ins Verhältnis zum Gehalt an reversibel gebundenem TNT, so beträgt der prozentuale Anteil an reversibel gebundenem TNT ca. 1 % (Annahmen: Menge der eingesetzten Lava: $m = 4 \text{ t}$, zugeführte TNT-Fracht: $F_z = 125 \text{ g}$ pro Versuchszeitraum).

Die Bestimmung des reversiblen Gehaltes an Nitroaromaten in Abhängigkeit der Bepflanzung zeigt somit keine Unterschiede. In beiden Fällen sind ADNT und TNT in geringem Maße extrahierbar. DANT konnten nicht extrahiert werden. Eine irreversible Adsorption an der Bodenmatrix wird mit Zunahme der Aminogruppen am Ring verstärkt [33]. Die Experimente am bepflanzten und unbepflanzten Becken zeigten, dass in beiden Fällen ADNT und DANT gebildet wurde. Hinsichtlich der Reversibilität (1 %) kann von einer Festlegung der Stoffe an die Bodenmatrix ausgegangen werden.

In Abb. 4-28 ist ein Vergleich des bepflanzten Beckens unter Sommer- und Winterbedingungen dargestellt.

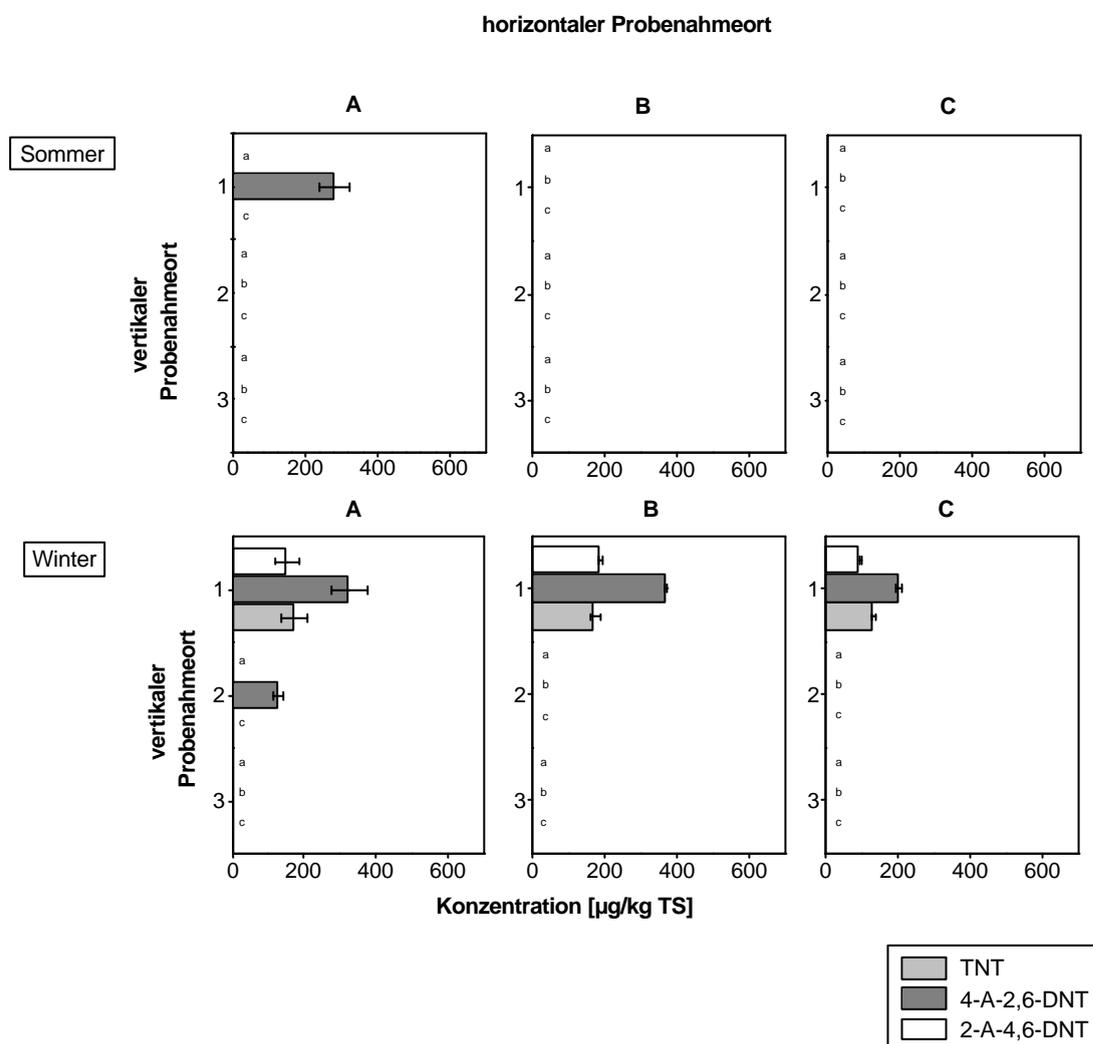


Abb. 4-28: Reversible Adsorption von TNT, 4-A-2,6-DNT und 2-A-4,6-DNT an der Bodenmatrix in Abhängigkeit der Temperatur (Becken 1, Strang 2), Sommer: Probenahme am 15.07.1998, Winter: Probenahme am 02.12.1998, ^a 2-A-4,6-DNT, ^b 4-A-2,6-DNT, ^c TNT nicht nachweisbar (Nachweisgrenze: 100 µg/kg TS) Standardabweichung mit n=3

Die Werte für die Winterbedingungen entsprechen den Werten vom unbepflanzten Becken aus dem Vergleich der reversiblen Adsorption in Abhängigkeit der Bepflanzung. Es ist zu erkennen, dass im Sommer die extrahierbare Menge an reversibel gebundenen Nitroaromaten kleiner als im Winter ist. Im Sommer konnten nur im Einlaufbereich am oberen Probenahmeort Nitroaromaten nachgewiesen werden. Unter Winterbedingungen sind wiederum höhere Konzentrationen im oberen Bereich vorhanden. Dies kann zum einen darin begründet sein, dass im Sommer mehr DANT gebildet wurden als im Winter und somit ein größerer Anteil an Nitroaromaten aufgrund der stärkeren Haftung an der Bodenmatrix irreversibel gebunden vorlag. Eine andere mögliche Erklärung ist die unterschiedlich zugeführte Fracht. Aufgrund der Probenahme im Sommer ist im Vergleich zum Winter weniger TNT zugeführt wurden. Die zugeführte Fracht an TNT im Sommer liegt um 50 % niedriger als im Winter. Außerdem wurden in anderen Studien unter oxidierenden Bedingungen [$E_h = 450 \text{ mV}$] geringere K_D -Werte als unter reduzierten Bedingungen [$E_h = -150 \text{ mV}$] festgestellt [119]. Da in der Pflanzenkläranlage im Sommer geringere Redoxpotentiale als im Winter existierten, können die geringeren reversiblen Anteile auch mit einer stärkeren Bindung an der Bodenmatrix erklärt werden.

Zur Untersuchung der Lavaproben hinsichtlich einer reversiblen Adsorption der Nitroaromaten in Abhängigkeit der Fließstrecke wurden Proben aus den ersten beiden Becken des Stranges 3 der Pflanzenkläranlage entnommen und mit Acetonitril extrahiert. Die Proben wurden wiederum hinsichtlich der Adsorption von TNT und dessen Abbauprodukten untersucht. Die Probenahme erfolgte zum Ende der Vegetationsperiode 1999. In Abb. 4-29 sind die Konzentrationen der Nitroaromaten nach der Extraktion dargestellt.

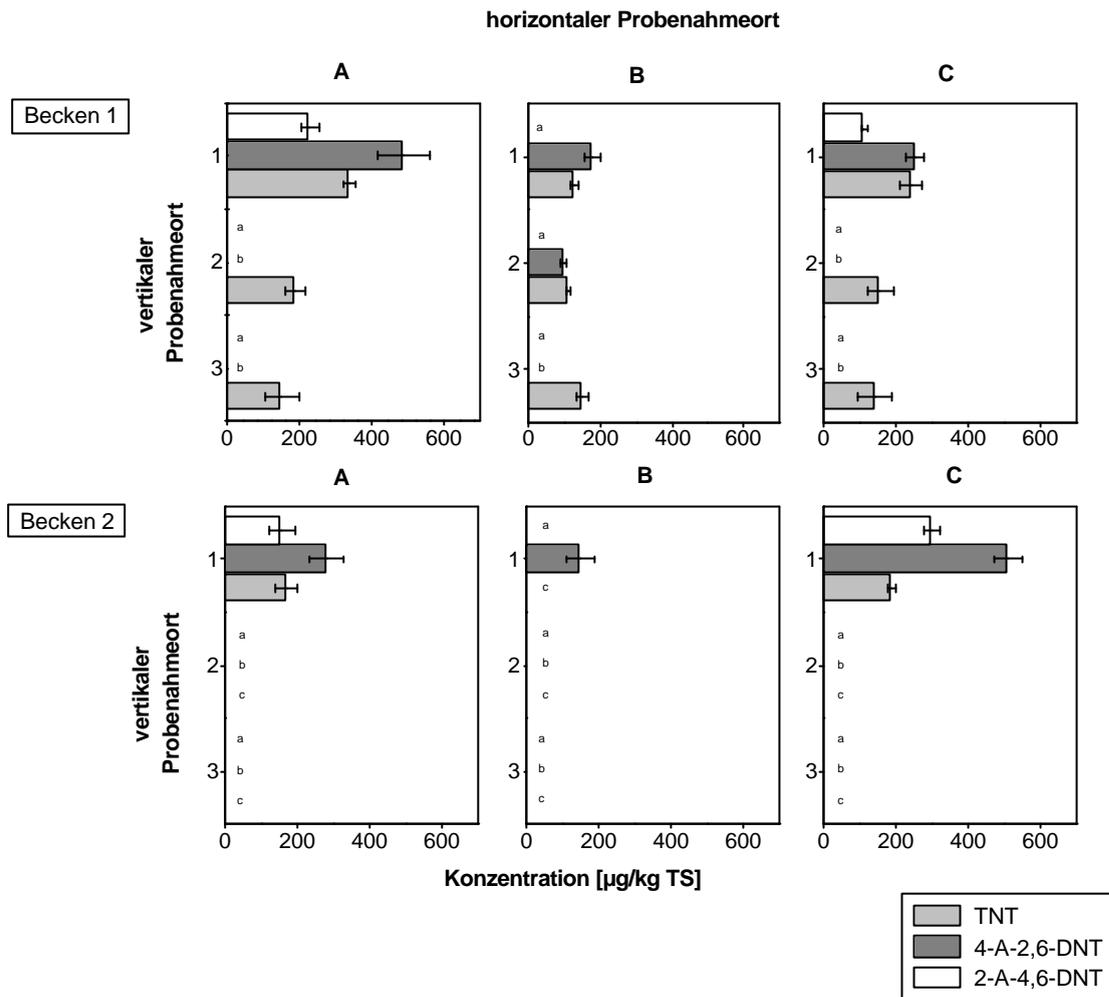


Abb. 4-29: Reversible Adsorption von TNT, 4-A-2,6-DNT und 2-A-4,6-DNT an die Bodenmatrix in Abhängigkeit der Fließstrecke (Becken 1 und 2, Strang 3, Probenahme: 03.12.1999), ^a 2-A-4,6-DNT, ^b 4-A-2,6-DNT, ^c TNT nicht nachweisbar (Nachweisgrenze: 100 µg/kg TS), Standardabweichung mit n=3

In beiden Becken konnten nach der Aufbereitung TNT und die beiden Reduktionsprodukte 2-A-4,6-DNT und 4-A-2,6-DNT detektiert werden.

Im ersten Becken von Strang 3 ist das Muster der Konzentrationsverteilung bei allen drei vertikalen Probenahmestellen ähnlich. Im oberen Beprobungshorizont wurden alle drei Nitroaromaten detektiert. 4-A-2,6-DNT weist dabei im Einlauf-, mittleren und Ablaufbereich die größten Konzentrationen auf. Die Konzentration vom 2-A-4,6-DNT ist um ca. 50 % geringer gegenüber 4-A-2,6-DNT. Im mittleren Horizont konnten TNT und 4-A-2,6-DNT über die gesamte horizontale Verteilung im Extraktionsmittel nachgewiesen werden. In diesem Bereich liegen die Konzentrationen vom TNT höher als vom 4-A-2,6-DNT, ähnlich verhält es sich auch im unteren Horizont. Auch hier ist TNT an allen drei horizontalen Messpunkten nachweisbar. In geringen Konzentrationen kann auch 4-A-2,6-DNT im Extraktionsmittel detektiert werden.

Vergleicht man die mit Acetonitril extrahierten Proben des Beckens 2, so ist zu erkennen, dass TNT nur im oberen Bereich des Einlauf- und Ablaufbereiches detektierbar ist. Die Konzentration des 4-A-2,6-DNT ist um ca. 50 % höher als die Konzentration des 2-A-4,6-DNT. Das 4-A-2,6-DNT wurde an acht Messpunkten detektiert. Die höchste Konzentration war dabei im oberen Ablaufbereich festzustellen.

Die Bestimmung des prozentualen Anteils des Gehaltes an reversibel gebundenen Rückständen hinsichtlich der zugeführten Fracht ergibt für das erste Becken ca. 0,5 % und für das zweite Becken beträgt der prozentuale Anteil ca. 4 %. Im zweiten Becken wurde trotz geringeren absoluten Gehaltes an extrahierbaren Nitroaromaten aufgrund der geringeren Zulauffracht von TNT ins zweite Becken ein prozentual höherer Gehalt an reversibel gebundenen Nitroaromaten gefunden.

Die Bestimmung der Wiederfindungsraten der Stoffe TNT, 2-A-4,6-DNT bzw. 4-A-2,6-DNT ergab bei allen drei Vertretern eine Wiederfindungsrate von über 92 %.

Die hinsichtlich einer Adsorption von Nitroaromaten durchgeführte Analyse des Bodenkompartmentes der Pflanzenkläranlage hat somit ergeben, dass eine Verringerung der Ablaufkonzentration von TNT mit einer Anlagerung des Schadstoffes und seiner Metaboliten an der Bodenmatrix einhergeht. Die Bepflanzung hat auf die reversible Bindung von Nitroaromaten keinen Einfluss. Bei der jahreszeitlichen Abhängigkeit ist im Gegensatz dazu eine geringere reversible Adsorption von TNT und ADNT im Sommer zu beobachten. Dieses Phänomen kann einerseits mit der vollständigeren Reduktion zum DANT, andererseits mit der geringeren Fracht an TNT im Sommer bis zum Probenahmezeitpunkt zusammenhängen. Ebenfalls ist in Abhängigkeit der Fließstrecke im zweiten Becken die reversible Adsorption geringer. Allerdings handelt es sich dabei nicht um nennenswerte Mengen an Schadstoffen, die reversibel an die Bodenmatrix der Pflanzenkläranlage gebunden sind. Im Verhältnis zur zugeführten Fracht ist der reversible Anteil an Nitroaromaten im zweiten Becken größer. Die Aussagen über die Reversibilität der Nitroaromaten sind wichtig in Hinblick auf den Einsatz der Pflanzenkläranlage zur Sanierung von sprengstoffbelasteten Wässern. Während in der Vergangenheit die Mineralisierung von Schadstoffen im Boden das Ziel biologischer Sanierungsverfahren darstellten und die Entstehung von gebundenen Rückständen ein unerwünschter Nebeneffekt war, wird heute bei Verbindungen, die sich einem vollständigen Abbau entziehen, eine irreversible Festlegung bei der Sanierung direkt angestrebt. Voraussetzung für den Einsatz des Verfahrens ist allerdings der Nachweis, dass die Festlegung tatsächlich irreversibel ist und keine Freisetzung im Freiland erfolgt. Mit dem Nachweis der reversibel gebundenen Anteile in der Pflanzenkläranlage ist ein erster Schritt zur Darstellung erfolgt. Eine Aussage über irreversibel gebundene Nitroaromaten ist mit Hilfe der hier ermittelten Daten jedoch nicht möglich.

4.2.5 Untersuchungen von Adsorption und Aufnahme durch Pflanzen an der Pflanzenkläranlage

Um die Bindung der Schadstoffe an die Pflanzenmatrix der Pflanzenkläranlage zu untersuchen, wurden Analysen der Pflanzen hinsichtlich einer Anreicherung von TNT und dessen Metaboliten durchgeführt. Hintergrund dieser Studie war die Frage, inwieweit die Eliminierung der Schadstoffe aus dem Wasser mit einer Aufnahme der Nitroaromaten durch die Pflanzen einhergeht. Dazu wurden Pflanzenproben aus den einzelnen Becken jeweils zum Ende der Vegetationsperioden 1998 und 1999 entnommen, aufbereitet und analysiert. Der Pflanzenschnitt erfolgte, bevor sich die Pflanzen zum Ende der Vegetationsperiode vollständig zurückzogen.

Im Ergebnis dieser Versuche konnten in den Proben der Vegetationsperioden 1998 und 1999 keine Nitroaromaten nachgewiesen werden.

In anderen Studien wurde die Aufnahme von TNT und der Transformationsprodukte gezeigt [85,86]. Dabei wurde nachgewiesen, dass Pflanzen TNT aufnehmen und transformieren können. So wurde eine Aufnahme von TNT und nach Aufbereitung des Pflanzenmaterials ADNT in der Pflanze gefunden. Da in der Nährlösung kein ADNT detektiert wurde, wird von einer Umwandlung innerhalb der Pflanze ausgegangen [136]. Aus einer weiteren Studie geht hervor, dass bei Radioaktivuntersuchungen hinsichtlich der Aufnahme von TNT 24 – 79 % der Radioaktivität in den Pflanzen wiedergefunden wurden [25]. Ebenfalls wurde berichtet, dass sich bei Wasserpflanzen im Gegensatz zu den Wurzeln die höchsten Konzentrationen im Pflanzenmaterial oberhalb der Wasseroberfläche ansammelten [137]. Andere Arbeiten hingegen dokumentieren eine Anreicherung von TNT in den Wurzelzonen von Pflanzen [85]. Somit ergibt sich aus der Betrachtung der bisher existierenden Erkenntnisse kein klares Bild. Die hier erhaltenen Ergebnisse könnten somit einerseits auf eine Anreicherung von TNT in den Wurzelzonen, andererseits auf eine für den analytische Nachweis zu geringe Konzentration von TNT und Metaboliten in den Pflanzensprossen zurückzuführen sein.

Aufgrund der Messergebnisse musste trotzdem geklärt werden, ob das erhaltene negative Resultat der Versuche durch eine nicht geeignete Extraktionsmethode zustande kommt. Für die Überprüfung, inwieweit die Aufbereitungsmethode für die Pflanzenextraktion anwendbar ist, wurden die einzelnen Schritte hinsichtlich der Wiederfindungsrate untersucht. Dabei zeigte sich, dass die Wiederfindung abhängig von der Konzentration ist (Kap. 3.3.3). Bei einer Ausgangskonzentration von $c = 25 \text{ mg/kg}$ Pflanzen (TS) belaufen sich die Wiederfindungsraten auf 34 % bis 60 %. Eine Ausgangskonzentration von jeweils $c = 15 \text{ mg/kg}$ Pflanzen (TS) führte zu Wiederfindungsraten von 24 % (TNT) bzw. 15 % (2-A-4,6-DNT, 4-A-2,6-DNT). Aufgrund der geringen Streuung kann jedoch von einer validen Pflanzenaufbereitungsmethode ausgegangen werden. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen auch die Bestimmungen der Wiederfindungsraten, die zusätzlich den Einfluss eines sauren Aufschlusses des Filterkuchens beinhalteten.

Für die Evaluierung der Pflanzenaufbereitungsmethode läßt sich feststellen, dass die verwendete Methode nur bedingt für die Untersuchung der Aufnahme von Schadstoffen in die Pflanzen geeignet ist. Die mit dieser Methode erhaltenen Ergebnisse sind aus diesem Grund nur bedingt aussagekräftig für eine Einschätzung der Schadstoffaufnahme in die Pflanzen. Eindeutige Ergebnisse in dieser Hinsicht sind nur durch Versuche mit radioaktiven *Tracern* an einer Modellanlage zugänglich (*vide infra*).

4.2.6 Zusammenfassung

Die durchgeführten molekularen Untersuchungen haben ergeben, dass die Eliminierung von TNT in der Pflanzenkläranlage zumindest zum Teil durch reduktiven Abbau erfolgt. Dieser kann einerseits durch eine mikrobielle Reduktion vonstatten gehen, andererseits kann der Schadstoff auch durch die in der Anlage herrschenden Redoxbedingungen abiotisch reduziert werden. Beim Abbau entstehen als Metaboliten die entsprechenden Monoamine und Diamine. Eine Reduktion der DANT zum TAT ist aufgrund der vorherrschenden Milieubedingungen mit großer Wahrscheinlichkeit nicht gegeben. Beim Abbau von TNT spielt die Bepflanzung eine wesentliche Rolle, sie bewirkt im Vergleich zu nicht bepflanzten Anlagen eine weitergehendere Eliminierung von TNT, aufgrund der bevorzugteren Bindung aufgrund des höheren Kohlenstoffgehaltes und der günstigeren Bedingungen zur Reduktion. Die Außentemperatur hat auf den Abbau ebenfalls einen Einfluss, niedrige Temperaturen führen zu einer unvollständigen Reduktion von TNT, dabei werden vornehmlich ADNT gebildet. Neben dem reduktiven Abbau von TNT kommt für die Eliminierung von TNT auch eine Bindung des Schadstoffes an die Matrices der Pflanzenkläranlage in Frage. Im realen System konnte eine geringe reversible Bindung der Schadstoffe an die Bodenmatrix detektiert werden. Über eventuelle irreversible Bindungen konnte jedoch durch die Untersuchungen keine Aussage gemacht werden. Eine Aufnahme in Pflanzen wurde nicht nachgewiesen, allerdings war die verwendete Pflanzenaufbereitungsmethode mit Schwierigkeiten hinsichtlich der Wiederfindung behaftet. Um eine eindeutige Aussage über den Eliminierungsweg von TNT machen zu können, sind daher Versuche an einer Modellanlage mit radioaktiven *Tracern* nötig. Damit ist es möglich, eine exaktere Bilanzierung des Schadstoffverbleibs vorzunehmen und den Eliminierungsweg von TNT zu klären.

4.3 Untersuchungen am Modellsystem

In den anwendungsbezogenen Untersuchungen an der Pflanzenkläranlage konnte gezeigt werden, dass TNT beim Durchfließen der Pflanzenkläranlage vollständig aus dem Wasser eliminierbar ist. Durch den Nachweis von Metaboliten wurde eine Reduktion von TNT nachgewiesen. An Lava und Pflanzen konnten dabei keine nennenswerten reversiblen Adsorptionen bzw. Aufnahmen festgestellt werden. Ein Bilanzieren über den Abbauweg und über den Verbleib vom TNT und dessen Metaboliten war aufgrund der Größe des Systems jedoch nicht möglich. Um die Eliminierungswege von TNT aus dem Wasser nachvollziehen zu können, wurden daher in einer Modellanlage Versuche mit nicht markiertem TNT und radioaktivem [^{14}C]TNT durchgeführt. Dabei wurden folgende Schwerpunkte gesetzt:

- **Bestimmung der Durchgangskurven an der Modellanlage**
- **Überprüfung der Vergleichbarkeit von Real- und Modellanlage**
Experimente mit nicht markiertem TNT in der Modellanlage
- **Untersuchung der TNT-Eliminierungswege unter Verwendung von [^{14}C]TNT**
Abbau von TNT (entstehende Metaboliten, Mineralisierung)
Adsorption von TNT an verschiedene Matrices (reversibel, irreversibel)
Aufnahme von TNT in die Pflanzen
- **Bilanzieren des TNT-Abbaus**

Die verwendete Modellanlage stellt eine kontrollierte Modellökosystem-Anlage dar, mit deren Hilfe die Verhältnisse in der Pflanzenkläranlage dargestellt werden können [138]. Sie bietet die Simulation von Tageslicht- und Klimabedingungen. Besonders wichtig für die Verwendung dieser Anlage ist die gegebene Möglichkeit, im geschlossenen System eine Schadstoffbilanzierung durch Verfolgung der applizierten Testchemikalie hinsichtlich Verbleib in den Medien Wasser, Boden, Luft und innerhalb von Organismengemeinschaften durchzuführen. Weiterhin ist sehr vorteilhaft, dass das System, im Gegensatz zur Pflanzenkläranlage, kein 'offenes System' darstellt und somit die flüchtigen Komponenten erfaßt werden. Durch die Verwendung von radioaktiven *Tracern* können genaue Aussagen bezüglich der Translokation, Akkumulation, Verflüchtigung sowie Ab- und Umbau der Fremdchemikalie im System gemacht werden [138]. Radioaktive *Tracer* werden der Testsubstanz zugesetzt, um den Anteil an irreversibel gebundenen Rückständen an der Bodenmatrix, den Verbleib der Schadstoff in der Pflanze sowie den Anteil an Mineralisierung zu ermitteln. Für die Versuche wurde zum Nachvollziehen der Herkunft der Umbauprodukte mit uni-ringmarkiertem [^{14}C]TNT gearbeitet.

