

Z 81/45

MITTEILUNGEN

der

**DEUTSCHEN BODENKUNDLICHEN
GESELLSCHAFT**



Band 45

1986

I S S N - 0343-107X

Schriftleitung: P. Hugenroth, Göttingen

MITTEILUNGEN
DER
DEUTSCHEN BODENKUNDLICHEN
GESELLSCHAFT

Referate

1. Humuskolloquium der DBG

29. und 30. Oktober 1985

BAYREUTH

Band 45

1986

I N H A L T

		Seite
ZECH, W.:	Begrüßung	3
BEHMEI, P.:	Prinzipielle Probleme bei der Interpretation von IT-Spektren von Huminsäuren	5
DIETZE, G.:	Al-Bindungsformen und -Gleichgewichte im Sickerwasser saurer Böden, in Gegenwart organischer Sickerwasserinhaltsstoffe	11
EL-KAMMAH. M.:	Wechselwirkungen von Herbiziden, Huminstoffen und Tonmineralen im Dreikomponentensystem	13
FLAIG, W.:	Zur Beeinflussung des Pflanzenwachstums durch Bestandteile der organischen Bodensubstanz und mögliche Ursachen	19
FRIMMEL, F.H.:	Zum Einfluß der Isolierungsmethode auf die Metallkomplexierungsfähigkeit aquatischer Huminstoffe	27
FRÜND, R., H.D. LÜDEMANN u. F.J. GONZALES-VILA:	Vergleich von CPMAS und Lösungs-C-13 NMR Spektren von Huminstoffen aus Müllkomposten	35
GEIMER, E.:	Problematik und neue Ansätze zur Untersuchung adsorptiver Wechselwirkungen von Umweltchemikalien mit organischen Bodeninhaltsstoffen	41
GERKE, J.:	Tenside in der Umwelt - chemische Wechselwirkungen mit Huminstoffen	47
GÖTTLEIN, A., K. KREUTZER u. R. SCHIERL:	Untersuchungen über die Auftrennung wasserlöslicher organischer Stoffe in Waldböden mittels HPLC	53
GUPTA, S.K.:	Bioverfügbarkeit von Kupfer in einem Huminsäure- und Klärschlamm-Komplex	61
HAIDER, K.:	Biochemische Reaktionen bei der Umwandlung von Pflanzenrückständen in die Huminstoffe des Bodens	67
HASSELMANN, N.:	Untersuchungen zum Einbau von Kohlenhydraten in Modellhuminstoffe	69
HAUMAIER, L., M.B. JOHANNSON u. W. ZECH:	CPMAS- ¹³ C-NMR- und IR-spektroskopische Untersuchungen an frischer und zersetzter Fichtenstreu	75
HERMANN, R.:	Wechselwirkungen zwischen Huminstoffen und xenobiotischen Substanzen im Hinblick auf das Rückhaltevermögen eines Bodens mit definiertem Gehalt an organischer Substanz	81

		Seite
HEMPFLING, R. u. R. CANDLER:	IR-spektroskopische Charakterisierung wasserlöslicher Substanzen aus Fichten- rohhumus	87
HÜTTEN, U. u. W. ZIECHMANN:	Elektrische Leitfähigkeit von Huminstof- fen in festem Zustand	93
KÖGEL, I.:	¹³ C-NMR-spektroskopische Untersuchungen an Waldhumusformen	99
KÖNIG, N.:	Einfluß der natürlichen organischen Sub- stanzen auf die Schwermetallmobilisierung in sauren Waldböden durch Komplexierungs- und Sorptionsreaktionen	105
KUTSCH, H.:	Unbeladene und vorbeladene Adsorbermedien vom Typ XAD-4 zur präparativen Abtrennung niedermolekularer Organica von komplexen natürlichen Matrices	107
MALTZ, D.:	Die Charakterisierung von Huminstoff- systemen in Abhängigkeit von der Nutzungs- art	113
MÜLLER-WEGENER, U.:	Über die Bindung von Aminosäuren, Pepti- den und Proteinen an Huminstoffe	119
NASCHINSKI, D.:	Die Wechselwirkungen zwischen natürli- chen Huminstoffen und Aminosäuren	125
NIEMEYER, J.:	Sorptionsbestimmte vertikale Wanderung von xenobiotischen Substanzen im Boden; ein chromatographisches Modell	129
SCHARPENSEEL, H.W., P. BECKER-HEIDMANN u. J. FREYTAG:	Organischer Substanz-Abbau und Kohlen- stoff Profildynamik in Böden	135
SCHULTEN, H.R.:	Pyrolyse-Massenspektrometrie zur Charak- terisierung von Bodenhuminstoffen in Bö- den	141
SPITELLER, M.:	Möglichkeiten der Fluid-Extraktion zur Gewinnung von Bodeninhaltsstoffen	147
TADJERPISHEH, N.:	Genese und Analyse von Ton-Huminstoff- Komplexen	155
WEICHELT, TH.:	Maßnahmen gegen Wachstumshemmungen durch Ernterückstände	161
ZECH, W.:	CPMAS- ¹³ C-NMR-Spektren von Oxisol- und Terra preta-Humus	167
ZIECHMANN, W.:	Möglichkeiten der Verwendung von Modellen zur Klärung des Huminstoffproblems	173
ZIEGLER, F., I. KÖGEL u. W. ZECH:	Veränderung von Lignin in Waldhumus im Laufe der Streuzersetzung	181

Bodenhuminstoffe - ökologische Aspekte
und aktuelle Forschungsansätze

Sehr geehrte Damen und Herren,

ich begrüße Sie, auch im Namen des Präsidenten der Deutschen Bodenkundlichen Gesellschaft, Herrn Professor Dr. Hartge, herzlich in Bayreuth. Es freut mich, daß Sie unserer Einladung folgen konnten und so zahlreich nach Bayreuth gekommen sind.

Das Thema unseres Symposiums "Bodenhuminstoffe - ökologische Aspekte und aktuelle Forschungsansätze" ergab sich im Laufe intensiver Gespräche zwischen den Kollegen Ziechmann, Haider und mir. Wir meinen, daß die Forschung auf dem Huminstoffgebiet in den letzten Jahren große Fortschritte gemacht hat. Es erscheint uns notwendig und zweckmäßig, in gewissen Zeitabständen Arbeitsgespräche zum besseren Informationsaustausch zu organisieren. Das Symposium in Bayreuth ist ein erster Versuch in dieser Richtung.

W. Zech



ANLÄSSLICH DES 1. DBG-HUMUSSYMPIOSIUMS IN BAYREUTH ERHIELT
HERR PROFESSOR DR. DR. H. C. WOLFGANG FLAIG AUS
DER HAND VON HERRN ZIECHMANN DAS 1. HUMILE ÜBERREICHT.
WIR GRATULIEREN HERZLICH UND WÜNSCHEN DEM GEEHRTEN NOCH
VIELE SCHAFFENSREICHE JAHRE.

Prinzipielle Probleme bei der Interpretation von IR-Spektren
von Huminsäuren

von
Behmel, P ⁺⁾

Infrarotspektren dienen häufig zur Charakterisierung von Huminsäuren bzw. Huminstoffen. In der Regel werden die Spektren auch interpretiert, um Aussagen über Strukturmerkmale zu erhalten. Fehlinterpretationen und Überbewertung der IR-Spektren von Huminsäuren sind aus mehreren Gründen leicht möglich. Die folgenden Ausführungen sollen nicht die Anwendung der IR-Spektroskopie bei der Huminsäureanalytik in Frage stellen, sondern Hinweise für eine sehr kritische und zurückhaltende Spektreninterpretation liefern.

Huminsäuren sind nicht als einheitliche definierte Substanz anzusehen, sondern sie sind ein komplexes Substanzgemisch mehr oder weniger ähnlicher Stoffe. Es handelt sich in der Regel um Oxidationsprodukte postmortaler Pflanzensubstanzen, die im Boden komplizierten chemischen Umwandlungen unterworfen sind. Die IR-Spektren von natürlichen sowie synthetischen Huminsäuren sind fast immer außerordentlich bandenarm, die Banden sind oft schwach, breit und kaum voneinander abgegrenzt. Im Fingerprintbereich unterhalb 800 cm^{-1} sind die Spektren besonders bandenarm oder weisen z.T. überhaupt keine Banden auf.

Bei der Untersuchung einer großen Zahl verschiedener Huminstoffe und Vergleich ihrer IR-Spektren, traten oft Übereinstimmungen auf, die mit Sicherheit nicht nur auf strukturelle Ähnlichkeit zurückzuführen sind. Die IR-Spektren eines Natriumhumates aus Moorbrei und eines Natrium-Allomelanins aus Banane (*Musa sp.*) sind nahezu deckungsgleich, die Zusammensetzung dieser Substanzen erwies sich jedoch als nicht gleich (Gelpermeationschromatographie) (1).

⁺⁾ Abt. Chemie u. Biochemie im System Boden, Lehrgebiet Chemie, Inst. f. Bodenwiss. d. Universität, v. Sieboldstr. 2, 3400 Göttingen

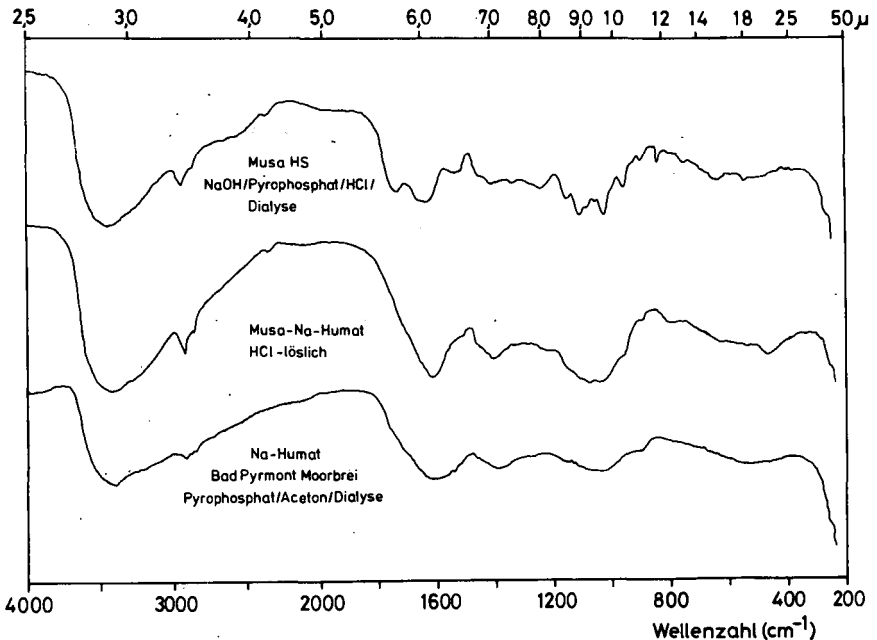


Abb. 1: IR- Spektren von Musa Huminsäure, Musa-Na-Humat (Allomelanin) und Natriumhumat aus Moorbrei

Die IR-Spektren von nach verschiedenen Methoden dargestellten Brenzkatechinsynthesehuminsäuren unterscheiden sich nur unwesentlich (Abb. 2), (1). Selbst Substanzen, die nicht einmal mehr als Huminsäuren bezeichnet werden können, liefern IR-Spektren, die denen von "echten" Huminsäuren ähneln: hier sei besonders Polypyrrol hervorgehoben, ein schwarzbraunes Polymer, welches durch Oxidation von Pyrrol gewonnen und in der Literatur als Pyrrolschwarz bezeichnet wird (2). Interessanterweise konnte auch die Struktur von Pyrrolschwarz bisher nicht aufgeklärt werden.

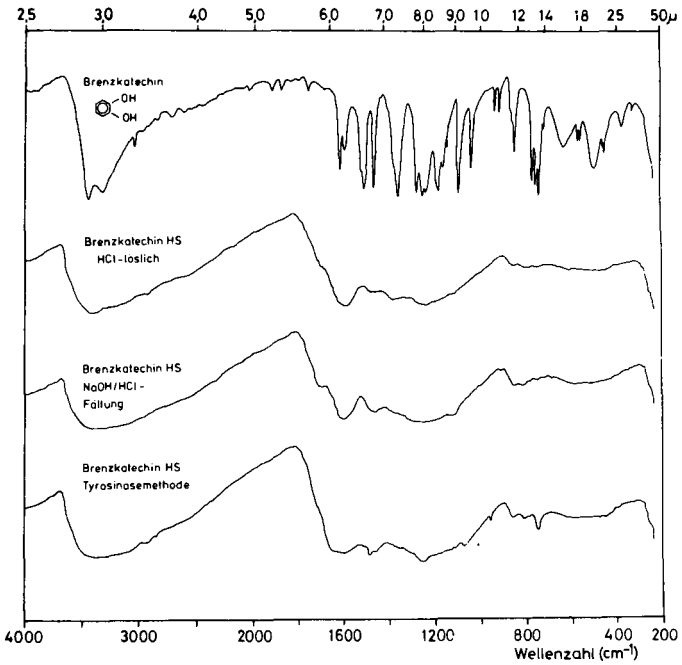


Abb. 2: Brenzkatechinsynthesehuminsäuren nach verschiedenen Methoden dargestellt

Andererseits liefern definierte höhermolekulare reine Substanzen noch klar definierte differenzierte IR-Spektren. Als Beispiel sei das Antibiotikum Ristocetin A genannt (Molgew.: 2067,93), welches viele Atomgruppierungen aufweist, die auch Strukturmerkmale von Huminsäuren sein können. Die Substanz ist allerdings farblos, da sie keine Chromophore (z.B. chinoiden Systeme) enthält (3), (Abb. 4). Weiterhin wurde festgestellt, daß Proteine und Bakterientrockensubstanz huminsäureähnliche IR-Spektren liefern.

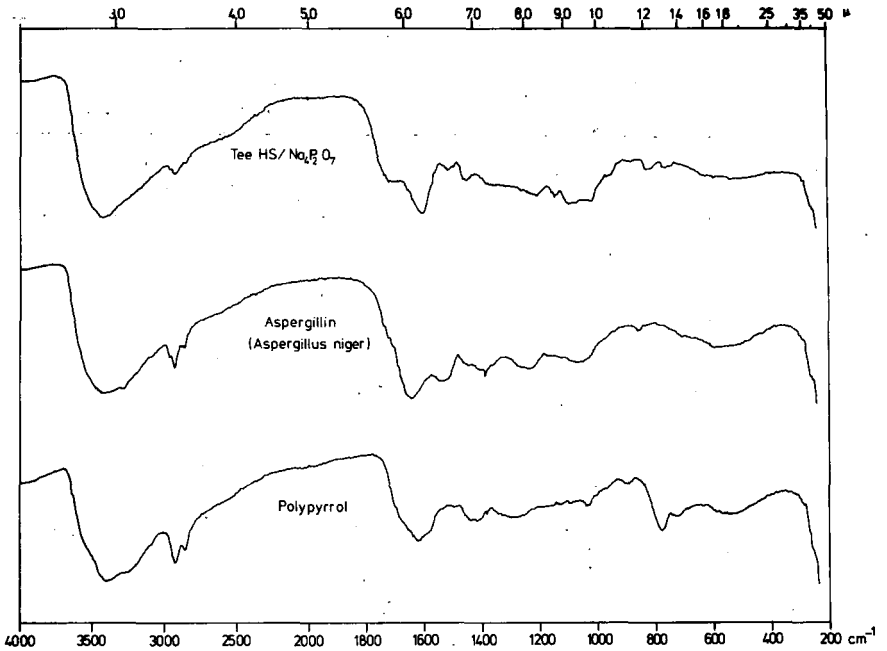
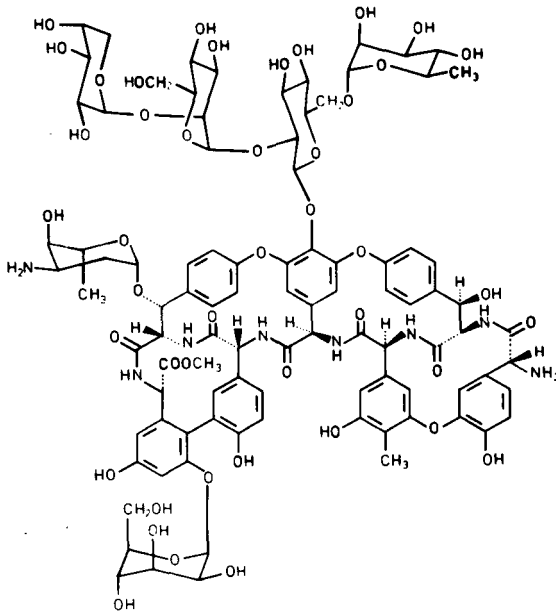


Abb. 3: Vergleich der IR-Spektren von Huminsäure aus schwarzem Tee, Allomelanin aus Aspergillus niger (Aspergillin) und Polypyrrol (Pyrrolschwarz)

Es konnte nachgewiesen werden, daß Huminsäuren an Bakterienzellwand bzw. Protein während des Wachstums in huminsäurehaltigem Kulturmedium sorbiert werden. Hierbei werden aber nur 1-5% Huminsäure gebunden; dennoch sind die Bakterien dunkelbraun gefärbt. Der Huminsäuregehalt der Bakterientrockensubstanz drückt sich im IR-Spektrum jedoch kaum aus (1), (Abb. 5).



Ristocetin A

Abb. 4: Struktur von Ristocetin A

Dieses Phänomen muß besonders berücksichtigt werden. Es kann davon ausgegangen werden, daß Klärschlamm-Huminsäuren zu einem erheblichen Anteil aus einem Komplex von Murein, Cytoplasmprotein und Huminsäuren bestehen, wobei der Huminsäureanteil relativ gering ist.

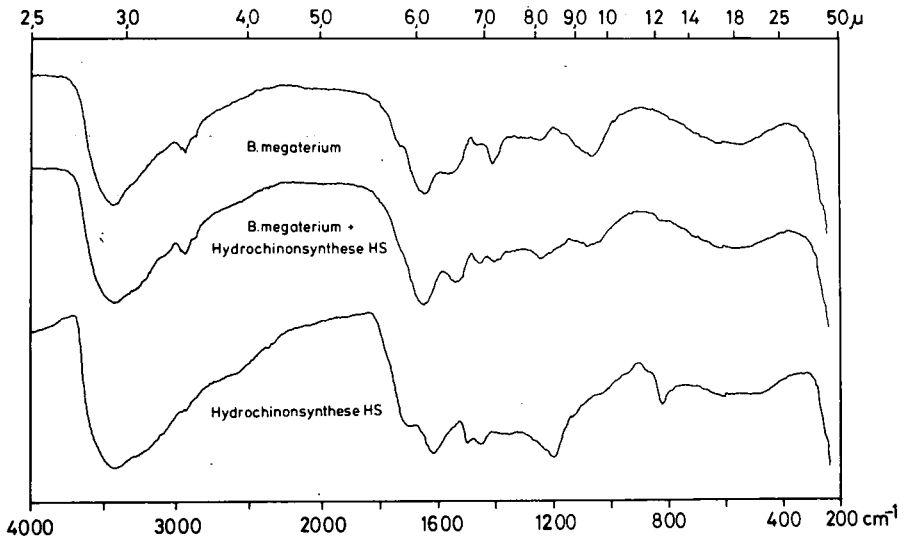


Abb. 5: IR-Spektren von Bacillus megaterium Trockensubstanz, Hydrochinonsynthesehuminsäure und Bakterientrockensubstanz mit sorbierter Hydrochinonsynthesehuminsäure

Die genannten Beispiele zeigen deutlich die Problematik der Interpretierbarkeit von Huminsäurespektren.

LITERATUR:

- (1) Behmel, P.: eigene Untersuchungen
- (2) Gossauer A.: Die Chemie der Pyrrole, Springer Verlag, 1974, S. 149 ff
- (3) Williams, D. et al.: Chem. Commun., 906, 1979

Al-Bindungsformen und -Gleichgewichte im Sickerwasser saurer Böden,
in Gegerwart organischer Sickerwasserinhaltsstoffe

von
Dietze, G. ^{†)}

Hauptuntersuchungsgegenstand war die an gelöste organische Sickerwasserinhaltsstoffe komplexgebundene Al-Spezies. Die Experimente wurden an natürlichen Sickerwässern eines Humusauflagermaterials des Fichtenstandortes im Solling durchgeführt. Probennahmezeitraum war die Vegetationsperiode 1984. Durch Ermittlung der thermodynamischen und kinetischen Bindungsstabilität der natürlichen organischen Al-Komplexe wurden der Einfluß gelöster organischer Sickerwasserinhaltsstoffe auf die Mobilisierung und Verlagerbarkeit von Al im Sickerwasser und die sich daraus ergebenden Konsequenzen für die Ökotoxikologische Wirksamkeit auf Pflanzen und Edaphon deutlich.

Mehrere analytische Trennmethode wurden in Kombination eingesetzt. Es wurden die Molekülgrößenverteilungsprofile der organischen Komponente durch Anwendung der sterischen Ausschlußchromatographie (HPLC-Technik) und des Dialyseverfahrens (unter Verwendung von Membranen verschiedener Porengrößen) erstellt. Durch Bestimmung der organischen Kohlenstoff- und Al-Gehalte in den jeweiligen Molekülgrößenfraktionen und anschließender mathematischer Korrelation der Daten wurde eine quantitative Aussage über das Komplexverhalten der organischen Sickerwasserinhaltsstoffe gegenüber Al möglich. Weiterhin wurden die Lösungen gegen Kationenaustauschharze dialysiert.

Zur weiteren Differenzierung sogenannter kinetisch labiler von kinetisch inerten Spezies fanden Untersuchungen an starksauren Kationenaustauschharzen im Säulenversuch statt. Die Perkulationsgeschwindigkeit der Lösung wurde dabei variiert. Neben den unbekanntem Sickerwasserinhaltsstoffen wurden mögliche Modellliganden entsprechend untersucht.

Die gemeinsamen Betrachtung aller Daten für diesen Standort ergaben:

- Die thermodynamische und kinetische Bindungsstabilität organischer Al-Komplexe nimmt mit der Molekülgröße organischer Sickerwasserinhaltsstoffe zu. Die Übergänge sind fließend. Die Bindungsstabilität ist erwartungsgemäß eine Funktion des pH-Wertes.
- Mit 40 bis 80% Anteil an den organischen C-Gesamtgehalten dominieren die mittleren bis hochpolymeren Molekülgrößen.
- Bei noch niedrigen pH-Werten (3.1- 3.4) ist Al thermodynamisch stabil bevorzugt an diese Fraktion gebunden. Dies ist für die warmen Sommermonate um so mehr der Fall, in denen die gelöste organische Substanz durch Mineralisationsvorgänge an Einfluß auf die Komplexbildung gewinnt.

Ein ausführliches Protokoll zu diesem Vortrag wurde bereits in *Mitteilgn. Dtsch. Bodenkundl. Gesellschaft.*, 43/I, 347 - 352, 1985 veröffentlicht.

^{†)} Inst. f. Bodenkunde u. Waldernährung, Büsingerweg 2, 3400 Göttingen



Wechselwirkungen von Herbiziden, Huminstoffen und
Tonmineralen im Dreikomponentensystem

von
EL-Kammah, M. *)

1- Einleitung und Problemstellung:

Seit einiger Zeit nimmt die Anwendung synthetisch hergestellter organischer Pestizide in den verschiedensten Bereichen ständig zu. Unter den Pestiziden sind die Herbizide von größter Bedeutung. Schon relativ früh wurde festgestellt, daß nicht immer die gesamte ausgebrachte Menge der Herbizide auch tatsächlich zur Wirkung kommt. Dies zeigt einmal mehr auf, daß das in Böden befindliche System der Huminstoffe und der Bodentonminerale einen erheblichen Einfluß auf die Wirkung der Herbizide nimmt.

Die chemische Bedeutung der Tonminerale und Huminstoffe als originäre Bodeninhaltsstoffe aber auch die der zugesetzten Herbizide in Böden ist unbestritten. Sie manifestiert sich in seit langem studierten Wechselwirkungen im Zweikomponentensystem (ZKS).

Für die Gruppe der s-Triazine sind vielseitige Untersuchungen über die Wechselwirkung mit Huminstoffen bzw. Tonmineralen durchgeführt worden, doch konnten die Wechselwirkungen von Herbiziden, Tonmineralen und Huminstoffen im Dreikomponentensystem (DKS) noch nicht aufgeklärt werden.

Ein Ansatz im Zweikomponentensystem zur Klärung der ökologisch wichtigen Probleme ist zwar zur Erfassung der chemischen Grundlagen, z.B. des Bindungstypus zwischen 2 Komponenten unerlässlich, trifft jedoch noch nicht die realen Verhältnisse im Boden.

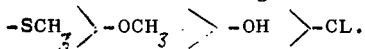
*Institut für Bodenwissenschaften
der Georg-August-Universität
Abt.: Chemie und Biochemie im System Boden,
3400 Göttingen.

Die Aufgabe des hier vorgestellten Projektes ist nun zu klären, wie sich diese Verbindungen in einem Dreikomponentensystem verhalten und ob in diesem System Prioritäten für mögliche Wechselwirkungen zu erkennen sind. Es gilt also hier die Reaktionsvarianten der drei freien, gleichzeitig anwesenden Komponenten zu erfassen, um nach Möglichkeit eine Hierarchie der realen Reaktionen aufzustellen, die es erlauben soll, aus äußeren physikalisch-chemischen Parametern, wie dem pH-Wert, den Konzentrationen und dem chemischen Verhalten der Reaktionspartner eine verlässliche Prognose über das reale Geschehen im natürlichen Boden abgeben zu können.

2- Auswahl der Einzelkomponenten:

Herbizide: Aus der Gruppe der s_5 -Triazine, es sind heterocyclische Stickstoff-Verbindungen, wurde das Prometryn (Gesapard-Wirkstoff) 2-Methylthio-4,6-diisopropylamino- s_5 -triazin, für die Hauptexperimente ausgewählt. Zum Vergleich wurden das Atrazin (Gesaprim-Wirkstoff) 2-Chlor-4-äthylamino-6-isopropylamino- s_5 -triazin, Prometon (Primatol) 2-Methoxy-4,6-diisopropylamino- s_5 -triazin und Ametryn (Gesapax-Wirkstoff) 2-Methylthio-4-äthylamino-6-isopropylamino- s_5 -triazin herangezogen, so daß jeder Vertreter der drei Hauptgruppen der Triazine in die Experimente eingezogen wird.

Die Adsorption der Herbizide an ein Matrix ist (u.a) von ihren Substituenten in der Position 2 abhängig. Dabei ist festzustellen, daß die s_5 -Triazine mit Methylthiogruppen stärker sorbiert werden als die chlorosubstituierten Triazine. Dabei nimmt die Adsorption der Herbizide der s_5 -Triazine wie folgt ab:



Die Huminsäuren: Die Modellhuminsäure (synthetische Huminsäure) wurde aus Hydrochinon hergestellt. Die natürlichen Huminsäuren wurden durch alkalische Extraktion aus unterschiedlichen Böden gewonnen.

Die Tonminerale: Die Tonminerale können aufgrund ihrer physikalischen, geochemischen und kristallstrukturellen Eigenschaften an Kanten, Seitenflächen und auch in den Zwischenschichträumen Huminstoffen und Herbiziden adsorbieren.

Um ein möglichst breites Versuchskonzept realisieren zu können, wurden zur Untersuchung der Ton-organischen Komplexe Tonminerale

recht unterschiedlichen Charakters verwendet.

Zweischichtminerale: Kaolinit / Halloysit

Dreischichtminerale: Palygorskit(Attapulgit)/Montmorillonit

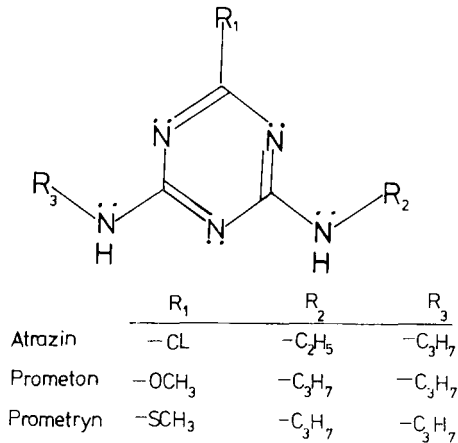
Deutsche Böden : Parabraunerde /Schwarzerde /Podsol

Ägyptische Böden : Nildelta-Alluvialerde "Damanhour/Kafr EL-Sheikh"

Salzboden "Shalma"

Kalkerde "Ismailia /Alexandria"

Die Abbildung (1) zeigt die Strukturen einiger Herbizide der s-Triazin-Reihe.



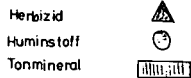
Abbildung(1): Strukturen einiger Herbizide

Die Ton-und Bodentonminerale wurden für die Synthese tonorganischer Komplexe vorbehandelt.

3- Aufbau des Modells:

Um das gesteckte Ziel erreichen zu können, werden die verschiedenen Zwei- und Dreikomponentensysteme hergestellt. Abbildung(2) und (3) erklären schematisch die Bildung der Zwei- und Dreikomponentensysteme.

Zum Dreikomponentensystem Herbizid - Huminstoff - Tonmineral

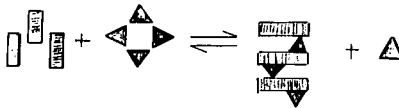


1 - Zweikomponentensysteme :

1.1 - Herstellung der Herbizid - Huminstoff - Komplexe :



1.2 - Herstellung der Tonmineral - Herbizid - Komplexe :



1.3 - Herstellung der Huminstoff - Tonmineral - Komplexe :

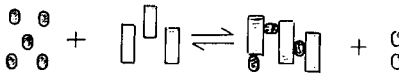


Abbildung (2): Schematische Darstellung der Zweikomponentensysteme (ZKS)

4- Experimentelle Lösungsansätze:

Mit Hilfe der folgenden analytischen Untersuchungsmethoden wird die Charakterisierung der erreichten Systeme vorgenommen, um die Bindungsverhältnisse erfassen zu können.

1- IR- Spektroskopie

2-UV/VIS-spektroskopische Untersuchungen

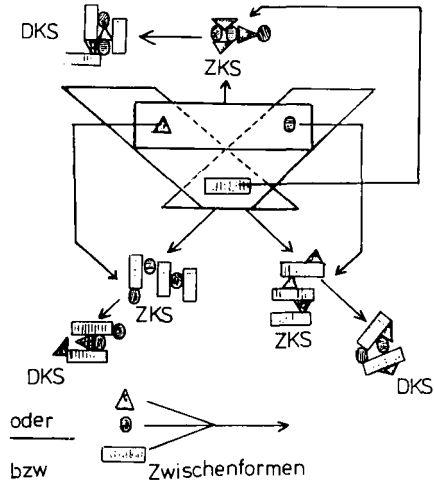
3-Kationenaustauschkapazität

4-Differenz-Thermo-Analyse DTA

5-Röntgenographische Analyse

6-Kohlenstoffanalyse

2- Dreikomponentensysteme :



Abbildung(3): Schematische Darstellung der Dreikomponentensysteme (DKS)



Zur Beeinflußung des Pflanzenwachstums durch Bestandteile der organischen Bodensubstanz und mögliche Ursachen.

von

Flaig, W. ⁺)

Die Humifizierung des abgestorbenen Pflanzenmaterials ist überwiegend ein aerober Prozeß, der je nach den Umweltbedingungen einen zwar in Grenzen, aber doch einen unterschiedlichen Verlauf nehmen kann.

Ein wesentliches Merkmal fruchtbarer Böden ist der Humusgehalt. Die Ertragstreue der mit organischer Masse versorgten Böden ist den Landwirten wohlbekannt. Die Witterung und die Lichtenergie der Sonnenstrahlen, zwei wichtige Faktoren für die pflanzliche Produktion, sind von den Menschen nicht veränderliche Größen. Man kann daher nur versuchen, die Witterungsempfindlichkeit der Pflanzen herabzusetzen, indem man den Gas- und Wasserhaushalt der Böden sowie die Versorgung der Pflanze mit Nährstoffen verbessert. Zur Aufklärung von Kausalzusammenhängen zwischen den Humusstoffen und dem Pflanzenwachstum bzw. dem Pflanzenstoffwechsel müssen die Untersuchungen unter definierten Bedingungen gemacht werden, da Versuche im Freiland auf Grund der sich jährlich ändernden Umweltbedingungen nur Relativwerte ergeben.

Der Gehalt der Böden an Humus ist unterschiedlich. Dies betrifft sowohl die Menge als auch die Art. Diese hängen hauptsächlich von den klimatischen Bedingungen, der Zusammensetzung des anorganischen Materials und der Art der Pflanzendecke ab.

⁺) Otto-Hahn-Strasse 132, D-8708 Gerbrunn

In einigen Bodentypen sind in der Krume ,in anderen bis in tiefere Schichten des Profils größere Mengen an Humus vorhanden.In zahlreichen Arbeiten wird über den Einfluß von Humus auf den Ertrag berichtet,Auf den mit Humus versorgten Böden wird im Vergleich mit denen mit geringerem Humusgehalt sowohl unter günstigen als auch unter ungünstigen klimatischen Bedingungen ein Mehrertrag in der Größenordnung von 8 % erzielt.

In der folgenden Zusammenstellung wird auf die mögliche Beeinflußung von Wachstum und Ertrag der Pflanze durch die Bestandteile der organischen Bodensubstanz hingewiesen.

Beeinflußung von Wachstum und Ertrag
der Pflanze durch Bestandteile der organischen Bodensubstanz

A)Indirekte Wirkungen im Wurzelraum

- 1.Änderung physikalischer Eigenschaften
(z.B.Bodengefüge,Umtauschkapazität ...)
- 2.Beteiligung an chemischen Reaktionen
(z.B.Verwitterung,Komplexbildung mit Schwermetallen,
Wechselwirkung mit Pestiziden ...)
- 3.Änderung der Aktivität von Enzymsystemen

B)Direkte Wirkungen nach Aufnahmeüber die Wurzel

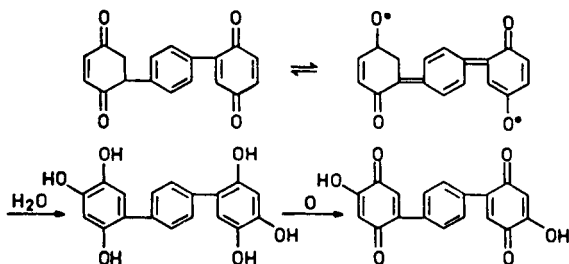
- 1.Erleichterung der Aufnahme und Verteilung von Schwermetallen in Form von Komplexen
- 2.Beteiligung am Stoffwechsel zum Aufbau von Inhaltsstoffen (?)
- 3.Einfluß auf Stoffwechselvorgänge (Kohlenhydrat-,Proteinstoffwechsel,Zitronensäurezyklus,Ionentransport ...)
- 4.Nachlieferung von N,P und S aus organischer Bindung

Es werden dabei A)Indirekte Wirkungen unterschieden,die im Wurzelraum auftreten, und B)Direkte Wirkungen,die erst

nach Aufnahme der Substanzen über die Wurzel erfolgen.

Auf die indirekten Wirkungen wird nur im Zusammenhang mit dem Einfluß der sphärokolloidalen Huminsäuren - im Gegensatz zu Linearkolloiden wie Schleimstoffe der Mikroorganismen - auf die Stabilität der Bodenkrümel hingewiesen. Die Mechanismen der Einwirkung sind unterschiedlich (Flaig u. Mitarb., 1976).

Da die Huminsäuren als hochmolekulare Substanzen von den Pflanzen nicht über die Wurzel aufgenommen werden können, soll darauf hingewiesen werden, daß sie auch als polymere Redoxsysteme im Wurzelraum Funktionen ausüben können, wie von Ziechmann (1980) beschrieben worden ist. Mit einem Modellversuch sollen hierzu noch einige Erläuterungen gegeben werden.



Das p-chinonoid 1,4-Dichinonyl-benzol liegt zu einem Teil als o-chinonoides Diradikal vor, wie man aus der roten Farbe mit einem Maximum im UV-Spektrum bei 270 m μ schließen kann, - also in einem Bereich, in dem o-Benzochinone stark absorbieren (Ploetz, 1955).

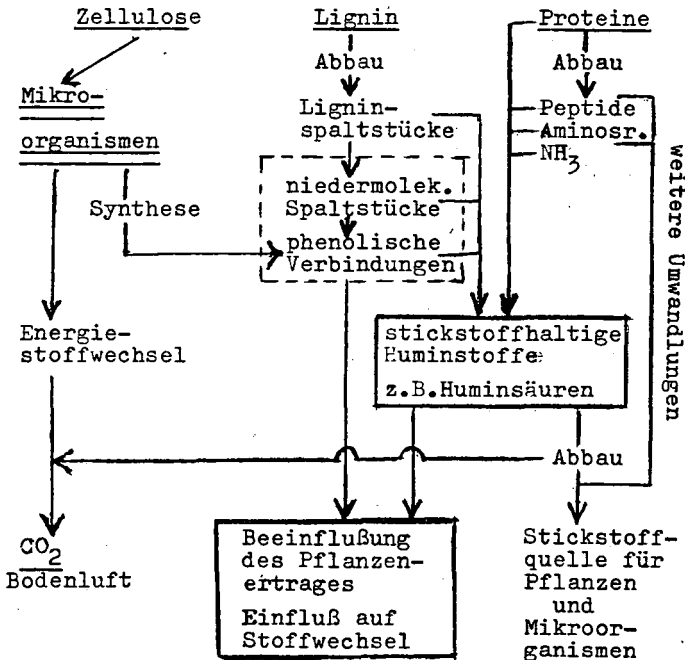
Das tautomere o-chinonoides Radikal geht durch einfache Wasseranlagerung in die entsprechenden Hydroxy-hydrochinone über. Bei partieller Dehydrierung der Hydroxy-hydrochinone entstehen stark saure Verbindungen. Ein Gemisch derartiger Verbindungen ergibt ein UV-Spektrum, das dem

kontinuierlichen Spektrum natürlicher Huminsäuren sehr ähnlich ist. Inwieweit die Huminsäuren als intramolekulare Redox-Systeme einen Einfluß auf die Ionenaufnahme über die Wurzel haben, ist noch unbekannt. Es können nur Vermutungen ausgesprochen werden, wie aus den weiteren Ausführungen hervorgeht.

Zu den B) Direkte Wirkungen soll zu Fall 1) keine Angabe gemacht werden. Im Falle 2) spielt diese Beteiligung wahrscheinlich keine große Rolle, obwohl bekannt ist, daß Böden zugesetzte Aminosäuren von den Pflanzen aufgenommen werden. Im Falle 4) wird nicht berichtet, obwohl ca 20% des Gesamtstickstoffs in den Pflanzen aus dem im Boden organisch gebundenen Stickstoff stammt. Seine Herkunft ist in dem nachfolgenden Schema angedeutet.

Umwandlung von Pflanzeninhaltsstoffen in Huminstoffe unter Beteiligung von Mikroorganismen

Pflanzeninhaltsstoffe



Im Falle 3) wird ausführlicher berichtet. Alle dort aufgeführten Stoffwechseländerungen sind mit Experimenten unterschiedlichster Art festgestellt worden; sie werden im einzelnen nicht beschrieben.

In dem folgenden Schema über die Umwandlung der Pflanzeninhaltsstoffe sind die Bereiche für die Herkunft der Substanzen, mit denen gearbeitet wurde, und die Zielsetzung der Versuche umrandet. Den in dem durchbrochenen Rahmen aufgeführten Substanzen galt das besondere Interesse, da es sich um definierte Verbindungen handelt. Die Vorgänge bei deren Einsatz lassen sich besser untersuchen als im Falle von Huminstoffen, deren chemische Konstitution noch nicht aufgeklärt ist. Angaben zu den im Schema aufgeführten Reaktionsschritten können aus der angeführten Literatur entnommen werden (Flaig, 1982, 1984, Flaig u. Mitarb., 1975, Haider u. Mitarb., 1967, 1983, 1985, Harms, 1977, Hayes, 1984, Meuzelaar u. Mitarb., 1977, Sauerbeck, 1983, Scharpenseel u. Mitarb., 1984, Schnitzer 1978).

Bei den verschiedenartigen Versuchen wie Feld- und Gefäßversuche, Keimpflanzen in Sandkulturen mit Nährlösung, Wasserkulturen, Zellsuspensionskulturen sowie mit pflanzlichen Mitochondrien wurde mit Substanzen gearbeitet, die aus dem Ligninabbau stammen wie Phenolkarbon- bzw. -acrylsäuren oder mit Modellsubstanzen wie verschiedenen substituierte Diphenole bzw. Chinone, die chemisch ähnlich waren.

Ein Zusammenhang zwischen der Ertragssteigerung - z.B. dem Trockengewicht von Getreidekeimpflanzen auf Sandkulturen mit Nährlösung - und strukturellen Eigenschaften der als Modellsubstanzen eingesetzten unterschiedlich methylsubstituierten Benzochinone-1,4 konnte dadurch hergestellt werden, daß deren Vermögen der Bildung von Komplexen mit Alkaliionen gemessen wurde (Riemer, 1970, Flaig u. Mitarb., 1971). Eine derartige Komplexbildung kann in der Lipidphase der Zellmembran stattfinden. Auch andere Wirkstoffe wie 2,4-Dinitrophenol, β -Indolessigsäure u.a. bilden Komplexe mit Alkaliionen.

Nach der chemi-osmotischen Theorie von Mitchell (1966,1978) erfolgt die Kopplung von Atmung und ATP-Synthese nicht durch energiereiche Verbindungen, sondern durch einen von der Atmung kontrollierten Transport von Protonen durch die Kopplungsmembrane, die ionenspezifische Austausch- und Diffusionssysteme enthält. Die festgestellten Veränderungen im Stoffwechsel (B Fall 3) bei Ertragserhöhenden Konzentrationen der eingesetzten Verbindungen ließen eine schwache Entkoppelung der oxidativen Phosphorylierung erkennen. Diese wird als Ursache für die Zunahme der Trockensubstanzbildung angesehen (vgl. hierzu Schmid u. Mitarb. 1962, Söchtig, 1964).

Im Falle der Chinon-Alkaliionen-Komplexe wird der elektrische Widerstand der Membran vermindert, wodurch die Durchlässigkeit für Protonen und Kationen erhöht wird. Es erfolgt ein teilweiser Zusammenbruch des elektrochemischen Potentials zwischen der Innen- und Außenseite der Kopplungsmembran, der zu der festgestellten Entkoppelung der oxidativen Phosphorylierung führt.

Schriftenverzeichnis

- Flaig, W. (1976) Contributions of biochemistry of soil organic matter to soil conditioning. 3rd International Symposium on soil conditioning. Med. Fak. Landbouwwetenschappen Rijksuniv. Gent, 41, 23-40.
- (1982): Dynamics of organic matter decomposition in soils. - Transac. of 12th Internat. Congr. of Soil Sci. Vol. II, 115-124.
- (1984): Soil organic matter as a source of nutrients. Organic Matter and Rice, Internat. Rice Res. Inst., Los Baños, Laguna Philippines, 73-92.
- Flaig, W. and H. Riemer. (1971): Contribution to the mechanism of the influence of substances from soil organic matter on plant growth. In: Studies about Humus, Transac. of Internat. Symp. "Humus et Planta V", Prague. Czecho-Slovakia, 519-526.

- Flaig, W., Beutelspacher, H. and Rietz, E. (1975): Chemical composition and physical properties of humic substances. In: Soil Components 1, Chapter 1, Springer, New York, po. 1-211
- Haider, K. and Farooq-e-Azam. (1983). Umsetzung ^{14}C -markierter Pflanzeninhaltsstoffe im Boden in Gegenwart von ^{15}N -Ammonium. Z. Pflanzenernähr. Bodenk., 146, 151-159.
- Haider, K. and J.P. Martin. (1967): Synthesis and transformation of phenolic compounds by *Epicoccum nigrum* in relation to humic acid formation. - Soil Sci. Soc. Am. Proc. 31, 766-772.
- Haider, K., E.W. Kern and L. Ernst. (1985): Intermediate steps of microbial lignin degradation as elucidated by ^{13}C -NMR spectroscopy of specifically ^{13}C -enriched DHP-lignins. - Holzforschung, 39, 23-32.
- Harms, H. (1977). Metabolism of soil related phenolic compounds in plants and cell suspension cultures, Proc. Proc. Int. Symp. "Soil Organic Matter Studies" IAEA, Vienna, 2, 301-305.
- Hayes, M.H.B. (1984): Structures of humic substances. Organic Matter and Rice, Internat. Rice Res. Inst., Los Baños, Laguna Philippines, 93-115.
- Neuzelaar, E.L.C., K. Haider, B.R. Nagär and J.P. Martin. (1977): Comparative studies of pyrolysis-mass spectra of Melanins, model phenolic polymers and humic acids. - Geoderma, 17, 239-253.
- Mitchell, L.P. (1966) Chemiosmotic coupling in oxidative photosynthetic phosphorylation. Biol. Rev. Cambridge philos. Soc. 41: 445-502.
- _____ (1978): Protomotive chemiosmotic mechanisms in oxidative and photosynthetic phosphorylation. Trends in Biochemical Sciences 3, N58-N61.
- Floetz, Th. (1955): Polymere Chinone als Huminsäuremodelle. Z. Pflanzenernähr. Düng. Bodenkunde 69, 50 - 53.

- Riemer, H. (1970) Polarographische Untersuchungen über Beziehungen zwischen Struktur und Reaktivität bei Benzochinonen. Diss. Univ. Braunschweig, Fed. Rep. of Germany, 109 p.
- Sauerbeck, D. R. (1983): Studies on the Breakdown of Plant residues in Soils and the Turnover of Photosynthates in the Rhizosphere. In: Proc. of republic of China - Federal Republic of Germany Seminar on Plant Nutrition and Soil Science, Nat. Sci. Counc., Taipei, Taiwan, Rep. of China pp. 147-155.
- Scharpenseel, H.-W. and H. U. Neue. (1984): Use of isotopes in studying the dynamics of organic matter in soils. Organic Matter and Rice, Internat. Rice Res. Inst., Los Baños, Laguna Philippines, 273-310.
- Schmid, G. and W. Flaig (1962) Pflanzenstoffwechsel und Wirkstoffe. Landbauforsch. Völkenrode 12: 51-57.
- Schnitzer, M. (1978): Humic substances: Chemistry and reactions. In: Soil Organic Matter (eds. Schnitzer, M. and Khan, S. U.), pp. 1-64. Elsevier.
- Söchtig, E. (1964) Beeinflussung des Stoffwechsels der Pflanzen durch Humus und seine Bestandteile und die Auswirkung auf Wachstum und Ertrag. Landbauforschung Völkenrode 14: 9-16.
- Ziechmann, W. (1980): Huminstoffe, Probleme, Methoden, Ergebnisse. Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield, Florida, Basel. 408 pp.

Zum Einfluß der Isolierungsmethode auf die Metallkomplexierungs-
fähigkeit aquatischer Huminstoffe

von
Frimmel, F.H. +)

Die Fracht an gelöstem organischen Kohlenstoff, die von Oberflächenwässern weltweit in die Ozeane transportiert wird, beträgt etwa $0.5 \cdot 10^6$ to/d /1/. Ca. $4 \cdot 10^{12}$ to organische Substanzen sind im Boden festgelegt /2/. Ein Teil davon wird bei Sicker Vorgängen in gelöster Form in den Untergrund transportiert und erreicht das Grundwasser. Trotz dieser riesigen globalen Werte tritt der gelöste organische Kohlenstoff, der im wesentlichen der Substanzklasse der Huminstoffe (HUS) zugeordnet werden kann, in der Regel lediglich in Konzentrationen von einigen wenigen mg/l auf. Dieser Bereich ist jedoch für den direkten Einsatz der meisten strukturaufklärenden Methoden ungeeignet. Um dieses Problem zu umgehen, sind Konzentrierungsschritte notwendig. Sie beinhalten zwangsläufig eine mehr oder weniger drastische Veränderung der Lösungsmatrix /3/. Zur Frage, ob das die Struktur der schließlich gewonnenen HUS beeinflusst, ist wenig bekannt. Eine mögliche Denaturierung spielt aber bei den von Strukturkenndaten abgeleiteten Schlüssen für die Beurteilung der Originalsysteme eine grundsätzliche Rolle.

Untersuchungskonzept

Um den Einfluß der Isolierungsmethode auf die Eigenschaften der HUS zu untersuchen, wurden sie aus einem Wassertümpel in anmoorigem Gelände gewonnen. Mit den isolierten HUS (Fulvinsäuren FA und Huminsäuren HA) wurde ein Modellwasser synthetisiert, das dem filtrierten (0,45 µm Membran) Originalwasser möglichst ähnlich war. Zum Vergleich der Wässer dienten die Komplexierungskriterien gegenüber Kupfer(II), die in den vorgegebenen Konzentrationen problemlos zu bestimmen waren.

Originalwasser

Die Probenahme des Braunwassers erfolgte im Winter zu einer Zeit, wo der Tümpel eine geschlossene, von Schnee bedeckte Eisschicht trug. Dadurch sollte der nicht untersuchte Einfluß der Mikrobiologie auf die Wasserzusammensetzung minimiert werden. Das Wasser zeigte die in Tabelle 1 genannten Eigenschaften.

Isolierungsmethode

Die wohl am häufigsten angewandte Isolierungsmethode für aquatische Huminstoffe verwendet Adsorberharze auf Polystyrol- oder Polyacrylatbasis /4-6/. Die nach diesem Verfahren isolierten Huminstoffe lassen sich gemäß dem Schema der Abb. 1 operationell definiert in Fulvinsäuren (FA) und Huminsäuren (HA) auftrennen. Der Ausschluß von Licht und Sauerstoff sowie die Vermeidung unnötiger Zeiträume, in denen pH-Werte > 9 vorliegen, haben sich besonders zur Minimierung von unkontrollierten Umsetzungen bewährt /7/. Die Elementaranalysen der gefriergetrockneten FA-Anteile der mit XAD-2 sowie XAD-8 isolierten HUS (BM-6) und der im Sommer gewonnenen HUS (BM-4) zeigt die Tabelle 2. Die Werte sind in sich konsistent und passen gut zu entsprechenden Literaturdaten.

Komplexierungskriterien

HUS besitzen eine Reihe funktioneller Gruppen, die zur koordinativen Bindung von Metallionen geeignet sind. Die Quantifizierung erfolgt entweder durch die Bestimmung von operationell definierten Komplexierungskapazitäten (CC) oder durch die Ermittlung konditioneller thermodynamischer Gleichgewichtskonstanten (K'). Kupfer wird dabei häufig als Bezugsmetall verwendet. Mit der polarographischen Titration /8/ und der Fluoreszenzlöschmethode /9,10/ stehen zwei unabhängige Verfahren zur Verfügung, die eine zuverlässige Bestimmung der CC ermöglichen. Das experimentelle Vorgehen bei der Fluoreszenzlöschmethode ist in Abb. 2 dargestellt. Die nach den beiden

Prinzipien gemessenen CCs für Cu(II) sind in Tabelle 3 gegenübergestellt. Die Werte beziehen sich auf 10^{-2} molare Acetatpufferung und einen pH-Wert von 6,8. Es liegt eine gute Übereinstimmung der Daten vor. Mit der Fluoreszenzmessung lassen sich Gleichgewichtsspektren erhalten, die den Einfluß des Beladungsgrades (α = Intensitätsverhältnis $I : I_0$ von Restfluoreszenz zu Ausgangsfluoreszenz), d.h. der fortschreitenden Komplexierung auf die Gleichgewichtskonstanten wiedergeben /11,12/ (Abb.3).