In der Vergangenheit wurden bereits Studien mit [^{14}C]TNT durchgeführt. Dabei lag ein besonderes Augenmerk auf der Kontrolle der Abbauewege hinsichtlich der Umwandlung von TNT durch spezielle Mikroorganismen [71,75,76]. Als weiteres wurde unter anderem der Einfluss von expremierten Enzymen aus Pilzen auf den Abbau von TNT untersucht [79,139]. Andere Studien beschäftigen sich mit der Verteilung von TNT und dessen Abbauprodukten in unterschiedlichen Kompartimenten. So wurde die Wiederfindung von [^{14}C]TNT im Boden und Wasser speziell nach Zugabe von Pilzen hervorgehoben [140]. Weiterhin kam [^{14}C]TNT zum Einsatz, um den Anteil der irreversibel und reversibel gebundenen Nitroaromaten an der Bodenmatrix unter aeroben Bedingungen und unter Zugabe von organischem Material in Abhängigkeit der Versuchszeit darzustellen [17,20,118]. Andere Studien setzten zum besseren Nachvollziehen der Aufnahme von TNT und dessen Metaboliten in die Pflanzen [^{14}C]TNT ein [25,26]. Desweiteren wurde [^{14}C]TNT zur Kontrolle der Wirkungsweise von Dekontaminationsverfahren verwendet [9,17,72].

Diese Untersuchungen stellten auf jedem Gebiet wichtige Ergebnisse heraus. Sie zeigten, dass die TNT-Eliminierung unter verschiedenen Milieubedingungen unterschiedlich ablaufen kann. So wurde unter aeroben Bedingungen nur eine Reduktion von TNT bis zur Stufe von ADNT beobachtet, wohingegen unter anaeroben Bedingungen DANT und TAT als Transformationsprodukte entstanden [33,61,76,127]. Es wurde daneben in anderen Studien eine Abspaltung der Nitrogruppen beobachtet [60,64,130]. Als weiteres wichtiges Ergebnisse wurde herausgefunden, dass die Adsorption von TNT und dessen Metaboliten stark abhängig ist vom Transformationsgrad [33]. So wurde für HADNT eine starke Bindung an die Bodenmatrix nachgewiesen. Diese ist für ADNT nicht mehr so ausgeprägt, bei höherer Anzahl von Aminogruppen nimmt sie jedoch wieder zu [20,33]. Eine Abhängigkeit besteht weiterhin in der Art des Bodens. Diese äußert sich unter anderem im Humingehalt, was wiederum Auswirkungen auf die Adsorption hat [17,112,133,135]. Die Aufnahme von TNT in die Pflanzen ist besonders bei Pflanzen gegeben, die auf TNT-kontaminierten Böden wachsen [85]. Die Verteilung in den Pflanzen zeigt, dass die höchsten Konzentrationen in den Wurzeln vorliegen. Nitroaromaten wurden aber auch in der Pflanze bestimmt, die durch Transportprozesse innerhalb der Pflanze in obere Bereiche gelangten. Die genauen Transportmechanismen sind jedoch noch unklar [26].

Für die Studien in dieser Arbeit diente die Modellanlage zur Simulation der Verhältnisse in der Pflanzenkläranlage und erlaubte gleichzeitig den Einsatz von [^{14}C]TNT. Mittels Verwendung von [^{14}C]TNT sollten die Verteilung für dieses System nachvollzogen werden. Aufgrund technisch bedingter Unterschiede der beiden Anlagen musste die Modellanlage gegenüber der realen Pflanzenkläranlage in ihrer Betriebsweise modifiziert werden. Die Gründe dafür sind im folgenden aufgeführt:

Die bereits beschriebene Eliminierung von TNT in der realen Pflanzenkläranlage ist unter anderem aufgrund der langen Fließstrecke möglich. In der Modellanlage steht jedoch, bedingt durch die Systemgröße, eine weitaus kürzere Fließstrecke zur Verfügung, was eine weniger vollständige Eliminierung des Schadstoffes erwarten lässt. Eine Verlängerung der Fließstrecke war in der Modellanlage aus technischen Gründen nicht möglich. Weiterhin wurde in der realen

Pflanzenkläranlage TNT kontinuierlich zugeführt. Diese Zudosierungsform war in der Modellanlage, insbesondere im Hinblick auf die Versuche mit [^{14}C]TNT, ebenfalls nicht realisierbar. Aus diesen beiden genannten Gründen wurde die Modellanlage als Kreislaufsystem mit diskontinuierlicher Zudosierung betrieben. Durch diesen Ansatz konnte der zeitliche Verlauf der Reduktion bzw. Eliminierung in der Modellanlage nachvollzogen werden.

4.3.1 Bestimmung der Durchgangskurven an der Modellanlage

Die Bestimmung der Durchgangskurven in den Aquarien der Modellanlage diente zur Festlegung der späteren Probenahmezeitpunkte, zur Kontrolle des Aufbaus und der Packung der einzelnen Aquarien, sowie zur Überprüfung der Vergleichbarkeit der aufgenommenen Radioaktivitäts-Zeitkurven zwischen den einzelnen Versuchen. Die Durchgangskurvenbestimmung erfolgte mittels Mikropartikeln (Durchmesser 300 nm). Diese erlaubten die Bestimmung der Durchgangskurven durch eine UV/VIS-spektroskopische Vermessung des Beckenablaufs am Hahn. Mit Hilfe der optisch gut wahrnehmbaren (trüben) Partikel konnte weiterhin der Fließweg in den Aquarien visuell nachvollzogen werden. Dies stellt einen großen Vorteil gegenüber der Verwendung von anderen *Tracern*, wie z.B. Kochsalz dar. Die visuelle Verfolgung war aufgrund des Nachvollziehens von vorhandenen bevorzugten Fließwegen notwendig. Für die Verwendung der Mikropartikel sprach ebenfalls der Aspekt, dass mittels dieser Methode auch beobachtet werden konnte, welche Bereiche die Mikropartikel durchflossen.

Im ersten Versuch wurde überprüft, inwieweit die Mikropartikel als *Tracer* für die Bestimmung der Durchgangskurven geeignet sind. Dazu wurden Durchflussversuche an einer mit Lava gepackten Säule durchgeführt. Die Mikropartikel und TNT wurden dabei als Stoßmarkierung appliziert, mit Beginn der Injektion erfolgte die Messung der Absorption. In Abb. 430 sind die Absorptions-Durchfluss-Kurven von TNT und Mikropartikeln dargestellt.

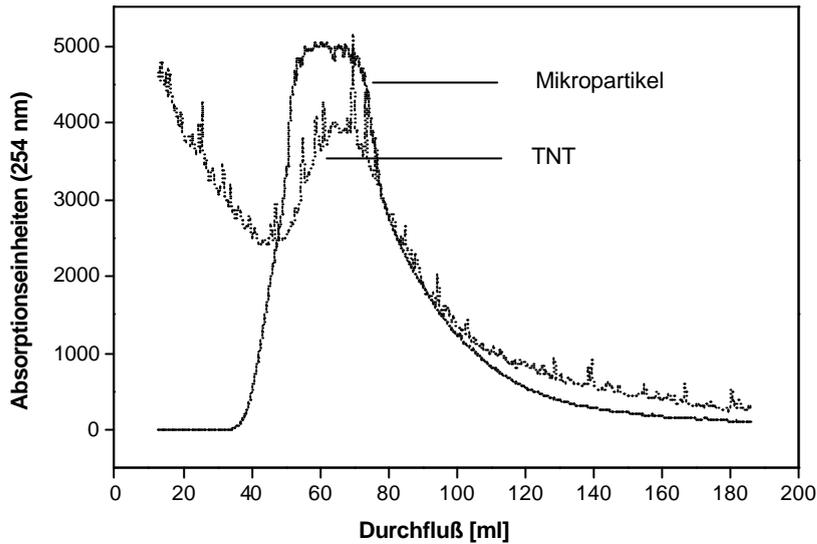


Abb. 4-30: Vergleich der Durchflussskurven von TNT und Mikropartikel in einer Lavasäule

Mikropartikel und TNT weisen beim gleichen Durchflussvolumen ein Maximum der Absorption auf. Unter Berücksichtigung der Säulengeometrie und dem daraus folgendem Gesamtvolumen ($V_g = 120 \text{ cm}^3$) sowie der Porosität der Lava ($p = 0,55$) ergibt sich ein Porenvolumen von $V_p = 66 \text{ cm}^3$ (Gl. 4-7) [121]. Die Maxima von TNT und Mikropartikeln liegen bei 65 ml (TNT) und 62,5 ml (Mikropartikel). Dies entspricht dem Porenvolumen.

Gl. 4-7: $V_p = V_g \cdot p$

V_p : Porenvolumen [cm^3]

V_g : Gesamtvolumen der Säule [cm^3]

p : Porosität

Somit konnte gezeigt werden, dass TNT und die Mikropartikel in der mit Lava gefüllten Säule identische Wanderungsgeschwindigkeiten haben und somit keine Retention einer der beiden Stoffe auftritt. Dies ist Voraussetzung für die Nutzung von Mikropartikeln für die Bestimmung der Durchgangskurven in den Aquarien der Modellanlage.

4.3.2 Untersuchungen mit nicht markiertem TNT

In der Modellanlage wurden vor den Versuchen mit ^{14}C TNT Studien mit nicht markiertem TNT durchgeführt. Diese Versuche dienten der Darstellung, inwieweit die Ergebnisse aus der Modellanlage mit den Aussagen aus der Pflanzenkläranlage vergleichbar sind. In einem weiteren

Versuch sollte der Einsatz einer zusätzlichen Kohlenstoffquelle zur Verbesserung der Eliminierungsrate betrachtet werden. Dieser zusätzliche Ansatz wurde in dieser Phase der Studien mit aufgenommen, da in der Auswertung der Ergebnisse der Pflanzenkläranlage gezeigt wurde, dass aufgrund vom Sauerstoffgehalt im Wasser und Redoxpotential nicht ausreichend anaerobe Bedingungen vorherrschten, die einen Abbau bis zum TAT begünstigen würden. So wurde in Abhängigkeit der Fließstrecke im unteren Bereich ein minimales durchschnittliches Redoxpotential von -6 mV gemessen. Der gelöste Sauerstoffgehalt betrug 0 mg/l. Aus anderen Studien geht hervor, dass eine Reduktion von DANT zu TAT jedoch nur unter strikt anaeroben Bedingungen (-200 mV) verläuft [18,120]. Der Aspekt des Transformationsgrades spielt besonders hinsichtlich der Festlegung der Stoffe an die Bodenmatrix eine große Rolle. So wurde festgestellt, dass bei der Bindung der Nitroaromaten an Tonminerale für TNT und ADNT die Desorptionsisothermen ähnlich den Adsorptionsisothermen sind, was für eine reversible Bindung der Stoffe an die Bodenmatrix spricht. Bei DANT wurde im Gegensatz dazu eine Hysterese zwischen Desorption- und Adsorptionisotherme beobachtet, woraus eine nur teilweise reversible Bindung geschlossen wurde. TAT wurde in diesen Untersuchungen vollkommen irreversibel gebunden, da eine Extraktion der Nitroaromaten weder mit basischer oder saurer Hydrolyse noch mit einem Mix aus Methanol und HCl mehr möglich war [33]. Bei Böden mit Huminsäureanteilen konnte für TNT und seine teilreduzierten Folgeprodukte gezeigt werden, dass eine steigende Anzahl von Aminogruppen am Molekül die Geschwindigkeit der Adsorption beschleunigt und die Reversibilität der Bindung vermindert [33]. Aus anderen Untersuchungen, die parallel an der Pflanzenkläranlage im Rahmen anderer Arbeiten durchgeführt wurden, konnte durch Zugabe einer zusätzlichen Kohlenstoffquelle (Melasse) anaerobere Verhältnisse gemessen werden [141]. Gleichzeitig förderte die Zugabe der Cosubstrate die TNT-Eliminierung und die weitere Transformation der TNT-Abbauprodukte [141].

4.3.2.1 Einfachdosierung von nicht markiertem TNT

In der ersten Studie wurde mit nicht markiertem TNT gearbeitet und aufgrund der Vergleichbarkeit der Ergebnisse aus den Versuchen an der Pflanzenkläranlage keine zusätzliche Kohlenstoffquelle zugesetzt.

Bestimmung der Durchgangskurve mit Mikropartikeln

Vor dem eigentlichen Versuchsbeginn erfolgte zur Bestimmung der Durchgangskurve ein *Tracer*-Versuch mittels Mikropartikel. Für die Darstellung wurden Mikropartikel als Stoßmarkierung in den Schlauch injiziert und am Ablauf des Aquariums Wasserproben genommen (Abb. 3-9). Diese wurden durch Messung im UV/VIS-Spektrophotometer ausgewertet (Abb. 4-31). Die Wasserführung erfolgte während des Versuches im Kreislauf.

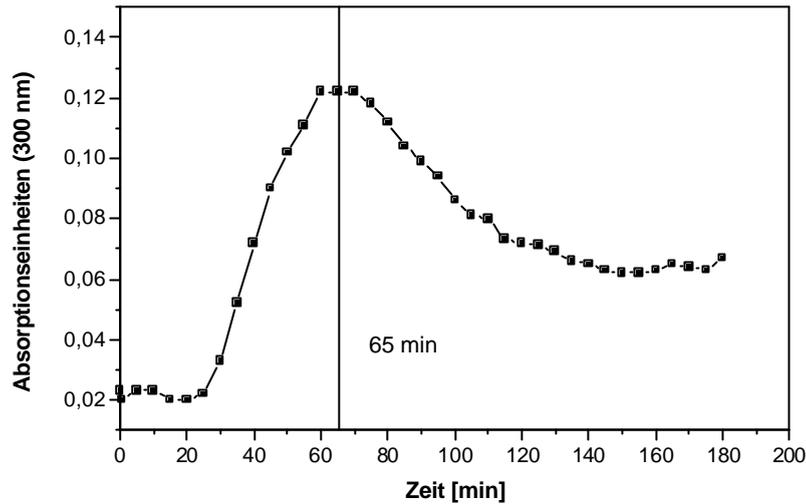


Abb. 4-31: Mikropartikelversuch für die Verweilzeitbestimmung im Aquarium (nicht radioaktives TNT ohne zusätzliche Kohlenstoffquelle)

Bereits nach 30 min wurden die ersten Mikropartikel im Ablauf detektiert. Das Maximum der Absorption wurde nach 65 min gemessen. Nach 140 min erfolgte eine gleichmäßige Verteilung der Mikropartikel im System. Die höheren Absorptionseinheiten nach dem Erreichen der gleichmäßigen Verteilung ist mit der Kreislaufführung zu erklären. Da die Partikel dem System nicht entzogen wurden, fand eine Vermischung der Partikel statt. Dies führte zu erhöhten Absorptionswerten des Wassers.

Ausgehend vom Zeitpunkt, an dem das Maximum der Absorption erreicht wurde ($t = 65 \text{ min}$) und der Länge des Aquariums wurde nach Gl. 4-8 [121] eine Abstandsgeschwindigkeit von $v_a = 0,62 \text{ cm/min}$ ermittelt. Unter Berücksichtigung der Porosität $p = 0,55$ ergibt sich nach Gl. 4-9 [121] eine Filtergeschwindigkeit von $v_f = 0,34 \text{ cm/min}$. Die resultierende durchflossene Fläche nach Gl. 4-10 [121] beträgt bei einem Fluss von $Q = 30 \text{ ml/min}$ damit $F = 88,24 \text{ cm}^2$, woraus bei einer Aquarienbreite von $b = 20 \text{ cm}$ eine durchflossenen Höhe von $H = 4,4 \text{ cm}$ folgt.

Gl. 4-8: $v_a = L / t$

Gl. 4-9: $v_a = v_f / p$

Gl. 4-10: $v_f = Q / F$

v_a :	Abstandsgeschwindigkeit [cm/min]
v_f :	Filtergeschwindigkeit [cm/min]
L:	Länge des Aquariums [cm]
t:	Zeitpunkt des Absorptionsmaximums [min]
F:	Querschnitt des Aquifers [cm ²]
p:	Porosität
Q:	Fluss [ml/min]

Berücksichtigt man die Schichtung eines Aquariums (unteres Drittel: Lavafüllung, oberer Teil: Wurzelballen), so ist am Ergebnis der Durchflusskurvenbestimmung zu erkennen, dass das Wasser zu Beginn der Applikation hauptsächlich unterhalb der Wurzelballen entlang fließt. Diese Aussage kann aufgrund der unterschiedlichen Porosität zwischen Erde und Lava getroffen werden. Das System der Aquarien wurde trotzdem genutzt, da es ähnliche Verhältnisse wie in der Pflanzenkläranlage widerspiegelt. In der Pflanzenkläranlage befinden sich oberhalb der Lava ebenfalls Wurzelballen-Boden-Zonen.

Bevor TNT dem System zudosiert wurde, erfolgte zur Entfernung der Mikropartikel ein dreifacher Austausch des Wassers im Aquarium.

Einfachdosierung

Nach der Bestimmung der Durchgangskurven wurde dem Aquarium TNT zudosiert. Da eine kontinuierliche Zudosierung von TNT aus den beschriebenen Gründen nicht möglich war, wurde eine Einmalzugabe von TNT realisiert. Für die Applikation wurde gelöstes TNT in eine Vorratsflasche gegeben, die Teil des geschlossenen Kreislaufs des Modellanlagesystems war (Abb. 3-8). Die TNT-Konzentration in der Vorratsflasche betrug 52 mg/l. Das Wasser wurde anschließend im Kreislauf geführt. Die rechnerische Startkonzentration nach Verdünnung des Wassers in der Flasche mit dem Aquariumwasser betrug dabei 13 mg/l. Zur Untersuchung des Abbauweges wurden Wasserproben am Ablauf des Aquariums genommen und diese hinsichtlich der Abnahme der TNT-Konzentration und der Entstehung von Reduktionsprodukten untersucht. In diesem Versuch wurden als Abbauprodukte 2-A-4,6-DNT und 4-A-2,6-DNT sowie 2,4-DA-6-NT und 2,6-DA-4-NT detektiert. Dies stellt hinsichtlich der Reduktionsprodukte eine Vergleichbarkeit mit der realen Anlage dar.

In Abb. 4-32 sind die Konzentrations-Zeit-Kurven von TNT, ADNT und DANT dargestellt.

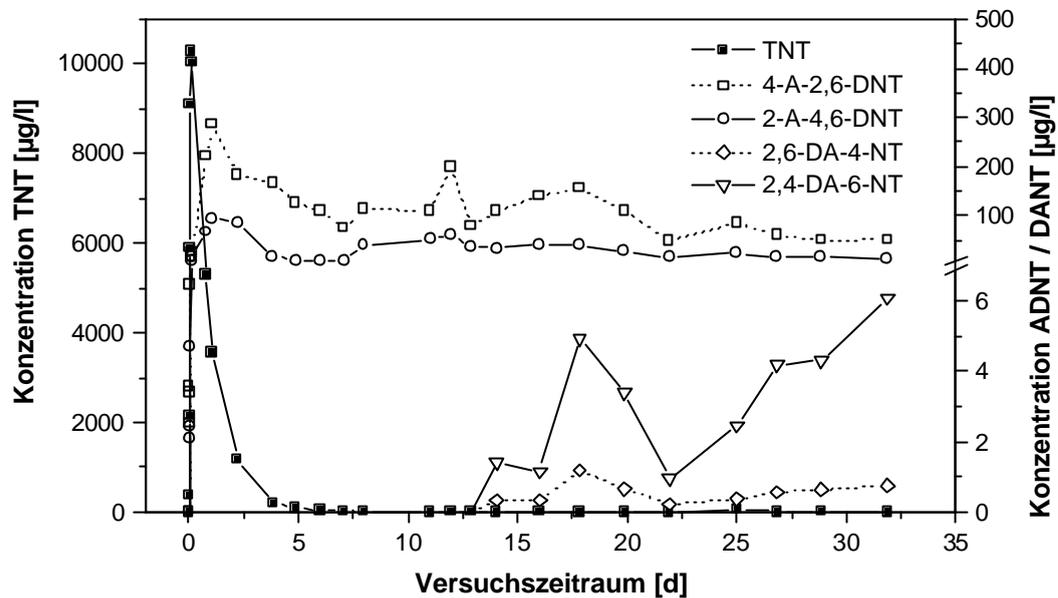


Abb. 4-32: Konzentrations-Zeit-Kurven von TNT, ADNT und DANT ohne Zugabe einer zusätzlichen Kohlenstoffquelle

Bis zu einer Zeit von 158 min erfolgte ein Anstieg der TNT-Konzentration mit einem Maximalwert von 10,2 mg/l, danach nahm die TNT-Konzentration kontinuierlich ab.

Vergleichend zur Bestimmung der Durchgangskurven mittels Mikropartikel müßte die maximale Konzentration an TNT bereits nach $t = 65$ min detektiert werden. Das Maximum von TNT wurde im Gegensatz dazu nach einer 2,4-fach längeren Zeit gemessen. Ursachen dafür können Rückhaltevorgänge von TNT am Boden im unteren Wurzelbereich sein. Es besteht aber auch die Möglichkeit, dass das TNT-Wasser eine größere Fläche durchfließt. Wäre TNT ein inerter Stoff gegenüber Abbau und Retention, so wäre die Abstandsgeschwindigkeit, bestimmt mit der Zeit des Auftretens des Maximums, für TNT $v_a = 0,25$ cm/min und die daraus resultierende Filtergeschwindigkeit $\gamma = 0,14$ cm/min. Die durchflossene Fläche würde sich zu $F = 215,45$ cm² errechnen, woraus eine durchflossene Höhe von $H = 10$ cm folgen würde. Aufgrund der gemessenen maximalen Konzentration von 10,2 mg/l (Startkonzentration: $c = 13$ mg/l) ist von keiner erhöhten irreversiblen Bindung bzw. keinem verstärkten Abbau zu diesem Zeitpunkt auszugehen. Dies spricht für die Theorie der größeren durchflossenen Fläche. TNT würde damit bereits zu Beginn den Bodenhorizont durchfließen und stände einer Aufnahme in die Pflanzen zur Verfügung. Die durchgeführten Berechnungen beinhalten die Porosität von Lava. Da im Bodenhorizont von geringeren Porositäten auszugehen ist, sind die erhaltenen Werte nur Anhaltspunkte.

Nach fünf Tagen wurde kein TNT mehr im Wasser detektiert. Die Maximalkonzentrationen von ADNT wurden nach 1,06 Tagen mit Konzentrationen von 286 µg/l (4-A-2,6-DNT) bzw. 94 µg/l (2-A-4,6-DNT) erreicht. Eine nachfolgende Abnahme der Konzentrationen von ADNT wurde nur in geringem Maße beobachtet. Sie wurden während des gesamten Versuchszeitraums detektiert (Ende des Versuchszeitraumes: $c_{4-A-2,6-DNT} = 50 \mu\text{g/l}$, $c_{2-A-4,6-DNT} = 15 \mu\text{g/l}$). Neben der Entstehung von ADNT konnte auch die Bildung von DANT nachgewiesen werden. Maximale Konzentrationen wurden nach 17 Tagen ($c_{2,4-DA-6-NT} = 4,95 \mu\text{g/l}$, $c_{2,6-DA-4-NT} = 1,2 \mu\text{g/l}$) bestimmt. Nach einem Abfall der Konzentrationen erfolgte zum Ende des Versuchszeitraumes ein weiterer Anstieg der Ablaufkonzentrationen von DANT. Die zeitliche Reihenfolge der Entstehung der Reduktionsprodukte entspricht damit den Beobachtungen am realen System. Ebenfalls werden in diesem Versuch, wie auch an der Pflanzenkläranlage, 4-A-2,6-DNT sowie 2,4-DA-6-NT im höheren Maße gebildet als 2-A-4,6-DNT und 2,6-DA-4-NT.

Durch diese Messungen wurde gezeigt, dass der Abbauweg in der wässrigen Phase der Modellanlage mit dem Abbauweg in der realen Pflanzenkläranlage vergleichbar ist.