Vergleich Originalwasser und synthetisches Wasser

Die CC gegenüber Cu(II) beträgt beim Modellwasser 2,2 $\mu\text{mol/mg C}$, während im Originalwasser 1,9 $\mu\text{mol/mg C}$ bestimmt wurde (polarographisch wie fluorimetrisch). Die Gleichgewichtsspektren des Originalwassers sind in Abb. 3 mit dem synthetischen Wasser und seinen Komponenten verglichen. Es ergibt sich für den Bereich der hohen Beladung (niedrige α -Werte) eine relativ gute Übereinstimmung. Bei hohen α -Werten treten jedoch beachtliche Unterschiede auf. Durch die Isolierung sind offenbar funktionelle Gruppen entstanden, die zur Ausbildung stabilerer Komplexe fähig sind als die im Originalwasser vorhandenen. Die HA-Fractionen zeigen eine relativ steile Charakteristik mit besonders instabilen Komplexen bei hohem Beladungsgrad. Da der Anteil der HA an den HUS jedoch gering ist ($< 20\%$), wird das Verhalten der HUS im wesentlichen durch die FA bestimmt. Die Verwendung der beiden Harze zur HUS-Isolierung läßt ebenfalls vor allem im Bereich der Bildung stabiler Komplexe Unterschiede erkennen. Dabei ist das synthetische Wasser im Falle des XAD-2 Harzes dem Originalwasser ähnlicher als beim XAD-8.

Schlußfolgerungen

- Aquatische Huminstoffe kommen unter natürlichen Bedingungen in Konzentrationen vor, die für den direkten Einsatz der meisten strukturaufklärenden Methoden zu niedrig sind. Die notwendigen Verfahren zur Isolierung und Anreicherung beinhalten die Gefahr der Denaturierung.
- Die Isolierungsmethoden mit XAD-Harzen führen zu HUS, die offensichtlich stabilere Komplexe mit Cu(II) bilden als die HUS im Originalwasser.
- Die vielfach unumgängliche Beeinflussung der HUS bei ihrer Isolierung erfordert eine neue Untersuchungsstrategie. Um zu einer Charakterisierung natürlicher Systeme zu kommen, sind sie parallel zu Modellsystemen zu untersuchen.
- Es ist besonders wichtig, Kriterien zu finden, die eine Unterscheidung ermöglichen zwischen dem Einfluß von Wasserinhaltsstoffen auf die HUS im Originalwasser einerseits und der Denaturierung beim Aufbau von Modellsystemen andererseits.
- Braunwässer bieten aufgrund ihrer speziellen Zusammensetzung sowie ihres hohen Huminstoffgehalts und der damit gegebenen direkten Einsatzmöglichkeit mehrerer Charakterisierungsmethoden besonders günstige Voraussetzungen für in situ Untersuchungen von aquatischen HUS und damit für eine Quantifizierung des Fehlerbereichs, der durch die Isolierung entsteht.

Literatur

- 1 Carbon Dioxide Effects Research and Assessment Program. Flux of Organic Carbon by Rivers to the Ocean. Committeereport (Vorsitzender: Likens, G.E.) U.S. Dept. of Energy, Office of Energy Research, Washington, DC 20545, Reference: CONF-8009140 UC 11 (April 1981)
- 2 Stevenson, F.J. (1982): Humus Chemistry; Genesis, Composition, Reactions, Wiley-Interscience, New York
- 3 Aiken, G.R. (1985): Isolation and Concentration Techniques for Aquatic Humic Substances. In: Aiken, G.R. et al. (Herausg.): Humic Substances in Soil, Sediment and Water. S.363-385, Wiley-Interscience, New York
- 4 Mantoura, R.F.C.; Riley, J.P. (1975): The Analytical Concentration of Humic Substances from Natural Waters. Anal. Chim. Acta 76, 97-106
- 5 Frimmel, F.H., Niedermann, H. (1980): Komplexierung von Metallionen durch Gewässerhuminstoffe. I. Ein Braunwassersee als Huminstofflieferant. Z. Wasser- Abwasser-Forsch. 13, 110-124
- 6 Thurman, E.M. und Malcolm, R.L. (1981): Preparative isolation of aquatic humic substances. Environ.Sci.Technol. 15, 463-466
- 7 Frimmel, F.H., Immerz, A. und Niedermann, H.: Complexation Capacities of Humic Substances from Freshwater with Respect to Copper(II), Mercury(II), and Iron(II,III). In: Kramer, C.J.M. und Duinker, J.C. (Herausg.): Complexation of Trace Metals in Natural Waters. Martinus Nijhoff/Dr.W.Junk Publ. The Hague 1984
- 8 Frimmel, F.H., Immerz A. und Niedermann, H. (1981): Heavy Metal Interaction with Aquatic Humus. Intern. J. Environ. Anal. Chem. 14, 105-115
- 9 Ryan, D.K., Weber, J.H. (1982): Copper(II) Complexing Capacities of Natural Waters by Fluorescence Quenching. Environ. Sci. Technol. 16, 866-872
- 10 Frimmel, F.H. und Hopp, W. (1984): Fluorimetric Investigation of the Interaction of Heavy Metals and Humic Substances. Intern. Humic Substances Society, II. Intern. Conference, Birmingham, GB, Juli 1984. Veröffentlichung in Vorbereitung
- 11 Hopp, W. (1985): Fluoreszenzspektroskopische und potentiometrische Untersuchungen aquatischer Huminstoffe und ihrer Komplexierung mit Metallionen. Dissertation Technische Universität München

Tabelle 1 Eigenschaften des Originalwassers
(Probenahme: 27.02.84; ϑ Luft +1,5°C)

Allgemeine Charakterisierung

ϑ Wasser	2,0	°C
pH-Wert (20°C)	6,02	
el. Leitfähigkeit (20°C)	65	$\mu\text{S/cm}$
Trübung	2,3	TE/F
DOC*)	38	mg/l
A(254 nm)*)	180	m^{-1}
A(436 nm)*)	11,2	m^{-1}

<u>Kationen*</u>)	mg/l	meq/l	<u>Anionen*</u>)	mg/l	meq/l
Na ⁺	0,57	0,0248	HCO ₃ ⁻	10,5	0,1720
K ⁺	0,15	0,0038	Cl ⁻	1,0	0,0280
Mg ²⁺	1,25	0,1028	NO ₃ ⁻	0,36	0,0058
Ca ²⁺	13,5	<u>0,6736</u>	SO ₄ ²⁻	7,77	<u>0,1617</u>
		0,805			0,3675
			SK _{4,3} (HUS)		0,4732

Spuren*)

Mn	32	$\mu\text{g/l}$	Ni	2	$\mu\text{g/l}$
Fe	230	$\mu\text{g/l}$	Cd	0,5	$\mu\text{g/l}$
Zn	20	$\mu\text{g/l}$	Cu	6,7	$\mu\text{g/l}$
			Hg	0,1	$\mu\text{g/l}$

Komplexierungskapazität (gegen Cu(II))

polarographisch	1,9 $\mu\text{mol/mg C}$	fluorimetrisch	1,9 $\mu\text{mol/mg C}$
-----------------	--------------------------	----------------	--------------------------

*) < 0,45 μm

Tabelle 2 Elementarzusammensetzung gefriergetrockneter, mit Hilfe von XAD-Harzen isolierter HUS

Element	BM 4 (FA; XAD-8)	BM 6 (FA; XAD-2)	BM 6 (FA; XAD-8)
C	48,4	47,5	48,5
O	44,7	44,7	43,7
H	4,4	4,3	4,3
N	1,3	1,6	1,5
S	0,25	0,1	0,1
Δ	1,0	1,8	2,0
%	100	100	100

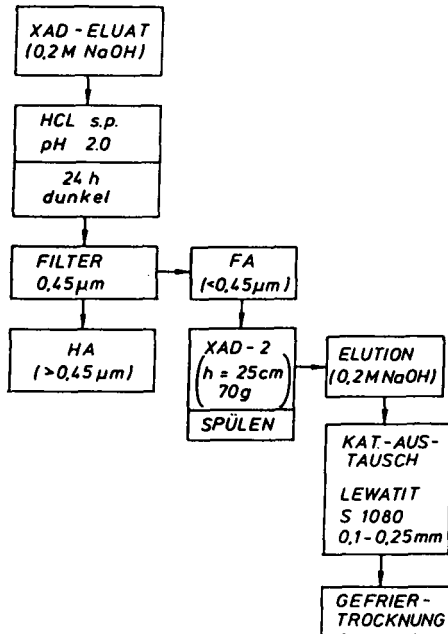


Abb.1 Schema für die Auftrennung der isolierten Huminstoffe (HUS) in den Fulvinsäure(FA)- und Huminsäure(HA)-Anteilen

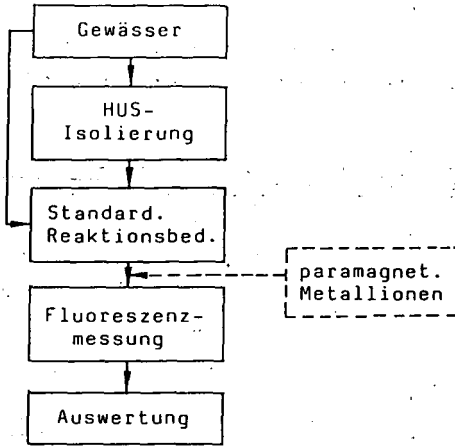


Abb. 2 Experimentelles Vorgehen der Fluoreszenzlöschmethode

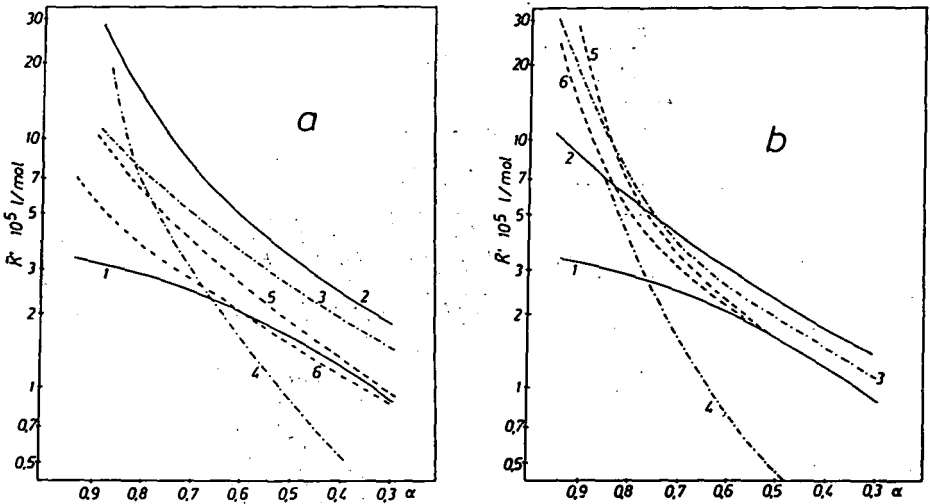


Abb. 3 Gleichgewichtsspektren für das Originalwasser (1), das synthetische Wasser (6) und seine Komponenten (2 = HUS, 3 = FA, 4 = HA, 5 = FA + HA), die mit Hilfe von XAD-2 (a) und XAD-8 (b) isoliert wurden.

Vergleich von CPMAS und Lösungs-C-13-NMR Spektren
von Huminstoffen aus Müllkomposten

von

Fründ, R., H.-D. Lüdemann *) u. F. J. Gonzalez-Vila **)

Die Kernmagnetische Resonanz an C-13 Kernen findet seit ca. 10 Jahren Anwendung in der Huminstoffforschung. Aus der Analyse der Spektren erhält man die chemische Verschiebung der Signale, die Auskunft über die qualitative Zusammensetzung der Proben gibt. Darüberhinaus versucht man durch Bestimmung der Fläche unter den einzelnen Resonanzen quantitativ die Anteile der unterschiedlich gebundenen Kohlenstoffatome zu ermitteln.

Um den Einfluß der Versuchsparameter auf die quantitative Auswertbarkeit von C-13-NMR Spektren untersuchen zu können, wurden Huminsäuren aus Müllkomposten im festen und im gelösten Zustand bei verschiedenen Aufnahmebedingungen gemessen.

Probenherstellung und Meßbedingungen

Müll aus den spanischen Städten Sevilla, Granada und Cadiz wurde von Metall, Glas und Plastik befreit, 3 Monate kompostiert, anschließend gesiebt und gemahlen. Die Huminsäuren wurden nach Extraktion mit 0.5 N NaOH durch Fällung bei PH 1 gewonnen (1). Für die Messung im flüssigen Zustand wurden 150 mg der gefriergetrockneten Substanz in 3 ml 0.5 N NaOD gelöst. Die Flüssigkeitsmessungen erfolgten mit einem Gerät der Firma Bruker Typ MSL 300 bei einer Sendefrequenz von 75 MHz. Der Pulsabstand war 0.5 bzw. 5 s, der Pulswinkel 90 Grad. Die Anzahl der akkumulierten Messungen betrug 30000. Die Protonen wurden kontinuierlich Breitband entkoppelt. Die Festkörpermessungen wurden mit einem Spektrometer Typ CXP 300 des gleichen Herstellers durchgeführt. Die Sendefrequenz war wieder 75 MHz, der Pulsabstand 5 s, die Kontaktzeit 1 ms. Es wurden 1000 Messungen akkumuliert.

*) Inst. f. Biophysik und Physikalische Biochemie, Postfach 397, 84 Regensburg

***) Centro de Edafologia y Biologia Aplicada del Cuarto. C.S.I.C.

Apartado 1052. Sevilla, Spain

Ergebnisse und Diskussion

Bild 1 zeigt die Lösungsspektren. Im Vergleich der Proben fällt besonders das unterschiedliche Signal-Rausch Verhältniss auf, das bei der Probe Sevilla deutlich am größten ist. Wie das Histogramm in Bild 2 zeigt, ist dagegen die Lage der einzelnen Signale weitgehend identisch. Ihre mögliche Interpretation kann man Tabelle 1 entnehmen. Der Bereich der Kohlenhydrate wird sinnvollerweise Abbauprodukten der Cellulose zugeordnet, da ein Hauptteil des Mülls aus Papier bestand. Der aliphatische Bereich des Spektrums Sevilla ist in Bild 3 stärker gespreizt. Für eine vollständige Zuordnung der aufgelösten Signale müssen neben geradkettigen auch verzweigte Alkylreste angenommen werden (Tab.2).

Tabelle 1

(ppm)	mögliche Zuordnung
~170	COOH Gruppen
129.5	arom. C-Atome z.B. C-1 im Phenylcumaran
119	arom. C-Atome z.B. C-6 im Guajacyl
101.6	C-1' in Cellobiose bzw. anomeres C-Atom in Amylose
79.6	C-4 in Cellobiose bzw. C-4 in Amylose
74.3	C-3, C-5 in Amylose bzw. Cellobiose
72.5	β-2, C-2' in Cellobiose
71.5	α-3, α-5, α-2 in Cellobiose
60.8	C-6 in Cellobiose
~ 53	OCH ₃ in Zuckern oder Ligninderivaten

Tabelle 2

(ppm)	mögliche Zuordnung in unverzweigten Alkylresten
13.99	Endständige Methylgruppe vorzugsweise in langkettigen Alkanen z.B. C-1 in n-Decan: 14.0, in n-Nonan: 13.9, in n-Hexan: 13.7
22.73	C-2 in Alkanen von n-Pentan aufwärts z.B. n-Pentan: 22.6, n-Nonan 22.9
29.48	C-4 in n-Heptan und n-Octan 29.3 bzw. 29.5
29.80	C-4 in n-Nonan und n-Decan 29.7 bzw. 29.8
30.00	C-5 in n-Nonan und n-Decan 30.0 bzw. 30.1
32.07	C-3 in n-Hexan und längerkettig 31.9 bis 32.3

(ppm)	mögliche Zuordnung in verzweigten Alkylresten
26.69	C-4 Atom in C-2 methylierten langkettigen Alkanen z.B. 2-Methylheptan 27.2
27.38	Methyliertes C-2 Atom in langkettigen Alkanen z.B. 2-Methylpentan 27.6 oder 2-Methylheptan 27.2
37.97	C-3 Atom in C-2 methylierten langkettigen Alkanen
38.25	

Literaturwerte siehe (2) (3) (4).

Einen Einblick in das Relaxationsverhalten bekommt man durch Variation des Pulsabstandes (Bild 4). Bei einem Abstand von 5 s ist zu erkennen, daß die Signale bei 14 und 22.7 ppm stärker hervortreten. Der gleiche Effekt ist auch im Bereich der Carboxylgruppen zu beobachten, bei 183 ppm tritt sogar eine neue Resonanz auf. Sie wird bei einem Pulsabstand von 0.5 s vollständig gesättigt.

Die Festkörperspektren, Bild 5 zeigt ein typisches Exemplar, sind deutlich schlechter aufgelöst. Man erkennt aber auch hier die charakteristischen funktionellen Gruppen: im Bereich von 10 bis ca. 40 ppm die Aliphaten, 40 bis 110 ppm den Abschnitt in dem Verbindungen des Typs -C-O- bzw. -O-C-O- dominierend sind, um 130 ppm die Aromaten und bei ca. 174 ppm die Carboxylgruppen.

Die quantitative Auswertung erfolgte durch planimetrieren. Dazu wurden die Spektren in 4 Bereiche eingeteilt. Die Summe der Fläche ist gleich 100%. Das Ergebnis zeigt Tab.3. Es wurden nur Daten der Probe Sevilla verwendet. Bei den CPMAS-Spektren bewirkt eine Veränderung der Drehzahl des Probenbehälters um ca. 10% keine signifikanten Veränderungen. Deutlicher ist dagegen der Einfluß des Verfahrens zur Seitenbanden Unterdrückung. Es hat besonders im mittleren Abschnitt des Spektrums eine Umverteilung der Intensitäten zuungunsten des Bereichs von 46-110 ppm zur Folge. Vornehmlich profitieren davon die Aromaten, aber auch die Carboxylgruppen erfahren eine leichte Verstärkung.

Bei den Flüssigkeitsspektren hat die Vergrößerung des Pulsabstandes eine drastische Erhöhung des Anteils der Carboxylgruppen um etwa einen Faktor 10 zur Folge. Verringert werden dafür der Bereich der Kohlenhydrate und erstaunlicherweise auch die Aliphaten, obwohl die endständigen Ethylgruppen bei dem vergrößerten Pulsabstand stärker relaxiert sind.

Der Vergleich von Festkörper zu Flüssigkeitsmessungen macht weitere Unterschiede deutlich. Carboxyl-, Ether- bzw. Kohlenhydrate werden beim CPMAS-Verfahren bevorzugt, während die Messung in Flüssigkeiten die Aliphaten stärker hervortreten läßt. Die Aromaten zeigen sich von allen Gruppen in ihrer Intensität am beständigsten.

Tabelle 3

Quantitative Auswertung der Spektren "Sevilla"

	chem. Versch. (ppm)	10-46	46-110	110-150	150-200
		Aliphaten	Alkohole	Aromaten	Carboxylgr.
CPMAS	Hohe Rotationsfrequenz	42.4	29.9	12.6	15.2
	Niedrige Rotationsfrequenz	41.9	30.4	12.5	15.2
	Seitenbanden	39.1	23.9	18.2	18.8
	Unterdrückung				
Flüssigkeit-	Pulsabstand 0.5 s	57.1	28.7	12.9	1.2
	Pulsabstand 5.0 s	52.7	24.0	13.3	10.1

Integration gesamt jeweils 100%

Zusammenfassung

Die Messungen haben gezeigt, daß die quantitativen Ergebnisse der C-13-NMR Spektren stark von den Meßparametern beeinflußt werden können. Die Ursachen sind in der Flüssigkeitsspektroskopie vor allem in den uneinheitlichen Relaxationszeiten bei den verschiedenen funktionellen Gruppen zu suchen. Sie resultieren aus der differierenden Gruppenbeweglichkeit und aus den unterschiedlichen Abständen der betreffenden Kohlenstoffatome zu paramagnetischen Zentren. Weiterhin ist die lokale Protonendichte um den C-13 Kern von Bedeutung. Eine schnelle Relaxation führt zu einer Verbreiterung der Linien, die im Extremfall bewirken kann, daß das Signal im Rauschen verschwindet. Umgekehrt birgt eine zulangsame Relaxation die Gefahr der Sättigung. Ein Beispiel dafür ist die Resonanz bei 183 ppm (Bild 2). Ein weiterer Faktor der Konzentrationsbestimmungen schwierig macht, ist der Kern-Overhauser Effekt (NOE). Er läßt sich jedoch durch einen geschalteten Entkoppler, der nur bei der Aufnahme des freien Induktionsabfalles arbeitet, weitgehend unterdrücken.

Auch im Festkörper sind unterschiedliche Relaxationszeiten für die unerwünschte Beeinflussung der Intensitäten verantwortlich. Bei dem Verfahren der Cross-Polarisation - es bewirkt einen Magnetisierungstransfer vom größeren Spinsystem der Protonen auf das kleinere der C-13 Kerne und daher eine Empfindlichkeitssteigerung - sind jedoch die Zeiten der Protonen von Bedeutung. Allerdings sind Unterschiede nur bei sehr heterogenen Substanzen zu erwarten (5). Das oben er-

wähnte Cross-Polarisationsverfahren kann weitere Artefakte bewirken. Der Magnetisierungstransfer findet während einer sogenannten Kontaktzeit statt. Sie ist für die diversen Gruppen unterschiedlich und kann deshalb nicht gleichzeitig für alle C-Atome optimal sei. Zudem spielt die Protonendichte für die Wirksamkeit der Empfindlichkeitssteigerung des CP-Verfahrens eine Rolle.

In wie weit diese Effekte bei den Huminstoffen die quantitative Auswertbarkeit beeinflussen ist bisher nur unzureichend untersucht worden. Die Beurteilung von quantitativen Daten aus der NMR-Spektroskopie sollte daher mit der nötigen Vorsicht erfolgen. Relative Vergleiche sind jedoch möglich wenn die Messungen unter gleichen Versuchsbedingungen und an ähnlichen Proben erfolgten.

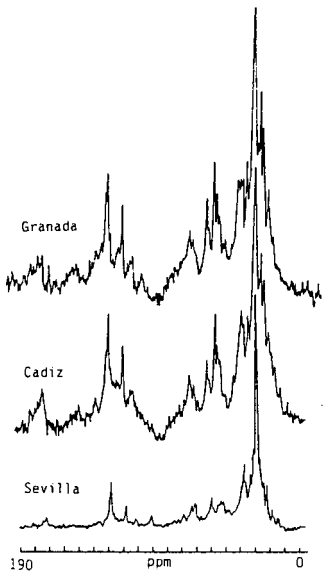


Bild 1. C-13 Flüssigkeitsspektren

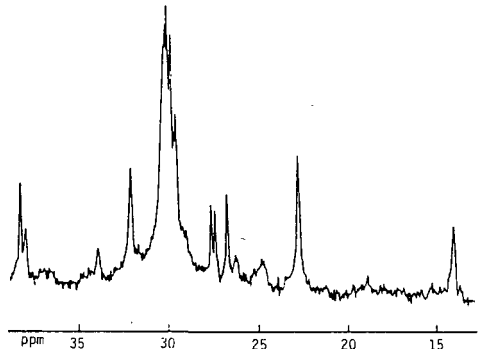


Bild 3. Ausschnitt des aliphatischen Bereichs der Probe Sevilla.

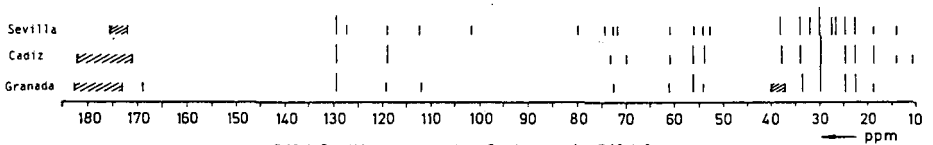


Bild 2. Histogramm der Spektren in Bild 1.

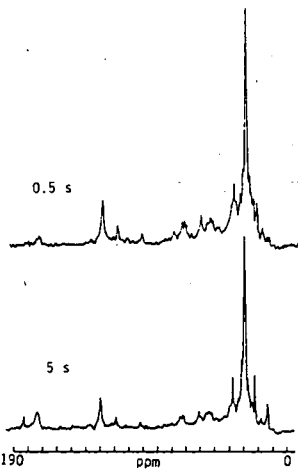


Bild 4. Variation des Pulsabstandes Probe Sevilla

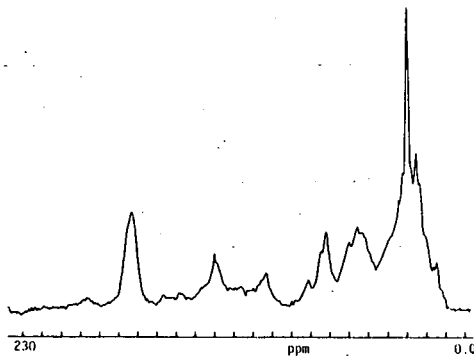


Bild 5. C-13 Festkörperspektrum der Probe Sevilla, CPMAS-Technik.

Herrn Dr. Förster von der Bruker AG Karlsruhe danken wir für die Durchführung der CPMAS-Messungen.