Verdunstungen, die während des Versuches auftraten, wurden durch tägliche Zugabe von Wasser ins Aquarium kompensiert. Dazu wurde der Wasserspiegel auf das Niveau von 6 l im Aquarium angehoben (Markierung vor Versuchsbeginn).

4.3.2.2 Einfachdosierung von nicht markiertem TNT in Gegenwart einer zusätzlichen Kohlenstoffquelle (Glucose)

In parallelen Studien an der Pflanzenkläranlage konnte dargestellt werden, dass TNT durch die Zugabe einer zusätzlichen Kohlenstoffquelle effektiver aus dem Wasser eliminierbar ist [141,142]. Für die Untersuchung des Einflusses einer zusätzlichen Kohlenstoffquelle auf die Reduktion von TNT wurde Glucose als Cosubstrat zugesetzt.

Bestimmung der Durchgangskurve mit Mikropartikeln

Auch bei diesem Versuch wurde vor der eigentlichen TNT-Zugabe die Durchgangskurve im Aquarium mittels Mikropartikel bestimmt (Abb. 4-33).

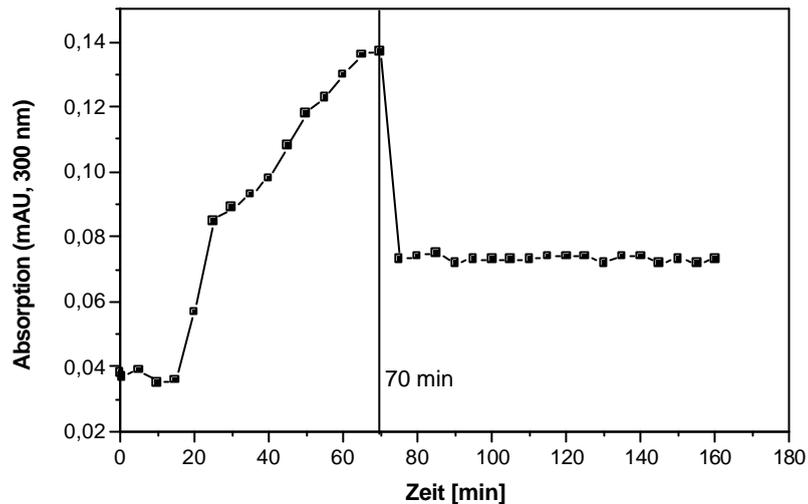


Abb. 4-33: Mikropartikelversuch für die Verweilzeitbestimmung im Aquarium (nicht radioaktives TNT mit zusätzlicher Kohlenstoffquelle)

Die erste Detektion der Partikel erfolgte nach 20 min, eine gleichmäßige Verteilung konnte bereits nach 75 min beobachtet werden. Das Maximum der Absorption wurde bei 70 min gemessen. Die Abstandsgeschwindigkeit liegt somit im gleichen Bereich ($v_p = 0,57$ cm/min) wie im ersten Versuch. Ein Vergleich der beiden Absorptionseinheiten-Zeit-Kurve zeigt gleichfalls, dass in beiden Versuchen eine Absorptionseinheitenerhöhung vom Start bis zur Vereinheitlichung um 0,039 (erster Versuch) bzw. 0,038 (zweiter Versuch) erfolgt und die Differenzen zwischen Startwert und Maximum (erster Versuch: 0,099 Absorptionseinheiten, zweiter Versuch: 0,102 Absorptionseinheiten) ähnlich sind. Die erhaltenen Daten beider Versuche sind somit untereinander vergleichbar.

Einfachdosierung in Gegenwart einer zusätzlichen Kohlenstoffquelle (Glucose)

Die Zudosierung von TNT und Glucose erfolgte nach dreimaligem Austausch des Wassers. In diesem Versuch wurde die Anlage wiederum im Kreislauf betrieben. Die TNT-Startkonzentration im System betrug 12 mg/l, die von Glucose 0,3125 g/l. Die Wasserproben zur Bestimmung des Nitroaromatengehaltes wurden am Ablauf des Aquariums genommen, die zur Bestimmung des TOC in der Flasche.

Betrachtet man die Konzentrations-Zeit-Kurven dieses Versuches in Gegenwart einer zusätzlichen Kohlenstoffquelle, so ist auch hier die zeitliche Abfolge der Reduktion von TNT über ADNT zu DANT zu erkennen (Abb. 4-34).

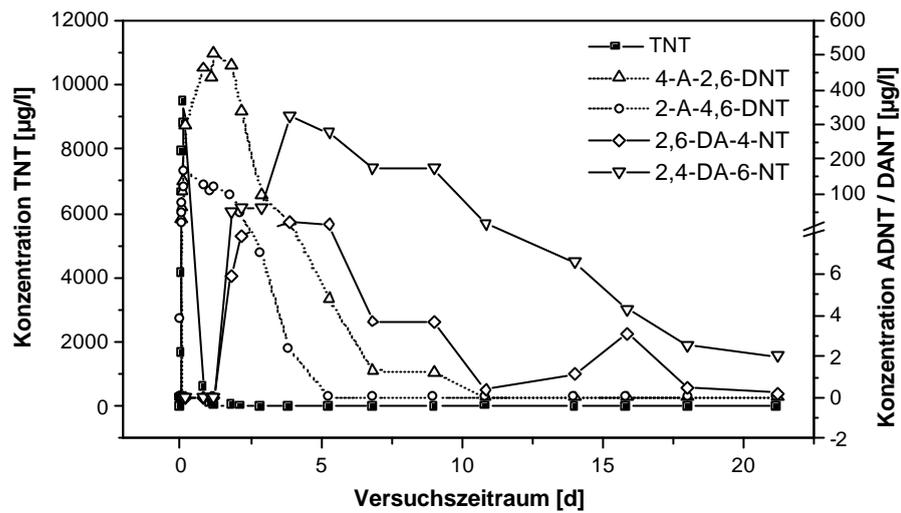


Abb. 4-34: Konzentrations-Zeit-Kurven von TNT, der beiden Monoamine und der beiden Diamine bei Zugabe einer zusätzlichen Kohlenstoffquelle

Das Maximum der detektierten TNT-Konzentration am Ablauf des Beckens wurde nach 158 min ($c_{\max} = 9,5 \text{ mg/l}$) gemessen. Dies entspricht der gleichen Durchgangszeit wie im ersten Versuch. Die Konzentrations-Zeit-Kurven von ADNT und DANT unterscheiden sich jedoch im zeitlichen Verlauf vom Versuch ohne Zugabe einer zusätzlichen Kohlenstoffquelle. Bei ADNT wurde für 4-A-2,6-DNT bereits nach 0,16 Tagen das Maximum detektiert ($c_{4\text{-A-},6\text{-DNT}} = 506 \text{ µg/l}$). Das 2-A-4,6-DNT hat sein Maximum ($c_{2\text{-A-},4,6\text{-DNT}} = 168 \text{ µg/l}$) nach 1,2 Tagen. Auch bei DANT sind zeitliche Unterschiede beim Erreichen des Maximums festzustellen. Die maximalen Konzentrationen ($c_{2,4\text{-DA-},6\text{-NT}} = 323 \text{ µg/l}$, $c_{2,6\text{-DA-},4\text{-NT}} = 17,6 \text{ µg/l}$) werden bereits nach 3,9 Tagen detektiert (Tabelle 4-12).

Tabelle 4-12: Vergleich der maximalen Konzentrationen und der Erscheinungszeit der Maxima in Abhängigkeit der Zugabe einer zusätzlich Kohlenstoffquelle

	Mit Glucosezugabe		Ohne Glucosezugabe	
	Zeitpunkt des Maximums [d]	Maximale Konzentration [mg/l]	Zeitpunkt des Maximums [d]	Maximale Konzentration [mg/l]
TNT	0,11	9,5	0,11	10,2
Eingesetzte TNT-Konzentration [mg/l]		12		13
Prozentualer Anteil der maximalen TNT-Konzentration [%]		79		78
2-A-4,6-DNT	1,2	168	1,06	94
4-A-2,6-DNT	0,16	506	1,06	286
2,6-DA-4-NT	3,9	17,6	17	1,2
2,4-DA-6-NT	3,9	323	17	4,95

Auf die Unterschiede zwischen den Ansätzen ohne und mit Zugabe einer zusätzlichen Kohlenstoffquelle wird im nächsten Kapitel eingegangen.

4.3.2.3 Vergleichende Betrachtungen der Versuche mit nicht markiertem TNT

Die erhaltenen Ergebnisse der Ansätze mit und ohne Zugabe einer zusätzlichen Kohlenstoffquelle unterscheiden sich. Um diese Unterschiede weiter zu charakterisieren, wurden als analytische Parameter die *TOC*-Werte (*total organic carbon*) als Mass für den Kohlenstoffgehalt bestimmt. In Tabelle 4-13 sind die mittleren *TOC*-Werte für beide Versuche dargestellt.

Tabelle 4-13: Mittlerer *TOC*-Gehalt (*total organic carbon*) für beide Versuchsansätze in Abhängigkeit der Zudosierung von Glucose

	Mittlerer <i>TOC</i> -Gehalt [mg/l]	STABW ¹
Einfachdosierung ohne Zugabe einer zusätzlichen Kohlenstoffquelle	7	1,44
Einfachdosierung in Gegenwart einer zusätzlichen Kohlenstoffquelle (Glucose)	167	14,1

¹: Standardabweichung berechnet aus $n = 15$ für Versuch Einfachdosierung ohne Zugabe einer zusätzlichen Kohlenstoffquelle, berechnet aus $n = 10$ für Versuch Einfachdosierung in Gegenwart einer zusätzlichen Kohlenstoffquelle (Glucose)

Der rechnerische *TOC*-Gehalt bei Zugabe von 2,5 g Glucose ins System beträgt $c = 125$ mg/l. Der gemessene mittlere *TOC*-Gehalt liegt mit $c = 167$ mg/l etwas höher. Dies erklärt sich dadurch, dass bei der mehrmaligen Zugabe von Glucose eine Restkonzentration dieses Stoffes im System vorhanden war und gleichzeitig, wie im ersten Versuch ersichtlich, ein Grundgehalt an *TOC* im System existierte. Der mittlere *TOC*-Gehalt berücksichtigt die Proben, die nach Durchmischen des Systemwassers mit der Glucoselösung aus der Flasche genommen wurden. Die höheren Konzentrationen kurz nach Zugabe von Glucose sind applikationsbedingt. Glucose wurde stets als Stoßmarkierung in die Flasche gegeben. Die Anfangskonzentrationen sind nicht in die Mittelwertbildung eingegangen. Um ein konstantes Konzentrationsniveau von Glucose in der Lösung zu erhalten, wurde Glucose alle zwei Tage zudosiert. Nach 8 Tagen wurde aufgrund von Verstopfungsgefahr im Aquarium (erhöhte Flockenbildung in Flasche) und unkontrollierbarer Effekte auf das System keine weitere Glucose zugeführt. Die Gefahr einer negativen Auswirkung auf die Transformation von TNT wurde bereits beschrieben [143]. Als Resultat der Säurebildung bei Zugabe von Glucose wurde ein Rückgang der Zellzahl (Bakteriendichte) beobachtet. Bei geringeren pH-Werten (pH 2 – 3,5) wurden negative Auswirkungen auf die Bakterienpopulation festgestellt. Ein optimaler pH-Wert-Bereich wurde zwischen pH 6,5 und pH 7,2 beschrieben. Im Versuchsansatz ohne Glucosezugabe liegen die durchschnittlichen *TOC*-Werte am Ablauf des Aquariums um das 24-fache unter dem *TOC*-Gehalt beim Versuchsansatz mit Glucosezugabe. Die pH-Werte lagen für beide Versuche im gleichen Bereich (*vide infra*).

Es kann gefolgert werden, dass Unterschiede im Abbauverhalten von TNT unter anderem auf die unterschiedlichen *TOC*-Werte zurückgeführt werden können.

Der direkte Vergleich zwischen der Konzentrations-Zeit-Kurve von TNT in Abhängigkeit der Glucosezugabe zeigt, dass die TNT-Konzentration beim Ansatz mit Glucose schneller absinkt als beim Ansatz ohne Glucose (Abb. 4-35).

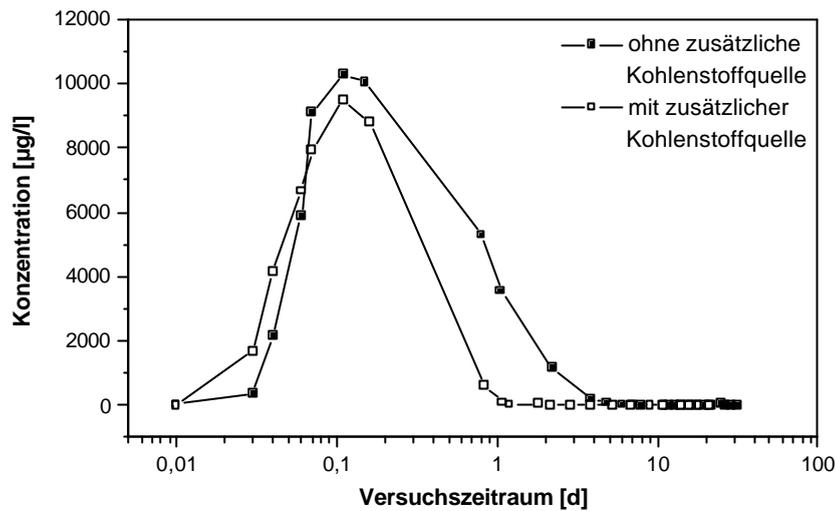


Abb. 4-35: Vergleich der Konzentrations-Zeit-Kurven von TNT in Abhängigkeit der Zugabe einer zusätzlichen Kohlenstoffquelle

Da zu Beginn des Versuchszeitraumes die größten Konzentrationsunterschiede zwischen zwei Messpunkten auftraten, wurde zur besseren Verdeutlichung der Unterschiede die Zeitachse logarithmisch dargestellt. Die maximalen Konzentrationen zeigen im Verhältnis zueinander keine Unterschiede. Beim Ansatz ohne Glucose wurde eine maximale TNT-Konzentration von 10,2 mg/l gemessen. Dies entspricht dem gleichen Verhältnis wie beim Ansatz mit Glucose (TNT_{max} : 9,5 mg/l). Die Unterschiede traten erst im weiteren Versuchszeitraum auf. Beim Ansatz mit Glucose sinken die gemessenen TNT-Konzentrationen bereits nach 2,16 Tagen unter 10 µg/l. Ohne Glucosezugabe lagen die Konzentrationen erst nach acht Tagen unter 10 µg/l. Die Halbwertszeiten betragen somit beim Ansatz mit Glucose 6 Stunden, beim Ansatz ohne Glucose 19 Stunden. Dies entspricht Wechselraten von 1,8 (Versuchsansatz mit Glucosezugabe) bzw. 5,7 (Versuchsansatz ohne Glucosezugabe).

Betrachtet man die Konzentrations-Zeit-Kurven von ADNT in Abhängigkeit der Glucosezugabe, so sind ebenfalls Unterschiede erkennbar (Abb. 4-36).

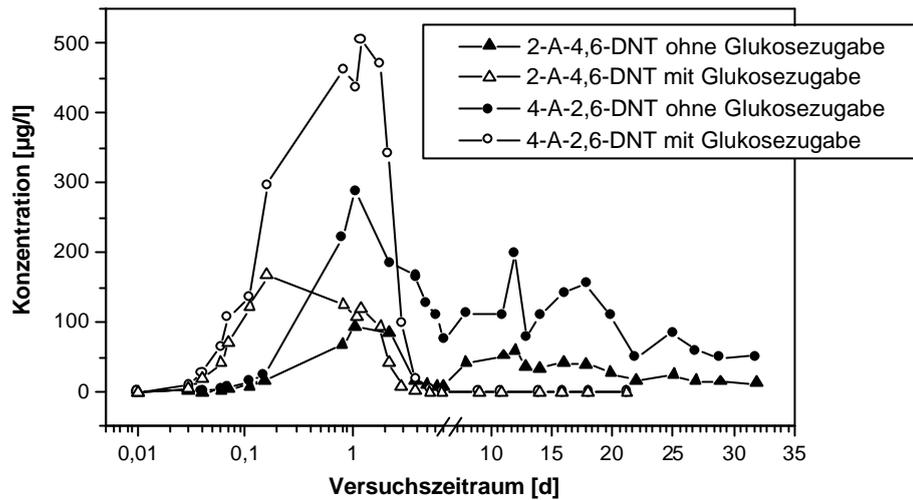


Abb. 4-36: Vergleich der Konzentrations-Zeit-Kurven der Monoamine 2-A-4,6-DNT und 4-A-2,6-DNT in Abhängigkeit der Zugabe einer zusätzlichen Kohlenstoffquelle

Zur besseren Darstellung wurde in diesem Diagramm die Zeitachse für die erste Versuchsphase (0 bis 7,1 Tage) logarithmisch und die Zeitachse für die zweite Versuchsphase (7,11 bis 35 Tage) linear dargestellt. Zu Beginn der beiden Versuche ist ein Konzentrationsanstieg von ADNT in beiden Fällen zu verzeichnen. Dabei ist die maximale Konzentration für ADNT im Ansatz ohne Glucose um ca. 45 % geringer als im Ansatz mit Glucose. Außerdem sinken die Konzentrationen im Ansatz mit Glucose bereits nach 16 Tagen unter 10 µg/l. Beim Ansatz ohne Glucose sind die beiden Monoamine über den gesamten Versuchszeitraum detektierbar.

Der Einfluss der zusätzlichen Glucosezugabe wird ebenfalls beim Vergleich der Konzentrations-Zeit-Kurven von DANT deutlich (Abb. 4-37).

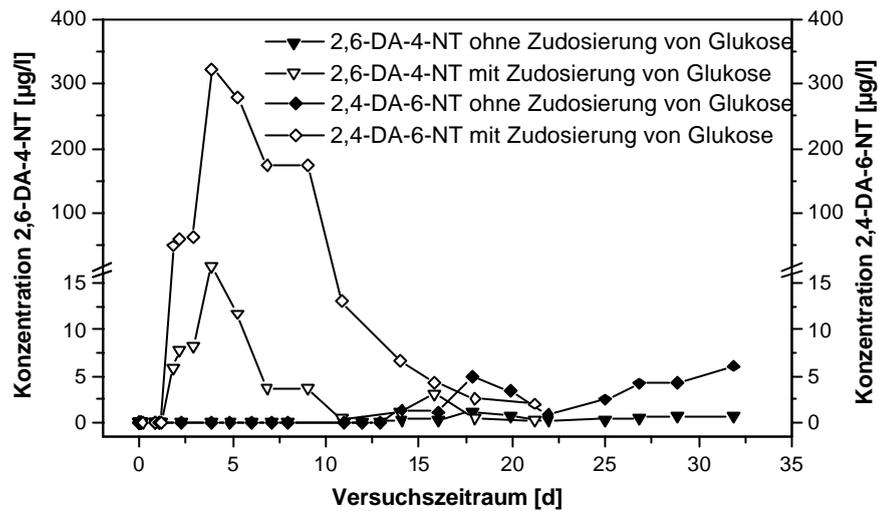


Abb. 4-37: Vergleich der Konzentrations-Zeit-Kurven der Diamine 2,6-DA-4-NT und 2,4-DA-6-NT in Abhängigkeit der Zugabe einer zusätzlichen Kohlenstoffquelle

In Gegenwart einer zusätzlichen Kohlenstoffquelle wurden DANT in größeren Konzentrationen nachgewiesen. Für 2,4-DA-6-NT beträgt die maximale Konzentration beim Ansatz ohne Glucosezugabe nur ca. 1,5% der maximalen Konzentration beim Ansatz mit Glucosezugabe (2,6-DA-4-NT: 6,7%). Die Konzentrationen von DANT nehmen beim Ansatz mit Glucose über den Versuchszeitraum ab, dies kann mit einer Reduktion von DANT oder durch eine Anlagerung dieser Stoffe an andere Matrices erklärt werden. Im Vergleich dazu steigen die Konzentrationen von DANT beim Ansatz ohne Glucosezugabe leicht an. Ursache dafür können in einer langsameren Reduktion von ADNT liegen.

Weiterhin ist ein Unterschied zwischen den Flächen unterhalb der TNT- und Metaboliten-Konzentrations-Zeit-Kurven festzustellen. Die TNT-Fläche vom Versuchsansatz mit Zugabe einer zusätzlichen Kohlenstoffquelle beträgt 38 % der Fläche vom Ansatz ohne Glucosezugabe (Tabelle 4-14). Es wird somit beim Versuchsansatz mit Glucosezugabe TNT bereits zu einem früheren Zeitpunkt aus dem Wasser eliminiert als beim Ansatz ohne Glucosezugabe. Die schnellere Eliminierung von TNT aus der Wasserphase kann dabei durch eine schnellere Transformation von TNT erfolgen oder durch einen stärkeren Entzug von TNT durch andere Materien, wie z.B. Boden oder Pflanzen. Da, wie oben beschrieben, TNT nicht sehr zur irreversiblen Bindung an die Bodenmatrix neigt, ist die geringere Fläche mit einer schnelleren Umsetzung zu Metaboliten zu erklären.

Tabelle 4-14: Integrierte Flächen von TNT und dessen Metaboliten im betrachteten Versuchszeitraum in Abhängigkeit der Zugabe einer zusätzliche Kohlenstoffquelle

	Integrierte Fläche ¹	
	Mit Glucosezugabe	Ohne Glucosezugabe
TNT	4357	11211
2-A-4,6-DNT	266	832
4-A-2,6-DNT	1122	2845
Summe	1388	3677
Prozentualer Anteil der ADNT-Flächensummen zu den TNT-Flächen	32	33
2,6-DA-4-NT	79	5
2,4-DA-6-NT	1650	22
Summe DANT	1729	27
Prozentualer Anteil der DANT-Flächensummen zu den TNT-Flächen	40	0,25

¹ Flächen unterhalb der jeweiligen Konzentrations -Zeit-Kurven

Diese Aussage wird beim Vergleich der Flächen der gebildeten ADNT bestätigt. Die Summe der ADNT-Flächen im Versuch mit Glucosezugabe ist geringer als beim Versuch ohne Glucosezugabe. Die geringeren Flächen im zweiten Versuch können wiederum mit einer schnelleren Eliminierung der Stoffe aus dem Wasser erklärt werden. Die ADNT im ersten Versuch werden zwar in geringeren Konzentrationen, dafür aber über einen längeren Zeitraum detektiert. Betrachtet man jedoch die prozentualen Anteile der ADNT-Flächen hinsichtlich der jeweiligen TNT-Flächen, so sind diese gleich (ca. 32 %). Dieses Phänomen spricht dafür, dass die Transformation von TNT zu ADNT mehr oder weniger unabhängig vom Redoxpotential abläuft. Dies lässt sich mit dem hohen positiven Redoxpotential von TNT erklären, weshalb bereits unter aeroben Verhältnissen Nitrogruppen reduziert werden [131].

Eine Gegenüberstellung der Flächen unterhalb der gebildeten DANT ergibt ein anderes Bild. Beim Ansatz mit Glucosezugabe sind die Flächen unterhalb der Metaboliten größer als im ersten Versuch. In der Darstellung der Konzentrations-Zeit-Kurven (Abb. 4-37) kann man erkennen, dass DANT im Versuch mit Glucosezugabe in größeren Konzentrationen auftreten, ohne

Glucosezugabe konnten DANT nur in sehr geringem Maße detektiert werden. Der prozentuale Anteil beträgt beim Versuch ohne Glucosezugabe 0,25 % (mit Glucosezugabe: 40 %).

Die Zugabe von Glucose wirkt sich somit besonders positiv auf die Bildung von DANT aus. Glucose hat dabei verschiedene Aufgaben. Sie wird einerseits als Kohlenstoffquelle von Mikroorganismen verwertet, durch die Verwertung werden anaerobere Verhältnisse im System geschaffen. Das Erzielen von anaeroben Verhältnissen durch Zugabe von Stärke ist auch in anderen Studien durchgeführt wurden [18]. Andererseits sind Mikroorganismen in der Lage, TNT durch Zugabe von Glucose als Elektronendonoren zu transformieren [33]. Dabei bleibt, solange nicht leichtabbaubare organische Substanzen im Überschuss verfügbar sind (überwiegend aerobe Verhältnisse), die Reduktion des TNT auf der Stufe der ADNT stehen. In Gegenwart überschüssiger reduzierender Substrate, z.B. von Glucose oder anderen leicht abbaubaren organischen Stoffen, lassen sich in natürlichen Mikroorganismenpopulationen anoxische und schließlich strikt anaerobe Verhältnisse einstellen, die dann zur sukzessiven Reduktion aller Nitrogruppen führen [113]. Dies wird durch Ergebnisse in den vorliegenden Studien bestätigt. Die geringe Bildung von DANT im Versuch ohne Glucosezugabe läßt auf eine Reduktion von TNT bis zur Stufe ADNT schließen.