Literatur

- (1) Gonzalez-Vila F.J., C. Saiz-Jimenez, and F. Martin. 1982. Identification of Free Organic Chemicals Found in Composted Municipal Refuse. J. Environ. Qual., Vol. 11, no. 2, S. 251-254.
- (2) Bremser W., E. Ludger, B. Franke, R. Gerhards, A. Hardt, 1981 Carbon-13 NMR Spectral Data. Verlag Chemie.
- (3) Breitmaier E., W. Voelter. 1978. ^{13}C -NMR Spectroscopy. Verlag Chemie.
- (4) Hesse M., H. Meier, B. Zeeh. 1984. Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie. Verlag Thieme.
- (5) Dudley R. L. and C. A. Fyfe. 1982. Evaluation of the quantitative reliability of the ^{13}C CP/MAS technique for the analysis of coals and related materials. Fuel, Vol 61, July, S. 651-657

Problematik und neue Ansätze zur Untersuchung
adsorptiver Wechselwirkungen von Umweltchemi-
kalien mit organischen Bodeninhaltsstoffen

von
Geimer, E. +)

1. Einleitung und Problemstellung

Bekanntlich werden in das Vielkomponentensystem Boden, bedingt durch menschliche Aktivität, eine Vielzahl von Stoffen eingetragen, deren physiologische Wirkung von vorneherein nicht immer exakt abschätzbar ist. Dieser Eintrag kann beabsichtigt sein, z.B. durch Pflanzenschutzmaßnahmen in der Landwirtschaft, oder aber er erfolgt unbeabsichtigt als Folge von Unfällen. Nicht selten sind aber auch fahrlässige Handlungen für die Kontamination von Ökosystemen verantwortlich. Werden diese Substanzen in Boden und Wasser nicht abgebaut, reichern sie sich bekanntlich an. Bezeichnet werden diese Stoffe als "Umweltchemikalien".

In diesem Zusammenhang sind von ganz besonderem Interesse chlorierte Kohlenwasserstoffe, die hinsichtlich ihrer Toxizität bisher weitgehend unterschätzt, aber andererseits in erheblichen Mengen produziert und angewandt werden. Einige Vertreter wirken schon in Spuren stark toxisch, mitunter krebserregend. Tabelle 1 stellt kurz die wichtigsten Vertreter, geordnet nach ihren Strukturmerkmalen dar. 1980 wurden von diesen alleine in der Bundesrepublik 134.000 t Chlorbenzole und 433.000 t Chlormethane produziert (STATISTISCHES BUNDESAMT WIESBADEN, 1982). Das Hauptanwendungsgebiet dieser Produkte liegt in der lack- bzw. metallverarbeitenden Industrie. Die in dieser Tabelle aufgezählten Substanzen bzw. deren Metaboliten werden jedoch nach dem Eintrag

+))

Abt.: Chemie und Biochemie im System Boden / Institut
für Bodenwissenschaften, Universität Göttingen,
Von-Siebold-Str. 2, 3400 Göttingen

Tab. 1: Strukturmerkmale und wichtige Vertreter der chlorierten Kohlenwasserstoffe

Struktur	wichtige Vertreter
aliphatische CKW	Mono-Di-Tri-Tetrachlormethan
Chlorbenzole	Hexachlorbenzol (HCB); 1,3,5- bzw. 1,2,4-Trichlorbenzol
alicyclische CKW	Hexachlorcyclohexan (Lindan)
uneinheitlich	Dieldrin; Eldrin; Aldrin; Chlordan; Heptachlor; 1,2-Dichlorpropan; Endosulfan

in terrestrische Ökosysteme nachweislich an Bodeninhaltsstoffe gebunden. Neben den Tonmineralen wird den Huminstoffen die größte Bedeutung hinsichtlich des Adsorptionsverhaltens zugemessen. Dies ist durch zahlreiche Untersuchungen nachgewiesen (FRIESEL et al., 1984; ADAMS, 1973; EDWARDS, 1966). Aber schon die scheinbar einfache Bestimmung der Adsorptionsisotherme erweist sich bei kritischer Betrachtungsweise eher als schwierig und nicht ganz unproblematisch. So werden in der Regel die Isothermen im Rahmen sogenannter "batch-Versuche" ermittelt. Häufig werden diese Experimente in der Literatur auch mit "Slurry-Technik" bezeichnet. Empfohlen wird diese Art der Adsorptionsanalyse für Untersuchungen, bei denen die Adsorbatkonzentrationen bekannt sind und die zu untersuchenden Materialien gute Sedimentationseigenschaften besitzen. Dies ist bei Tonmineralen und Untersuchungen an Böden durchaus der Fall. Hier kann also diese Technik zur indirekten Bestimmung der Adsorption angewendet werden. Als wesentlich schwieriger hingegen erweisen sich Messungen mit den teilweise gelöst bis kolloidal vorliegenden Huminstoffen. So wird die vollständige Abtrennung der Huminstoffmatrix aus dem Reaktionssystem nach erfolgter Wechselwirkung für den Versuchsansteller oft zum Problem. Genügt eine mechanische Abtrennung nicht mehr, wird häufig mit Fällungsreagenzien der unterschiedlichsten Art gearbeitet. Die bekannteste Methode dieser Art ist Ausfällung der Huminsäuren mit HCl. In vielen Fällen wird die Abtrennung des Huminstoffsystems unvollständig sein. Auch ist die Frage

zu stellen, ob bzw. wie weit greift das Fällungreagenz in das Reaktionsgeschehen ein? Werden nicht eventuell gerade die den Versuchsansteller interessierenden Substanzen, im vorliegenden Fall die chlorierten Kohlenwasserstoffe, dem Reaktionsgleichgewicht entzogen? Weiterhin wird von anderer Seite häufig das Reaktionsmilieu kritisiert, in welchem die oben angesprochenen "batch-Versuche" durchgeführt werden. Teilweise sind diese sehr weit von dem natürlichen Systeme entfernt. Erwähnt sei hier nur der pH-Wert, der sich z.B. beim Ausfällen der Huminsäuren, wesentlich von dem natürlichen Böden entfernt.

Vor diesem Hintergrund wurde ein neuer Ansatz (GRICE et al., 1973) zur Messung adsorptiver Wechselwirkungen von organischen Bodeneinhaltsstoffen mit "Umweltchemikalien" weiterentwickelt.

2. Versuchsaufbau

Abbildung 1 stellt den schematischen Aufbau der Messapparatur dar.

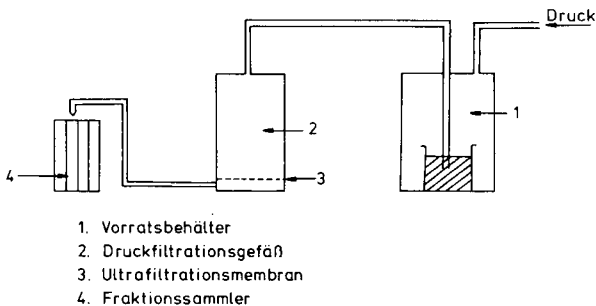


Abb. 1: Schema der Versuchsanlage

Das Prinzip der Apparatur besteht darin, daß zunächst ein pneumatisch geregelter Fluß bestimmter Konzentration der zu untersuchenden Umweltchemikalie in ein Druckfiltrationsgefäß der Firma SARTORIUS/Göttingen geleitet wird. Dies erfolgt bei Ab- bzw. Anwesenheit der gewünschten Huminstoffsysteme. Beim ersten Durchlauf ohne Huminstoffe werden mögliche Adsorptionsstellen im Versuchssystem abgesättigt. Gemeint ist hier vor allem die im Reaktionsgefäß befindliche

Ultrafiltrationsmembran. Diese ist für die gesamte Versuchsdurchführung unerlässlich, da sie für die Abtrennung der Huminstoffe im Reaktionssystem verantwortlich ist. Bedenkt man die Probleme, die im Rahmen der "batch-Versuche" bei dieser Fragestellung entstehen, so ist dies sicherlich eine Methode zur Trennung der Reaktionspartner, die nur unwesentlich in das Reaktionsgeschehen eingreift. Die den Versuchsansteller interessierenden Wechselwirkungen können weitgehend ungestört ablaufen.

Der zweite Versuchsdurchlauf erfolgt bei Anwesenheit des gewünschten Huminstoffsystems. Durch Differenzmessungen der unterschiedlichen Konzentrationsanstiege bei Ab- bzw. Anwesenheit von Huminstoffen im Reaktionsgefäß, wird die adsorbierte Menge der Chemikalie analytisch ermittelt. Mit Hilfe von Abbildung 2 soll dies nocheinmal verdeutlicht werden. Hier sind die teilweise bestimmten bzw. noch zu ermittelnden Einwasch- Kurven bei unterschiedlichen Reaktionsbedingungen im Druckfiltrationsgefäß dargestellt. Kurve(a) ergibt sich, wenn das Gefäß lediglich mit Wasser gefüllt ist. Aufgrund einer geringen Adsorption durch die Membran wird Kurve(b) ermittelt werden. Die Einwasch- Kurve (c) beruht dann auf der Adsorption durch das Huminstoffsystem. Mit Hilfe der Integralrechnung wird anschließend die Fläche (A,X,B) und damit die adsorbierte Menge der eingesetzten Substanz durch den Huminstoff bestimmt.

Die Anwendung der oben beschriebenen Versuchsvorrichtung bietet die Möglichkeit, das Reaktionsmilieu des Bodens in wesentlichen Punkten nachzugestalten. So sind bedeutende physikalisch- chemische Bodenparameter im Reaktionsgefäß gut einzuregulieren. Beispielsweise seien hier der pH-Wert, Temperatur, wässriges Medium und Sauerstoff- Partialdruck genannt. Außerdem bieten die Versuche im Durchflußverfahren an beliebig vielen Punkten des Reaktionsablaufes die Möglichkeit, Messungen durchzuführen.

Nach Erreichen der maximalen Oberflächenbesetzung des adsorbierenden Huminstoffsystems wird ein bestimmter Sättigungswert erreicht. Dies ist dann der Fall, wenn die Konzentration der jeweils eingesetzten chlorierten Kohlenwasserstoff-

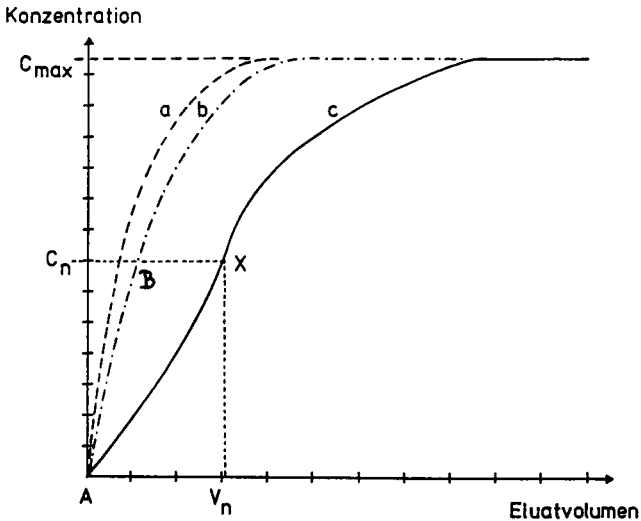


Abb. 2: Einwasch- Kurven zur Adsorptionsmessung
(a, - - - Verdünnung der Substanz in Wasser; b, - · - · -
Kurve für die Interaktion Substanz/Membran; c, ———
Kurve für die Wechselwirkung Substanz/Membran/H u -
m i n s t o f f; C_n = Gleichgewichtskonzentration in
der Zelle; V_n = durchflossenes Eluatvolumen n; C_{max} =
Adsorbat- Konzentration am Zelleneingang bzw. der
Ausgangslösung)

fe im Fraktionssammler (s.Abb.1), die der Ausgangs- bzw. Stammlösung erreicht. Dann ist die durch den Huminstoff adsorbierte Menge der eingesetzten Substanz maximal. Zahlreiche Untersuchungen enden an dieser Stelle. Für die befriedigende Beantwortung ökologischer Fragestellungen ist die Bearbeitung der oben angesprochenen Adsorptionsprozesse unbedingt durch Untersuchungen im gleichen Zuge stattfindender Desorptionsprozesse zu ergänzen. Im Rahmen dieser Versuchsdurchführung soll deshalb nach Erreichen des Maximalwertes anstelle der adsorbierten Ausgangslösung Wasser oder eine andere definierte Lösung durch die Reaktionszelle gedrückt werden. Die ausgewaschene desorbierte Menge der eingesetzten Substanz wird anschließend analytisch vermessen.

3. Zusammenfassung

Durch die Anwendung dieses weiterentwickelten neuen Ansatzes besteht die Möglichkeit, Messungen adsorptiver Wechselwirkungen von organischen Bodeneinhaltsstoffen mit definierten Substanzen in vielen Punkten zu verbessern.

4. Literatur

ADAMS, R.S., (1973):

Factors influencing soil adsorption and bioactivity of pesticides

Residue Reviews, Vol. 47, 1- 55

EDWARDS, C.A., (1966):

Insecticide residues in soils

Residue Reviews, Vol. 13, 83- 132

FRIESEL, P.; G. MILDE; B. STEINER, (1984):

Interactions of Halogenated Hydrocarbons with Soils

Z.Anal.Chem., 319, 160- 164

GRICE, R.E.; M.H.B. HAYES; P.R. LUNDIE and M.H. CARDEW, (1973):

Continuous flow method for studying adsorption of organic chemicals by a humic acid preparation

Chem.Ind.(Lond.), pp 233- 234

STATISTISCHES BUNDESAMT WIESBADEN, (1982):

Produktion im produzierenden Gewerbe nach Gütern und Gütergruppen

Fachserie 4, Reihe 3.1, 104- 120

Tenside in der Umwelt - chemische Wechselwirkungen
mit Huminstoffen

von
Gerke, Jörg +)

Tenside werden in umfangreichem Maße in Privathaushalten und in der Industrie eingesetzt. Dabei dominiert mengenmäßig der Verbrauch in Privathaushalten, besonders in Wasch-, Reinigungs-, Weichspül- und Körperpflegemitteln. Den Umfang des Tensidverbrauchs macht folgende Tabelle deutlich:

Tab. 1: Verbrauch an Tensiden in der BRD für das Jahr 1984 (nach Huber, 1984).

	<u>Menge</u>	<u>Anteil</u>
Anionische Tenside	148 400 t/a	52,5 %
Nichtionische Tenside	104 700 t/a	37,0 %
Kationische Tenside	27 800 t/a	9,8 %
Ampholytische Tenside	1 700 t/a	0,6 %
bzw. andere	<u>282 600 t/a</u>	

Unter den anionischen Tensiden nimmt das lineare Alkylbenzolsulfonat (LAS) als ein Gemisch einer Reihe von Homologen mit einem Verbrauch von 110 000 t/a in der BRD, eine herausragende Rolle ein. LAS ist damit das mit Abstand wichtigste Wasch- und Reinigungstensid in der BRD.

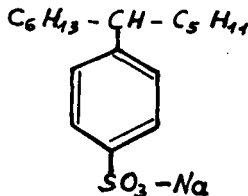


Abb. 1: Chemische Struktur des wichtigsten LAS- Homologen

Kationische Tenside werden vorwiegend in Weichspülern und Desinfektionsmitteln verwendet. Das wichtigste Tensid unter den kationischen Tensiden ist das Di-stearyl- dimethyl- ammoniumchlorid (DSDMAC) mit einem Jahresverbrauch von ca. 20 000 t/a in der BRD.

+) Institut für Bodenwissenschaften, Abteilung Chemie und Biochemie im Medium Boden, von Siebold Str. 2, 3400 Göttingen

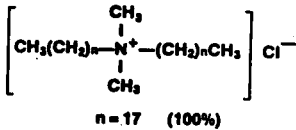


Abb.2: Chemische Struktur des DSDMAC.

In technischen Produkten hat man es nicht nur mit -Methyl und -Stearyl zu tun, es treten auch C₁₆ - Reste (30 %) und C₁₄ - Reste (5 %) auf.

SULLIVAN (1983) bezeichnet das technische Produkt dann als DTDMAC (Di-tallow-dimethyl-ammoniumchlorid).

Das Verhalten der Tenside ist in umfangreichen Maße hinsichtlich ihrer biologischen Abbaubarkeit und ihrer aquatischen Giftigkeit gegenüber Testorganismen untersucht worden. Es zeigt sich, daß Tenside allgemein eine hohe aquatische Toxizität gegenüber Wasserorganismen aufweisen. Insbesondere langkettige Homologe des LAS sind ausgesprochen fischgiftig, ebenso wie das DSDMAC (HUBER, 1984). Die LC₅₀ Werte gegenüber Testfischarten liegen unter 1 mg pro Liter.

Die biologische Abbaubarkeit der Tenside wird unter unterschiedlichen konventionellen Testbedingungen geprüft, z.B. mit dem OECD Screening Test, dem OECD Confirmatory Test und dem Couplet-Units Test. Es liegt bezüglich der wichtigsten Tenside ein umfangreiches Datenmaterial vor.

Im Gegensatz zu früheren Laboruntersuchungen zeigen Abbauuntersuchungen für LAS im Klärschlamm von Kläranlagen in der Schweiz, daß mit beträchtlichen LAS Konzentrationen im Klärschlamm zu rechnen ist (MC EVOY u. GIGER, 1985), die bis zu 5 % des C org. Gehaltes von Klärschlämmen ausmachen können. Die Abbaubarkeit von DSDMAC muß nach Untersuchungen von SULLIVAN (1983) mit radioaktiv markiertem DSDMAC in aktiviertem Klärschlamm als schlecht bezeichnet werden.

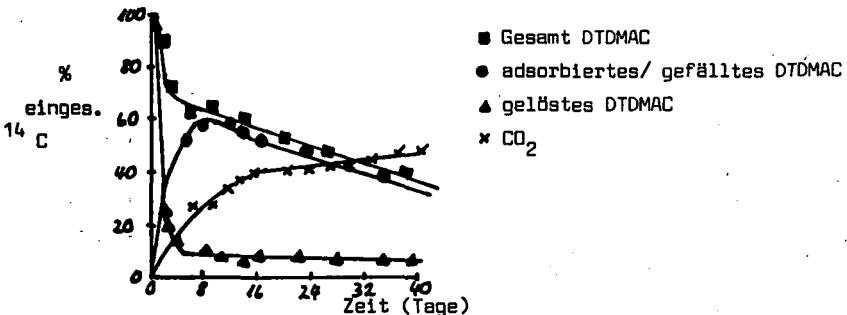


Abb.3: Verhalten von radioaktiv markiertem DTDMAC in aktiviertem Klärschlamm (nach SULLIVAN, 1983, leicht verändert).

Abbildung 3 zeigt, daß unter Praxisbedingungen einer Kläranlage, wo das organische Material nur wenige Stunden in der biologischen Reinigungsstufe verbleibt, der Hauptanteil des DSDMAC an Klärschlamm gebunden, aber nicht mineralisiert wird.

Sowohl LAS als auch DSDMAC, als die jeweils wichtigsten Vertreter der anionischen bzw. kationischen Tenside werden offenbar unter Praxisbedingungen in Kläranlagen schlecht abgebaut.

Bezüglich der Reaktion von Tensiden mit anderen Substanzen liegen vergleichsweise wenig Ergebnisse vor. Daten zur Adsorption von Tensiden an Tonminerale sind veröffentlicht (WEISS, 1982). Chemische Wechselwirkungen zwischen Huminstoffen und Tensiden sind dagegen kaum untersucht.

Mehrere Gründe lassen Untersuchungen zu diesem Thema notwendig erscheinen:

1. In Gewässern machen die Huminstoffe einen großen Anteil der gelösten oder suspendierten organischen Substanz aus. Für den Mittelrhein z.B. beträgt dieser Anteil nach WUHRMANN (1979) 25 - 42 %. Durch das Einleiten von Tensidhaltigem Wasser können Tenside und Huminstoffe miteinander in Wechselwirkung treten.
2. Bei Böden auf denen regelmäßig Abwasserlandbehandlung erfolgt, handelt es sich vor allem um Böden vom Typ der Bänderparabraunerde oder des Podsol. In diesen ist die organische Substanz und hier insbesondere der langfristige stabile Huminstoffanteil die wichtigste Sorptionskomponente.
3. Konventionelle Analysemethoden zum Nachweis anionischer, nichtionischer und kationischer Tenside (siehe dazu WICKBOLD, 1976) erfassen nur die freien oder schwach gebundenen Tenside. Möglicherweise an Huminstoffe oder auch Tonminerale festgebundene Tenside werden nicht erfaßt.
4. In der biologischen Reinigungsstufe von Kläranlagen gebildete Huminstoffe können schon bei ihrer Bildung in Wechselwirkung zu Tensiden treten. Es ist zu klären, ob Huminstoffe an der Elimination von Tensiden aus dem Abwasser beteiligt sind.

Modellversuche

Modellhuminstoffe aus Hydrochinon wurden in Wasser gelöst. In zwei Ansätzen wurden dabei unterschiedliche Mengen eines kationischen Tensides (Laurylpyridiniumchlorid) bzw. eines amphoteren Tensides (Kokosalkyldimethylammoniumbetain) zugesetzt. Im Ansatz mit dem amphoteren Tensid wurde der pH-Wert variiert. Die Extinktion der Huminstofflösung bei 400 nm wurde dabei in Abhängigkeit von der Konzentration des eingesetzten Tensids aufgetragen (Abb. 4, 5). Durch das kationische Tensid und bei pH 5 auch durch das amphotere Tensid

wurden die wasserlöslichen Huminstoffe in starkem Maße ausgefällt.

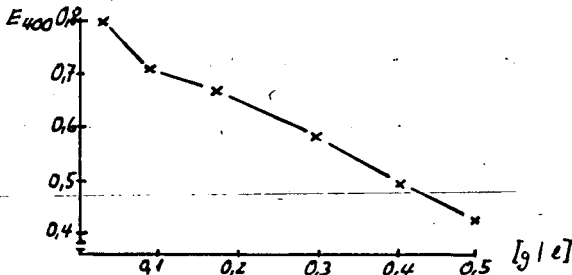


Abb.4: Extinktion einer wäßrigen Huminstofflösung bei 400 nm und unterschiedlichen Konzentrationen an Laurylpyridiniumchlorid.

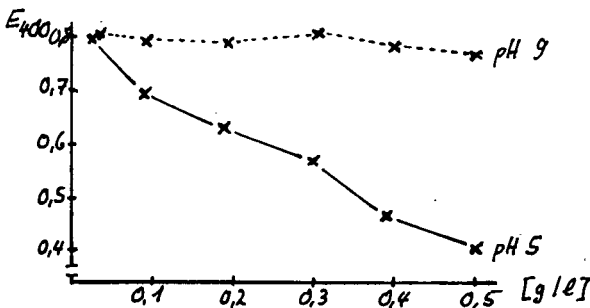


Abb.5: Extinktion einer wäßrigen Huminstofflösung bei 400 nm und unterschiedlichen Konzentrationen an Kokosalcyldimethylammoniumbetain bei pH 5 und pH 7.

Die entstehenden Ausfällungsprodukte sind, wie weitere Untersuchungen zeigten, ausgesprochen stabil.

Es handelt sich hier möglicherweise um Elektroneutralsalzbildungen. Auch könnten Wasserstoffbrückenbindungen an der Bindung beteiligt sein. Erste Hinweise werden auch durch die pH-Abhängigkeit der Reaktion vom amphoterem Tensid gegeben. Das amphotere Tensid liegt bei pH 9 als Carboxylation vor. Die Bildung von Neutralsalzen dürfte unter diesen Bedingungen erschwert, die Bildung von Wasserstoffbrückenbindungen nicht möglich sein.

Die Bedeutung dieser ersten Ergebnisse muß durch weitere Untersuchungen untermauert werden. Es zeichnet sich jedoch jetzt schon ab, daß Huminstoffe ein wichtiger Reaktionspartner für kationische und amphotere Tenside sein können.

Literatur

- HUBER, L. (1984) Vortragsmanuskript, unveröffentlicht
- MC EVOY, J., GIGER, W. (1985) Naturwissenschaften 72, S. 429
- SULLIVAN, D.E. (1983) Water Res., 17 (9), S.1145
- WEIB, A. (1982) Tenside Detergents 19, S. 157
- WUHRMANN, K. (1980) Münchner Beiträge zur Abwasser, Fische-
rei und Flußbiologie 32, S. 9
- WICKBOLD, R. (1976) Die Analytik der Tenside. Chem.Werke
Hüls AG



Untersuchungen über die Auftrennung wasserlöslicher
organischer Stoffe in Waldböden mittels HPLC

von

Göttlein, A., K. Kreutzer u. R. Schierl⁺

Während die Auftrennung wasserlöslicher organischer Bodenbestandteile mittels Gelpermeationschromatographie (GPC) schon seit längerem eingesetzt wird ¹⁾ ist nur wenig über die Anwendung der Reversed-phase Hochdruckflüssigkeitschromatographie (RP-HPLC) bekannt. ²⁾

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Entwicklung einer Methodik zur Charakterisierung der wasserlöslichen organischen Bestandteile in Waldböden. Im Folgenden werden dabei drei Ergebnisse dargestellt:

- Auswirkung der Dialyse auf das HPLC-Spektrum einer Gleichgewichtsbodenlösung (GBL)
- Veränderung einer GBL durch Absenken des pH-Werts
- HPLC-Spektren von GBL aus unterschiedlich behandelten Böden

Die Proben stammen von der Versuchsfläche Höglwald, die zwischen München und Augsburg liegt; auf einer schwach podsoligen, im Oberboden stark versauerten Parabraunerde aus schluffigen Fein- und Mittelsanden des Tertiärs. Der mittlere Jahresniederschlag beträgt 800 mm bei einer Höhenlage von 540 m NN. Der geschlossene, ca. 77-jährige Fichtenbestand ist sehr wüchsig und 2. Generation.