Während des Versuchszeitraumes wurden zur Kontrolle der Verhältnisse im Wasser Milieuparameter gemessen (Gehalt an gelöstem Sauerstoffgehalt im Wasser, Redoxpotential). In Abb. 4-38 sind die Parameter für die beiden Versuchsansätze dargestellt.

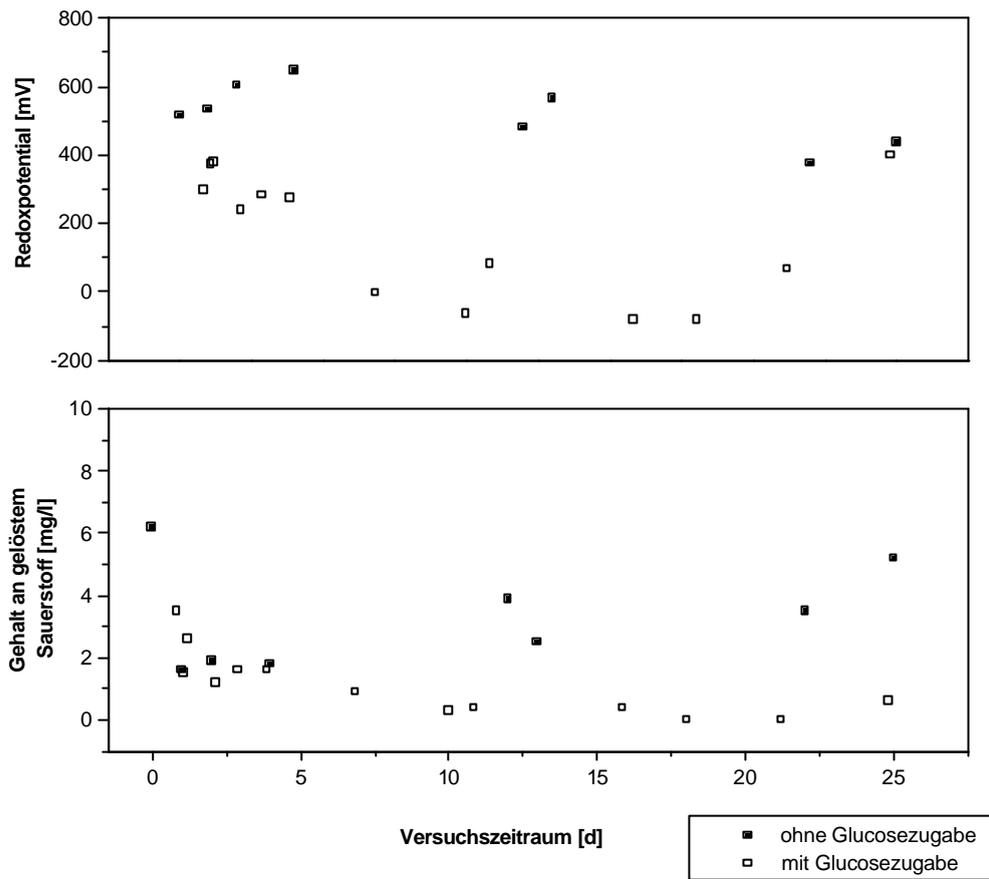


Abb. 4-38: Vergleich der Parameter gelöster Sauerstoffgehalt im Wasser und Redoxpotential in Abhängigkeit der Zudosierung einer zusätzlichen Kohlenstoffquelle

Vergleicht man den Gehalt von gelöstem Sauerstoff im Wasser, so wurden beim Versuch mit Glucose niedrigere Sauerstoffgehalte im Wasser gemessen. Die Messungen des Redoxpotentials ergaben bei der Zudosierung einer zusätzlichen Kohlenstoffquelle anaerobere Verhältnisse im Wasser. Die anaeroberen Verhältnisse im zweiten Versuch sind Folgen der Glucosezugabe. Durch das Angebot einer zusätzlichen Kohlenstoffquelle erhöht sich die Bakterienaktivität, was durch die Entstehung von Stoffwechselprodukten zu anaeroberen Verhältnissen führt. Diese Verhältnisse stellen günstige Milieubedingungen für den mikrobiellen Abbau von TNT dar.

Die günstigen Auswirkungen durch Zugabe einer zusätzlichen Kohlenstoffquelle wurden bereits in anderen Studien herausgestellt. Dabei war die Zugabe von Glucose oder einer stickstoffhaltigen Substanz essentiell zur Beschleunigung der TNT-Reduktion [143]. In vielen Studien kamen unterschiedliche Cosubstrate zum Einsatz. So wurden unter anderem Melasse als mithelfendes Substrat zur Steigerung der mikrobiellen Aktivität zugegeben und ein beschleunigter Abbau von TNT beobachtet [17]. Andere Autoren beschrieben den Einsatz von Pyruvat als Elektronendonoren für die Reduktion von TNT [144]. In Untersuchungen, die den Einsatz von Glucose in

unterschiedlichen Konzentrationen zum Inhalt hatten, wurde parallel zur Glucoseverwertung und dem Zellwachstum ebenfalls eine erhöhte TNT-Eliminierung festgestellt [145].

Ein anderer wichtiger Milieuparameter ist der pH-Wert, da, wie bereits oben beschrieben, sich dieser negativ auswirken kann. Der pH-Wert lag für beide Versuche im gleichen Bereich (Versuchsansatz ohne Glucosezugabe: pH 6,9 / STABW 0,15; Versuchsansatz mit Glucosezugabe: pH 6,6 / STABW 0,17). Die Zugabe von Glucose im zweiten Versuch hat nur im geringen Maße zu einem Absinken des pH-Wertes geführt. Mit einem pH-Wert von 6,6 sind immer noch optimale Verhältnisse in der Anlage hinsichtlich der Reduktion von TNT gegeben.

Mit diesen beiden Versuchen konnte gezeigt werden, dass durch die Zugabe einer zusätzlichen Kohlenstoffquelle eine schnellere Eliminierung von TNT aus dem Wasser erfolgt. Die schnellere Abnahme ist gleichzeitig mit einer erhöhten Bildungsrate von DANT verbunden. Eine Erklärung für diese Beobachtung liegt in der Begünstigung des cometabolischen Abbaus von TNT durch Mikroorganismen in Gegenwart einer zusätzlichen Kohlenstoffquelle. Diese Beobachtung wurde bereits in früheren Untersuchungen gemacht [71,141,142,145]. Durch die Glucosezugabe werden gleichzeitig anaerobere Verhältnisse im System geschaffen, die sich ebenfalls positiv auf die Reduktion vom TNT auswirken [16,118].

4.3.3 Untersuchungen mit [¹⁴C]TNT

Die Abbaustudien in der Pflanzenkläranlage zeigten die Eliminierbarkeit von TNT aus dem Wasser. Aufgrund der Größe des Systems konnte in diesen Studien jedoch keine Bilanzierung durchgeführt werden. Die Eliminierungswege von TNT waren damit in der Pflanzenkläranlage nicht nachvollziehbar.

Mittels der im vorangegangenen Kapitel beschriebenen Untersuchungen konnte dargestellt werden, dass in der Modellanlage TNT ebenfalls aus dem Wasser eliminiert wird und dabei die Reduktionsprodukte ADNT und DANT gebildet werden. In der Modellanlage können somit die Verhältnisse in der Pflanzenkläranlage simuliert werden. Es wurde festgestellt, dass TNT im Versuch ohne Zugabe von Glucose nach fünf Tagen nicht mehr detektierbar war. Die Summe der nachgewiesenen Metaboliten betrug dabei 33 % der eingesetzten TNT-Konzentration. Somit sind andere Eliminierungswege gegeben. TNT kann dabei verflüchtigen (dieser Weg ist jedoch bei einem Dampfdruck von 0,74 mPa bei 20 °C unwahrscheinlich). Andere Möglichkeiten der Eliminierung liegen in der Adsorption an der Bodenmatrix, in der Aufnahme der Pflanzen oder in der Transformation von nicht nachweisbaren Metaboliten. Daraus abgeleitet wurden an der Modellanlage Versuche mit [¹⁴C]TNT durchgeführt, durch die der Eliminierungsweg von TNT beschrieben und bilanziert werden konnte.

4.3.3.1 Mehrfachdosierung von [^{14}C]TNT

In der Modellanlage konnte, wie beschrieben, keine kontinuierliche Zudosierung realisiert werden. Um die Zudosierung in der Pflanzenkläranlage jedoch ansatzweise zu simulieren, wurde im ersten Versuch eine dreimalige Dosierung von TNT vorgenommen.

Die Bestimmung der Durchflusskurve erfolgte mit der im vorangegangenen Kapitel beschriebenen Methode und wurde für diesen Versuch zu 45 min bestimmt. Nach der Applikation von [^{14}C]TNT wurden zur Bestimmung der Radioaktivitätsmenge im Wasser Proben aus der Vorratsflasche und am Beckenablauf genommen. Die Messung der Radioaktivitätsmenge in der Flasche erfolgte, um die gleichmäßige Verteilung von TNT im System nachvollziehen zu können. Die Messungen am Ablauf des Beckens sollten die Eliminierung bzw. Reduktion von TNT nach Passage des Beckens widerspiegeln.

In Abb. 4-39 sind die mittels Flüssigszintillation (LSC) gemessenen Radioaktivitätsmengen im Wasser an beiden Probenahmeorten über den Versuchszeitraum dargestellt. Zur besseren Veranschaulichung der Radioaktivitäts-Zeit-Kurven wurde die Zeitachse zum Teil logarithmisch aufgetragen.

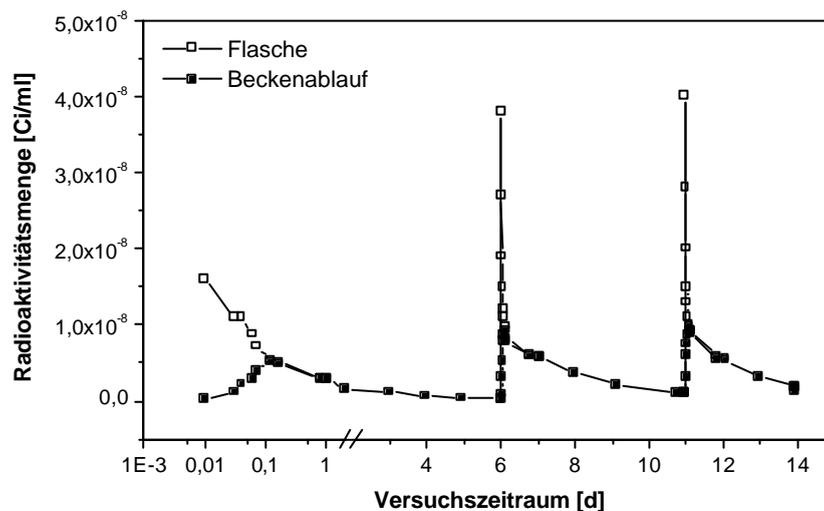


Abb. 4-39: Darstellung der mittels Flüssigszintillationsmessung ermittelten Radioaktivitätsmengen im Wasser am Beckenablauf bzw. in der Probenflasche (Radioaktivansatz Mehrfachdosierung)

Vergleicht man die Radioaktivitätsverläufe in der wässrigen Phase zwischen der Vorratsflasche und am Beckenablauf zu Beginn der ersten Injektion, so ist zu erkennen, dass die Radioaktivitätsmenge in der Flasche stark abnimmt und die Aktivität am Beckenablauf ansteigt. Eine vollständige Vermischung in der Anlage erfolgt nach ca. drei Stunden, zu diesem Zeitpunkt ist die Radioaktivitätsmenge am Ablauf gleich der Radioaktivitätsmenge in der Flasche. Innerhalb

dieser Zeit wurde das Wasser ca. viermal durch das Becken gefördert. Die maximale Radioaktivität am Beckenablauf wurde nach 2,8 Stunden gemessen. Die Radioaktivitäts-Zeit-Kurven nach der zweiten bzw. dritten Zudosierung zeigten ähnliche Verläufe. Auch hier fand nach ca. drei Stunden eine Anpassung der Konzentrationen im Vorratsbehälter und am Ablauf der Becken statt, die maximalen Ablaufkonzentrationen wurden ebenfalls nach 2,8 Stunden gemessen. Aus diesen Daten ist zu ersehen, dass die Angleichung der Radioaktivitätsmengen in der Flasche und am Beckenablauf zu gleichen Zeitpunkten nach der Injektion erreicht wird. Ein komplettes Durchmischen der Anlage erfolgte jeweils nach vierfachem Austausch des Nettovolumens der Anlage mit Wasser aus der Vorratsflasche. Von diesem Zeitpunkt an ist die Abnahme der TNT-Konzentration mit einer Eliminierung von TNT durch Reduktions- bzw. Adsorptions-/Aufnahme-Effekte zu erklären.

Tabelle 4-15: Eingesetzte Radioaktivität und maximal gemessene Radioaktivität in Abhängigkeit den einzelnen Dosierungen

	Eingesetzte Radioaktivität [Ci/ml]	Maximale Radioaktivität am Ablauf des Beckens (Radioaktivität nach 2,8 h) [Ci/ml]	Prozentualer Anteil [%]
1. Dosierung	6,25x10 ⁻⁹	5,1x10 ⁻⁹	81,60
2. Dosierung	1,25x10 ⁻⁸	9,30x10 ⁻⁹	74,40
3. Dosierung	1,25 x10 ⁻⁸	9,70x10 ⁻⁹	77,60

Der prozentuale Anteil der gemessenen Maximalkonzentration am Ablauf der Becken (Tabelle 4-15) liegt mit durchschnittlich 78 % im gleichen Bereich wie bei den Versuchen mit nicht markiertem TNT (siehe Tabelle 4-12).

Für die Bestimmung der Radioaktivitäts-Zeit-Kurven von TNT, ADNT sowie DANT wurden Wasserproben am Beckenablauf genommen, durch Festphasenextraktion angereichert und anschließend mittels Radio-HPLC gemessen. Es wurden nur die Proben am Beckenablauf ausgewertet, da, wie bereits erwähnt, dieser Probenahmeort die Verhältnisse an der realen Pflanzenkläranlage nach der Passage der Becken simulieren sollte. Dies ist besonders hinsichtlich der Zeit zwischen Versuchsbeginn und Erreichen des Maximums wichtig. Nach 2,8 Stunden würden beide Probenahmeorte die gleiche Situation widerspiegeln. In Abb. 4-40 bis Abb. 4-42 sind die aufgenommenen Radioaktivitäts-Zeit-Kurven dargestellt. Für die jeweiligen Dosierungen und deren Zeitabschnitte wurden zur besseren Darstellung einzelne Diagramme angefertigt.

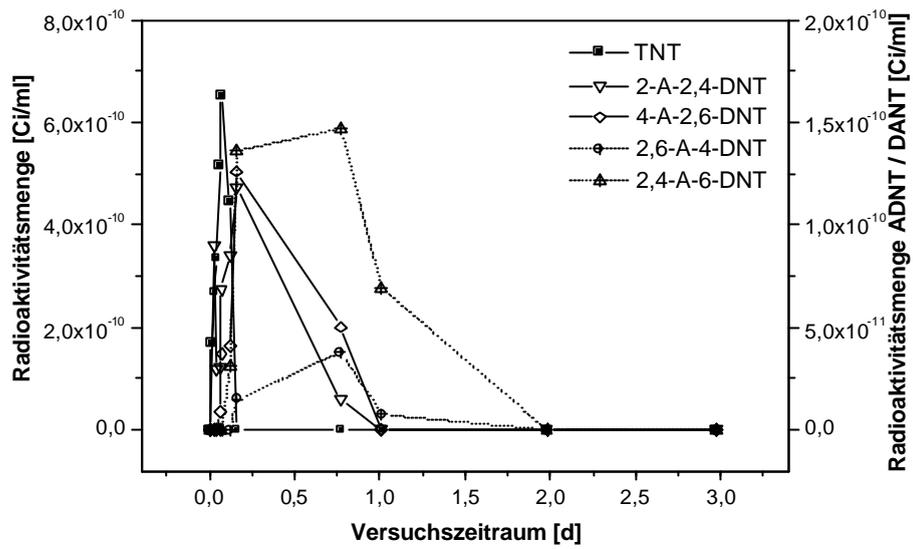


Abb. 4-40: Konzentrations-Zeit-Kurven von TNT, der beiden Monoamine und der beiden Diamine im Wasser nach der ersten Dosierung (Radioaktivansatz Mehrfachdosierung). Versuchszeitraum: 0 – 2,9 Tage

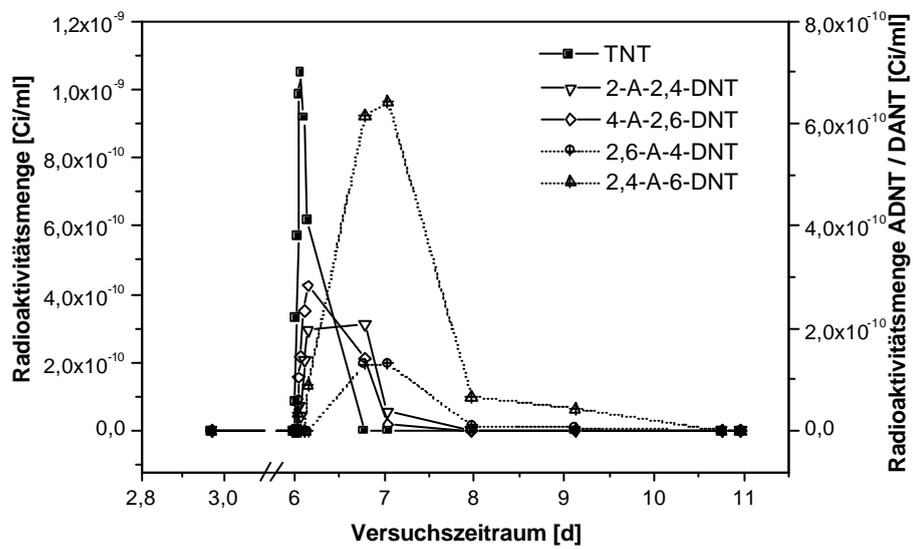


Abb. 4-41: Konzentrations-Zeit-Kurven von TNT, der beiden Monoamine und der beiden Diamine im Wasser nach der zweiten Dosierung (Radioaktivansatz Mehrfachdosierung). Versuchszeitraum: 2,9 – 11 Tage

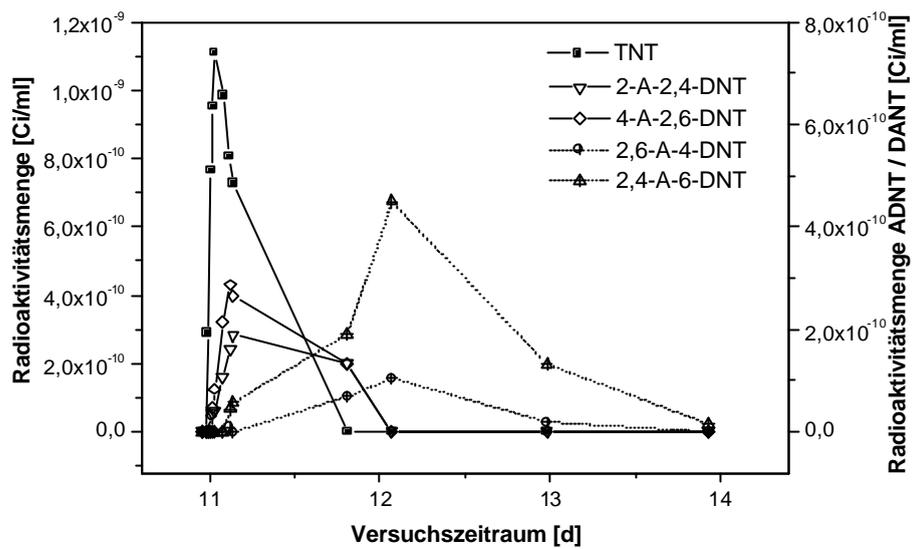


Abb. 4-42: Konzentrations-Zeit-Kurven von TNT, der beiden Monoamine und der beiden Diamine im Wasser nach der dritten Dosierung (Radioaktivansatz Mehrfachdosierung). Versuchszeitraum: 11 – 14 Tage

Die Konzentrations-Zeit-Kurven zeigen, dass die [¹⁴C]TNT-Konzentration bereits nach 1,7 Stunden das Maximum erreicht hat. Danach erfolgt ein rasches Absinken der gemessenen [¹⁴C]TNT-Konzentration. Nach 0,72 Stunden wurde bereits 2-A-4,6-DNT am Ablauf detektiert. Dies entspricht der Durchflusszeit des Aquariums. [¹⁴C]DANT konnten erstmals nach ca. drei Stunden nachgewiesen werden. Die Kurvenverläufe verdeutlichen wiederum, dass ein Teil von dem aus der Wasserphase eliminierten TNT zu den Metaboliten ADNT und DANT reduziert wurde. Die zeitliche Abfolge der Reduktion entspricht dabei der bereits in den vorherigen Versuchen gezeigten Reihenfolge.

Ein Vergleich der einzelnen Dosierungen untereinander (Tabelle 4-16) verdeutlicht, dass die TNT-Radioaktivitätsmaxima in allen drei Phasen zu ähnlichen Zeitpunkten ($t = 0,07$ d) auftreten. Der prozentuale Anteil der eingesetzten Radioaktivität betrug dabei durchschnittlich 9 %. Ebenfalls konnten beim Erreichen der Maxima der ADNT Parallelen festgestellt werden. Bei allen drei Dosierungen konnten nach ca. 0,15 Tagen die Maxima bestimmt werden. Die Ausnahme ist 2-A-4,6-DNT während der zweiten Dosierung. Hier wurde das Maximum nach 0,78 Tagen gemessen. Im Verlauf der Radioaktivitäts-Zeit-Kurve (Abb. 4-41) ist jedoch zu erkennen, dass bereits nach $t = 0,16$ Tagen 2-A-4,6-DNT mit ähnlicher Radioaktivitätsmenge detektiert wurde. Allein beim Auftreten der DANT waren Unterschiede sichtbar. So konnten bei der ersten Dosierung die DANT bereits nach $t = 0,77$ Tagen im Maximum detektiert werden. In den beiden anderen Phasen traten die Maxima erst nach $t = 1,04$ bzw. $t = 1,09$ Tagen auf.

Tabelle 4-16: Vergleich der Mengen und der Zeitpunkte der maximal detektierten Radioaktivitätsmenge in Abhängigkeit der Dosierung

	1. Dosierung		2. Dosierung		3. Dosierung	
	Zeitpunkt des Maximums [d]	Maximale Radio- aktivität [Ci/ml]	Zeitpunkt des Maximums [d]	Maximale Radio- aktivität [Ci/ml]	Zeitpunkt des Maximums [d]	Maximale Radio- aktivität [Ci/ml]
TNT	0,07	$6,53 \times 10^{-10}$	0,07	$1,05 \times 10^{-9}$	0,05	$1,11 \times 10^{-9}$
Eingesetzte Radioaktivität [Ci/ml]		$6,25 \times 10^{-9}$		$1,25 \times 10^{-8}$		$1,25 \times 10^{-8}$
Prozentualer Anteil der maximalen TNT- Radioaktivität [%]		10		8		9
2-A-4,6-DNT	0,16	$1,18 \times 10^{-10}$	0,78 (0,15)	$2,08 \times 10^{-10}$	0,16	$1,89 \times 10^{-10}$
4-A-2,6-DNT	0,16	$1,26 \times 10^{-10}$	0,15	$2,83 \times 10^{-10}$	0,14	$2,87 \times 10^{-10}$
2,6-DA-4-NT	0,77	$3,8 \times 10^{-11}$	1,04	$1,31 \times 10^{-10}$	1,09	$1,05 \times 10^{-10}$
2,4-DA-6-NT	0,77	$1,47 \times 10^{-10}$	1,04	$6,42 \times 10^{-10}$	1,09	$4,49 \times 10^{-10}$

Gleichzeitig unterscheiden sich die Zeitpunkte der auftretenden Maxima der Metaboliten zwischen den Versuchen mit nicht markiertem TNT und [^{14}C]TNT. Konnten in den nicht radioaktiven Untersuchungen die ADNT-Maxima erst nach einem Tag (Ausnahme 4-A-2,6-DNT im Versuch mit Glucose) gemessen werden, so wurden im Radioaktivansatz ADNT bereits nach 0,16 Tagen bestimmt. Die Unterschiede beim DANT sind noch größer. Bei den Untersuchungen mit nicht markiertem TNT und ohne Glucosezugabe wurden erst nach 17 Tagen die DANT-Maxima bestimmt (mit Glucosezugabe $t = 3,9$ d). Das Auftreten der TNT-Konzentrationsmaxima lagen im gleichen Zeitbereich. Direkte Ursachen für diese Unterschiede konnten nicht bestimmt werden. Eine mögliche Erklärung liegt in der Einrichtung der Aquarien. Die Aquarien für die Radioaktivuntersuchungen wurden früher vor dem eigentlichen Versuchsbeginn eingerichtet als die Aquarien für die Experimente mit nicht markiertem TNT. Dadurch konnten sich im System bereits anaerobere Verhältnisse bilden. Die Einrichtung der Aquarien zu einem früheren Zeitpunkt war notwendig, da mit Pflanzen aus der Pflanzenkläranlage gearbeitet wurde und diese sich bei einer späteren Entnahme bereits zurückgezogen hätten. Die Pflanzen wurden bis zur Verwendung im Experiment im Phytotron gelagert.

Eine Gegenüberstellung der integrierten Flächen (Tabelle 4-17) zeigt, dass die Summe der gebildeten Metaboliten im Gegensatz zu den Versuchen mit nicht markiertem TNT prozentual höher sind. Die Summe der ADNT-Flächen betragen bei der Betrachtung des gesamten Versuchszeitraumes 108 % der eingesetzten Radioaktivität (nicht markierter Versuch ca. 33%) und die Summen der DANT-Flächen sind 237 % der TNT-Fläche (nicht markierter Versuch: ohne Glucosezugabe 0,25% / mit Glucosezugabe 40 %). Ursachen dafür sind unter anderem, dass TNT in diesem Versuch bei allen drei Dosierungen sehr schnell aus dem Wasser entzogen wird.

Tabelle 4-17: Integrierte Flächen von TNT und dessen Metaboliten im betrachteten Versuchszeitraum

	Integrierte Fläche ¹			
	Gesamter Versuchszeitraum	1. Dosierung	2. Dosierung	3. Dosierung
TNT	$7,42 \times 10^{-10}$	$5,89 \times 10^{-11}$	$3,05 \times 10^{-10}$	$3,78 \times 10^{-10}$
2-A-4,6-DNT	$3,91 \times 10^{-10}$	$6,54 \times 10^{-11}$	$1,87 \times 10^{-10}$	$1,39 \times 10^{-10}$
4-A-2,6-DNT	$4,09 \times 10^{-10}$	$5,27 \times 10^{-11}$	$1,82 \times 10^{-10}$	$1,74 \times 10^{-10}$
Summe ADNT	$8,00 \times 10^{-10}$	$1,18 \times 10^{-10}$	$3,69 \times 10^{-10}$	$3,13 \times 10^{-10}$
Prozentualer Anteil der ADNT- Fläche von TNT-Fläche [%]	108	200	121	82
2,6-DA-4-NT	$2,92 \times 10^{-10}$	$2,54 \times 10^{-11}$	$1,54 \times 10^{-10}$	$1,12 \times 10^{-10}$
2,4-DA-6-NT	$1,47 \times 10^{-9}$	$1,50 \times 10^{-10}$	$8,15 \times 10^{-10}$	$5,02 \times 10^{-10}$
Summe DANT	$1,76 \times 10^{-9}$	$1,75 \times 10^{-10}$	$9,69 \times 10^{-10}$	$6,14 \times 10^{-10}$
Prozentualer Anteil der DANT- Fläche von TNT-Fläche [%]	237	297	318	162
Fläche HPLC-Messung	$3,30 \times 10^{-9}$	$3,52 \times 10^{-10}$	$1,64 \times 10^{-9}$	$1,31 \times 10^{-9}$
Fläche LSC-Messung	$4,02 \times 10^{-8}$	$7,09 \times 10^{-9}$	$1,93 \times 10^{-8}$	$1,39 \times 10^{-8}$
Prozentualer Anteil der HPLC-Fläche von LSC-Fläche [%]	8	5	9	9

¹ Flächen unterhalb der jeweiligen Konzentrations-Zeit-Kurven

Die integrierten Flächen aus der HPLC-Messung betragen 8 % der Flächen aus der LSC-Messungen. Diese prozentualen Anteile spiegeln gleichfalls den Anteil an der eingesetzten Radioaktivität wieder (Tabelle 4-12). Die gemessenen Radioaktivitätsmengen im LSC sind somit viel größer als die gemessenen Radioaktivitätsmengen in der HPLC. Eine Erklärung dafür ist die Entstehung von mittels HPLC nicht messbaren Substanzen, z.B. $[^{14}\text{C}]\text{CO}_2$, welches gelöst im Wasser vorliegt. In Abb. 4-39 ist die Gesamtradioaktivität der wässrigen Phase dargestellt. Eine Bestimmung des flüchtigen Anteils in der Wasserphase ergab, dass ca. 12 % der Radioaktivitätsmenge durch HCl-Zugabe und Stickstoffbegasung aus dem Wasser entfernbar sind, was für das Vorliegen von in Wasser gelöstem $[^{14}\text{C}]\text{CO}_2$ spricht. Eine Mineralisierung von 12 % wäre jedoch im Vergleich zu anderen Studien sehr hoch. So gelang bisher der Nachweis einer teilweisen Mineralisierung von TNT nur durch den Einsatz von ligninolytischen und zellolytischen Pilzen, die durch Exoenzyme mittels unspezifischer radikalischer Mechanismen in der Lage sind, den Aromatenkern zumindest teilweise zu oxidieren [78,146,147]. In anderen Studien, die sich mit dem Abbau von TNT im Boden beschäftigen, konnte nur 2 % der eingesetzten Radioaktivität in Form von $[^{14}\text{C}]\text{CO}_2$ gemessen werden [118]. Es könnten deswegen auch andere im Wasser befindliche Stoffe ausgetrieben werden. Falls sich im System NT gebildet haben, wäre eine Verflüchtigen der Stoffe in die Gasphase aufgrund des hohen Dampfdruckes denkbar. Eine andere Möglichkeit ist die Bildung von TAT, welches in einer HPLC-Messung nicht detektierbar ist. Die Daten aus der HPLC können somit nicht zur Bilanzierung genutzt werden. Die Daten dienen ausschließlich dem Nachweis der entstanden und mittels HPLC messbaren Metaboliten und der Darstellung der Abnahme der TNT-Radioaktivitätsmenge aus der Wasserphase.

Aus der LSC-Messung im Wasser (siehe Abb. 4-39) wird deutlich, dass die zugeführte Radioaktivitätsmenge aus dem Wasser eliminiert wird. Um die Eliminierungswege nachvollziehen zu können, wurden am Ende des Versuches alle Kompartimente hinsichtlich der aufgenommenen Radioaktivitätsmenge untersucht. Dazu wurden Proben von Lava, Wurzeln und Pflanzen genommen, aufbereitet und zur Messung der jeweiligen Radioaktivitätsmenge im Oxidizer verbrannt. Weiterhin wurden Proben von Schläuchen der Anlage verbrannt, um Verluste durch Adsorption an diesen Materialien nachvollziehen zu können. In Tabelle 4-18 sind die wiedergefundenen Radioaktivitätsmengen der einzelnen Kompartimente (auf die jeweilige Gesamtmenge hochgerechnet) dargestellt. Diese wurden jeweils auf die eingesetzte Gesamtradioaktivitätsmenge bezogen und spiegeln den Zustand am Ende des Versuches wieder.

Tabelle 4-18: Bilanz des Radioaktivansatzes Mehrfachdosierung

		Radioaktivitätsmenge [μCi]	Prozentualer Anteil an der eingesetzten Gesamtradioaktivitätsmenge [%]
<i>Eingesetzte Radioaktivitätsmenge</i>		197,00	100
Lava	Einlauf	13,89	7,10
	Mitte	8,99	4,56
	Ablauf	7,07	3,59
	Rest	25,32	12,86
	Wurzelbereich	12,41	7,31
	Summe	67,68	34,36
Wurzeln		87,61	44,47
Pflanzen		0,37	0,19
Gasphase (absorbierbar)		n.g.	n.g.
Wässrige Phase (beinhaltet auch durch HCl-Zugabe und Stickstoff- zufuhr eliminierbares [^{14}C])		15,20	7,72
Schläuche		0,24	0,12
<i>Summe der wiedergefundenen Radioaktivitätsmenge</i>		171,11	86,86

In diesem Versuchsansatz wird der größte Anteil der Radioaktivitätsmenge an den Wurzeln adsorbiert (45 % der eingesetzten Radioaktivitätsmenge). In der Lava konnten 35 % wiedergefunden werden. Die Radioaktivitätsmenge in der Lava untergliederte sich nochmals in verschiedene Bereiche. So wurden im Einlaufbereich des Aquariums, in der Mitte und im Ablaufbereich Proben genommen und verbrannt. Gleichzeitig erfolgte eine Untersuchung der Lava, die zwischen den Wurzeln lagerte und eines Lavarestes, der nicht eindeutig einem Bereich zuzuordnen war. In den Wurzeln und den wurzelnahen Lavabereichen wurde somit der größte Anteil der eingesetzten Radioaktivitätsmenge gemessen. In den Pflanzensprossen wurden ca. 0,2 % der eingesetzten Radioaktivitätsmenge wiedergefunden, in der wässrigen Phase verblieben

noch 7,7 %. Der hohe Anteil an Radioaktivität in der wässrigen Phase ist durch den Zeitpunkt des Versuchsabbruchs zu erklären, da zu diesem Zeitpunkt noch keine vollständige Eliminierung von TNT und seinen Metaboliten aus der Wasserphase gegeben war. An den Schläuchen wurden 0,1 % der eingesetzten Radioaktivitätsmenge adsorbiert. Die eingesetzte Radioaktivitätsmenge konnte somit zu 87 % wiedergefunden werden. Insgesamt ergibt sich für die Verteilung der Radioaktivität in den Kompartimenten ein Bild, welches prinzipiell mit Ergebnissen aus anderen Untersuchungen übereinstimmt [17]. So wurden ebenfalls 41% der eingesetzten Radioaktivität nach 5 Wochen Versuchszeit irreversibel an der Bodenmatrix gebunden. TNT lag am Ende der Versuchsphase zu 94 % transformiert vor [17].

Die Eliminierung von TNT aus dem Wasser erfolgt zum einen durch Reduktion dieses Stoffes in die Metaboliten ADNT und DANT, zum anderen durch Anlagerung von TNT und der Reduktionsprodukte an der Lava und an den Wurzeln der Pflanzen. Ein genaues Spezifizieren der adsorbierten Nitroaromaten war jedoch nicht möglich, da nur die Gesamtradioaktivitätsmenge mittels Verbrennung bestimmbar war. Weiterhin konnte nicht festgestellt werden, inwieweit TNT teilweise mineralisiert wurde, da bei diesem Versuch keine Beprobung der Gasphase durchgeführt wurde. Die Tatsache, dass ein Teil der Radioaktivität aus dem Wasser mit starker Säure austreibbar ist, lässt jedoch auf eine teilweise Mineralisierung schließen. Diese Aussagen sollten in den nächsten Versuchen weiter evaluiert werden.

4.3.3.2 Einfachdosierung von [¹⁴C]TNT

In der vorherigen Studie konnte durch die Mehrfachdosierung nicht genau nachvollzogen werden, welche gemessenen Anteile von TNT und Reduktionsprodukten aus der jeweiligen Dosierung stammten. Besonders vor der dritten Zudosierung wurde DANT im Wasser detektiert. In diesem Versuchsansatz wurde daher TNT und [¹⁴C]TNT nur einmal zudosiert, dabei wurde keine zusätzliche Kohlenstoffquelle zugegeben.

Für diesen Versuch wurde entsprechend der beschriebenen Methode bei 37 min das Maximum der Absorptionseinheiten der Durchgangskurve bestimmt. Die Zudosierung von [¹⁴C]TNT erfolgte wiederum durch Zugabe in eine Vorratsflasche, die anschließend an das mit Wasser gefüllte Aquarium angeschlossen und in den Kreislauf integriert wurde. Es wurde in diesem Versuch eine Radioaktivitätsmenge von 125 µCi zugeführt (Startkonzentration im gesamten System: $c = 1,52 \times 10^{-8}$ Ci/ml).

In Abb. 4-43 ist der zeitliche Verlauf der Radioaktivitätsmenge in der flüssigen Phase durch LSC-Bestimmung dargestellt. In dieser Abbildung wurde die gesamte Zeitachse zur besseren Veranschaulichung der Messpunkte logarithmisch aufgetragen.

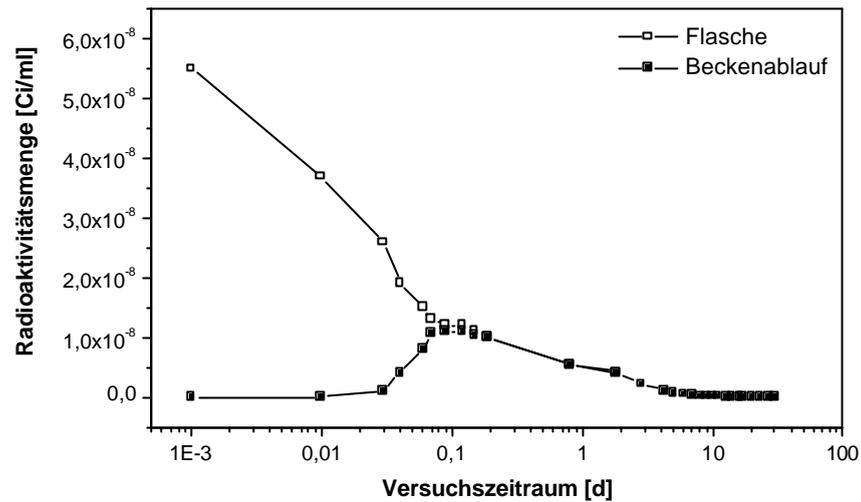


Abb. 4-43: Darstellung der mittels Flüssigszintillationsmessung ermittelten Radioaktivitätsmenge im Wasser (Radioaktivversuch Einfachdosierung ohne zusätzliche Kohlenstoffquelle)

Auch bei diesem Versuch gleichen sich die beiden Radioaktivitätsverläufe über den Versuchszeitraum an. Gleiche Radioaktivitätsmengen am Beckenablauf und in der Flasche wurden nach 2,8 Stunden erreicht. Innerhalb dieser Zeit wurde das Wasser wiederum ca. viermal durch das Becken gepumpt. Die maximale Radioaktivitätsmenge am Beckenablauf wurde nach 2,2 Stunden gemessen. Sie betrug dabei $1,11 \times 10^{-8}$ Ci/ml, was einem prozentualen Anteil zur eingesetzten Radioaktivität von 73 % entsprach. Dieser Prozentsatz liegt wiederum im ähnlichen Bereich wie bei den vorherigen Versuchen.

Es wurden weiterhin Proben vom Beckenablauf genommen, um die Nitroaromatenspezies mittels Radio-HPLC zu identifizieren und zu quantifizieren. Die Radioaktivitäts-Zeit-Verläufe der detektierten Spezies sind in Abb. 4-44 graphisch dargestellt. Es wurden TNT, 2-A-4,6-DNT und 4-A-2,6-DNT sowie 2,4-DA-6-NT bzw. 2,6-DA-4-NT detektiert.

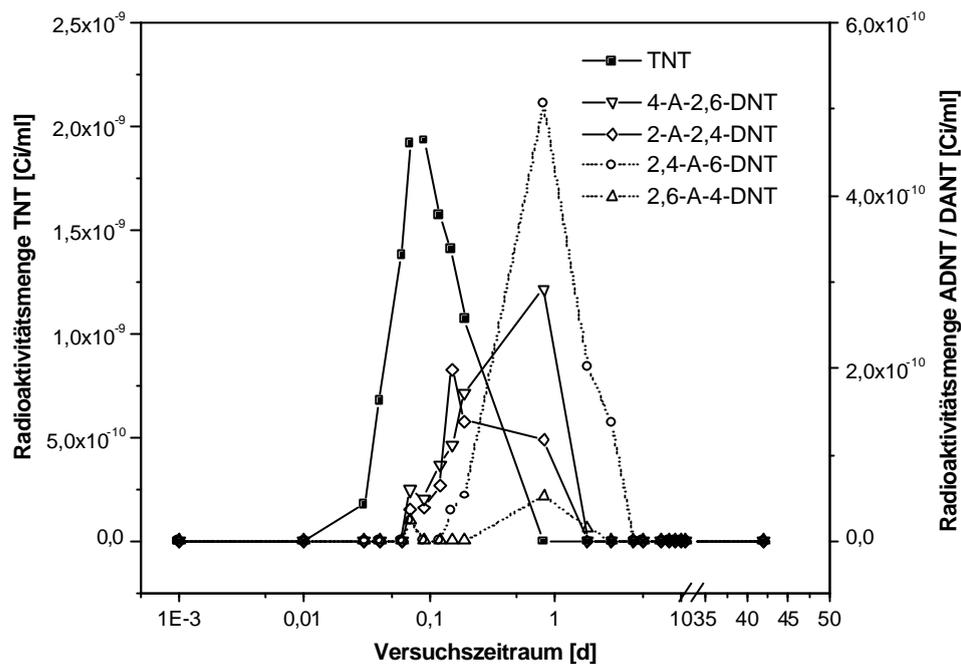


Abb. 4-44: Radioaktivitäts-Zeit-Kurven von TNT, Monoaminen und Diaminen (Radio-HPLC), Radioaktivversuch Einfachdosierung ohne zusätzliche Kohlenstoffquelle

Der zeitliche Verlauf der Reduktion von TNT über ADNT zu DANT ist auch bei diesem Versuch sehr gut nachvollziehbar und bestätigt wiederum die Aussage über den postulierten Abbauweg. Mittels Radio-HPLC konnten wie bei den anderen Versuchen auch innerhalb der Nachweisgrenze keine anderen Spezies bestimmt werden.

Zu Beginn des Versuches wurde am Ablauf des Beckens nur [¹⁴C]TNT detektiert (erste Detektion nach 43 min). Die gemessene [¹⁴C]TNT-Konzentration stieg während des Versuches an. Nach 2,1 Stunden, dies entspricht ca. einer 3,5fachen Wechselrate des Wassers, konnte das Maximum an radioaktivem TNT bestimmt werden. [¹⁴C]ADNT wurde erstmals nach 1,7 Stunden detektiert (maximale Radioaktivitätsmenge für diese Stoffklasse nach 19 Stunden). Aufgrund der zeitlichen Differenz zwischen dem vorherigen Probenahmezeitpunkt (15 Stunden) kann die maximale Konzentration von [¹⁴C]ADNT jedoch auch vor 19 Stunden liegen. Diese Aussage ist wahrscheinlich, da nach 19 Stunden auch die maximalen Konzentrationen von DANT bestimmt wurden. Der Anstieg der DANT-Konzentrationen konnte jedoch erst ab einem späteren Zeitpunkt analysiert werden. Die anschließende Abnahme der detektierten [¹⁴C]DANT erfolgte langsamer als bei [¹⁴C]ADNT.

Ein Vergleich der Radioaktivitäts-Zeit-Kurven der wässrigen Phase aus der LSC-Messung mit den Daten aus der Radio-HPLC-Messung ergab wiederum eine Differenz zwischen den ermittelten Gesamtradioaktivitätsmengen (Tabelle 4-19).

Tabelle 4-19: Integrierte Flächen zum Vergleich der ermittelten Radioaktivitätsmengen in der wässrigen Phase durch LSC-Messung und Addition der einzelnen [¹⁴C]-Species in der Radio-HPLC von TNT und dessen Metaboliten im betrachteten Versuchszeitraum

	Integrierte Fläche ¹
TNT	5,60x10 ⁻¹⁰
2-A-4,6-DNT	1,52x10 ⁻¹⁰
4-A-2,6-DNT	3,03x10 ⁻¹⁰
Summe der ADNT-Flächen	4,55x10 ⁻¹⁰
Prozentualer Anteil der ADNT-Fläche von TNT-Fläche [%]	81
2,6-DA-4-NT	5,82x10 ⁻¹¹
2,4-DA-6-NT	7,99x10 ⁻¹⁰
Summe der DANT-Flächen	8,57x10 ⁻¹⁰
Prozentualer Anteil der DANT-Fläche von TNT-Fläche [%]	153
Fläche HPLC-Messung	1,87x10 ⁻⁹
Fläche LSC-Messung	2,13x10 ⁻⁸
Prozentualer Anteil der Fläche HPLC-Messung von LSC-Messung [%]	9

¹ Flächen unterhalb der jeweiligen Konzentrations-Zeit-Kurven

Die Differenz zwischen den beiden gemessenen Radioaktivitätsmengen nimmt zu Beginn des Versuches zu und erreicht das Maximum nach 2,9 Stunden. Nach 2,88 Tagen konnten keine [¹⁴C]-Nitroaromaten mittels Radio-HPLC mehr detektiert werden. Eine Untersuchung der wässrigen Phase hinsichtlich des mittels HCl (37 %) und Stickstoffzufuhr austreibbaren Anteils ergab, dass ca. 15 % der Radioaktivitätsmenge nicht mehr im Wasser messbar waren. Nach dieser Aussage wurde die Luft hinsichtlich der Bildung von [¹⁴C]-flüchtigen Stoffen untersucht. Dazu wurde ein Teilluftstrom über Absorptionsfallen geleitet und die Absorptionsmedien auf den Gehalt an [¹⁴C] hin untersucht. Es wurden durchschnittlich 0,18 µCi bestimmt. Dies entspricht 0,2 % der eingesetzten Radioaktivität.

Nach diesem Versuch wurden die einzelnen Kompartimente hinsichtlich der aufgenommenen [¹⁴C]-Radioaktivitätsmenge untersucht. Dazu erfolgte wieder eine Verbrennung der Proben im

Oxidizer. In Tabelle 4-20 sind die gemessenen Radioaktivitätsmengen der Kompartimente dargestellt.

Tabelle 4-20: Bilanz des Radioaktivansatzes Einfachdosierung ohne Glucosezugabe

		Radioaktivitätsmenge [μCi]	Prozentualer Anteil an der eingesetzten Gesamtaktivitätsmenge [%]
<i>Eingesetzte Radioaktivitätsmenge</i>		110,00	100
Lava	Einlauf	1,42	1,29
	Mitte	2,19	1,99
	Ablauf	1,54	1,40
	Rest	4,97	4,52
	Wurzelbereich	19,57	17,79
	Summe	29,09	26,44
Wurzeln		74,06	67,33
Pflanzen		0,34	0,31
Gasphase (absorbierbar)		0,18	0,16
Wässrige Phase (beinhaltet auch durch HCl-Zugabe und Stickstoff- zufuhr eliminierbares [^{14}C])		0,39	0,35
Schläuche		0,72	0,65
<i>Summe der wiedergefundenen Radioaktivitätsmenge</i>		105,39	95,81

In diesem Versuchsansatz wurde die größte Menge an Radioaktivität wiederum an den Wurzeln adsorbiert (67 %). In der Lava konnten 27 % wiedergefunden werden. Den größten Anteil in der Lava hat dabei die Lava im Wurzelbereich. In dieser Zone wurden 18 % der Gesamtradioaktivitätsmenge gemessen. In den Pflanzensprossen wurden nur geringe Radioaktivitätsmengen gemessen, der prozentuale Anteil betrug 0,3 % und liegt damit im gleichen Bereich wie im ersten Versuch (Mehrfachdosierung). In der wässrigen Phase verblieben ebenfalls nur geringe Mengen (0,35 %). Die Eliminierung der Schadstoffe aus dem Wasser erfolgte somit zu

einem Anteil von 99,65 %. In der absorbierbaren Gasphase wurde ein Anteil von 0,2 % an der eingesetzten Gesamtradioaktivitätsmenge ermittelt. Daher kann davon ausgegangen werden, dass nur ein sehr geringer Teil der Schadstoffe bzw. gebildetes [^{14}C]CO₂ in die Gasphase gelangt. An den Schläuchen der Anlage wurden 0,65 % adsorbiert. Die eingesetzte Radioaktivitätsmenge konnte somit in diesem Versuch zu 96 % in den untersuchten Kompartimenten wiedergefunden werden. Durch die Beprobung der Kompartimente Wasser, Luft, Boden und Pflanzen kann bei der Eliminierung von TNT davon ausgegangen werden, dass TNT nur in geringen Maße mineralisiert wird und das dabei gebildete CO₂ ebenfalls nur in sehr geringem Maße aus der wässrigen Phase entweicht. Dies spricht dafür, dass bei der sauren Austreibung nicht ausschließlich [^{14}C]CO₂ gemessen wird. Bei einem pH-Wert von 6,9 müsste [^{14}C]CO₂ sonst in größeren Mengen aus dem Wasser in die Gasphase übertreten. Ebenso wenig ist mit einer Verflüchtigung der Nitroaromaten in die Gasphase zu rechnen. Auch in diesem Versuch wird die Aussage bestätigt, dass die größten Mengen an radioaktiven Spezies in der Wurzelzone adsorbiert werden.