Das Höglwaldprojekt soll im Rahmen der Ursachenforschung über die neuartigen Waldschäden Aufschlüsse über die Auswirkungen von "saurem Regen" und Kalkung auf den Boden und den darauf stockenden Bestand erbringen. Zu diesem Zweck wurden sechs je ca. 2000m²

⁺ Lehrstuhl für Bodenkunde, Amalienstr. 52 8000 München 40

umfassende Versuchspartellen angelegt, die wie folgt behandelt werden:

- A1 Nullfläche
- B1 saure Beregnung (pH 2.7)
- C1 normale Beregnung (pH 5.5)
- A2 Kalkung
- B2 Kalkung + saure Beregnung
- C2 Kalkung + normale Beregnung

Das normale Wasser ist konditioniertes Trinkwasser, welches im Salzgehalt dem Regenwasser angenähert ist. Der pH-Wert der sauren Beregnung wird mit Schwefelsäure eingestellt.

Die Kalkung erfolgte im April 1984 mit 40 dt/ha Magnesiakalk. Der Protoneneintrag auf den sauer beregneten Partellen betrug 1984 2.5 kmol/ha, im Jahre 1985 waren es 3.2 kmol/ha.

Die Probenahme für die vorliegende Untersuchung erfolgte im September 1985. Aus den Mischproben der einzelnen Bodenhorizonte wurden Wurzeln und lebendes Pflanzenmaterial ausgesondert.

Aufgrund der in Voruntersuchungen gewonnenen Erfahrungen werden die Gleichgewichtsbodenlösungen nach folgendem Verfahren gewonnen:

- Ermittlung der Trockengewichte der feldfrischen Proben
- Ansetzen des Bodenbreis aus den feldfrischen Proben durch entsprechende Wasserzugabe, bis die folgenden Wassergehalte erreicht sind:

L O _f	100g Trockenboden + 1000g Wasser
O _h	- " - + 400g Wasser
A _h , 10, 30 cm	- " - + 130g Wasser

- Nach 24 h werden die Proben zentrifugiert und anschließend membranfiltriert (0.45 µm)
- Lagerung der GBL bei 6°C im Dunkeln

Von den so erhaltenen GBL werden zahlreiche analytische Daten, wie z.B. Metallionen-, komplexierte Metallionen- und Anionenkonzentration bestimmt. Im Rahmen dieses Beitrages soll das Verhalten der wasserlöslichen organischen Substanz näher untersucht werden.

Die HPLC-Untersuchungen wurden mit Geräten der Fa. Waters durchgeführt, wobei ein konkaver Gradient von H_3PO_4 (pH 3.5) nach 100% Acetonitril bei einem Fluß von 0.75 ml/min gefahren wurde. Es wurde eine reversed-phase Säule der Fa. Machery-Nagel vom Typ MN 300-7 C18 verwendet. Die Detektion erfolgte im UV bei 254 nm (Vollausschlag = 0.128 AUFS). Bei der numerischen Integration mittels Personalcomputer korreliert der gefundene Gesamtgehalt gut mit dem experimentell bestimmten DOC. Die Aussagen über die polaren und weniger polaren Anteile beziehen sich nur auf die UV-Absorption bei 254 nm, es lassen sich deshalb keine Rückschlüsse auf das Verhalten einzelner Komponenten ziehen.

Da die Säule organische Substanzen nach ihrer Polarität trennt, lassen sich die erhaltenen Spektren mit zunehmender Retentionszeit (RT) in zwei Polaritätsgruppen einteilen. Bis $RT=13$ min erscheinen die stärker polaren Anteile mit scharfen Peaks und guter Auflösung. Im Bereich von 13 bis 33 min eluieren weniger polare Verbindungen mit schlechter Auflösung und breiter UV-Absorption. Bei $RT>33$ min erscheinen Verunreinigungen, die vermutlich aus den verwendeten Lösungsmitteln und Membranfiltern stammen.

Um die polaren Moleküle bezüglich ihrer Molekülgröße charakterisieren zu können wurde eine GBL aus dem LO_f -Horizont einer gekalkten Fläche (A2) bei einem Porendurchmesser von 1.5-2.0 nm dialysiert. Dieser Versuch ist auch deshalb von Interesse, da die Dialyse in der Literatur ³⁾ oft als Reinigungsschritt bei der Gewinnung von organischen Bodeneinhaltsstoffen empfohlen wird.

Abb. 1 zeigt die HPLC-Spektren der GBL nach 0, 0.5, 1.5, 2.5 bzw. 24 Stunden Dialysezeit und die dazugehörige Integration. Schon nach 30 min Dialyse tritt bei $RT=11.9$ min ein vorher nicht vorhandener Peak auf, der nach 2.5 h wieder verschwunden ist. Diese Substanz stammt vermutlich aus der Dialysemembran.

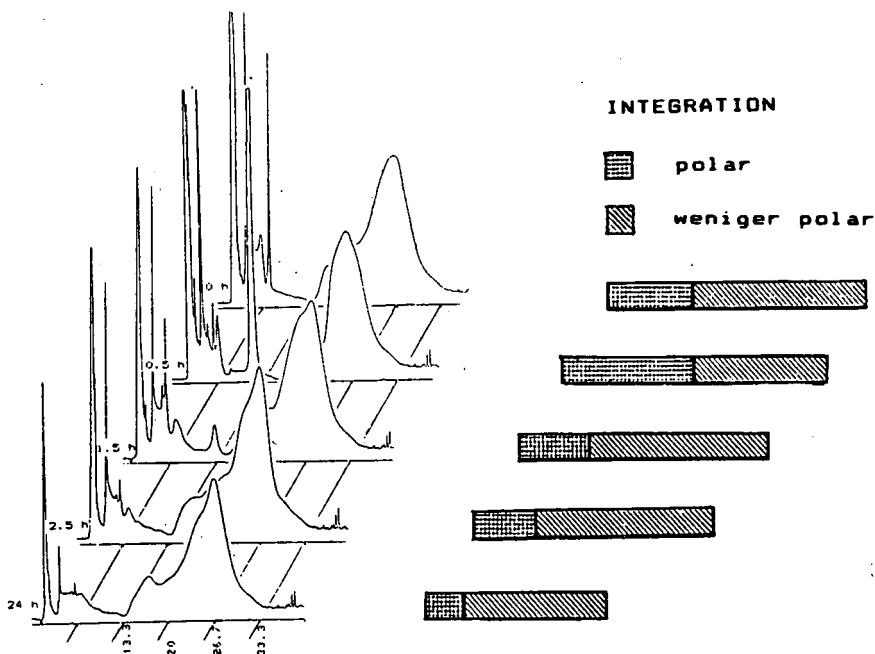


Abb. 1: Dialyse LO_I -Horizont

Bereits nach 1.5 h sind drastische Veränderungen im Bereich der polaren Moleküle eingetreten. Nach 24 h ist auch bei den weniger polaren Verbindungen eine quantitative Abnahme feststellbar. Betrug das Verhältnis von polar zu weniger polar vor der Dialyse 1 : 2, so erreichte es nach 24 h den Wert von 1 : 4. Dieser Befund deutet darauf hin, daß die polareren Anteile der GBL hinsichtlich ihrer Molekülgröße auch die kleineren sind.

In einem zweiten Experiment wurde eine GBL (pH 4.6) mit H_3PO_4 in drei Stufen angesäuert (Abb. 2). Wie die Integration zeigt ergeben sich sowohl im Gesamtgehalt, als auch im Verhältnis polar zu weniger polar keine drastischen Änderungen. Bemerkenswert ist eine Veränderung in der Zusammensetzung der polaren Fraktion. Mit abnehmendem pH-Wert resultieren eine kontinuierliche Abnahme des Signals bei $RT=2.2$ min und eine Intensitätserhöhung des Signals bei $RT=3.2$ min.

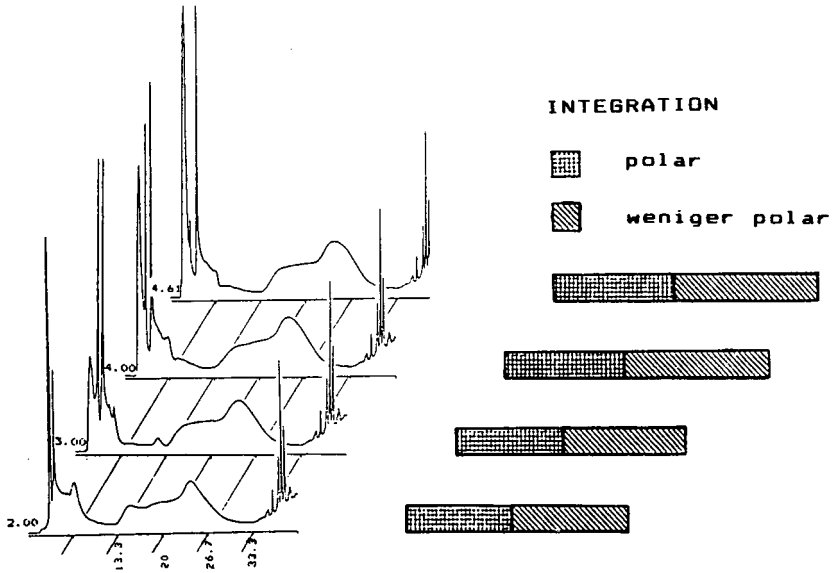


Abb. 2: Versauerung einer GBL

Betrachtet man das Tiefenprofil einer ungekalkten Fläche (A1, Abb. 3) in Verbindung mit dem in Abb. 4 dargestellten Ergebnis der numerischen Integration für die polaren und weniger polaren Anteile, so ergibt sich folgendes Bild: In den beiden Auflagehorizonten LO_f und O_h ist der Gesamtgehalt der bei 254 nm detektierbaren organischen Substanz nahezu konstant, im O_h -Horizont besteht aber ein deutliches Übergewicht der polaren Anteile in der GBL. Diese Dominanz der polaren Verbindungen setzt sich im Mineralboden fort, wobei erwartungsgemäß die Gehalte an organischer Substanz mit zunehmender Tiefe geringer werden.

Auf der gekalkten Fläche (A2, Abb. 3) zeigt sich dagegen ein völlig anderes Bild. Offensichtlich bewirkte die Kalkung bis in 10-20 cm Tiefe eine deutliche Mobilisierung organischer Substanz. Besonders drastisch geschieht dies im LO_f -Horizont, wo sich im Vergleich zur ungekalkten Fläche die polaren Moleküle um den Faktor 3 und die weniger polaren um den Faktor 7 gesteigert haben. Ab dem A_h -Horizont dominieren auch auf der ge-

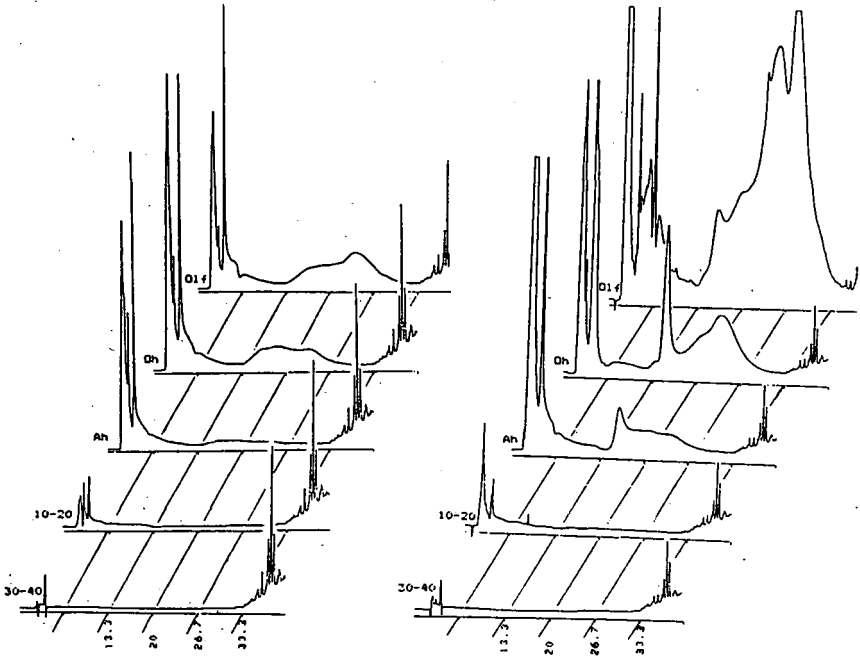


Abb. 3: Tiefenprofil A1- und A2-Fläche

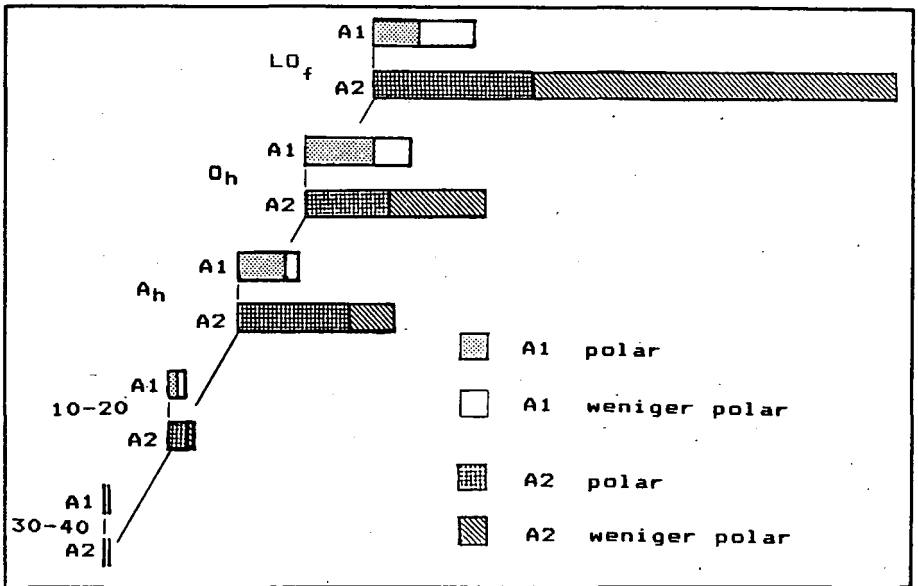


Abb. 4: Integration A1- und A2-Fläche

kalkten Fläche die polaren Verbindungen. In 30-40 cm Tiefe besteht kein wesentlicher Unterschied zwischen gekalkt und ungekalkt. Auffällig ist, daß sowohl auf der A1- als auch auf der A2-Fläche in 30-40 cm Tiefe der gleiche Peak mit RT=3.9 min besonders hervortritt.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß die RP-HPLC eine brauchbare Methode zur Differenzierung wasserlöslicher organischer Stoffe des Bodens darstellt. Wie die ersten Ergebnisse im Rahmen des Höglwaldprojektes zeigen, ist es mit dieser Analysetechnik auch möglich einen Beitrag zu ökologischen Fragestellungen zu leisten. Der in Abb. 3 u. 4 dargestellte Kalkungseffekt ließ sich auch an den anderen Versuchsvarianten aufzeigen. Zur Erfassung der Dynamik organischer Substanz im Bodenprofil soll die oben aufgezeigte Untersuchungsmethodik über einen längeren Zeitraum zum Einsatz kommen, um jahreszeitliche Schwankungen und Veränderungen in den einzelnen Versuchspartellen registrieren zu können.

Wir danken dem BMFT für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit.

Literatur:

- 1 a) R.S. Swift u. A.M. Posner, J. Soil Sci. 22, 237 (1971).
- b) H.A. Anderson u. A. Hepburn, J. Soil Sci. 28, 634 (1977).
- c) R.S. Cameron, R.S. Swift, B.K. Thornton u. A.M. Posner, J. Soil Sci. 23, 342 (1972).
- 2 a) G. Becher, G. Oestvold, P. Paus u. H.M. Seip, Chemosphere 12, 1209 (1983).
- b) I. Kögel, Z. Pflanzenern. Bodenk. 146, 525 (1983).
- c) W. Werner, GIT Fachzeitschr. f. d. Laboratorium 22, 785 (1978).
- 3) Y. Chen, N. Senesi u. M. Schnitzer, Geoderma 20, 87 (1978).



BIOVERFUEGBARKEIT VON KUPFER IN EINEM HUMINSAEURE-UND KLAER-SCHLAMM-KOMPLEXE

von

Gupta, S.K.

ZUSAMMENFASSUNG

Organische Substanzen des Bodens oder von Abfällen sind von grösster Bedeutung bei der Festlegung von Schwermetallen, weil die vorhandenen Liganden der organischen Substanz eine starke Tendenz haben, mit Metallen schwerabbaubare und unlösliche Komplexe zu bilden. Ueber die Pflanzen und Mikroorganismen-Verfügbarkeit von Metallen, die mit organischer Substanz gebunden sind, ist jedoch nur wenig bekannt.

Die Bindung von Kupferionen an die verschiedenen funktionellen Gruppen der Huminsäure (unlösliche Fraktion der organischen Substanz des Bodens, Klärschalms oder anderer organischer Abfälle) erfolgt mit unterschiedlicher Stärke. Es zeigt sich deutlich, dass die Festigkeit, mit der Kupferionen gebunden wird, vom Sättigungsgrad abhängig ist, d.h. die ersten Kupfer sind sehr stark, die letzten nur locker gebunden. Daraus ergibt sich für die Praxis direkt die Konsequenz, dass die physiologische Aktivität eines Schwermetalls wesentlich vom Sättigungsgrad (100% gesättigt heisst, dass alle funktionellen Gruppen der organischen Substanz vollständig mit Schwermetallen belegt sind) der organische Bodensubstanz abhängen sollte.

Die anderen Pflanzenversuche mit Klärschlamm verschiedener Kupfersättigung zeigen, dass hier ähnliche Mechanismen der Kupferbindung wirksam sind wie in der organischen Bodensubstanz, indem auch im Klärschlamm die Kupferbindungsstärke mit zunehmender prozentualer Besetzung der maximal bindenden Stellen abnimmt.

Diese Hypothese wurde in Gefässversuch (Mais als Testpflanze) mit Sand als Substrat und Kupferquellen in Form von Huminsäure und Klärschlamm unterschiedlicher Kupfersättigung überprüft.

Das Wachstum und Cu-Gehalt von Mais Pflanzen zeigten ähnliche Abhängigkeit mit Kupfersättigungsgrades des Huminsäure sowohl Klärschlamm. Daraus ergibt sich für die Praxis direkt die Konsequenz, dass bei eine bestimmte pH die physiologische Aktivität eines Schwermetalls wesentlich vom Sättigungsgrad (100% gesättigt: funktionelle Gruppen der organischen Substanz vollständig mit Schwermetallen belegt) der für die Bindung verantwortlichen organischen Substanz abhängen dürften.

Einleitung

Organische Substanzen des Bodens oder von Abfällen sind von grösster Bedeutung bei der Festlegung von Schwermetallen, weil die vorhandenen Liganden der organischen Substanz eine starke Tendenz haben, mit Metallen schwerabbaubare und unlösliche Komplexe zu bilden. Ueber die Pflanzen- und Mikroorganismen-Verfügbarkeit von Metallen, die mit organischer Substanz gebunden sind, ist jedoch nur wenig bekannt.

Die Bindung von Kupferionen an die verschiedenen funktionellen Gruppen der Huminsäure (unlösliche Fraktion der organischen Substanz des Bodens, Klärschlammes oder anderer organischer Abfälle) erfolgt mit unterschiedlicher Stärke. Es zeigt sich deutlich, dass die Festigkeit, mit der Kupferionen gebunden werden, vom Sättigungsgrad abhängig ist, d.h. die ersten Kupferionen sind sehr stark, die letzten nur locker gebunden. Daraus ergibt sich für die Praxis direkt die Konsequenz, dass die physiologische Aktivität eines Schwermetalls wesentlich vom Sättigungsgrad (100% gesättigt heisst, dass alle funktionellen Gruppen der organischen Substanz vollständig mit Schwermetallen belegt sind) der organische Bodensubstanz abhängen sollte. Diese Hypothese wurde in Gefässversuch (Mais als Testpflanze) mit Sand als Substrat und Kupferquellen in Form von Huminsäure unterschiedlicher Kupfersättigung überprüft.

Huminsäure-Kupfer-Komplexe

Der Kupfergehalt von Mais im Verfahren ohne Kupfer (Kontrolle) war 3,8 ppm im Vergleich zu 10,8 ppm bei einer Kupferzugabe von 0,64 mg Kupfer pro kg Sand als Kupfernitratlösung. Diese Dosierung ist bezüglich der Spurenelementwirkung optimal. Bei gleicher Dosierung (0,64 mg Kupfer pro kg Sand) als Huminsäure-Kupfer-Komplex mit geringer Sättigung (0,6 mg Kupfer pro kg Huminsäure) war die Kupferkonzentration im Mais 4,3 ppm und ist mit dem Kontrollverfahren vergleichbar. In diesem Komplex ist das Kupfer sehr stark gebunden, was den nur geringen pflanzenverfügbaren Anteil erklärt. Im Gegensatz dazu beträgt der Kupfergehalt im Mais aus Gefässen, wo der Huminsäure-Kupfer-Komplex mit grösserem Sättigungsgrad (7,5 mg Kupfer pro kg Huminsäure) als Kupferquelle diente, 10,6 ppm und ist demnach ähnlich dem Gehalt des Kupfernitratsverfahrens (10,8 ppm). Es ist dies ein Hinweis darauf, dass der grösste Teil des Kupfers in diesem Komplex schwächer gebunden ist.

Tabelle 1

Einfluss der Kupfersättigung (Cu) eines Huminsäurekomplexes (HA) auf Ertrag und Kupferaufnahme vom Mais in einer Sandkultur

Kupfer-Quellen	Kupfer- gabe mg Cu/kg Sand	Ertrag (TS) g/ Gefäss	Kupfer- Aufnahme mg Cu/ Gefäss	Kupfer- Konz. mg Cu/kg TS
Kontrolle (ohne Kupfer)	0,64	7,65	29,1	3,8
Kupfernitratlösung	0,64	9,75	104,8	10,8
Huminsäure-Kupferkomplex* (0,6 mg Kupfer/g Huminsäure)	0,64	5,35	23,0	4,3
Huminsäure-Kupferkomplex* (7,5 mg Kupfer/g Huminsäure)	0,64	10,2	107,1	10,6

* Kupfer-Huminsäurekomplex (Cu-HA) bei pH 6,0 hergestellt.

Klärschlamm-Kupfer-Komplex

Die anderen Pflanzenversuche mit Klärschlamm verschiedener Kupfersättigung zeigen, dass hier ähnliche Mechanismen der Kupferbindung wirksam sind wie in der organischen Bodensubstanz, indem auch im Klärschlamm die Kupferbindungsstärke mit zunehmender prozentualer Besetzung der maximal bindenden Stellen abnimmt. Die Versuchsbedingungen sind in Tabelle 2 zusammengestellt. Da in diesem Versuch zusätzlich die Schadwirkung erfasst werden sollte, mussten bedeutend höhere Dosierungsstufen (2,54; 5,1; 10,2; 20,3; und 40,7 mg Kupfer pro kg Sand) gewählt werden. Die Kupfer-Klärschlamm-Komplexe wurden im Labor bei pH 7,0 hergestellt.

**Tabelle 2
Verfahren**

Kupfer-Quellen	Kurzbezeichnung	%Kupfer-Sättigung (bezogen auf die KAK)
1. Ohne Kupfer	Ohne-Cu	-
2. Kupfernitrat (2,5 mg/kg Sand als essentieller Mikronährstoff)	Cu-S	-
3. Kupfernitrat	Cu-S1	-
4. Klärschlamm mit 2,07 mg Kupfer/g	Cu-KS- 3,6	3,6
5. Klärschlamm mit 5,6 mg Kupfer/g	Cu-KS- 9,8	9,8
6. Klärschlamm mit 19,8 mg Kupfer/g	Cu-KS-34,6	34,6
7. Klärschlamm mit 56,2 mg Kupfer/g	Cu-KS-98,3	98,3

Die Resultate verdeutlichen, dass Kupfer im Klärschlamm hoher Sättigung (34,6% entsprechend 19'000 mg Kupfer pro kg Klärschlamm TS) im Vergleich zu einem solchen geringer Sättigung (3,6% entsprechend 2'100 mg Kupfer pro kg TS Klärschlamm) bei einer Dosierung von 20,4 mg Kupfer pro kg Sand nicht nur zu einer deutlichen Ertragseinbusse, sondern auch annähernd zu einer Verdoppelung des Kupfergehaltes in Stengeln und Blättern von Mais führte (Tabelle 3, Abbildung 1 und 2).