In anderen Studien, die sich mit dem Abbau von TNT im Boden beschäftigen, wurde die Vermutung geäußert, dass eine nahezu quantitative Festlegung der Reduktionsprodukte an Bodenbestandteile erfolgt. Die Markierungsversuche zeigten, dass bereits nach 18 Tagen der überwiegende Teil der Radioaktivität am Boden gebunden war [118]. Untersuchungen von TNT-kontaminierten Wässern an einer Kläranlage wiesen ebenfalls eine sehr geringe Mineralisierung auf. Gleichzeitig war die Bildung von [^{14}C]-flüchtigen Stoffen vernachlässigbar [25]. Eine Mineralisierung von TNT erfolgt in diesen Versuchen in geringen Mengen.

4.3.3.3 Einfachdosierung von [^{14}C]TNT in Gegenwart einer zusätzlichen Kohlenstoffquelle (Glucose)

In Modellanlagen-Versuchen mit nicht markiertem TNT in Gegenwart einer zusätzlichen Kohlenstoffquelle (Glucose) konnte gezeigt werden, dass der Abbau gegenüber Versuchen ohne Glucose signifikant schneller und vollständiger verläuft. Der Abbauweg von TNT zu DANT in der wässrigen Phase wurde in diesen Versuchen aufgezeigt. Unklar ist jedoch, ob sich durch die Gegenwart von Glucose als Kohlenstoffquelle auch eine Veränderung in der Verteilung von TNT und seinen Abbauprodukten in den Kompartimenten der Modellanlage einstellt. Um diese Verteilung qualitativ und quantitativ bestimmen zu können, wurde in der Modellanlage ein Versuch mit [^{14}C]TNT in Gegenwart von Glucose als Kohlenstoffquelle durchgeführt.

Zu diesem Zweck wurde eine Modellanlage aufgebaut, bei der vergleichbare Verhältnisse wie im Versuch mit nicht markiertem TNT geschaffen wurden. Dazu wurde der Modellanlage in regelmäßigen Abständen Glucose zudosiert. Die Zudosierung wurde so durchgeführt, dass zum Zeitpunkt der Injektion eine Glucosekonzentration von 0,03 % in der gesamten Modellanlage entstand. Eine TOC-Bestimmung wurde aus sicherheitstechnischen Gründen in diesem Versuch nicht durchgeführt. Die Verweilzeit der Modellanlage wurde mit der Partikelmethode zu 57 min bestimmt.

Zum Start des Versuches wurde, identisch zum Versuch ohne Glucose, [^{14}C]TNT in die Vorratsflasche zudosiert. Dabei wurde wiederum eine Angleichung der Konzentrationen am Beckenablauf und in der Flasche beobachtet, der Zeitpunkt des Angleichs betrug ca. drei Stunden (Abb. 4-45).

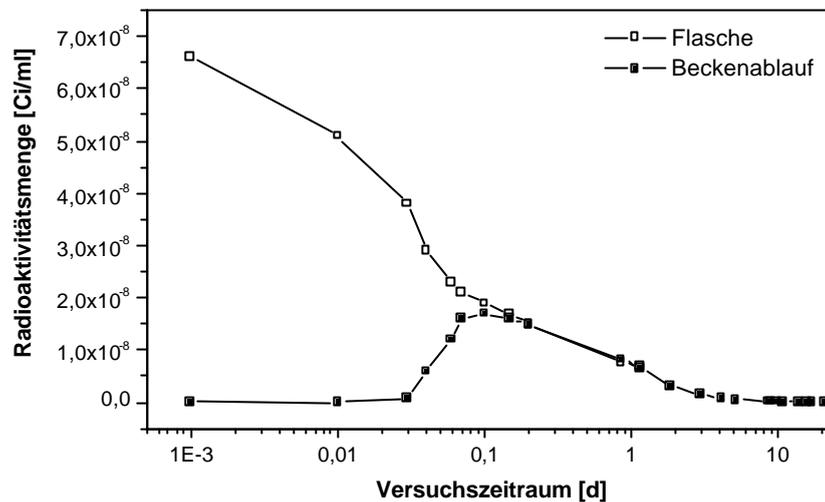


Abb. 4-45: Darstellung der mittels Flüssigszintillationsmessung ermittelten Radioaktivitätsmenge (Beckenablauf, Probenflasche), Versuch: Einfachdosierung von [^{14}C]TNT in Gegenwart einer zusätzlichen Kohlenstoffquelle

In diesem Versuch wurde auf eine Identifizierung der TNT-Metaboliten verzichtet, da diese bereits im Versuch mit nicht markiertem TNT in Gegenwart von Glucose durchgeführt wurde. Um eine quantitative Abschätzung der Anlagerung von TNT bzw. seinen Metaboliten in den Kompartimenten der Modellanlage zu machen, wurde analog zum System ohne Glucose eine Beprobung der verschiedenen Kompartimente vorgenommen und die Proben entsprechend gemessen. Aus diesen Experimenten ergab sich folgende Verteilung der Radioaktivitätsmengen (Tabelle 4-21):

Tabelle 4-21: Bilanz des Radioaktivansatzes Einfachdosierung mit Glucosezugabe

		Radioaktivitätsmenge [μCi]	Prozentualer Anteil an der eingesetzten Gesamtaktivitätsmenge [%]
<i>Eingesetzte Radioaktivitätsmenge</i>		132,00	100
Lava	Einlauf	1,02	0,77
	Mitte	3,09	2,34
	Ablauf	2,21	1,67
	Rest	12,49	9,46
	Wurzelbereich	39,50	29,92
	Summe	58,31	44,17
Wurzeln		61,67	46,72
Pflanzen		0,34	0,26
Gasphase (absorbierbar)		0,02	0,02
Wässrige Phase (beinhaltet auch durch HCl-Zugabe und Stickstoff- zufuhr eliminierbares [^{14}C])		0,45	0,34
Schläuche		1,1	0,83
<i>Summe der wiedergefundenen Radioaktivitätsmenge</i>		122,47	92,78

Auch hier wurde der Hauptanteil der gemessenen Radioaktivitätsmenge in den Wurzeln bzw. in den wurzelnahen Lavabereichen gefunden. Dies spricht wiederum für eine hauptsächliche Anlagerung von TNT und seinen Metaboliten in bzw. an den Wurzelzonen der Pflanzen. Die Pflanzensprossen zeigen eine nur geringe Aufnahme, ebenso gering ist die gemessene Radioaktivitätsmenge in der Gasphase. Die wässrige Phase enthält ebenfalls nur geringe Anteile, was eine nahezu vollständige Eliminierung des Schadstoffes aus dem Wasser demonstriert. Auch die Schläuche der Modellanlage zeigen nur kleinere Radioaktivitätsmengen. Die wiedergefundene Radioaktivitätsmenge entspricht ca. 93 % der eingesetzten Radioaktivitätsmenge und liegt damit im Bereich des Versuches ohne Glucosezugabe.

Durch diesen Versuch mit Glucose konnte gezeigt werden, dass die Verteilung von TNT und dessen Abbauprodukten dem Versuch ohne Glucose sehr ähnlich ist. Glucose als zusätzliche Kohlenstoffquelle bewirkt somit offenbar eine schnellere Reduktion des TNT, hat jedoch keinen Einfluss auf die Verteilung des Schadstoffes und seiner Abbauprodukte in den Kompartimenten der Modellanlage. Inwieweit der Reduktionsgrad sich auf die Bindungsart und somit auf die Reversibilität der Bindung auswirkt, kann in diesen Studien jedoch nicht nachvollzogen werden.

4.3.3.4 Vergleichende Betrachtung der Versuche mit ^{14}C TNT

In Abb. 4-46 ist eine vergleichende Darstellung der prozentualen Anteile der gefundenen Radioaktivitätsmengen in den Kompartimenten der Modellanlage entsprechend der durchgeführten Versuche gezeigt. Dabei wurden die gemessenen Radioaktivitätsmengen jeweils auf die eingesetzte Radioaktivitätsmenge normiert.

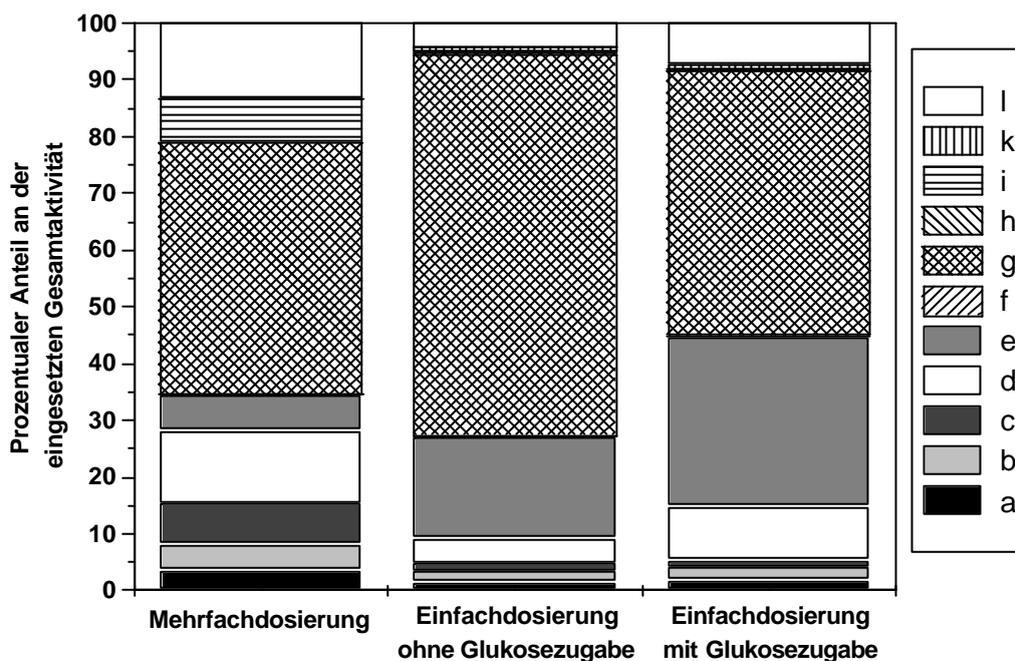


Abb. 4-46: Vergleich der Bilanzierungen der drei Radioaktivversuche (a - Lava/Ablauf, b - Lava/Mitte, c - Lava/Einlauf, d - Lava/Rest, e - Lava/Wurzelballen, f - Pflanzen, g - Wurzeln, h - Gasphase (absorbierbar), i - wässrige Phase, k - Schläuche, l - Differenz zw. Summe der gemessenen und eingesetzten Radioaktivitätsmenge)

Es zeigt sich, dass der Versuch mit Mehrfachdosierung ein verändertes Bild gegenüber den Versuchen mit Einfachdosierung aufweist. Dies ist auf den frühen Zeitpunkt des Versuchsabbruchs zurückzuführen, wodurch sich ein relativ hoher Anteil der Radioaktivitätsmenge in der wässrigen

Phase befand. Dies kann auf die Existenz von TNT-Metaboliten zurückgeführt werden. Bemerkenswert ist hier ein reduzierter Anteil der in der wurzelnahen Lavazone gefundenen Radioaktivitätsmenge. In den Versuchen mit Einfachdosierung ergaben sich jeweils ähnliche Verteilungen in den Kompartimenten. Unterschiede zeigten sich in der Verteilung zwischen den Wurzeln und den wurzelnahen Lavabereichen. Addiert man diese beiden Anteile jeweils auf, so ergibt sich eine sehr ähnliche Akkumulation von Radioaktivität in den beiden Kompartimenten. Dies deutet darauf hin, dass das Wasser in den Aquarien bevorzugte Fließwege aufweist und sich die Schadstoffe bevorzugt an den dortigen Kompartimenten adsorptiv anlagern. Dieser Effekt deutet weiterhin darauf hin, dass keine Aufnahme der Schadstoffe in die Wurzel erfolgt, sondern lediglich eine Bindung an die Oberfläche von Wurzeln und Lava vonstatten geht. Dies wurde in anderen Untersuchungen beschrieben [148]. Eine solche Bindung der Schadstoffe an die Oberfläche von Wurzeln und Lava ist mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit an die Existenz eines Biofilms auf den jeweiligen Oberflächen verbunden. In der Literatur wurde bereits auf die Affinität von Aminogruppen zu solchen Biofilmen hingewiesen [33]. Somit kann davon ausgegangen werden, dass nicht TNT, sondern TNT-Abbauprodukte, bei denen Nitrogruppen zu Aminogruppen reduziert wurden, an die Oberflächen binden. Ein weiterer Effekt der Bindung von TNT-Folgeprodukten ist die teilweise kovalente Verbindung der Metaboliten mit organischen Bestandteilen des Biofilms [20]. Um zu prüfen, ob die Bindung der Metaboliten an die Oberfläche kovalent ist, wurden Versuche für die Eluierbarkeit der gefundenen Radioaktivitätsmenge an Lava-Oberflächen aus dem wurzelnahen Bereich durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4-22 dargestellt:

Tabelle 4-22: Elutionsversuch von Lava aus dem wurzelnahen Bereich

Elutionsmittel	Prozentualer Anteil der eluierbaren Radioaktivitätsmenge [%]
Acetonitril	44,7
HCl (37 %)	65,1
NaOH (1 M)	72,3

Es zeigte sich, dass mit allen drei Elutionsmitteln radioaktive Spezies eluierbar waren. Dabei wurden mit Acetonitril die geringste Menge an Radioaktivität, mit HCl und NaOH wesentlich größere Radioaktivitätsmengen eluiert. Es ist davon auszugehen, dass Acetonitril nicht geeignet ist, um kovalente Bindungen zwischen Metaboliten und Biofilm zu spalten. Dies wird erst durch drastische Elutionsbedingungen, wie konzentrierte HCl oder NaOH erreicht, bei dem der Biofilm zerstört wird. Somit kann angenommen werden, dass ein Teil der Metaboliten kovalent an die Lava bzw. deren Biofilm gebunden ist. Weiterhin ist aufgrund der bei allen drei Elutionsmitteln

gefundenen eluierbaren Radioaktivitätsmengen von einem beträchtlichen Anteil an adsorptiv gebundenen Metaboliten auszugehen.

Aufgrund der hohen Reversibilität kann angenommen werden, dass ein Großteil der gebundenen Nitroaromaten nicht in Form von TAT vorlag. Diese Vermutung wird unterstützt durch den in anderen Studien beobachteten Effekt einer sehr starken Bindung von TAT an die Bodenmatrix [123]. Dadurch ist eine Desorption nicht mehr möglich.

4.3.4 Zusammenfassung

Die Versuche an der Modellanlage zeigten, dass der molekulare Abbauweg identisch mit dem Abbauweg in der Pflanzenkläranlage ist. Somit ist die Modellanlage zur Simulation der Verhältnisse in der Pflanzenkläranlage geeignet. Es konnte gezeigt werden, dass der Abbau von TNT durch die Zugabe einer zusätzlichen Kohlenstoffquelle beschleunigt wird. Dies wird mit hoher Wahrscheinlichkeit durch einen begünstigten Cometabolismus von TNT durch abbauende Mikroorganismen verursacht. Zudem werden durch die Zugabe der Kohlenstoffquelle günstigere Milieubedingungen für den Abbau von TNT geschaffen. Die Milieubedingungen können dabei auch so beeinflusst werden, dass im Untergrund ablaufende eine abiotische Reduktion von TNT im Untergrund selbständig ablaufen kann. Wie bereits im Kapitel 2.2.1.4 beschrieben können durch vorherrschende Milieubedingungen, die unter anderem durch den Einsatz von Glucose beeinflussbar sind, im Untergrund die Reduktion von Nitrogruppen in Aminogruppen unter dem Einfluss von z.B. eisenhaltigen Materialien ablaufen [55]. Dabei wurde eine im Untergrund stattfindende abiotische Umwandlung von Nitrogruppen in Aminogruppen durch eine oxidative Umwandlung von zweiwertigem Eisen zu dreiwertigem Eisen gezeigt. Somit kann unter Umständen eine abiotische und biotische Reduktion von TNT in der Modellanlage gegeben sein.

In den durchgeführten Versuchen mit [¹⁴C]TNT wurde demonstriert, dass der Abbauweg von [¹⁴C]TNT identisch mit dem Abbauweg bei den Versuchen mit nicht markiertem TNT bzw. in der Pflanzenkläranlage war. Die durchgeführte Bilanzierung der Kompartimente der für die mit [¹⁴C]TNT-Versuchen genutzten Modellanlagen zeigte, dass der Hauptanteil der eingesetzten Radioaktivität an die Lava und die Wurzeln gebunden wurde. Dies korreliert mit Erkenntnissen aus der Literatur, wo die Bindung von TNT-Abbauprodukten an Biofilme auf der Oberfläche der Bodenmatrix beschrieben ist.

Aus den gewonnenen Erkenntnissen lässt sich der Abbauweg von TNT in der Modellanlage postulieren: TNT wird in der wässrigen Phase über ADNT zu DANT und wahrscheinlich weiter zu TAT abgebaut. Diese Abbauprodukte lagern sich an die Oberflächen von Lava und Wurzeln an, wobei sich adsorptive und kovalente Bindungen zwischen Metaboliten und Oberflächen ausbilden. Auf diese Weise kann TNT aus dem Wasser eliminiert werden.

4.4 Untersuchungen mit anderen Nitroaromaten an der Pflanzenkläranlage

4.4.1 Eliminierung der Nitroaromaten

Bei der Herstellung von TNT entstehen eine Reihe von Nebenprodukten, die sich vorwiegend aus Nitroaromaten zusammensetzen (siehe Kap. 2.1.1). Darüber hinaus kann es beim Abbau von TNT im Boden und Grundwasser ebenfalls zur Bildung von Nitroaromaten durch Abspaltung der Nitrogruppen kommen. Unter aeroben Bedingungen wurde nachgewiesen, dass mittels *Pseudomonas* ein Hydrid-Meisenheimer-Komplex gebildet werden kann, indem eine nukleophile Substitution durch H^- aus NAD(P)H erfolgt. Im nächsten Reaktionsschritt geschieht die NO_2^- Gruppenabspaltung [60]. Ebenfalls konnte die initiale Reaktion zum Hydrid-Meisenheimer-Komplex durch *Mycobacterium sp.* gezeigt werden [62]. Die Reaktionen laufen dabei ähnlich denen bei der Umwandlung von Pikrinsäure ab. Auch hier wird ein Hydrid-Meisenheimer-Komplex gebildet, bevor die Abspaltung der Nitrogruppen erfolgt [131]. Somit wird eine TNT-Kontamination mit hoher Wahrscheinlichkeit von Kontaminationen durch andere Nitroaromaten begleitet. Die reduktive Nitrit-Abspaltung spielt im Gegensatz zur Reduktion der Nitrogruppen in Aminogruppen zwar nur eine untergeordnete Rolle [1]. Da die Metaboliten, insbesondere 2,6-DNT jedoch eine 150fache Toxizität gegenüber TNT aufweisen, müssen die Kokontaminationen bei der Sanierung mit berücksichtigt werden. Für den Altlastenstandort Verwertchemie (DAG) in Stadallendorf wurden z.B. als typische Verteilungshäufigkeiten 38 % (TNT), 16 % (2,4-DNT), 13 % (2,6-DNT), 7,5 % (2-NT), 4 % (3-NT), 7 % (4-NT), 16 % (4-A-2,6-DNT) und 14 % (2-A-4,6-DNT) gefunden [1]. Eine Pflanzenkläranlage, die zur Dekontamination von TNT-belasteten Wässern eingesetzt wird, muss demnach auch für die Eliminierung von TNT-begleitenden Nitroaromaten anwendbar sein. Um diese Anwendbarkeit zu prüfen, wurde an der Pflanzenkläranlage eine Untersuchung für die Eliminierbarkeit der Nitroaromaten 2,4-DNT, 2,6-DNT, 2-NT, 3-NT und 4-NT durchgeführt. Im Rahmen dieser Experimente wurde die allgemeine Eliminierbarkeit dieser Nitroaromaten aus dem Wasser überprüft, es wurde der Einfluss der Außentemperatur (Abhängigkeit von der Jahreszeit) bestimmt und es wurden die Adsorption bzw. Aufnahme der Schadstoffe durch verschiedene Matrices untersucht.

Zum Studium der Eliminierbarkeit der Schadstoffe wurden der Pflanzenkläranlage neben TNT die oben genannten Nitroaromaten in real vorkommenden Konzentrationen zudosiert. Es wurden in Analogie zu den mit TNT durchgeführten Untersuchungen die Zu- und Ablaufkonzentrationen vor und nach dem ersten Becken mittels HPLC bestimmt und daraus die flächenspezifischen Daten ermittelt. Die erhaltenen Ergebnisse sind in Tabelle 4-23 dargestellt.

Tabelle 4-23: Flächenbelastung, Fracht, Wirkungsgrad der Nitroaromatenzulauf- bzw. Nitroaromatenablaufkonzentration in Abhängigkeit der Temperatur

		Flächenspezifische Daten			
Redoxpotential [mV]		Flächenbelastung [mg/(d*m ²)]	Zulauffracht [mg/d]	Ablauffracht [mg/d]	Wirkungsgrad [%]
Sommer	2,4-DNT	7,73	41,76	14,40	66
	2,6-DNT	6,93	37,44	17,28	54
	2-NT	4,53	24,48	12,96	47
	3-NT	4,80	25,92	11,52	56
	4-NT	5,33	28,80	12,96	55
Winter	2,4-DNT	8,26	44,64	28,8	35
	2,6-DNT	7,46	40,32	30,24	25
	2-NT	5,33	28,8	20,16	30
	3-NT	5,59	30,24	20,16	33
	4-NT	6,66	36	21,6	40

Nach dem zweiten Becken konnte mittels HPLC-Analytik keiner der eingesetzten Nitroaromaten mehr detektiert werden.

Die Untersuchungen zeigen, dass bereits im ersten Becken eine wesentliche Reduzierung aller betrachteten Nitroaromaten erfolgt. Nach dem zweiten Becken ist die Eliminierung der Schadstoffe so effektiv, dass diese mit den verwendeten analytischen Mitteln nicht mehr nachweisbar waren. Durch das Studium der Eliminierungsleistung über die Jahreszeiten lässt sich eine Temperaturabhängigkeit der Eliminierungsleistung der Pflanzenkläranlage beobachten. Diese sinkt im Winter ab und beträgt im Winter in Abhängigkeit des Schadstoffes zwischen 50 und 90 % der Eliminierungsleistung im Sommer. Diese Beobachtung ist in Analogie zur beobachteten jahreszeitlichen Abhängigkeit der Eliminierungsleistung bei den Experimenten mit TNT (Sommer 80 %, Winter 63 %). Im Vergleich zu den Experimenten mit TNT lässt sich allgemein feststellen, dass die Eliminierungsraten der Nitroaromaten kleiner als die Eliminierungsraten von TNT sind.

Die Nitroaromaten sind vollständig aus dem Wasser eliminierbar. Andere Studien zeigten, dass speziell 2,4-DNT mittels *Pseudomonas sp.* abgebaut werden kann. So wurde dargestellt, dass die aerobe Mineralisierung von 2,4-DNT durch *Pseudomonas sp.* mit einer Dioxigenierung in Position 4 und 5 unter Verwendung von Sauerstoff beginnt. Das gebildete 4-Methyl-5-Nitro-Catechol (MNC) wird dann durch die MNC-Oxygenase zum 2-Hydroxy-5-Methyl-Benzochinon (HMQ) oxidiert und anschließend mittels Chinon-Reduktase zu 2,4,5-Trihydroxytoluol (THT) reduziert, das dann in einer Oxygenase-Reaktion einer Ringspaltung unterliegt [1]. Daneben wurde aber auch eine sukzessive Reduktion des 2,4-DNT zu 2,4-DAT unter anaeroben Bedingungen beobachtet [132]. Eine Mineralisierung von 59 % wurden unter anoxischen Bedingungen dargestellt [149]. Gleichfalls wurden auch für die NT ein aerober Abbau nachgewiesen. Dabei wurde z.B. 4-NT von *Pseudomonas sp.* als Kohlenstoff-, Stickstoff- und Energiequelle verwendet. Eine Ringspaltung ist durch Oxygenase-Reaktionen möglich [150]. Eine Eliminierung kann somit mit einem Abbau einhergehen. Wahrscheinlich ist jedoch auch, dass die Nitroaromaten bzw. deren Metaboliten analog zu den TNT-Abbauprodukten an die Matrix gebunden werden. Um die Irreversibilität zu überprüfen, wurden Experimente zur Extraktion der adsorbierten Schadstoffe von verschiedenen Matrices durchgeführt. Dabei kamen Lava und Pflanzensprossen zur Untersuchung. Im Ergebnis konnten für Pflanzen keine extrahierbaren Nitroaromaten nachgewiesen werden. Somit lässt sich schlussfolgern, dass, analog zu den TNT-Experimenten, in den Pflanzen keine Schadstoffe aufgenommen wurden. Aus Lava konnte nur 2,4-DNT in sehr kleinen Mengen extrahiert werden (50 µg/kg TS). Für die anderen Nitroaromaten wurden keine Extraktionsprodukte nachgewiesen. Somit ist wahrscheinlich, dass in Analogie zu den TNT-Experimenten die Schadstoffe bzw. deren Metaboliten an die Matrices binden oder abgebaut werden und damit aus dem Wasser zu entfernen sind.

4.4.2 Zusammenfassung

Es lässt sich feststellen, dass die betrachteten Nitroaromaten durch die Pflanzenkläranlage aus dem Wasser eliminierbar sind. Damit ist die Anlage auch im Hinblick auf TNT-begleitende Nitroaromaten für die Reinigung sprengstoffbelasteter Wässer geeignet. Die allgemeinen Muster des Abbaus hinsichtlich Temperatureinfluss und Eliminierungsrate entsprechen annähernd denen der Eliminierung von TNT. Für den Verbleib der Schadstoffe bzw. seiner Metaboliten ist ein ähnlicher Eliminierungsweg wie beim TNT wahrscheinlich, allerdings lässt sich anhand der durchgeführten Experimente darüber keine fundierte Aussage treffen. Der Abbauweg der Nitroaromaten sollte daher Gegenstand weiterer Untersuchungen sein, dabei können Untersuchungen an einer Modellanlage mit radioaktiven *Tracern* wertvolle Beiträge liefern.

5 Zusammenfassung und Ausblick

Die vorliegende Arbeit hatte zum Ziel, eine systematische Studie für den Einsatz einer Pflanzenkläranlage zur Sanierung von TNT-kontaminierten Wässern durchzuführen. Schwerpunktmäßig sollten dabei anwendungsorientierte Aspekte der Anlage betrachtet und Erkenntnisse zum Verbleib des Schadstoffes in der Anlage gewonnen werden. Zu diesem Zweck erfolgten Untersuchungen an einer realen Pflanzenkläranlage im Freiland und an einer geschlossenen Modellanlage im Labor.

Es konnte gezeigt werden, dass die Pflanzenkläranlage für die Reinigung TNT-kontaminierter Wässer anwendbar ist. Dabei konnte eine nahezu vollständige Eliminierung von TNT aus dem Wasser beobachtet werden. Innerhalb der Pflanzenkläranlage spielt die Bepflanzung eine wesentliche Rolle. Durch die Bepflanzung kann gegenüber einer nicht bepflanzten Anlage eine um 30 % höhere Eliminierungsrate aus dem Wasser erreicht werden. Die Eliminierung unterliegt einer Temperaturabhängigkeit. So ist die Eliminierungsrate im Winter gegenüber dem Sommer reduziert, sinkt jedoch nicht mehr als 50 % unter die Sommer-Eliminierungsrate ab. Es konnte weiterhin gezeigt werden, dass innerhalb der Becken differenziert anaerob/aerobe Milieubedingungen herrschen. Diese begünstigen einen reduktiven Abbau von TNT durch Mikroorganismen.

Untersuchungen zum molekularen Abbau in der Pflanzenkläranlage zeigten, dass ein reduktiver Abbau von TNT erfolgt. Dieser kann durch einen mikrobiellen Abbau, durch die Redoxverhältnisse in der Anlage verursacht werden. Der reduktive Abbau verläuft vom TNT über die Zwischenprodukte ADNT und DANT. Eine Weiterreduktion des DANT zum TAT konnte nicht nachgewiesen werden. Aufgrund der vorherrschenden Milieubedingungen ist die vollständige Reduktion bis zum TAT auch nicht wahrscheinlich. Der Abbauweg unterliegt ebenfalls dem Einfluss der Bepflanzung, durch eine Bepflanzung der Anlage wurde eine vollständigere Reduktion von TNT gegenüber einer unbepflanzten Anlage festgestellt. Auch die Außentemperatur hat einen Einfluss auf den Abbauweg, bei niedrigen Temperaturen verläuft die Reduktion von TNT unvollständig, es werden dabei vorwiegend ADNT gebildet.

Experimente zur Adsorption der Schadstoffe an die Bodenmatrix der Pflanzenkläranlage zeigten, dass ein kleiner Teil der Schadstoffe reversibel an die Lava gebunden ist. In den Pflanzen der Pflanzenkläranlage konnte keine Aufnahme der Schadstoffe festgestellt werden, allerdings sind diese Ergebnisse aufgrund von technischen Problemen nur bedingt aussagekräftig.

Eine Identifizierung des Verbleibs der Schadstoffe erfolgte durch Experimente an einer Modellanlage unter Nutzung eines radioaktiven *Tracers*. Mit diesem System konnte gezeigt werden, dass der Hauptteil des Schadstoffes bzw. seiner Abbauprodukte an die Bodenmatrix und die Wurzeln der Pflanzen bindet. Die Bindung ist zum Teil reversibel und wird wahrscheinlich über den Biofilm der Lava/Wurzeln realisiert. Diese Ergebnisse bestätigen die beobachtete Bindung von Schadstoffen an die Bodenmatrix der Pflanzenkläranlage.

Durch Korrelation mit aus der Literatur bekannten Erkenntnissen kann gefolgert werden, dass nicht TNT, sondern dessen Abbauprodukte an die Bodenmatrix gebunden werden. Innerhalb der Arbeit konnte aufgrund der limitierten verwendeten Radioaktivitätsmengen allerdings nicht geklärt

werden, welche Spezies an die Bodenmatrix binden. Über die Wurzeln ist prinzipiell auch eine Aufnahme von Schadstoffen in die Pflanze denkbar. Allerdings findet in diesem Fall keine Weiterleitung der eventuell aufgenommenen Schadstoffe bis in die Pflanzensprossen statt, dort konnten keine Schadstoffe nachgewiesen werden. Beim Abbau des Schadstoffes findet eine nur geringfügige Mineralisierung statt.

Durch eine zusätzlich zugegebene Kohlenstoffquelle (Glucose) wird der reduktive Abbau des Schadstoffes beschleunigt, es erfolgt jedoch eine ähnliche Verteilung der Abbauprodukte in den Kompartimenten der Anlage wie auch in Abwesenheit der zusätzlichen Kohlenstoffquelle. Die zusätzliche Kohlenstoffquelle begünstigt einen Cometabolismus beim mikrobiellen Abbau von TNT. Ein weiterer Vorteil bei der Zugabe der zusätzlichen Kohlenstoffquelle ist die Schaffung von anaeroberen Verhältnissen, die sich positiv auf einen reduktiven Abbau von TNT durch Mikroorganismen auswirken können.

Aus den gewonnenen Erkenntnissen ist die Postulierung des Hauptabbauweges von TNT in der Pflanzenkläranlage möglich: TNT wird durch Mikroorganismen bzw. bestehende Redoxbedingungen reduziert, dabei entstehen als Zwischenprodukte entsprechend ADNT und DANT. Die weitere Reduktion von DANT zum TAT ist nicht nachgewiesen. DANT bzw. TAT (falls gebildet) lagern sich anschließend an die Bodenmatrix der Kläranlage an und werden dort immobilisiert. Auf diese Weise kann TNT durch die Pflanzenkläranlage aus dem Wasser eliminiert werden. Dabei stellen die Pflanzen günstige Milieubedingungen für den mikrobiellen Abbau bereit. Der Effekt der Phytoremediation spielt eine nur untergeordnete Rolle.

Darüber hinaus durchgeführte Untersuchungen mit anderen Nitroaromaten zeigten, dass neben TNT auch chemisch verwandte Schadstoffe durch die Pflanzenkläranlage aus dem Wasser eliminiert werden können. Dabei wurden ähnliche Einflüsse der Bepflanzung und Außentemperatur wie auch bei der Eliminierung von TNT beobachtet.

Aus den gewonnenen Erkenntnissen ergeben sich wichtige Hinweise für den Betrieb einer Pflanzenkläranlage. Generell hat sich der konstruktionstechnische Aufbau der verwendeten Pflanzenkläranlage als günstig erwiesen. Dies impliziert eine ausreichend lange Fließstrecke, durch die ein Abbau des Schadstoffes ermöglicht wird. Weiterhin ist der Betrieb bei höheren Außentemperaturen vorteilhaft, somit haben Pflanzenkläranlagen im Sommer ihre maximale Leistungsfähigkeit. Begünstigt wird eine möglichst vollständige Eliminierung weiterhin durch die Zugabe einer zusätzlichen Kohlenstoffquelle. Dadurch wird der Abbau beschleunigt, was im Idealfall sogar eine Verminderung der Beetfläche erlauben könnte.

Mit der vorliegenden Arbeit wurde somit eine systematische Studie zu den allgemeinen Anwendungsaspekten und molekularen Grundlagen einer real anwendbaren Pflanzenkläranlage durchgeführt. Es wurden anwendungstechnische Aspekte mit den molekularen Vorgängen hinsichtlich Abbauweg und Verbleib des Schadstoffes in der Anlage verknüpft und daraus Schlussfolgerungen für die Betriebsweise einer Pflanzenkläranlage gezogen. Die erhaltenen Ergebnisse spiegeln die Erkenntnisse anderer Arbeiten wider, die sich mit Teilaspekten der

Sanierung von sprengstoffbelasteten Wässern mit Pflanzenkläranlagen befassten und steht daher in guter Übereinstimmung mit den bisher gewonnenen Erkenntnissen dieses Fachgebietes.

Für die Weiterführung der Experimente dieser Dissertation sind folgende Aspekte zu nennen:

Eine wichtige Frage hat die Spezifizierung der immobilisierten Abbauprodukte zum Inhalt. Obwohl momentan allgemein anerkannt ist, dass TNT in Pflanzenkläranlagen zu TAT reduziert und dort immobilisiert wird, steht der endgültige Beweis in der verwendeten Anlage noch aus. Es sollte daher in der Zukunft untersucht werden, welche Spezies an die Bodenmatrix gebunden werden. Die Analytik dafür ist sehr anspruchsvoll, in Frage kommen hier der Einsatz von NMR-Spektroskopie, elektrophoretische Verfahren oder radiochromatographische Methoden.

Ein weiterer wichtiger Aspekt ist in diesem Zusammenhang die zeitliche Korrelation der in der wässrigen Phase gefundenen TNT-Abbauprodukte mit den an der Bodenmatrix gebundenen Schadstoffen. Daraus können wesentliche Erkenntnisse über den Abbauweg und die Kinetik der Eliminierung abgeleitet werden.

Für die Untersuchungen mit den anderen untersuchten Nitroaromaten sollten weiterhin mit Hilfe einer Modellanlage die Abbauwege und der Verbleib in den Kompartimenten der Pflanzenkläranlage identifiziert werden. Dies kann in Analogie zu den Untersuchungen von TNT erfolgen.

Aus anwendungstechnischer Sicht muss geklärt werden, inwieweit auch höhere Schadstoffkonzentrationen mit Hilfe der Anlage eliminiert werden können. Hier ist insbesondere die Frage der Anlagenkapazität von Interesse. Dabei muss in Langzeitversuchen zusätzlich die mögliche Freisetzung der an die Bodenmatrix gebundenen Abbauprodukte überprüft werden. Bei einer längeren Schadstoffexposition der Anlage ergibt sich zudem grundsätzlich die Möglichkeit der Aufnahme der Schadstoffe in die Pflanzen.

Am wichtigsten sind jedoch aus anwendungstechnischer Sicht begleitende Untersuchungen an einer Pflanzenkläranlage unter den Bedingungen der Sanierung einer real existierenden Rüstungsalast. Obwohl zu erwarten steht, dass die in der vorliegenden Arbeit ermittelten Abbauwege und Verteilung der Schadstoffe in den Kompartimenten auch für reale Sanierungsverfahren gültig sind, müssen sanierungsbegleitende Untersuchungen durchgeführt werden.

Beim Umgang mit realen Altlasten ergibt sich stets das Problem von Begleitstoffen in den zu reinigenden Wässern, welche prinzipiell die Sanierungseffizienz beeinflussen können. Diese Einflüsse müssen daher bei realen Sanierungsanwendungen untersucht werden. Erst dann ist die Übertragbarkeit der in den Modellsystemen erhaltenen Daten und Erkenntnisse gezeigt.

6 Literaturverzeichnis

- [1] Martinetz D, Rippen G. Handbuch Rüstungsaltslasten. Landsberg: ecomed Verlagsgesellschaft AG & Co., 1996.
- [2] Barkowski D, Günther P, Hinz E, Röcher R. Altslasten. Karlsruhe: Verlag C.F. Müller, 1993.
- [3] Spyra W, Lohs K, Preussner M, Rueden M, Thome-Kozmeinsky K. Untersuchung von Rüstungsaltslasten. Berlin: EF-Verlag fuer Energie und Umwelttechnik GmbH, 1991.
- [4] Preuss J, Haas R, Koss G. Altstandorte, Altablagerungen, Altslasten. Das Beispiel eines ehemaligen Standortes der chemischen Rüstungsindustrie. Geogr. Rundschau 1988;40:31-40.
- [5] Dodard SG, Renoux AY, Hawari J, Ampleman G, Thiboutot S, Sunahara GI. Ecotoxicity characterization of dinitrotoluenes and some of their reduced metabolites. Chemosphere 1999;38 (9):2071-9.
- [6] Smock LA, Stoneburner DL, Clark JR. The toxic effects of trinitrotoluene (TNT) and its primary degradation products on two species of algae and the fathead minnow. Water Res 1976;10:537-43.
- [7] Pearson JG, Glennon JP, Barkley JJ, Highfill JW. An approach to the toxicological evaluation of a complex industrial wastewater. ASTM STP Aquatic Toxicology 1979;667:284-301.
- [8] Zhao Y-H, Yuan X, Ji G-D, Sheng L-X. Quantitative structure-activity relationships of nitroaromatic compounds to four aquatic organisms. Chemosphere 1997;34 (8):1837-44.
- [9] Schneider K, Hassauer M, Kalberlah F. Toxikologische Bewertung von Rüstungsaltslasten. UWSF - Z Umweltchem Ökotox 1994;6 (6):333-40.
- [10] IRIS file 2,4,6-trinitrotoluene. U.S. Environmental Protection Agency (EPA), 2001.
- [11] Won WD, DiSalvo LH, Ng J. Toxicity and mutagenicity of 2,4,6-trinitrotoluene and its microbial metabolites. Appl Environ Microbiol 1976;31 (4):576-80.
- [12] Daun G. Entwicklung und Anwendung eines Verfahrens zur biologischen Sanierung TNT-kontaminierter Böden. Düsseldorf: VDI Verlag GmbH, 1997.
- [13] Griest WH, Tyndall RL, Stewart AJ, Caton JE, Vass AA, Ho C-H, Caldwell WM. Chemical characterization and toxicological testing of windrow composts from explosives-contaminated sediments. Environ Toxicol & Chem 1995;14 (1):51-9.
- [14] Caton JE, Ho C-H, Williams RT, Griest WH. Characterization of insoluble fractions of TNT transformed by composting. J Environ Sci & Health Part A 1994;29 (4):659-70.
- [15] Jarvis AS, McFarland VA, Honeycutt ME. Assessment of the effectiveness of composting for the reduction of toxicity and mutagenicity of explosive-contaminated soil. Ecotoxicol Environ Saf 1998;39 (2):131-5.
- [16] Breitung J, Bruns-Nagel D, Steinbach K, Kaminski L, Gemsa D, von Löw E. Bioremediation of 2,4,6-trinitrotoluene-contaminated soils by two different aerated compost systems. Appl Microbiol Biotechnol 1996;44 (6):795-800.

- [17] Drzyzga O, Bruns-Nagel D, Gorontzy T, Blotevogel KH, von Löw E. Anaerobic incorporation of the radiolabeled explosive TNT and metabolites into the organic soil matrix of contaminated soil after different treatment procedures. *Chemosphere* 1999;38 (9):2081-95.
- [18] Funk SB, Roberts DJ, Crawford DL, Crawford RL. Initial-phase optimization for bioremediation of munition compound- contaminated soils. *Appl Environ Microbiol* 1993;59 (7):2171-7.
- [19] Müller U, Krüger M, Baldauf G. Entfernung von sprengstoffrelevanten Verbindungen bei der Trinkwasseraufbereitung mit Aktivkohle. *gwf - Wasser/Abwasser* 1996;137 (3).
- [20] Achtnich C, Sieglen U, Knackmuss H-J, Lenke H. Irreversible binding of biologically reduced 2,4,6-trinitrotoluene to soil. *Environ Toxicol & Chem* 1999;18 (11):2416-23.
- [21] Achtnich C, Lenke H, Klaus U, Spitteller M, Knackmuss H-J. Stability of immobilized TNT derivatives in soil as a function of nitro group reduction. *Environ Sci & Technol* 2000;34 (17):3698-704.
- [22] Lenke H, Daun G, Bryniok D, Knackmuss H-J. Biologische Sanierung von Rüstungsaltslasten. *Spektrum der Wissenschaft* 1993;Oktober:106-8.
- [23] Wissing F. Wasserreinigung mit Pflanzen. Stuttgart: Ulmer Verlag, 1995.
- [24] Haider R. Erfahrungen mit kleinen Pflanzenkläranlagen in Österreich und Bayern. In: Pflanzenkläranlagen. Wiesbaden, Berlin, 1987.
- [25] Best EP, Sprecher SL, Larson SL, Fredrickson HL, Bader DF. Environmental behavior of explosives in groundwater from the Milan Army Ammunition Plant in aquatic and wetland plant treatments. Removal, mass balances and fate in groundwater of TNT and RDX. *Chemosphere* 1999;38 (14):3383-96.
- [26] Best EP, Sprecher SL, Larson SL, Fredrickson HL, Bader DF. Environmental behavior of explosives in groundwater from the Milan Army Ammunition Plant in aquatic and wetland plant treatments. Uptake and fate of TNT and RDX in plants. *Chemosphere* 1999;39 (12):2057-72.
- [27] Medina VF, Larson SL, Bergstedt AE, McCutcheon SC. Phyto-removal of trinitrotoluene from water with batch kinetic studies. *Water Res* 2000;34 (10):2713-22.
- [28] Brockhaus ABC Chemie. Leipzig: F.A. Brockhaus Verlag, 1965.
- [29] Urbanski T. Chemie und Technologie der Explosivstoffe. Leipzig: Grundstoffverlag, 1961.
- [30] Haas R, von Löw E. Grundwasserbelastung durch eine Altlast. Die Folgen einer ehemaligen Sprengstoffproduktion für die heutige Trinkwassergewinnung. *Forum Städtehyg.* 1986;37:33-4.
- [31] Haas R, Schreiber I, von Löw E, Stork G. Conception for the investigation of contaminated munition plants 2. Investigation of former RDX-plants and filling stations. *Fresenius Z Anal Chem* 1990;338:41-5.
- [32] Haderlein SB, Weissmahr KW, Schwarzenbach RP. Specific adsorption of nitroaromatic explosives and pesticides to clay minerals. *Environ Sci Technol* 1996;30:612-22.

- [33] Daun G, Lenke H, Reuss M, Knackmuss H-J. Biological treatment of TNT-contaminated soil. 1. Anaerobic cometabolic reduction and interaction of TNT and metabolites with soil components. *Environ Sci & Technol* 1998;32 (13):1956-63.
- [34] Spanggord RJ, Mortelmans KE, Griffin AF, Simmon VF. Mutagenicity in *Salmonella typhimurium* and structure-activity relationships of wastewater components emanating from the manufacture of trinitrotoluene. *Environ Mutagen* 1982;4 (2):163-79.
- [35] Davenport R, Johnson LR, Schaeffer DJ, Balbach H. Phototoxicology. 1. Light-enhanced toxicity of TNT and some related compounds to *daphnia magna* and *lytechinus variagatus* embryos. *Ecotoxicol Environ Saf* 1994;27 (1):14-22.
- [36] Johnson LR, Davenport R, Balbach H, Schaeffer DJ. Phototoxicology. 3. Comparative toxicity of trinitrotoluene and aminodinitrotoluenes to *Daphnia magna*, *Dugesia dorotocephala*, and sheep erythrocytes. *Ecotoxicol Environ Saf* 1994;27 (1):34-49.
- [37] Rickert DE, Butterworth BE, Popp JA. Dinitrotoluene: Acute toxicity, oncogenicity, genotoxicity, and metabolism. *CRC Crit Rev Tox* 1984;13 (3):217-34.
- [38] Spyra W, Lohs K, Preussner M, Rueden M, Thome-Kozmeinsky K. Verfahren zur Sanierung von Rüstungsaltslasten. Berlin: EF-Verlag für Energie und Umwelttechnik GmbH, 1992.
- [39] Henschler D. Gesundheitsschädliche Arbeitsstoffe, Toxikologisch-arbeitsmedizinische Begründung von MAK-Werten, Loseblattsammlung. Weinheim: Deutsche Forschungsgemeinschaft / VCH Verlag, 1987.
- [40] Layton DW, Mallon B, Mitchell WR, Hall L, Fish R. Conventional weapons demilitarization: a health and environmental effects data base assessment. Phase 2. explosives and their co-contaminants. Livermore, CA: Lawrence Livermore National Laboratory, Environmental Science Division, 1987.
- [41] Levine BS, Furedi EM, Gordon DE, Lish PM, Barkley JJ. Subchronic toxicity of trinitrotoluene in Fischer 344 rats. *Toxicology* 1984;32:253-65.
- [42] Ahlborg G, Bergstroem B, Hogstedt C, P. E, Sorsa M. Urinary screening for potentially genotoxic exposures in a chemical industry. *Brit J Int Med* 1985;42:691-9.
- [43] Kreuzer G. Die fünf größten Sprengstoffproduktionsstätten im zweiten Weltkrieg - Verantwortlichkeit für die Erkundung und Sanierung, 1993.
- [44] Bliefert C. Umweltchemie. Weilheim: Wiley-VCH, 1997.
- [45] Fernholz G, Reiss I, Schleussinger A, Schulz S. Sanierung von Rüstungsaltslasten mit verdichteten Gasen. *TerraTech* 1994;3:61-4.
- [46] Roberts DJ, Kaake RH, Funk SB, Crawford RL, Crawford DL. Anaerobic remediation of dinoseb from contaminated soil: an on-site demonstration. *Appl Biochem Biotechnol* 1993;39-40:781-89.
- [47] Saupe A, Garvens HJ, Heinze L. Alkaline hydrolysis of TNT and TNT in soil followed by thermal treatment of the hydrolysates. *Chemosphere* 1998;36 (8):1725-44.
- [48] Hundal LS, Singh J, Bier EL, Shea PJ, Comfort SD, Powers WL. Removal of TNT and RDX from water and soil using iron metal. *Environmental Pollution* 1997;97 (1-2):55-64.