Tabelle 3

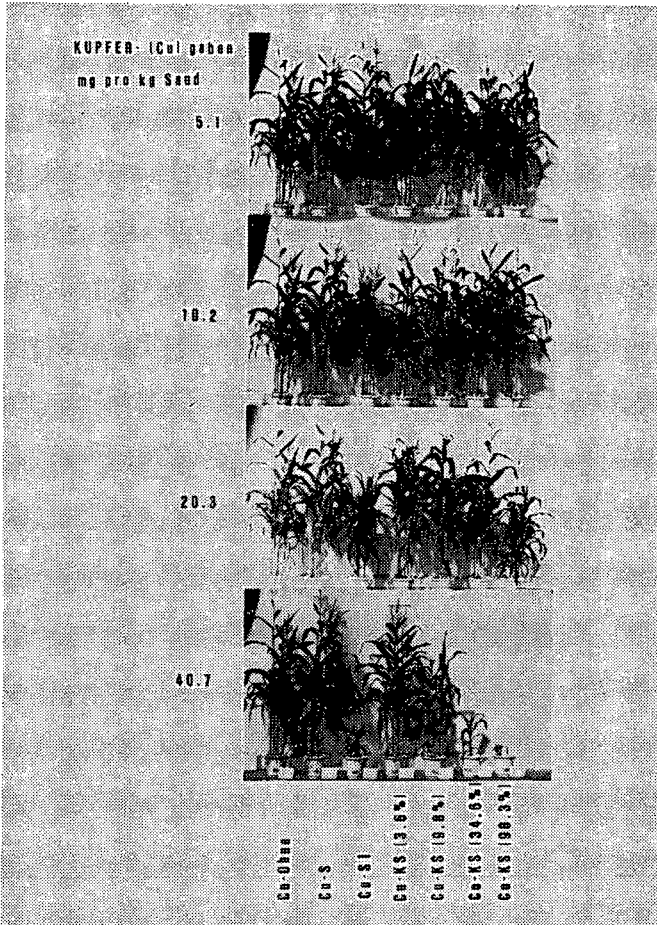
Einfluss des Kupfersättigungsgrades des Klärschlammes(%) und der Kupfergabe (mg/kg Sand) auf Strohertrag (g TS/Gefäss) und Kupfergehalt des Stroh (mg/kg TS)

Kupfergabe mg Cu/ kg Sand	Kupferquellen										
	Kupfersalz		Klärschlamm gesättigt mit Kupfer* (%)								
	Kupfernitrat		Cu-KS-3,6		Cu-KS-9,8		Cu-KS-34,6		Cu-KS-98,		
TS	Gehalt	TS	Gehalt	TS	Gehalt	TS	Gehalt	TS	Gehalt	TS	Gehalt
2,5	203	14	184	11	172	13	180	14	180	12	
5,1	166	18	160	13	174	15	171	17	168	21	
10,2	155	24	164	12	175	14	169	18	155	21	
20,4	90	26	173	11	164	17	105	26	96	34	
40,8	31	32	203	11	116	25	24	37	8	34	

*Verfahren s.Tabelle 21, TS=Ertrag g pro Gefäss, Gehalt= mg pro kg TS Ertrag

Abb. 1 zeigt, dass innerhalb der Stufe 40,7 mg Kupfer pro kg Sand die Schädwirkung beim Schlamm, der pro Gramm 5'600 mg Kupfer pro kg TS Ertrag enthält (entsprechend 9,8% Kupfersättigung), einsetzt.

**Kupfer-Dosis
(mg Cu/kg Sand)**



Kupfersättigungsgrad des Klärschlammes (%)

Abbildung 1

Einfluss der Kupfersättigung eines Klärschlammes und Kupfergaben (mg Cu/kg Sand) auf den Ertrag von Mais in einem Sandkulturversuch (Verfahren s. Tabelle 2)

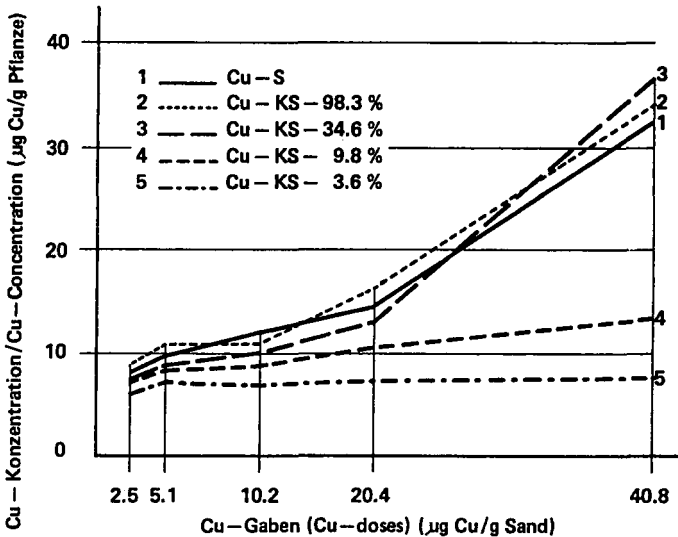


Abbildung 2.

Einfluss des Kupfersättigungsgrades des Klärschlammes(%) und der Kupfergabe (mg/kg Sand) auf Kupfergehalt des Strohs (mg/kg TS)

Schlussfolgerungen

1. Die Bindung von Kupferionen an die verschiedenen funktionellen Gruppen der Huminsäure (unlösliche Fraktion der organischen Substanz des Bodens, Klärschlammes oder anderer organischer Abfälle) erfolgt mit unterschiedlicher Stärke. Es zeigt sich deutlich, dass bei einem bestimmten pH-Wert die Festigkeit, mit der Kupferionen gebunden werden, vom Sättigungsgrad abhängig ist, d.h. die ersten Kupferionen sind sehr stark, die letzten nur locker gebunden. Daraus ergibt sich für die Praxis direkt die Konsequenz, dass die physiologische Aktivität eines Schwermetalls wesentlich vom Sättigungsgrad der organischen Boden-substanz abhängt.

2. Für die Praxis brauchbare Grenzwerte, insbesondere für nichtabbaubare Schwermetalle, sollen nicht nur auf deren Gesamtgehalt im Wachstumsmedium (Boden, Sand, Nährlösung usw.) und in organischen Düngemitteln (Klärschlamm, Gülle usw.) bezogen werden sondern durch eine der folgenden Zusatzkriterien ergänzt werden:

Gesamt Metallgehalt von Boden
oder Düngemitteln

$$1. \text{ \% Sättigungsgrad} = \frac{\text{Metallbindungskapazität von Boden oder Düngemitteln}}{\text{Gesamt Metallgehalt von Boden oder Düngemitteln}} \times 100$$

2. Verhältnis (V) zwischen stark und schwach gebundenem Metall im Boden und Düngemitteln.

Literaturverzeichnis

1. Gupta, S.K. and Häni, H. 1980 : Effect of copper supplied in the form of different Cu-saturated sludge samples and copper salts on the Cu-concentration and dry matter yield of corn grown in sand. In Symposium on " Copper in animal wastes and sewage sludge" organised by CEC . Eds. P. L'Hermite und J. Dehandschutter. D. Reidel Publishing Co. Dordrecht Holland.
2. Marinsky, J.A., Gupta, S.K. and Schindler P.W. 1982 : A unified physiological description of the equilibria encountered in humic acid gels. J. Colloid and Interface Science , 89 (2), 412-426.
2. Marinsky, J.A., Gupta, S.K. and Schindler P.W. 1982 : The interaction of Cu (II) ion with humic acid. J. Colloid and Interface Science, 89 (2), 401-412.
3. Kloke, A. 1980: Orientierungsdaten für tolerierbare Gesamtgehalte einiger Elemente in Kulturböden. Mitteilungen VDLIFA, Nr. 1-3, 9-11.
4. Furrer, O.J. Häni, H. Gupta, S.K. und Keller, P. 1980: Schadstoffgrenzwerte-Entstehung und Notwendigkeit. EAS-Seminar 24-26, Sept. 1980, Basel.
5. Gupta, S.K. Häni, H. und Schindler, P.W. 1980: Mobilisierung und Immobilisierung von Metallen durch die organische Bodensubstanz. Forschungsbericht, Eidg. Forschungsanstalt für Agrikulturchemie und Umwelthygiene, Liebefeld-Bern, Switzerland.
6. Keeney, D.R. and Wildung, R.E. 1977: Chemical properties of soils. In Soils for management of organic wastes and waste waters. (eds.) L.F. Elliott et al) . Publ. American Society of Soil Science, SSSA and CSSA, Madison, Wisconsin, U.S.A.
7. Gupta, S.K. and Häni, H. 1985: Bedeutung von Klärschlamm für die Landwirtschaft und Auswirkungen von Klärschlamm auf die Umwelt . Schlussberichte 1979-84 des Cost-Projekte 68-68^{ter}. Eidg. Forschungsanstalt für Agrikulturchemie und Umwelthygiene (FAC), Liebefeld-Bern (Schweiz).

Biochemische Reaktionen bei der Umwandlung von Pflanzenrückständen in die
Huminstoffe des Bodens

von
Haider, K.

Wesentliche Einblicke in die Reaktionen, die bei der Umwandlung von Pflanzenrückständen in Huminstoffe ablaufen, wurden durch die Verwendung von Materialien erzielt, die mit stabilen oder radioaktiven Isotopen markiert waren. Inkubationsversuche mit Pflanzenmaterialien, bei denen der Polysaccharid- oder der Ligninanteil durch ^{14}C markiert war, ergaben, daß die Polysaccharid-Komponente beträchtlich in die mikrobielle Biomasse und ihre Metabolite, vor allem aber in den überwiegend aus mikrobiellen Stoffwechselprodukten bestehenden 6 n HCl-hydrolysierbaren Anteil der Huminstoffe eingebaut wurde. Gleichzeitige Anwendung von ^{15}N -markiertem NH_4^+ oder NO_3^- ergab auch Aufschluß über den Einbau des mineralischen Stickstoffs in organische Bestandteile und in deren Umwandlungsschritte und -raten. Versuche mit Pflanzenmaterial, das im Ligninanteil durch ^{14}C markiert war, zeigt, daß dieser Anteil zwar beträchtlich umgewandelt, aber der ^{14}C nicht in die mikrobielle Biomasse und nur geringfügig in den hydrolysierbaren Anteil der organischen Bodensubstanz eingebaut wurde. Überwiegend verbleibt der Kohlenstoff des Lignins im nichthydrolysierbaren Anteil. Zusammen mit anderen Untersuchungen kann man daraus schließen, daß die ligninabbauenden Mikroorganismen des Bodens keine nennenswerte Stoffwechselenergie oder -produkte aus dem Lignin gewinnen können, die sie zum Aufbau ihrer Biomasse benutzen. Durch ^{13}C -NMR-spektroskopische Untersuchungen konnte ein wesentlicher Einblick in die Umwandlungsschritte des Lignins während der mikrobiellen Umwandlung erzielt werden.

Obwohl Lignin eine wichtige Rolle bei der Bildung der Huminstoffe spielt und es sich vor allem am Aufbau des nichthydrolysierbaren Anteils beteiligt, treten während der Umwandlung wesentliche Veränderungen an seinem Polyphenolgerüst auf. Dabei erfolgen sowohl Spaltungsreaktionen in den aliphatischen Bindungen der Seitenkette als auch solche in den aromatischen Ringen. In dem Beitrag von Herrn Dr. Schulten wird auch auf gemeinsame Ergebnisse, die mit Hilfe der Pyrolyse-Massenspektrometrie von Huminstoffen erhalten wurden, hingewiesen.

Eine ausführliche Veröffentlichung dieses Vortrages erfolgt unter dem Titel "Changes in Substrate Composition During the Incubation of Plant Residues in Soil". In "Microbial Communities in Soil", E. Daves, editor, Elsevier Appl. Sci. Publ., London, 1986.

Institut für Pflanzenernährung und Bodenkunde der Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft (FAL), Bundesallee 50, D-3300 Braunschweig



Untersuchungen zum Einbau von Kohlenhydraten
in Modellhuminstoffe

von
Hasselmann, N.^{*)}

1. Einleitung

Die aquatische und terrestrische Flora liefert durch Photosynthese täglich ca. 1,2 Mrd. Tonnen D-Glucose. Mengenmäßig ist die D-Glucose damit nach HEYNS (1) die bedeutendste organische Verbindung überhaupt. Ein schwer quantifizierbarer Anteil der Glucose und insbesondere der Glucosederivate gelangt über absterbende Pflanzen, Mikroorganismen, Herbstlaub, Ernterückstände etc. in den Boden und steht so dem Humifizierungsprozess zur Verfügung. Nach STEVENSON (2) und OADES (3) finden sich z.B. folgende Mengen freier Kohlenhydrate in verschiedenen Böden:

<u>Kohlenhydrate in Böden</u> (nach Stevenson)	% der org. Fraktion
Aminozucker	2-6
Uronsäuren	1-5
Hexosen	4-12
Pentosen	-5
Cellulose u.-derivate	-12
übrige	-1

Plausibel scheint dabei, daß die Monosaccharide durch enzymatische und hydrolytische Prozesse aus Polysacchariden freigesetzt werden, die somit quasi eine Depotform der Monosaccharide im Boden darstellen. Die freien Monosaccharide können nun von Mikroorganismen verstoffwechselt, von Niederschlägen ausgewaschen oder in Huminstoffe eingebaut werden.

*) Inst. f. Bodenwiss. Abt. Chemie u. Biochemie im System
Boden, von Siebold-Str.2, 3400 Göttingen

Der Chemismus, der zum Einbau von Kohlenhydraten in Huminstoffe führt, ist bislang weitgehend spekulativ. FLAIG und BEUTELSBACHER (4) diskutieren Einbaureaktionen analog der Maillard-Reaktion, ROULET et al. (5) gehen von sog. "weak covalent bonds", also Acetal- und Glycosidbindungen aus, während PARSON & TINSLEY (6) die Assoziation von Zuckern und Huminstoffen über Wasserstoffbrücken als dominant erachten.

2. Methoden

Um den Einfluß von Kohlenhydraten auf die Huminstoffgenese zu untersuchen, wurden als Modellsubstanzen die Oxydationsprodukte mehrwertiger Phenole, wie Gallussäure, Pyrogallol, Brenzkatechin und Hydrochinon verwendet. Die Lösung des Phenols wurde im Beisein unterschiedlicher Mengen Kohlenhydrat oxydiert. Verwendet wurde v. a. Glycerinaldehyd als einfachste Modellsubstanz für ein Kohlenhydrat und D-Glucose als bedeutsamster Vertreter dieser Substanzklasse. Durch Zusatz von Glycerinaldehyd ist eine beträchtliche Hemmung der Phenöloxydation festzustellen, dagegen bewirkt D-Glucose eine geringfügige Förderung der Huminstoffsynthese.

Dies läßt sich durch Messung des zeitlichen Verlaufs der Extinktion bei 600 nm (Abb. 1) darstellen.

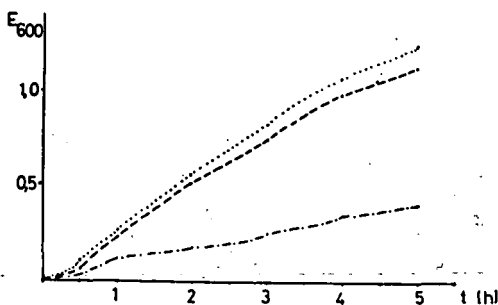


Abb.1: Zeitlicher Verlauf der Extinktion

----- 0,01 M Pyrogallol

..... 0,01 M Pyrogallol+ äquimol. Glucose

-.-.-.- 0,01 M Pyrogallol+ äquimol. Glycerinaldehyd

Die O_2 -Absorption nach Warburg eines oxydierenden Phenols ergab bei Anwesenheit von Glycerinaldehyd einen Minderverbrauch, bei Anwesenheit von Glucose einen Mehrverbrauch gegenüber dem reinen Phenol. (Abb. 2)

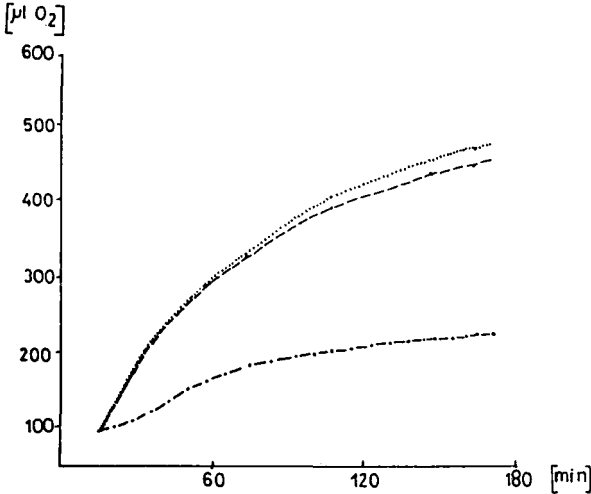


Abb. 2: O_2 -Absorption nach Warburg

Bestimmt man aus einem solchen Gemisch die entstehenden Mengen an Modellhuminstoff, ergibt sich eine erhöhte Bildungsrate bei Glucosezusatz und eine verringerte bei Glycerinaldehydzusatz. (Abb. 3)

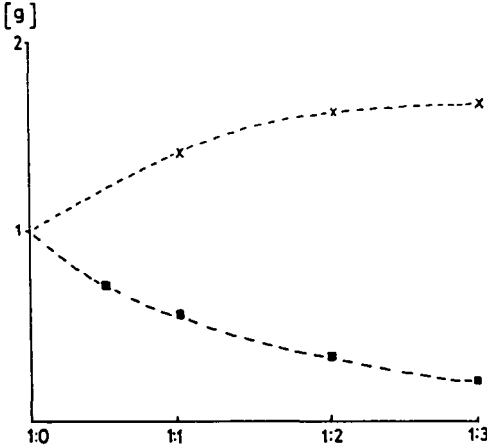


Abb. 3 : Ausbeute an Modell-Huminstoff

Hydrochinon : Kohlenhydrat (molare Verhältn.)

x: Glucose

■: Glycerinaldehyd

Die Leitfähigkeit einer Phenollösung steigt durch Zusatz von Glycerinaldehyd deutlich stärker an, als durch Glucosezusatz.(Abb.4)

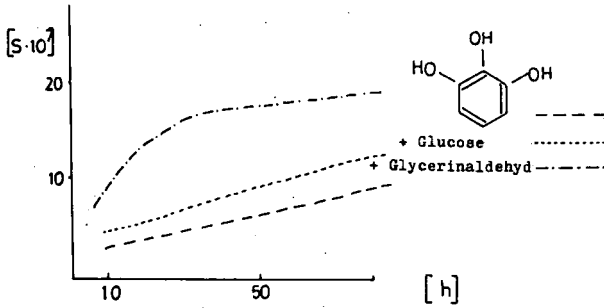
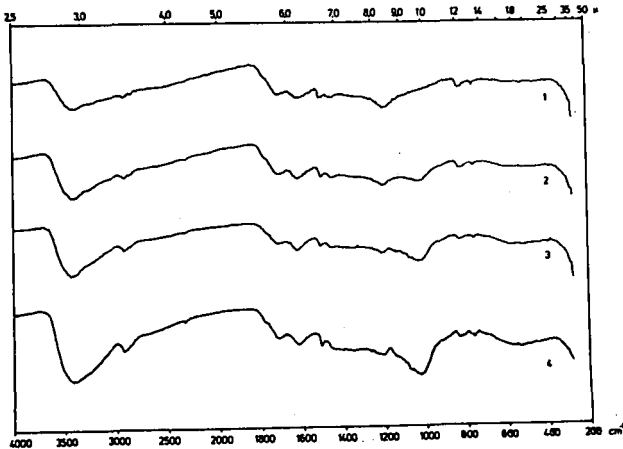


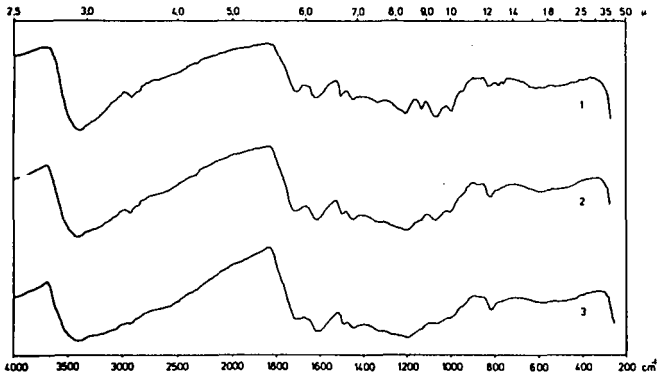
Abb.4: Anstieg der Leitfähigkeit einer 0,01 M Pyrogallol-Lösung ohne und mit Kohlenhydrat-Zusatz

Die IR-Spektren von Modell-Huminstoffen, die unter Zusatz von Kohlenhydraten synthetisiert wurden, zeigen das vermehrte Vorhandensein von saccharidartigen C-O-Gerüstschwingungen bei $1000-1050 \text{ cm}^{-1}$ und ihre partielle Hydrolysierbarkeit an.(Abb.5, 6)



HS aus Hydrochinon und Glucose

Abb. 5: IR- Spektren von Modell-Huminstoffen.



Arabinose-Modell-HS (1)
 nach Behandlung mit 1n HCl (2)
 nach Behandlung mit 1n HJ (3)

Abb.6: IR-Spektren nach saurer Hydrolyse.

Das molare Verhältnis von Hydrochinon zu Kohlenhydrat in der Reaktionslösung war 1:1, (2); 1:2, (3); 1:3, (4) u.s.w. Dabei finden wir ff. Bandenlagen:

cm ⁻¹	mögl. Zuordnung
3400	OH-Streckschwingg.
2930	CH-Valenzschwing.
1820-1640	C=O-Schwing.
1220	C-O-Streckschwing.
1050	Gerüstschwing. der Saccharid-

3. Diskussion

Die Ursache für das unterschiedliche Verhalten von Glucose und Glycerinaldehyd gegenüber Phenolen könnte die unterschiedliche Konzentration an freier Aldehydform sein. (Abb.7)

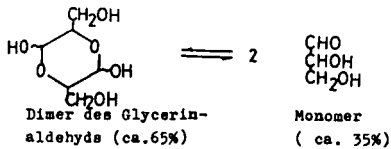
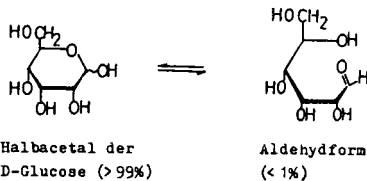


Abb.7

Die monomere Form des Glycerinaldehyds läßt sich im Modell zwanglos über jeweils 2 oder 3 Wasserstoffbrücken mit mehrwertigen Phenolen paaren. (Abb.8)

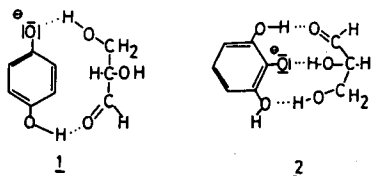


Abb.8: Wasserstoffbrücken zwischen Phenolat und Glycerinaldehyd

Ein solches Assoziat wäre möglicherweise acider als das reine Phenol, was den Anstieg der Leitfähigkeit erklären würde.

Weiterhin wäre der Angriff eines Oxydationsmittels (z.B. O₂) auf das Phenolat -Ion sterisch gehindert und die Hemmung der Phenoloxydation die Folge.

Glucose hingegen kann durch radikalische Reaktionsprozesse oder durch Reaktion zwischen Phenolat und Zucker-Carbonylgruppe unter Ausbildung von C-O- bzw. C-C-Bindungen mit den aromatischen Kernen der Huminstoffe verknüpft werden.

4. Literatur:

- (1) HEYNS, K.: Die Grundlagen des chemischen Aufbaus von D-Glucose, D-Glucose und verwandten Verbindungen, Ferdinand Enke Verlag Stuttgart (1966) S. 1-45 .
- (2) STEVENSON F.J. Humus Chemistry, Genesis, Composition, Reactions, John Wiley & Sons New York (1982), S. 146.
- (3) OADES J.M., KIRMAN, M.A. u. WAGNER, G.H., Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 34, 230 (1970).
- (4) FLAIG, W., BEUTELSPACHER, H. u. RIETZ, E.: "Chemical Compos. and Physical Properties of Humic Substances" in J. E. Gieseking, Ed., Soil Components, Vol. 1, Org. Components, Springer Verlag, New York (1975), S. 1-211.
- (5) ROULET, N., MEHTA, N.C., DUBACH, P. u. DEUL, H. : Z. Pflanzenernähr. Düng. Bodenk. 103 (1963) 1
- (6) PARSONS, J. W., TINSLEY, J., Soil Sci 13 (1963) 160.

CPMAS-¹³C-NMR- und IR-spektroskopische Untersuchungen
an frischer und zersetzter Fichtenstreu

von

Haumaier, L.*, M.-B. Johansson** und W. Zech*

Die Streuzersetzung ist ein wichtiger Prozeß für die Bildung von Bodenhuminstoffen. Um Informationen über die Vorgänge beim Streuabbau zu erhalten, haben wir spektroskopische Untersuchungen an unterschiedlich stark zersetzter Fichtenstreu durchgeführt. Das Material wurde während einer Langzeitstudie gewonnen, in der anhand von "litterbag"-Experimenten der Streuabbau auf Standorten in Schweden über einen Zeitraum von mehreren Jahren hinweg verfolgt wurde (JOHANSSON, 1982). Als spektroskopische Methoden, die keine vorherige Veränderung des Materials erfordern, haben wir die Festkörper-¹³C-NMR- und die Infrarot-Spektroskopie gewählt. Beide ergänzen einander; die Aussagekraft der NMR-Spektroskopie übertrifft jedoch die der IR-Spektroskopie, insbesondere im Hinblick auf quantitative Aussagen.

Abbildung 1(a) zeigt das CPMAS-¹³C-NMR-Spektrum von Fichtenstreu unmittelbar nach dem Streufall. Das Signal bei 30 ppm stammt von Methylengruppen in langkettigen aliphatischen Strukturen. Die Schulter bei etwa 55 ppm weist auf Methoxygruppen - z. B. von Guajacyl-Einheiten in Ligninbestandteilen - hin. Der herausragende Peak bei 70 ppm und das Signal bei 105 ppm sind Kohlenstoff in Polysacchariden wie Cellulose zuzuordnen. Im Bereich zwischen 110 und 160 ppm liegen die Absorptionen der Aromaten; der Peak bei 150 ppm ist charakteristisch für Ringkohlenstoffatome mit freien oder veretherten Hydroxylgruppen, z. B. in Guajacyl- oder p-Hydroxyphenyl-Einheiten. Um 175 ppm absorbieren Carboxyl-Kohlenstoffatome an Aromaten oder in aliphatischen Estern.

* Lehrstuhl für Bodenkunde und Bodengeographie der Universität Bayreuth, Postfach 3008, D-8580 Bayreuth

** Department of Forest Soils, Swedish University of Agricultural Sciences, S-75007 Uppsala

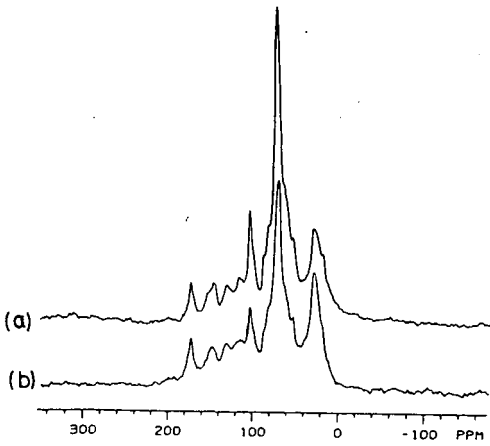


Abb. 1
CPMAS-¹³C-NMR-Spektrum
von (a) frischer und (b)
drei Jahre alter Fichten-
streu

Aus dem Spektrum läßt sich erkennen, daß die Nadeln einen großen Anteil an Polysacchariden enthalten, eine beträchtliche Menge an Aliphaten und Carboxylgruppen, jedoch relativ wenig Aromaten. Diese Zusammensetzung bestätigt auch das IR-Spektrum des Nadelmaterials (Abb. 2(a)). Es zeigt Banden bei 3400 cm^{-1} ($\nu(\text{OH})$ wasserstoffverbrückter Hydroxylgruppen), 2920 und 2850 cm^{-1} ($\nu(\text{CH})$ von Aliphaten), 1720 cm^{-1} ($\nu(\text{CO})$ von freien und veresterten Carboxylgruppen), 1620 cm^{-1} ($\nu(\text{C}=\text{C})$ von Aromaten oder Olefinen, $\nu(\text{CO})$ von Carboxylatanionen und $\delta(\text{OH})$ von Restwasser), 1510 cm^{-1} (Aromatenringschwingung). Im "fingerprint"-Bereich unterhalb

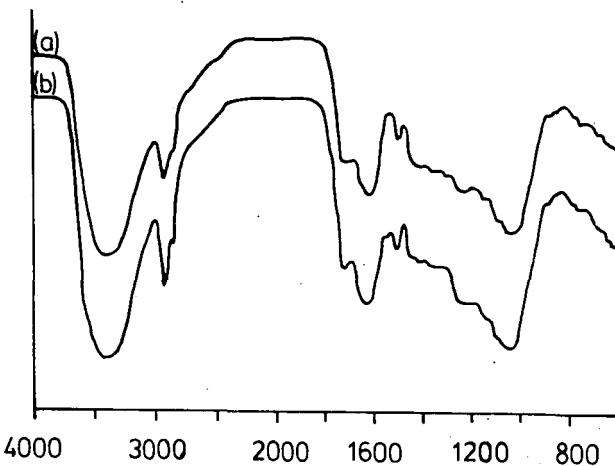


Abb. 2
IR-Spektrum von
(a) frischer und
(b) drei Jahre
alter Fichten-
streu

1500 cm^{-1} absorbiert eine Vielzahl verschiedener Valenz-, Deformations- und Gerüstschwingungen, z. B. $\delta(\text{CH})$ von Aliphaten (1470-1350 cm^{-1}), $\delta(\text{OH})$ (1400-1250 cm^{-1}), $\nu(\text{C-O})$ in Estern und aromatischen Ethern (1280-1200 cm^{-1}), $\nu(\text{C-O})$ in Polysacchariden und Phenolen (1200-1000 cm^{-1}). Insgesamt ist die Aussagekraft der "fingerprint"-Region relativ gering, da zu viele verschiedenartige Absorptionen einander überlagern und deshalb kaum eine Auflösung in einzelne Banden zu erkennen ist. Das Vorhandensein der Absorptionen in diesem Bereich bestätigt aber die Anwesenheit der anhand des ^{13}C -NMR-Spektrums identifizierten Strukturelemente.

Beim Vergleich der Festkörper- ^{13}C -NMR-Spektren von frischer und drei Jahre alter Fichtenstreu (Abb. 1) zeigt sich, daß die Signale der Polysaccharide bei 70 und 105 ppm im Spektrum der zersetzten Streu deutlich schwächer sind, und daß die Peaks bei 30 und 175 ppm intensiver erscheinen. Im Verlauf der Streuzersetzung nimmt also der Anteil der Polysaccharide ab, während der relative Anteil des Aliphaten- und Carboxyl-Kohlenstoffs anwächst. Dies steht in Einklang mit der leichteren Abbaubarkeit von Sacchariden durch Mikroorganismen. Die semiquantitative Auswertung der Spektren ergibt, daß auch der relative Anteil der Aromaten bei der Zersetzung zunimmt.

Die IR-Spektren frischer und zersetzter Fichtenstreu (Abb. 2) sind einander sehr ähnlich. Aus den Unterschieden in den Intensitäten einiger Absorptionen lassen sich keine Rückschlüsse auf veränderte Zusammensetzung ziehen. So steht zwar die höhere Intensität der CH-Absorptionen bei 2920 und 2850 cm^{-1} in Einklang mit dem höheren Aliphaten-Anteil der zersetzten Streu. Die verstärkte Absorption im Polysaccharid-Bereich zwischen 1200 und 1000 cm^{-1} steht jedoch in Widerspruch sowohl zur Aussage des ^{13}C -NMR-Spektrums als auch zum Ergebnis der chemischen Analyse, die beide eine Abnahme der Polysaccharide anzeigen.

Da Lignin als weniger leicht abbaubarer Bestandteil der Nadeln besonders wichtig ist für die Bildung von Huminstoffen, haben wir auch die Klason-Lignin-Fractionen der frischen und zersetzten Streu untersucht. In den Festkörper- ^{13}C -NMR-Spektren dieser Lignin-Fractionen (Abb. 3) sind die Polysaccharid-Peaks bei 70 und 105 ppm nicht mehr vorhanden. Die restlichen Absorptionen im Bereich zwischen 60 und 80 ppm stammen von Seitenketten-Kohlen-

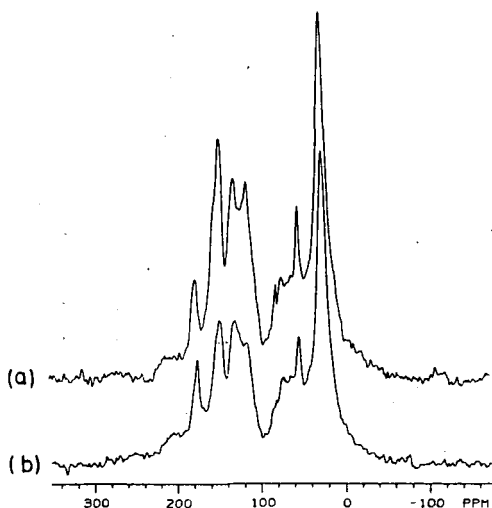


Abb. 3
CPMAS-¹³C-NMR-Spektrum der
Klason-Lignin-Fraktion von
(a) frischer und (b) drei
Jahre alter Fichtenstreu

stoffatomen der Ligninbestandteile und von aliphatischen, an Sauerstoff gebundenen Kohlenstoffatomen in Ester- oder Ethergruppierungen. Das intensivste Signal ist jetzt der Aliphaten-Peak bei 30 ppm. Die Absorptionen der Methoxygruppen bei 55 ppm und der Aromaten bei 115, 130 und 150 ppm sind erwartungsgemäß viel stärker ausgeprägt als in den Spektren der Nadeln.

Von typischen Fichtenholz-Lignin-Spektren unterscheiden sich die Spektren der Klason-Lignin-Fraktionen deutlich. So fanden BARTUSKA et al. (1980) in den Festkörper-¹³C-NMR-Spektren verschiedener Fichtenholz-Lignine keine Absorptionen im Aliphaten-Bereich bei 30 ppm und keine oder nur schwache Signale im Carboxyl-Bereich um 175 ppm. Auch die Lösungs-NMR-Spektren von LÜDEMANN und NIMZ (1974) zeigen nur sehr schwache Peaks in diesen Bereichen. Das bedeutet, daß die Klason-Lignin-Fraktionen der Nadeln neben dem eigentlichen Lignin auch größere Mengen anderer Bestandteile enthalten, die offensichtlich im wesentlichen aus Fettsäureestern bestehen.

Im Laufe der Streuzersetzung nimmt beim Klason-Lignin der relative Anteil der Aromaten ab, während der Aliphaten- und Carboxyl-Gehalt steigt. Die Lignin-Komponenten werden offenbar schneller abgebaut als die übrigen Bestandteile.

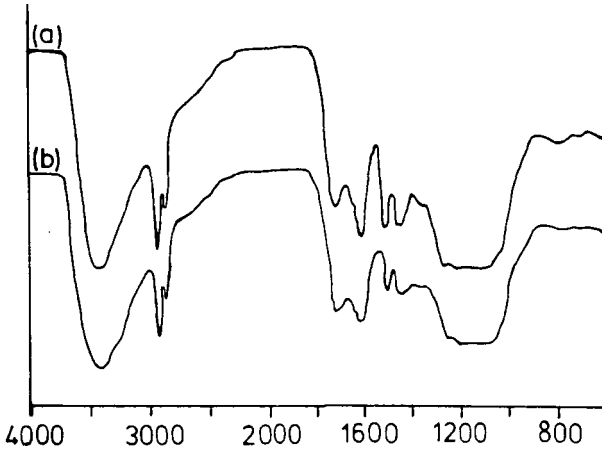


Abb. 4
IR-Spektrum der
Klason-Lignin-
Fraktion von (a)
frischer und (b)
drei Jahre alter
Fichtenstreu

In den IR-Spektren der Klason-Lignin-Fractionen (Abb. 4) ist die Aromaten-Absorption bei 1510 cm^{-1} deutlich ausgeprägter als in den Spektren der gesamten Streu. Auch die Banden bei 1720 und 1450 cm^{-1} sind besser abgegrenzt von den benachbarten Absorptionen. Die Intensität der Banden im CO-Streckschwingungsbereich zwischen 1200 und 1000 cm^{-1} ist aufgrund des Fehlens der Polysaccharide geringer. Wieder sind die Unterschiede in den Spektren frischer und zersetzter Streu von geringem diagnostischem Wert.

Der Versuch einer semiquantitativen Auswertung der Festkörper- ^{13}C -NMR-Spektren (Tab. 1) ergibt folgendes Bild vom Streuabbau: Der Anteil der Aliphaten nimmt zu - sowohl bei der gesamten Streu als auch bei der Klason-Lignin-Fraktion. Das gleiche gilt für den Anteil der Carboxylgruppen. Dagegen nimmt der Gehalt an Polysacchariden ab. Ähnliche Zusammenhänge fanden ZECH et al. (1985) auch bei der Untersuchung der verschiedenen organischen Lagen einer Tangelrendzina. Demgegenüber beobachteten WILSON et al. (1983), daß während der Zersetzung von Kiefernstreu der Aliphaten-Anteil konstant blieb. Die Aromaten zeigen eine Zunahme in der gesamten Streu, aber eine Abnahme in der Klason-Lignin-Fraktion. Die Schlußfolgerung daraus ist, daß bei der Streuzersetzung die Abbaugeschwindigkeit von den Polysacchariden über die Ligninbestandteile zu den Aliphaten hin abnimmt.

Tab. 1: Prozentualer Anteil des Kohlenstoffs an bestimmten Strukturelementen (Abschätzung aus ^{13}C -NMR).

	Fichtenstreu		Klason-Lignin	
	frisch	zersetzt	frisch	zersetzt
Aliphaten (0-50 ppm)	21	24	32	35
Methoxygruppen (50-60 ppm)	6	5	7	6
"Polysaccharide" (60-110 ppm)	55	46	11	12
Aromaten (110-165 ppm)	14	18	43	35
Carboxylgruppen (165-190 ppm)	3	5	5	7

Literatur

- Bartuska, V.J., G.E. Maciel, H.I. Bolker und B.I. Fleming, 1980. Structural Studies of Lignin Isolation Procedures by ^{13}C NMR. *Holzforschung* 34, 214-217.
- Johansson, M.-B., 1982. Decomposition of leaf and root litters from some coniferous and broad-leaved trees at sites located in different parts of Sweden. Reports in Forest Ecology and Forest Soils No. 42. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden.
- Lüdemann, H.-D. und H. Nimz, 1974. ^{13}C -Kernresonanzspektren von Ligninen, 2. Buchen- und Fichten-Björkman-Lignin. *Makromol. Chem.* 175, 2409-2422.
- Wilson, M.A., S. Heng, K.M. Goh, R.J. Pugmire und D.M. Grant, 1983. Studies of litter and acid insoluble soil organic matter fractions using ^{13}C -cross polarization nuclear magnetic resonance spectroscopy with magic angle spinning. *J. Soil Sci.* 34, 83-97.
- Zech, W., I. Kögel, A. Zucker und H. Alt, 1985. CP-MAS- ^{13}C -NMR-Spektren organischer Lagen einer Tangelrendzina. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.* 148, 481-488.

Wechselwirkungen zwischen Huminstoffen und xenobiotischen Substanzen im Hinblick auf das Rückhaltevermögen eines Bodens mit definiertem Gehalt an organischer Substanz

von
Hermann, R. *)

1. Einleitung

Im gleichen Maße, wie die Industrialisierung voranschreitet, stellt man erhöhte Konzentrationen von xenobiotischen, d.h. dem Boden fremde, Substanzen in Böden und Grundwässern fest.

Zu diesem Problem sollten im Rahmen eines Forschungsvorhabens, welches vom Umweltbundesamt vergeben wurde, mit dem Thema:

" Kontaminierte Standorte, Grundlagen für Sanierungsmaßnahmen im Hinblick auf den Gewässerschutz unter besonderer Berücksichtigung der im Untergrund vorhandenen chemischen und biologischen Systeme "

Untersuchungen durchgeführt werden.

Dem Boden kommt zwar eine gewisse Filterwirkung zu, aber es ist wenig bekannt welchen Umfang sie unter örtlichen Gegebenheiten und bei welchen Kontaminaten erreichen kann.

Um diese Filtereigenschaften des Bodens besser quantitativ zu erfassen, wurden die Hauptvertreter der anorganischen und organischen Bodeninhaltsstoffe, die Tonminerale und die Huminstoffe, und ihr Verhalten gegenüber xenobiotischen Substanzen untersucht.

Die Diskussion soll hier auf die Huminstoffe beschränkt bleiben. Zudem haben eigene Untersuchungen gezeigt, daß den organischen Inhaltsstoffen bezüglich der Fixierung von Umweltchemikalien gegenüber den Tonmineralen die größere Bedeutung zukommt.

*) Institut für Bodenwissenschaften, Abt.: Chemie und Biochemie im System Boden
Von - Siebold - Str. 2, 3400 Göttingen

2. Ergebnisse

Ziel der Untersuchungen sollte es sein, dem Praktiker (z.B. Feuerwehrleute, Beamte der Umweltpolizei oder Wasseruntersuchungsämter) vor Ort zu ermöglichen, mit Hilfe der Kenntnis des Gehalts an organischer Substanz eines Bodens, die Menge einer Umweltchemikalie abzuschätzen, die dieser betreffende Boden zu adsorbieren vermag.

Hierzu müssen zwei wichtige Voraussetzungen erfüllt sein:

1. Das Sorptionsverhalten für die xenobiotischen Substanzen muß durch Messung der Adsorptions - Isothermen untersucht werden. Aus diesen Isothermen wird das Rückhaltevermögen abgeschätzt
2. Schnellanalyse (bzw. Feldmethode) zur Ermittlung des organischen Gehalts eines Bodens

Zur Ermittlung des Gehalts an organischer Substanz bietet sich als Schnellmethode eine Abschätzung aus der Farbe des Oberbodens an (SCHLICHTING / BLUME, 1966).

Es muß betont werden, daß die Entscheidung für dieses Verfahren als ein Kompromiß betrachtet werden muß:

der scheinbaren Einfachheit steht eine gewisse Ungenauigkeit bei der Bestimmung gegenüber.

Tab. 1: Abhängigkeit des Gehalts an OS von der Farbe des Bodens

Farbe (im feuchten Zustand)	Gehalt OS [%]	Bezeichnung	Raumgewicht [g/ml]	Farbzone
hellgrau-grau	0 - 2	humusarm - schwach humos	1,8 - 1,5	Fz 1
dunkelgrau-schwarzgrau	2 - 8	mäßig - stark humos	1,5 - 1,0	Fz 2
schwarz	8 - 15	humusreich	1,0 - 0,6	Fz 3
schwarz	15 - 30	anmoorig	0,5 - <0,5	Fz 4
schwarz	> 30	torfig	< 0,5	

Die Anwendung von Tab.1 für die Praxis soll am Beispiel des Benzols näher erläutert werden.

Die Untersuchung der sorptiven Wechselwirkungen zwischen Benzol bzw. Toluol und Huminstoff sind in unserer Arbeitsgruppe selbst

durchgeführt worden. Diese Wechselwirkungen wurden mittels Adsorptions - Isothermen ausgewertet.

Aus diesen Isothermen wird für die einzelnen Stoffe das Rückhaltevermögen bestimmt.

Aus der Isothermen für das System Benzol / Huminstoff konnte abgeschätzt werden, daß maximal 10 g (oder 11,4 ml) Benzol von 1 kg Huminstoff adsorbiert werden.

Mit Hilfe dieses Ergebnisses und der Kenntnis des Gehalts an OS eines Bodens kann berechnet werden, wieviel einer Chemikalie ein Boden " maximal " fixieren kann.

Die nachfolgenden Berechnungen beziehen sich auf ein Bodenvolumen von $0,4 \text{ m}^3$ mit einer Fläche von 1 m^2 und einer Tiefe von 40 cm. Mit Tab.1 läßt sich der Gehalt an OS für die verschiedenen Farbzonen Fz 1 - 4 und einem Volumen von $0,4 \text{ m}^3$ berechnen.

Graphisch lassen sich diese Zusammenhänge wie in Abb.1 wiedergeben:

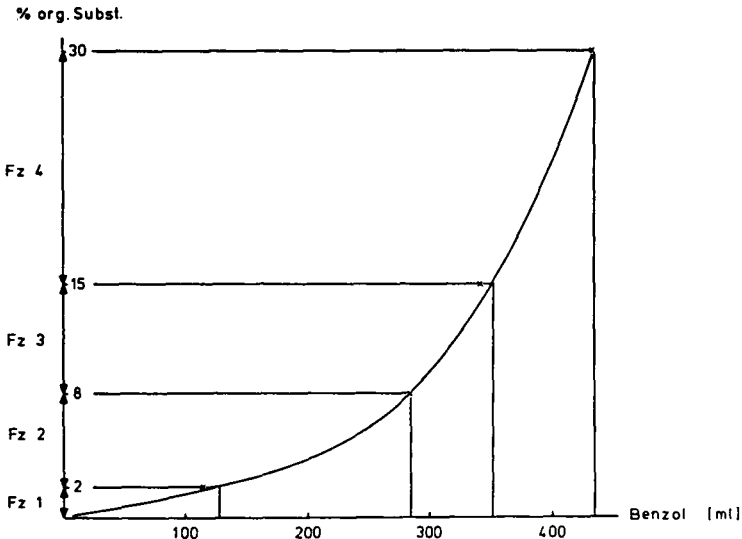


Abb.1: Abhängigkeit der sorbierten Menge Benzol in (ml) von dem Gehalt an OS; Bodenvolumen: $0,4 \text{ m}^3$ bei einer Fläche von 1 m^2

Entsprechende Berechnungen liegen den Untersuchungen für die anderen Substanzen zugrunde.

Am Beispiel von Abb.1 soll die Interpretation der Grafik erklärt werden:

1. Mit Hilfe von Tab.1 wird ein Boden durch seine Farbe charakterisiert. Mit diesem Farbton korreliert der Gehalt an OS.
2. Dieser Gehalt an OS wird in den Abbildungen durch Farbzonen Fz 1 - 4 wiedergegeben.
3. Den Grafiken ist direkt zu entnehmen, wieviel einer Umweltchemikalie dieser Boden pro $0,4 \text{ m}^3$ adsorbieren kann.

Bei der Durchführung der Untersuchung im System Toluol/Huminstoff sind im wesentlichen die gleichen Versuchsbedingungen beibehalten worden wie im Falle des Benzols.

Die Adsorptions - Isotherme für dieses System gibt an, daß die " maximale Sorptionskapazität " 4 g (oder $4,6 \text{ ml}$) Toluol pro kg Huminstoff beträgt.

Für die Praxis kann nun mit Abb.2 vorhergesagt werden, wieviel Toluol ein Boden sorbieren kann.

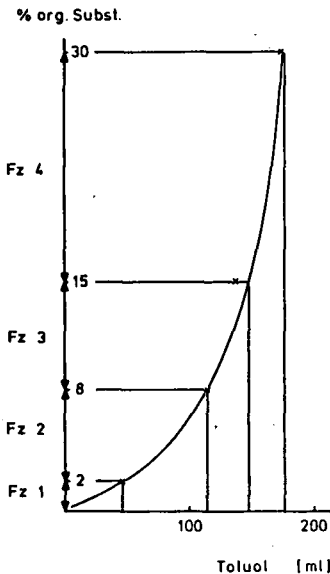


Abb. 2: Abhängigkeit der sorbierten Menge Toluol von dem Gehalt an OS; Bodenvolumen: $0,4 \text{ m}^3$ mit $A = 1 \text{ m}^2$

Von Friesel (1984) und Mitarbeitern wurden die Sorptions - und Desorptionsgleichgewichte von verschiedenen halogenierten Kohlenwasserstoffen mit 32 verschiedenen Böden bestimmt.

In diesen Arbeiten wird bestätigt, daß der Gehalt an OS für das Sorptionsverhalten des Bodens in Bezug auf Umweltchemikalien der entscheidende Faktor ist.

Da sich dieser Befund mit unseren eigenen Ergebnissen deckt, sind alle Angaben, die sich in der Arbeit von Friesel auf den jeweiligen Boden beziehen, auf die OS umgerechnet worden.

Auf diese Weise war es möglich, das Sorptionsverhalten der aliphatischen und der aromatischen chlorierten Kohlenwasserstoffe in der Art auszuwerten und darzustellen wie dies in den Abb. 1 und 2 geschehen ist.

Tab. 2 faßt noch einmal die wesentlichen Ergebnisse der eigenen und der Versuche von Friesel zusammen.

Tab. 2: " Maximal " sorbierte Mengen der untersuchten Substanzen pro kg org. Bist.

Substanz	sorbierte Menge in	
	(g/kg org. Bist.)	(ml/kg org. Bist.)
Benzol	10,0	11,4
Toluol	4,0	4,6
Trichlorethylen	0,029	0,020
Tetrachlorethylen	0,043	0,027
1,1,1-Trichlorethan	0,016	0,012
1,2-Dichlorbenzol	3,5	2,7
1,3-Dichlorbenzol	4,1	3,1
1,4-Dichlorbenzol	2,8	2,3
1,2,4-Trichlorbenzol	10,9	7,5
1,3,5-Trichlorbenzol	12,6	8,7

3. Zusammenfassung

Sorptionsvorgänge sind in den hier diskutierten Fällen reversible Wechselwirkungen! Die Werte in Tab. 2 geben deshalb keine endgültigen Fixierungsraten an. Für die Praxis bedeutet dies, daß unter bestimmten Bedingungen (z.B. starke Niederschläge) innerhalb kurzer Zeit die sorbierten Substanzen remobilisiert und in den Untergrund des Bodens gelangen können.

Die Adsorptionsdaten sind jedoch dann nützlich, wenn man sie unter dem Aspekt einer gehinderten Fließbewegung einer Substanz im Boden betrachtet.

Der Boden kann so als ein chromatographisches System verstanden werden, mit der festen Bodenmatrix als stationärer und dem Wasser als mobiler Phase.

Diese gehinderte Bewegung läßt sich durch das Rückhaltevermögen quantitativ beschreiben.

Mit dieser Beziehung eröffnet sich die Möglichkeit, das Wanderungsverhalten eines Stoffes zu beschreiben und die Eindringtiefe zu bestimmen. Für die Praxis bedeutet dies, daß die abzutragende Menge eines kontaminierten Bodens berechnet werden kann.

4. Literatur

- 1) Choudhry, G.G.; (1981) : Humic Substances. Part III: Sorptive Interactions with Environmental Chemicals, Toxicological and Environmental Chem., 6 , 127 - 171
- 2) Friesel, P.; Neumayr, V.; Milde, G.; (1981) : Untersuchungen zur Wechselwirkung eines leichtflüchtigen chlorierten Kohlenwasserstoffs mit Böden; Mitteln. Dtsch. Bodenkundl. Gesellsch., 32 , 577 - 582
- 3) Schlichting, E.; Blume, H.-P.; (1966) : Bodenkundliches Praktikum, Verlag Paul Parey ; Hamburg/Berlin

IR-spektroskopische Charakterisierung wasser-
löslicher Substanzen aus Fichtenrohhumus

von
Hempfling, R. * und R. Candler **

Die wasserlöslichen organischen Substanzen der Böden sind ökologisch besonders interessant, da sie pedogenetisch reaktiv sind und durch Komplexbildung Nährstoffe pflanzenverfügbar machen können. NYKVIST (1963) fand z.B. in wässrigen Fichtenstreuextrakten 1.4 % der Trockensubstanz wieder. Die organischen Bestandteile (ca. 80 %) setzten sich aus Aminosäuren, Glucose, Fructose, aliphatischen Säuren (Oxalsäure, Maleinsäure, Zitronensäure), Phosphorsäure und Polyphenolen zusammen. Wegen dieser Komplexität der Wasserextrakte ist vor Anwendung spektroskopischer Methoden eine Auftrennung sinnvoll. Verschiedene chromatographische Methoden, wie GPC und DC, bieten sich hierbei an. Die IR-Spektroskopie ermöglicht anschließend die rasche Charakterisierung der Fraktionen ohne vorherige chemische Aufarbeitung oder Zerstörung.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die wasserlöslichen Bestandteile von Fichtenrohhumus nach chromatographischer Auftrennung mittels GPC und DC IR-spektroskopisch zu beschreiben. Da nach DORMAAR (1970) die chemische Zusammensetzung der Streuextrakte je nach Jahreszeit variiert, sollte weiterhin geprüft werden, ob entsprechende Unterschiede auch im Fichtenrohhumus zu finden sind.