- [49] Arienzo M. Use of abiotic oxidative-reductive technologies for remediation of munition contaminated soil in a bioslurry reactor. *Chemosphere* 2000;40 (4):441-8.
- [50] Arienzo M, Comfort SD, Zerkoune M, Li ZM, Shea PJ. Pilot scale devices for remediation of munitions contaminated soils. *J Environ Sci & Health Part A - Toxic Hazardous Substances and Environmental Engineering* 1998;33 (8):1515-31.
- [51] Alnaizy R, Akgerman A. Oxidative treatment of high explosives contaminated wastewater. *Water Res* 1999;33 (9):2021-30.
- [52] Arienzo M. Oxidizing 2,4,6-trinitrotoluene with pyrite-H₂O₂ suspensions. *Chemosphere* 1999;39 (10):1629-38.
- [53] Saupe A, Wiessmann U. Abbau von nitroaromatischen Xenobiotika durch Ozonierung und biologische Nachbehandlung. *Acta hydrochim hydrobiol* 1996;24 (3):118-26.
- [54] Hoffmann I, Warrelmann J, Jastorff B, Schulz-Berendt V, Werner P. Reinigung sprengstoffbelasteter Wässer durch ein chemisches Verfahren. *TerraTech* 1999;2:49-51.
- [55] Heijman CG, Grieder E, Holliger C, Schwarzenbach RP. Reduction of nitroaromatic compounds coupled to microbial iron reduction in laboratory aquifer columns. *Environ Sci Technol* 1995;29:775-83.
- [56] Bennett JW, Hollrah P, Waterhouse A, Horvath K. Isolation of bacteria and fungi from TNT-contaminated composts and preparation of ¹⁴C-ring labeled TNT. *Int Biodet Biodeg* 1995;35:421-30.
- [57] Marvin-Sikkema FD, de Bont JA. Degradation of nitroaromatic compounds by microorganisms. *Appl Microbiol Biotechnol* 1994;42 (4):499-507.
- [58] Nay MW, Randall CW, King PH. Biological treatability of trinitrotoluene manufacturing wastewater. *J Water Pollution Control Federation* 1974;46 (3):485-97.
- [59] French CE, Nicklin S, Bruce NC. Aerobic degradation of 2,4,6-trinitrotoluene by enterobacter cloacae PB2 and by pentaerythritol tetranitrate reductase. *Appl Environ Microbiol* 1998;64 (8):2864-8.
- [60] Duque E, Haidour A, Godoy F, Ramos JL. Construction of a pseudomonas hybrid strain that mineralizes 2,4,6-trinitrotoluene. *J Bacteriol* 1993;175:2278-83.
- [61] Preuss A, Fimpel J, Diekert G. Anaerobic transformation of 2,4,6-trinitrotoluene (TNT). *Arch Microbiol* 1993;159 (4):345-53.
- [62] Vorbeck C, Lenke H, Spain JC, Knackmuss H-J. Initial steps in aerobic metabolism of 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) by a mycobacterium sp. *Symposium on Biodegradation of nitroaromatic compounds. Las Vegas, 1994.*
- [63] Martin JL, Comfort SD, Shea PJ, Kokjohn TA, Drijber RA. Denitritation of 2,4,6-trinitrotoluene by pseudomonas savastanoi. *Can J Microbiol* 1997;43:447-55.
- [64] Haidour A, Ramos JL. Identification of products resulting from the biological reduction of 2,4,6-trinitrotoluene, 2,4-dinitrotoluene, and 2,6-dinitrotoluene by pseudomonas sp. *Environ Sci & Technol* 1996;30 (7):2365-70.

- [65] Vorbeck C, Lenke H, Fischer P, Spain JC, Knackmuss H-J. Initial reductive reactions in aerobic microbial metabolism of 2,4,6-trinitrotoluene. *Appl Environ Microbiol* 1998;64 (1):246-52.
- [66] Huang S, Lindahl PA, Wang C, Bennett GN, Rudolph FB, Hughes JB. 2,4,6-trinitrotoluene reduction by carbon monoxide dehydrogenase from *Clostridium thermoaceticum*. *Appl Environ Microbiol* 2000;66 (4):1474-8.
- [67] Esteve-Nunez A, Lucchesi G, Philipp B, Schink B, Ramos JL. Respiration of 2,4,6-trinitrotoluene by *Pseudomonas* sp. strain JLR11. *J Bacteriol* 2000;182 (5):1352-5.
- [68] Boopathy R, Kulpa CF. Nitroaromatic compounds serve as nitrogen source for *Desulfovibrio* sp. (B strain). *Can J Microbiol* 1993;39:430-3.
- [69] Vanderloop SL, Suidan MT, Moteleb MA, Maloney SW. Biotransformation of 2,4-dinitrotoluene under different electron acceptor conditions. *Water Res* 1999;33 (5):1287-95.
- [70] Bradley PM, Chapelle FH, Landmeyer JE, Schumacher JG. Potential for intrinsic bioremediation of a DNT-contaminated aquifer. *Ground Water* 1997;35 (1):12-7.
- [71] Alvarez MA, Kitts CL, Botsford JL, Unkefer PJ. *Pseudomonas aeruginosa* strain MA01 aerobically metabolizes the aminodinitrotoluenes produced by 2,4,6-trinitrotoluene nitro group reduction. *Can J Microbiol* 1995;41 (11):984-91.
- [72] Hawari J, Halasz A, Paquet L, Zhou E, Spencer B, Ampleman G, Thiboutot S. Characterization of metabolites in the biotransformation of 2,4,6-trinitrotoluene with anaerobic sludge: role of triaminotoluene. *Appl Environ Microbiol* 1998;64 (6):2200-6.
- [73] Pak JW, Knoke KL, Noguera DR, Fox BG, Chambliss GH. Transformation of 2,4,6-trinitrotoluene by purified xenobiotic reductase B from *Pseudomonas fluorescens* I-C. *Appl Environ Microbiol* 2000;66 (11):4742-50.
- [74] Gilcrease PC, Murphy VG. Bioconversion of 2,4-diamino-6-nitrotoluene to a novel metabolite under anoxic and aerobic conditions. *Appl Environ Microbiol* 1995;61 (12):4209-14.
- [75] Boopathy R, Manning JF. Characterization of partial anaerobic metabolic pathway for 2,4,6-trinitrotoluene degradation by a sulfate-reducing bacterial consortium. *Can J Microbiol* 1996;42 (12):1203-8.
- [76] Drzyzga O, Bruns-Nagel D, Gorontzy T, Blotevogel KH, Gemsa D, von Löw E. Mass balance studies with ¹⁴C-labeled 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) mediated by an anaerobic *Desulfovibrio* species and an aerobic *Serratia* species. *Curr Microbiol* 1998;37 (6):380-6.
- [77] Boopathy R, Kulpa CF, Wilson M. Metabolism of 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) by *Desulfovibrio* sp. (B strain). *Appl Microbiol Biotechnol* 1993;39:270-5.
- [78] Stahl JD, Aust SD. Metabolism and detoxification of TNT by *Phanerochaete chrysosporium*. *Biochem Biophys Res Commun* 1993;192 (2):477-82.
- [79] Scheibner K, Hofrichter M. Conversion of aminonitrotoluenes by fungal manganese peroxidase. *J Basic Microbiol* 1998;38 (1):51-9.

- [80] Schneegass I, Hofrichter M, Scheibner K, Fritsche W. Purification of the main manganese peroxidase isoenzyme MnP2 from the white-rot fungus *Nematoloma frowardii* b19. *Appl Microbiol Biotechnol* 1997;1948:602-5.
- [81] Hofrichter M, Scheibner K, Schneegass I, Fritsche W. Enzymatic combustion of aromatic and aliphatic compounds by manganese peroxidase from *Nematoloma frowardii*. *Appl Environ Microbiol* 1998;64:399-404.
- [82] Hofrichter M, Scheibner K, Bublitz F, Schneegass I, Ziegen-Hagen D, Martens R, Fritsche W. Depolymerization of straw lignin by manganese peroxidase from *Nematoloma frowardii* is accompanied by release of carbon dioxide. *Holzforschung* 1999;53:37-43.
- [83] Hofrichter M, Vares T, Kalsi M, Scheibner K, Hatakka A. Production of ligninolytic enzymes and organic acids, and mineralization of ¹⁴C-labeled lignin during solid state fermentation of wheat straw with the white-rot fungus *Nematoloma frowardii*. *Appl Environ Microbiol* 1999;65:62-70.
- [84] Hawari J, Halasz A, Beaudet S, Paquet L, Ampleman G, Thiboutot S. Biotransformation of 2,4,6-trinitrotoluene with *Phanerochaete chrysosporium* in agitated cultures at pH 4.5. *Appl Environ Microbiol* 1999;65 (7):2977-86.
- [85] Göрге E, Brandt S, Werner D. Uptake and metabolism of 2,4,6-trinitrotoluene in higher plants. *Environ Sci & Pollut Res* 1994;1 (4):229-33.
- [86] Hughes JB, Shanks J, Vanderford M, Lauritzen J, Bhadra R. Transformation of TNT by aquatic plants and plant tissue cultures. *Environ Sci Technol* 1997;31:266-71.
- [87] Vanderford M, Shanks J, Hughes JB. Phytotransformation of trinitrotoluene (TNT) and distribution of metabolic products in *Myriophyllum aquaticum*. *Biotechnology Letters* 1997;19 (3):277-80.
- [88] Kaplan DL, Kaplan AM. Thermophilic biotransformations of 2,4,6-trinitrotoluene under simulated composting conditions. *Appl Environ Microbiol* 1982;44 (3):757-60.
- [89] Pasti-Grigsby MB, Lewis TA, Crawford DL, Crawford RL. Transformation of 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) by actinomycetes isolated from TNT-contaminated and uncontaminated environments. *Appl Environ Microbiol* 1996;62 (3):1120-3.
- [90] Sublette KL, Ganapathy EV, Schwartz S. Degradation of munition wastes by *Phanerochaete chrysosporium*. *Appl Biochem Biotechnol* 1992;34/35:709-23.
- [91] ATV (Abwassertechnische Vereinigung e.V.). ATV-Hinweisblatt H262 - Behandlung von häuslichem Abwasser in Pflanzenbeeten. In: ATV-Regelwerk Abwasser Abfall. St. Augustin: ATV, 1989.
- [92] Wood A. Constructed wetlands in water pollution control: fundamentals to their understandings. 4th International Conference on Wetland Systems for Water Pollution Control. Guangzhou (Peoples Republic of China), 1994.
- [93] Bucksteeg K. Sumpfpflanzenkläranlagen - Verfahrensvarianten, Betriebserfahrungen, Problem Bodenhydraulik. *gwf - Wasser/Abwasser* 1986;127:429-34.
- [94] Kickuth R. Wurzelraumsorgung. *Die Weser* 1979;53:167-9.

- [95] Kickuth R. Das Wurzelraumverfahren - ein kostengünstiges Klärverfahren für den dezentralen Einsatz in Kommunen und Gewerbe. *Der Tropenlandwirt* 1982;83:141-54.
- [96] Kickuth R. Ein Wurzelraumverfahren in der Praxis. *Natur und Landschaft* 1984;16:145-53.
- [97] Siegl A, Bruch I, Mühl M. Gestaltung von Abwasserbehandlungsanlagen im ländlichen Raum. Abschlußbericht Projekt A 5.29 Länderarbeitsgemeinschaft Wasser (LAWA): Ministerium für Umwelt, Energie und Verkehr des Saarlandes, 1998.
- [98] Stober JT, O'Connor JT, Brasos BJ. Winter and spring evaluations of a wetland for tertiary wastewater treatment. *Water Environment Research* 1997;69 (5):961-8.
- [99] Höppner H, Günther T, Fritsche W. Biologische Prinzipien der Eliminierung von organischen Umweltchemikalien in Pflanzenkläranlagen. *Wasser & Boden* 1997;49 (12):18-21.
- [100] Köcher P. Chemische, physikalische sowie mikrobiologische Untersuchungen zweier industriell genutzter Pflanzenkläranlagen. *Korrespondenz Abwasser* 1996;8:1438-44.
- [101] Zauke G-P. Pflanzenkläranlagen zur Reinigung von Spülfeldabwasser unter besonderer Berücksichtigung der Stickstoffentfernung. *Wasser & Boden* 1996;5:28-32.
- [102] Wackerle L, Gradl T, Hua J. Reinigung von Sickerwässern aus Altdeponien mit biologischen Bodenfiltern. *Müll und Abfall* 1993;4:253-64.
- [103] Heidmann T, Henke GA. Reinigung industrieller Abwässer durch chemisch-biologische Verfahren. *WLB Wasser, Luft und Boden* 1990;1-2:26-7.
- [104] Machate T, Noll H, Behrens H, Kettrup AA. Degradation of phenanthrene and hydraulic characteristics in a constructed wetland. *Water Research* 1997;31 (3):554-60.
- [105] Noll H. Mikrobieller Abbau ausgewählter polyzyklischer aromatischer Kohlenwasserstoffe in einer Pflanzenkläranlage-Bakterielle Populationsdynamik und Metabolitbildung. Institut für Chemie, Lehrstuhl für Ökologische Chemie und Umweltanalytik, Technische Universität München, 1997.
- [106] Hine NR, Pilidis GA. An assessment of the efficiency of a macrophyte-based biological treatment plant to treat wastewater from a wood impregnation factory. *Fresenius Environ Bull* 1995;4:630-5.
- [107] Firma Macherey-Nagel. Anleitung zur Probenaufbereitung mittels SPE für Naphthole und Nitroaromaten aus Wasser. 1998.
- [108] U.S. EPA-SW-846 Methode 8330, Vorschrift zur Bodenaufbereitung. 1998.
- [109] Görge E, Brandt S, Werner D. Aufnahme von 2,4,6-Trinitrotoluol - Freilandversuche auf einem Gelände einer ehemaligen Sprengstofffabrik in Stadtallendorf. *UWSF - Z Umweltchem Ökotox* 1995;7 (3):139-48.
- [110] Conrad I. Untersuchungen zum Abbauverhalten von Umweltchemikalien in Pflanzenkläranlagen am Beispiel ausgewählter polyzyklischer aromatischer Kohlenwasserstoffe (PAK) in einer kontrollierten Modellökosystem-Anlage. Institut für Chemie, Lehrstuhl für Ökologische Chemie und Umweltanalytik. München: Technische Universität, Dissertation eingereicht.

- [111] Börner T. Einflußfaktoren für die Leistungsfähigkeit von Pflanzenkläranlagen. Darmstadt: Eigenverlag, Verein zur Förderung des Institutes für Wasserversorgung, Abwasserbeseitigung und Raumplanung der TH Darmstadt e.V., 1992.
- [112] Kreslavski DV, Vasilyeva GK, Comfort SD, Drijber RA, Shea PJ. Accelerated transformation and binding of 2,4,6-trinitrotoluene in rhizosphere soil. *Bioremediation Journal* 1999;2 (2):59-67.
- [113] Rieger P-G, Knackmuss H-J. Basic knowledge and perspectives on biodegradation of 2,4,6-trinitrotoluene and related nitroaromatic compounds in contaminated soil. In: Spain JC, editor. *Biodegradation of nitroaromatic compounds*. New York: Plenum Press, 1995. pp. 1-18.
- [114] Criddle CS. The kinetics of cometabolism. *Biotech Bioeng* 1993;41:1048-56.
- [115] Kahl MW, Gorontzy T, Blotevogel K-V. Reinigung TNT-kontaminierter Böden durch anaerobe Prozessführung. *gwf - Wasser/Abwasser* 1996;137 (3):140-6.
- [116] Garg R, Grasso D, Hoag G. Treatment of explosives contaminated lagoon sludge. *Hazardous Waste & Hazardous Materials* 1991;8:319-40.
- [117] Pinney ML, Westerhoff PK, Backer L. Transformations in dissolved organic carbon through constructed wetlands. *Water Research* 2000;34 (6):1897-911.
- [118] Achtnich C. Sanierung von TNT-kontaminiertem Boden durch Immobilisierung des Schadstoffes: Stabilität und Charakterisierung der Festlegung. Stuttgart: Fraunhofer IRB Verlag, 1999.
- [119] Pennington JC, Partrick Jr. WH. Adsorption and desorption of 2,4,6-trinitrotoluene by soils. *J Environ Qual* 1990;19 (3):559-67.
- [120] Lenke H, Warrelmann J, Daun G, Hund K, Sieglén U, Walter U, Knackmuss H-J. Biological treatment of TNT-contaminated soil. 2. Biologically induced immobilization of contaminants and full-scale application. *Environ Sci Technol* 1998;32:196471.
- [121] Hölting B. *Hydrogeologie*. Stuttgart: Ferdinand Enke Verlag, 1996.
- [122] Habeck-Tropfke H-H. *Abwasserbiologie*. Düsseldorf: Werner-Verlag, 1992.
- [123] Lenke H, Wagener B, Daun G, Knackmuss H-J. TNT-contaminated soil: A sequential anaerob/aerob process for bioremediation. In: Booklet A, editor. *Symposium on Biodegradation of Nitroaromatic Compounds*, 21. - 23. May. San Diego, 1994.
- [124] Preuss A. *Anaerober Abbau von 2,4,6-Trinitrotoluol*. Institut für Mikrobiologie. Stuttgart: Universität Stuttgart, 1992.
- [125] Corbett MD, Corbett BR. Bioorganic chemistry of the arylhydroxylamine and nitrosoarene functional groups. In: Spain JC, editor. *Biodegradation of nitroaromatic compounds*. New York: Plenum Press, 1995. pp. 151-81.
- [126] Vanderberg LA, Perry JJ, Unkefer PJ. Catabolism of 2,4,6-trinitrotoluene by mycobacterium vaccae. *Appl Microbiol Biotechnol* 1995;43 (5):937-45.
- [127] Wang C, Zheng D, Hughes JB. Stability of hydroxylamino- and amino-intermediates from reduction of 2,4,6-trinitrotoluene, 2,4-dinitrotoluene, and 2,6-dinitrotoluene. *Biotechnology Letters* 2000;22:15-9.

- [128] McCormick NG, Feeherry FE, Levinson HS. Microbial transformation of 2,4,6-trinitrotoluene and other nitroaromatic compounds. *Appl Environ Microbiol* 1976;31 (6):949-58.
- [129] Boopathy R, Kulpa CF. Trinitrotoluene (TNT) as a sole nitrogen source for a sulfate-reducing bacterium *desulfovibrio* sp. (B strain) isolated from an anaerobic digester. *Curr Microbiol* 1992;25 (4):235-41.
- [130] Vorbeck C, Lenke H, Fisher P, Knackmuss H-J. Identification of a hydride-Meisenheimer complex as a metabolite of 2,4,6-trinitrotoluene by a mycobacterium strain. *J Bacteriol* 1994;176:932-4.
- [131] Knackmuss H-J. Perspektiven der biologischen Entsorgung von TNT in Rüstungsaltslasten. In: Heiden S, Erb R, Warrelmann J, Dierstein R, editors. *Biotechnologie im Umweltschutz*. Berlin: Erich Schmidt Verlag, 1999.
- [132] Kaplan DL. Biotransformation pathway of hazardous energetic organo-nitro compounds. In: Kamely D, Chakrabarty A, Omenn G, editors. *Biotechnology and biodegradation*. Portfolio Publ. Co. Houston, Texas: Advances in applied biotechnology series, 1989. pp. 155-81.
- [133] Li AZ, Marx KA, Walker J, Kaplan DL. Trinitrotoluene and metabolites binding to humic acid. *Environ Sci & Technol* 1997;31:584-9.
- [134] Myers TE, Townsend DM. Recent developments in formulating model descriptors for subsurface transformation and sorption of trinitrotoluene. *Ann N Y Acad Sci* 1997;829:219-29.
- [135] Xue SK, Iskandar IK, Selim HM. Adsorption-desorption of 2,4,6-trinitrotoluene and hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine in soils. *Soil Science* 1995;160 (5):317-27.
- [136] Palazzo AJ, Leggett DC. Effect and disposition of TNT in a terrestrial plant. *J Environ Qual* 1986;15 (1):49-52.
- [137] Larson SL, Jones RP, Escalon BA, Parker D. Classification of explosives transformation products in plant tissue. *Environ Toxicol & Chem* 1999;18 (6):1270-6.
- [138] Schärer E. Entwicklung und Erprobung eines terrestrischen Modell-Ökosystems bestehend aus einer Vegetationskammer und einem Agrarökosystem-Modellausschnitt für quantitative ökochemische Verhaltensstudien von Umweltchemikalien. Berlin: Kommissionsverlag Paul Parey, 1983.
- [139] Van Aken B, Hofrichter M, Scheibner K, Hatakka AI, Naveau H, Agathos SN. Transformation and mineralization of 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) by manganese peroxidase from the white-rot basidiomycete *Phlebia radiata*. *Biodegradation* 1999;10 (2):83-91.
- [140] Fernando T, Bumpus JA, Aust SD. Biodegradation of TNT (2,4,6-trinitrotoluene) by *phanerochaete chrysosporium*. *Appl Environ Microbiol* 1990;56 (6):1666-71.
- [141] Xiang XM, Machate T, Wang R, Schramm K-W, Yang FL, Zhou JL, Kettrup AA. Sucrose-enhanced TNT removal in constructed wetland. *Water Res* 2001; zur Veröffentlichung eingereicht.

-
- [142] Xiang X, Machate T, Hoffmann I, Behechti A, Schramm K-W, Yang F, Kettrup AA, Zhou J. Sucrose enhanced anaerobic removal of 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) and studies on the acute aquatic toxicities of 2,4,6-TNT and some related monoamino metabolites. *Chemosphere* 2001; zur Veröffentlichung eingereicht.
- [143] Won WD, Heckly RJ, Glover DJ, Hoffsommer JC. Metabolic disposition of 2,4,6-trinitrotoluene. *Appl Microbiol* 1974;27 (3):513-6.
- [144] McCormick NG, Cornell JH, Kaplan AM. Identification of biotransformation products from 2,4-dinitrotoluene. *Appl Environ Microbiol* 1978;35 (5):945-8.
- [145] Tharakan JP, Gordon JA. Cometabolic biotransformation of trinitrotoluene (TNT) supported by aromatic and non-aromatic cosubstrates. *Chemosphere* 1999;38 (6):1323-30.
- [146] Scheibner K, Hofrichter M, Herre A, Michels J, Fritsche W. Screening for fungi intensively mineralizing 2,4,6-trinitrotoluene. *Appl Microbiol Biotechnol* 1997;47 (4):452-7.
- [147] Bumpus JA, Tatarko M. Biodegradation of 2,4,6-trinitrotoluene by phanerochaete chrysosporium: Identification of initial degradation products and the discovery of a TNT metabolite that inhibits lignin peroxidases. *Curr Microbiol* 1994;28:185-90.
- [148] Talmage SS, Opresko DM, Maxwell CJ, Welsh CJ, Cretella FM, Reno PH, Daniel FB. Nitroaromatic munition compounds: environmental effects and screening values. *Rev Environ Contam Toxicol* 1999;161:1-156.
- [149] Spanggord RJ, Spain JC, Nishino SF, Mortelmans KE. Biodegradation of 2,4-dinitrotoluene by a *Pseudomonas* sp. *Appl Environ Microbiol* 1991;58:3199-202.
- [150] Haigler LE, Spain JC. Biodegradation of 4-nitrotoluene by *pseudomonas* sp. Strain 4NT. *Appl Environ Microbiol* 1993;59:2239-43.

Veröffentlichungen

1. Hoffmann I, Machate T, Schramm K-W, Kettrup AA. Reinigung von TNT-belasteten Wässern in einer Pflanzenkläranlage: Darstellung des Metabolitenspektrums und der Abbaurate. In: Heiden S, Erb R, Warrelmann J, Dierstein R, Biotechnologie im Umweltschutz. Berlin: Erich Schmidt Verlag, 1999.
2. Hoffmann I, Xiang X, Schramm K-W, Machate T, Kettrup AA. Remediation of a contaminated water containing TNT and related nitroaromatic compounds in constructed wetland plant. Poster 7th International FCK/TNO Conference on Contaminated Soil. Leipzig, 2000.
3. Xiang X, Machate T, Hoffmann I, Behechti A, Schramm K-W, Yang F, Kettrup AA, Zhou J. Sucrose enhanced anaerobic removal of 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) and studies on the acute aquatic toxicities of 2,4,6-TNT and some related monoamino metabolites. Chemosphere; zur Veröffentlichung eingereicht (2001).

Erklärung

Die vorliegende Arbeit wurde unter Anleitung von Herrn Prof. A. Kettrup im Institut für Ökologische Chemie der GSF (Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit GmbH) angefertigt.

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus fremden Quellen direkt oder indirekt übernommenen Gedanken sind als solche kenntlich gemacht.

Lebenslauf

Name: Hoffmann, Ina
Geburtsdatum: 13. Januar 1971
Geburtsort: Sondershausen
Anschrift: Gräfstraße 111, 81241 München

Schul Ausbildung

1977 – 1987 Besuch der polytechnischen Oberschule in
Schlotheim/Thüringen

1987 – 1989 Besuch der erweiterten Oberschule in
Mühlhausen/Thüringen

Studium

1990 – 1991 Studium an der Technischen Universität Dresden,
Studiengang Wirtschaftsingenieurwesen

1991 – 1997 Studium an der Technischen Universität Dresden,
Studiengang Wasserwirtschaft,
Vertiefungsrichtung Wasserbewirtschaftung

Promotion

1997-2000 Promotionsarbeit am Lehrstuhl für Ökologische Chemie der
Fakultät für Landwirtschaft und Gartenbau der
Technischen Universität München und
am Institut für Ökologische Chemie,
GSF – Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit GmbH,
Neuherberg
Betreuer: Prof. A. Kettrup

Berufstätigkeit

Seit 2001 Softwareentwickler bei Firma IZB-Soft GmbH, München