*) Lehrstuhl für Bodenkunde und Bodengeographie, Universität Bayreuth, Postfach 3008, D-8580 Bayreuth

***) Forest Soils Laboratory, University of Alaska, Fairbanks, Alaska 99775

Unmittelbar nach der Probenahme im Herbst 1984 bzw. Frühjahr 1985 wurden jeweils 3 kg der einzelnen Horizonte (L, Of, Oh) mit $H_2O_{bid.}$ im Verhältnis 1 : 2 zwei Stunden geschüttelt. Durch Filtration mit säuregewaschenen Whatman-Filtern konnte der Extrakt abgetrennt werden. Nach Einengung am Rotationsverdampfer auf ca. 50 ml bei 25° C erfolgte die Sterilfiltration des Konzentrates durch 0.22 μ m Millipore Sterilfilter. Zur anschließenden Fraktionierung diente Sephadex G 25 und Wasser als Eluent. Eine weitere präparative Auftrennung gelang mittels Dünnschichtchromatographie. Hierzu wurden etwa 5 mg der einzelnen Sephadex-Fractionen in 0.5 ml $H_2O_{bid.}$ gelöst und auf DC-Fertigplatten (GUR N-25) aufgetragen. Als Laufmittel diente ein Gemisch aus $H_2O/1$ -Butanol/ 2 -Propanol im Verhältnis 5 : 5 : 3. Bei sichtbarem und unter UV-Licht wurden verschiedene Fraktionen erkannt und anschließend von der Platte gekratzt. Die Trennung der Probe von Kieselgur erfolgte nach Wasserzugabe durch Zentrifugieren bei 10.000 U/min. Die Aufzeichnung der IR-Spektren geschah an Hand von KBr-Preßlingen an einem Perkin Elmer-IR-Spektralphotometer (Nr. 599); ihre Interpretation beruht auf Arbeiten von FLAIG et al. (1975) sowie BELLAMY (1964).

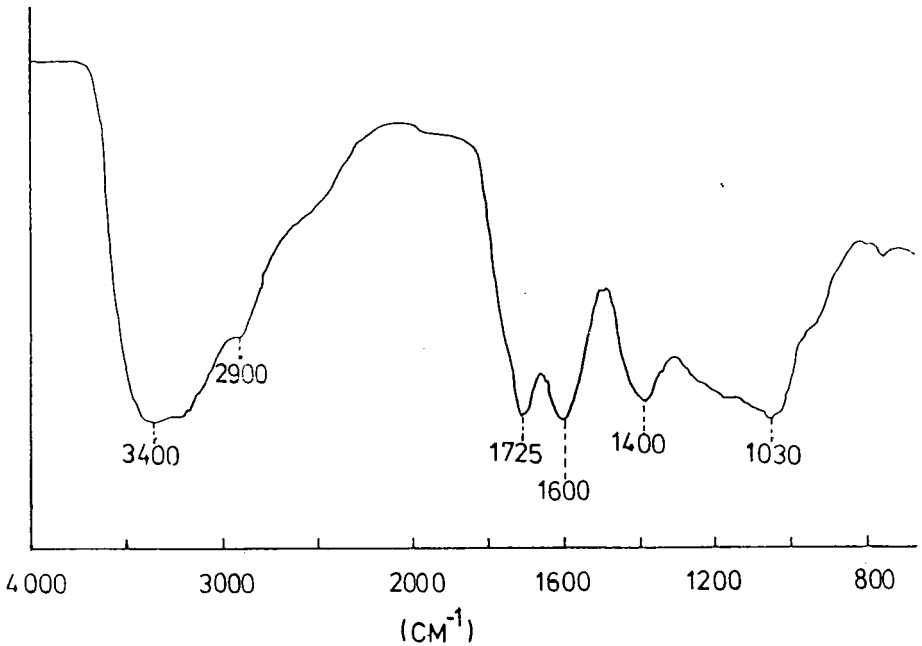
Trotz chromatographischer Auftrennung liegen immer noch Gemische vor, deren IR-Spektren aber qualitative Unterschiede erkennen lassen. Das wird im folgenden näher beschrieben.

Abb. 1 zeigt beispielhaft das IR-Spektrum einer Sephadex-Fraktion aus der Oh-Lage eines Fichtenrohhumus. Es dominieren folgende Banden:

- a) 3400 cm^{-1} : Valenzschwingungen H-verbrückter OH-Gruppen
- b) 2900 cm^{-1} : Aliphatische C-H-Absorptionsbanden
- c) 1725 cm^{-1} : C=O-Banden von Carboxyl-, Aldehyd- und Ketogruppen
- d) 1600 cm^{-1} : Carboxylate und Wasser
- e) 1400 cm^{-1} : Carboxylatanion
- f) 1250 bis 900 cm^{-1} : funktionelle C-O-Schwingungen, z.B. in Polysacchariden.

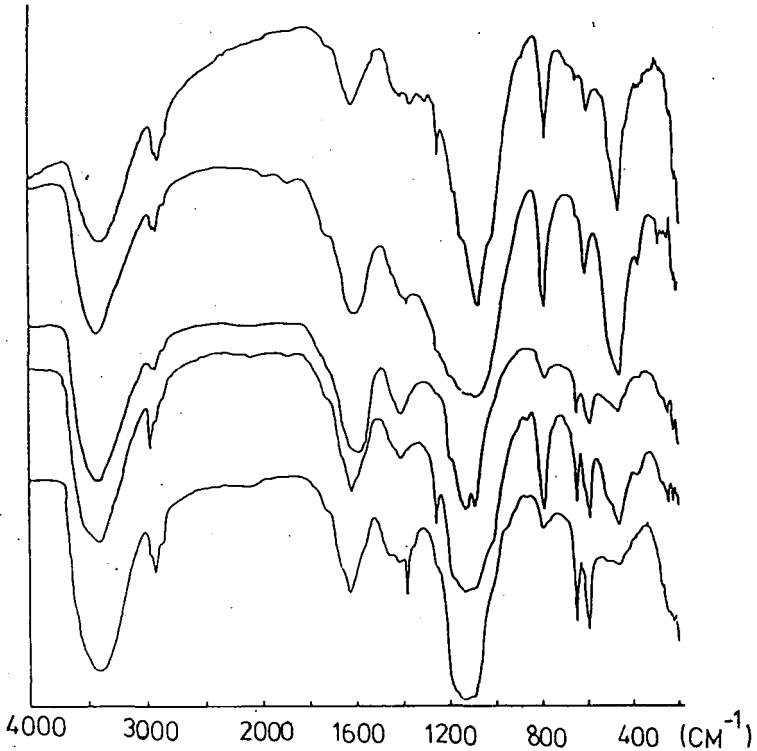
Mit Hilfe der DC wurde diese Sephadexfraktion in 5 Fraktionen weiter aufgetrennt, deren IR-Spektren in Abb. 2 dargestellt sind. Zunächst fällt auf, daß die Carbonylbande

Abb. 1: IR-Spektrum einer Sephadex-Fraktion des Oh-Horizontes aus Fichtenrohhumus (Probenahme im Herbst 1984)



nur noch als Schulter zu erkennen ist, während die Absorption zwischen 1600 und 1640 cm^{-1} z. T. breiter wird. Dies ist wahrscheinlich methodisch bedingt. Wie begleitende Untersuchungen an Oxalsäure zeigten verschiebt sich die Carbonylbande (1725 cm^{-1}) nach Gefriertrocknung der mit KBr versetzten Lösung zum Carboxylatanion (1600 cm^{-1}). Auch FILIP et al. (1974) weisen auf die Bedeutung der Aufbereitung für die Lage der Carbonylbande hin. Daneben liefert die Auftrennung aber auch Banden, die vorher nur innerhalb breiter Absorptionsbereiche zu vermuten waren. Dies gilt für aliphatische CH_3 - und CH_2 -Gruppen (2965, 2935, 2870, 2850 cm^{-1}), für Carboxylatanionen (1425 und 1320 cm^{-1}); NO_3^- (1385 cm^{-1}) und Aryletherbindungen (1260 cm^{-1}). Die Zuordnung der Bande bei 1385 cm^{-1} konnte durch ionenchromatographische Nitratbestimmung bestätigt werden. Weiterhin zeigt die breite Absorption zwischen 1250 und 1000 cm^{-1} unterschiedliche Formen, was auf unterschiedliche Zusammensetzung schließen läßt. Leider

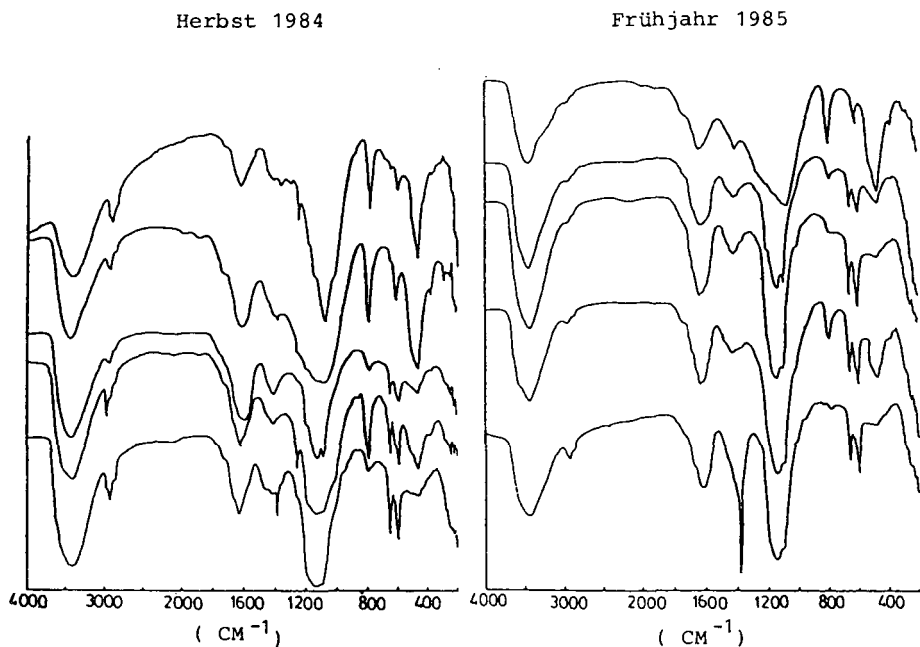
Abb. 2: IR-Spektren nach Auftrennung einer Sephadex-Fraktion mittels Dünnschichtchromatographie



ist hier die Auftrennung noch nicht ausreichend. Vergleicht man die Wasserextrakte von Herbst und Frühjahr (in Abb. 3 beispielhaft die zwei Fraktionen des Oh-Horizontes mit niedrigstem Molekulargewicht), so sind folgende Unterschiede zu erkennen:

Die Banden bei 2965, 2935 und 1260 cm^{-1} treten im Herbst stärker hervor als im Frühjahr, während die scharfe Bande bei 1385 cm^{-1} im Spektrum rechts unten in dieser Deutlichkeit nur in Frühjahrsproben auftaucht. Weitere nicht dargestellte Unterschiede betreffen die Spektren von L- und Of-Horizonten. Sie zeigen im Frühjahr intensivere Absorption um 1600 cm^{-1} sowie schärfere Ausprägung der Bande zwischen 1250 und 1000 cm^{-1} .

Abb. 3: IR-Spektren wasserlöslicher Substanzen aus dem Oh-Horizont eines Fichtenrohhumus im Herbst und Frühjahr nach präparativer Auftrennung mittels GPC und DC (s. Text).



Diese Ergebnisse verdeutlichen die verbesserten Interpretationsmöglichkeiten von IR-Spektren nach chromatographischer Auftrennung der Wasserextrakte. Der Vergleich einzelner Spektren liefert Hinweise auf eine Verringerung der Anteile wasserlöslicher Kohlenhydrate und Aryletherbindungen während des Winters. Dagegen treten im Frühjahr verstärkt Carboxylate bzw. freie Carboxylgruppen und Nitrat auf.

Diese Veränderungen sind das Ergebnis von Abbau- und Auswaschungsprozessen. So werden Kohlenhydrate als leicht verfügbare Energiequelle von Mikroorganismen rasch mineralisiert oder im Frühjahr verstärkt Nitrat als Endprodukt der Stickstoffmineralisation freigesetzt. Ein vermehrtes Auftreten von Carboxylaten bzw. freien Carboxylgruppen im Frühjahr deutet auf höhere mikrobiologische Aktivität hin, da Carbonsäuren als Stoffwechselprodukte von Mikroorganismen entstehen können.

Eine umfassende Darstellung unserer Ergebnisse ist in Vorbereitung. Sie umfaßt neben IR- auch ^1H - und ^{13}C -NMR-spektroskopische Befunde.

Danksagung

Herrn O. Klemm (Lehrstuhl Hydrologie, Universität Bayreuth) sind wir für die Nitratbestimmung mit Ionenchromatographie sehr verbunden. Unsere Untersuchungen wurden im Rahmen des SFB 137 von der Deutschen Forschungsgemeinschaft gefördert.

Literatur

- BELLAMY, L. J. (1964): The Infra-red Spectra of Complex Molecules. Wiley, New York, N.J., 425 S.
- DORMAAR, J. F. (1970): Seasonal Pattern of Water-Soluble Constituents from Leaves of Populus x 'Northwest' (Hort.). Journal of Soil Science, 21, 105 - 110
- FLAIG, W., BEUTELSPACHER und E. RIETZ (1975): Chemical Composition and Physical Properties of Humic Substances. In: Gieseking, J. E.: Soil Components, Volume 1, Organic Components. Springer, Berlin, S. 1 - 212
- FILIP, Z., K. HAIDER, H. BEUTELSPACHER und J. P. MARTIN (1974): Comparisons of IR-Spectra from Melanins of Microscopic Soil Fungi, Humic Acids and Model Phenol Polymers. Geoderma, 11, 37 - 52
- NYKVIST, N. (1963): Leaching and Decomposition of Water-Soluble Organic Substances from Different Types of Leaf and Needle Litter. Studia Forestalia Suecica, 3, 1 - 29.

Elektrische Leitfähigkeit von Huminstoffen in festem Zustand

von
Hütten, U. u. W. Ziechmann [†])

Motivation

Das Verhalten der Huminstoffe wird gewöhnlich in gelöstem oder suspendiertem Zustand untersucht. Als Festkörper wurden sie bislang nicht systematisch erforscht. Es gibt daher auch noch keine systematischen Untersuchungsergebnisse zur elektrischen Leitfähigkeit von Huminstoffen in festem Zustand. Man erwartet, daß man durch die Kenntnis der Leitfähigkeitseigenschaften der verschiedenen Huminstoffe eine wichtige Hilfe zur Interpretation

- der Wechselwirkung mit anderen Systemen ihrer Umwelt,
- der physiologischen Wirkung der Bodeninhaltsstoffe
- und ihres Baumusters erhält.

Zur Definition der elektrischen Leitfähigkeit

Ohne Einwirkung eines äußeren elektrischen Feldes bewegen sich die Ladungsträger eines Festkörpers aufgrund der Brownschen Bewegung diffus in allen Raumrichtungen. Legt man von außen ein elektrisches Feld an, so driften die Ladungsträger längs der elektrischen Feldlinien. Dabei gilt zwischen elektrischer Feldstärke \vec{E} und elektrischer Stromdichte \vec{j} folgender Zusammenhang:

$$(1) \quad \vec{j} = \sigma \cdot \vec{E}$$

Die Proportionalitätskonstante σ nennt man die elektrische Leitfähigkeit des Körpers.

Vorausgegangene Arbeiten

Einige Messungen zur elektrischen Leitfähigkeit von Huminstoffen wurden schon vor einigen Jahren gemacht (Lentz, Ziechmann, 1968; Helberg, 1972)*. Dabei stellte sich heraus, daß Huminstoffe (Hmst) offensichtlich Leitfähigkeiten in der Größenordnung von einigen $10^{-12} \Omega^{-1} \text{cm}^{-1}$ haben.

Das Vorhaben, eine größere Anzahl von Huminstoffen, die sich in ihrer Leitfähigkeit relativ wenig unterscheiden können, diesbezüglich zu vergleichen, erfordert beim Aufbau einer geeigneten Meßapparatur einen nicht unerheblichen Aufwand. Übliche Widerstandsmessungen mit einfachen Ohmmetern würden beispielsweise ergebnislos bleiben.

Prinzipiell wird jedoch wie dort verfahren; nur mit sehr viel empfindlicherem Gerät und besonderem Schutz gegen äußere, störende Einflüsse. Dies führt zwingend zu einem aufwendigen Versuchsaufbau.

[†] Institut für Bodenwissenschaften -Lehrgebiet Chemie-
von-Siebold-Str. 2 , 3400 Göttingen

* W. Ziechmann, Huminstoffe, Verlag Chemie, Weinheim 1980

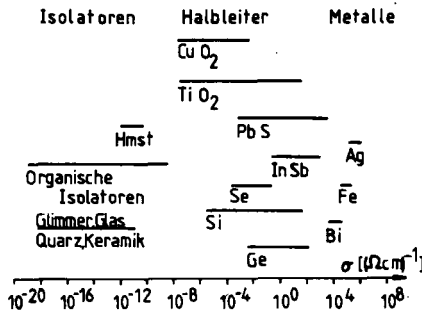


Abb.1 Leitfähigkeit σ einiger Festkörper

Grundlegende Gedanken zur Bestimmung der Leitfähigkeit

Hat der zu vermessende Festkörper zwei parallele, einander gegenüberliegende Oberflächen, deren Abstand klein ist verglichen mit ihren Flächenabmessungen, so läßt sich σ bestimmen aus einer Messung des Stromes durch den Körper, wenn die Potentialdifferenz zwischen den Flächen bekannt ist. Betrachte dazu folgende Anordnung von Elektroden und dazwischen befindlichem Körper:

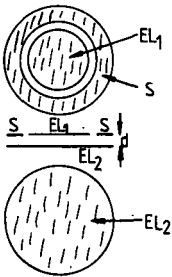


Abb.2

Die ringförmig um die Kreisplattenelektrode EL_1 verlaufende Elektrode S liegt mit dieser auf gleichem Potential. Zwischen ihnen und der Elektrode EL_2 bestehe die Potentialdifferenz U .

Dann wird sich im Bereich zwischen der Elektrode EL_1 und Elektrode EL_2 ein homogenes elektrisches Feld E bilden. E läßt sich dann aus U und dem Elektrodenabstand d berechnen:

(i) $E = U/d$

Weiterhin kann durch Messung des Stromes I durch die Elektrode EL_1 die Stromdichte j bestimmt werden:

(ii) $j = I/F$; F : Fläche der Elektrode EL_1

Mit (i) , (ii) wird die Definitionsgleichung (1) zu

$$I/F = \sigma \cdot U/d$$

oder

$$\sigma = (I \cdot d)/(U \cdot F)$$

Um die Leitfähigkeit eines Stoffes zu bestimmen, müssen danach also der Strom I , der Abstand d der gegenüberliegenden Elektroden, die Fläche F der Elektrode EL_1 und die Spannung U zwischen den Elektroden bekannt sein bzw. gemessen werden.

Die Schutzelektrode S hat die Aufgabe

- ein homogenes Feld im Bereich EL_1 zu schaffen und
- Kriechströme über die Oberfläche des Körpers abzuleiten.

Herstellung eines geeigneten Huminstoff-Festkörpers

Der Huminstoff lag zunächst in unregelmäßiger Form, körnig und bruchstückhaft, vor. Nach gründlichem Mörsern erhielt man ein feines Pulver, das dann mit einer hydraulischen Presse zu Tabletten gepreßt wurde. Es wurde hier zu eine Presse mit kreisrunden Stempeln von 20 mm Durchmesser benutzt. Mit einer Kraft von 80 KN, entsprechend einem Druck von 2550 at, wurde ca. 0,4 bis 0,5 cm³ des Pulvers zu ca. 0,8 mm dicken Tabletten gepreßt.

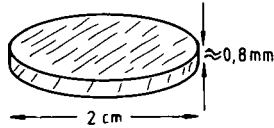


Abb.3 Gestalt einer Huminstofftablette

Im allgemeinen sind die Huminstofftabletten mit äußerster Vorsicht zu handhaben, da sie sehr leicht zerbrechen.

Die Dicke der Tablette wurde jeweils mit einer Mikrometerschraube gemessen; sie ist gleich dem Elektrodenabstand d bei der Messung der Leitfähigkeit.

Aufbau der Meßapparatur

Wie oben erläutert ist durch die Spannung U , den Strom I und die geometrischen Faktoren die Leitfähigkeit σ bestimmt.

Als Spannungsquelle dient eine 9,5 V Batterie. Die Spannung einer Batterie ist sehr glatt; Wechselspannungsanteile würden sich verfälschend auf die Meßergebnisse auswirken. Ihre Lebensdauer reicht bei den zu erwartenden kleinen Strömen bei weitem aus, und sie läßt sich bequem an einem geeigneten Ort der Apparatur unterbringen.

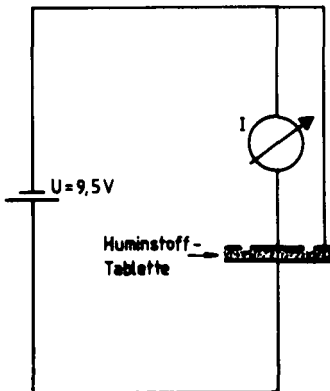


Abb.4 Schaltungsskizze

Da bei den zu erwartenden Leitfähigkeiten mit entsprechend kleinen Strömen zu rechnen ist, muß ein äußerst empfindliches Amperemeter, ein sogenanntes Elektrometer, zur Strommessung eingesetzt werden. Es ist mit ihm möglich, Ströme von 10^{-7} bis hinab auf 10^{-15} A zu messen.

Kontaktierung der Tablette

Ein zentrales Problem bei den Leitfähigkeitsmessungen an Huminstoffen bildet die Kontaktierung der Huminstoff-Tabletten. Die ersten Versuche zur Kontaktierung wurden mit einem Leitsilberpräparat durchgeführt. Dies läßt sich mit einem Pinsel nahezu in gewünschter Form auf die Tablette streichen und bildet nach Trock-

nung die Elektroden (s. Abb.2). Zur besseren Handhabung wird die Tablette an ihrer großen Elektrode EL_2 mit Leitsilber auf einer Kupferplatte fixiert. An die anderen Elektroden werden sehr dünne Kupferdrähtchen mit

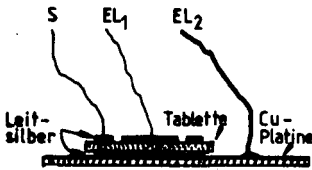


Abb.5 Mit Leit-silber kontaktierte Tablette

Leitsilber geklebt.

Es stellte sich jedoch heraus, daß das Leitsilber- Lösungsmittel oft zu stark in die Tablette diffundiert und sie dadurch mechanisch zerstört; die Tablette wölbte sich dann und zerbrach.

Daneben ist zu befürchten, daß bei einer so kontaktierten Tablette Silberionen durch das Huminstoffpräparat wandern und dadurch eine erhöhte Leitfähigkeit vorge-täuscht wird.

Weiterhin war die Kontaktierungsprozedur bei jeder Tablette mit einem erheblichen Zeitaufwand verbunden.

Die Mängel

- hohe Tablettenverlustrate durch Bruch,
- Ag-Ionenwanderung durch die Tablette,
- hoher Zeitaufwand beim Kontaktieren,

bewogen mich zur Konstruktion einer Kontaktierungsmaschine. In ihr kann die unbehandelte Tablette zur Kontaktierung zwischen Elektroden eingepreßt werden, womit obige Mängelpunkte entfallen. Da der Kontakt durch Anpressen der Elektroden zustandekommt, nenne ich die Maschine Kontaktierungs-
presse. Zur Funktionsweise der Kontaktierungs-
presse betrachte Abbildung 6.

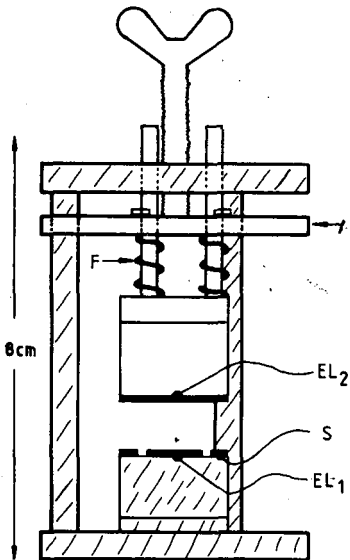
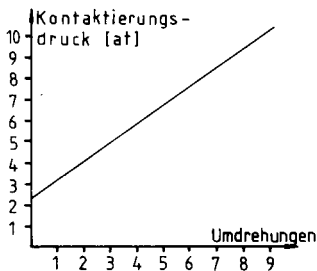


Abb.6 Skizze der Kontaktierungs-
presse

Die schraffierten Bauteile sind ortsfest, die übrigen (leeren) Teile lassen sich mittels der oben befindlichen Flü-gelschraube auf- oder abbewegen. Liegt die zu kontaktierende Tablette auf dem unteren Stempel mit den Elektroden EL₁,S, so wird sie bei Rechtsdrehung der Flü-gelschraube schließlich von beiden Stempeln berührt. Weiteres Drehen, jetzt unter merklich erhöhtem Widerstand (die Federn F sind bereits vorgespannt), drückt die Scheibe A gegen die Rück-stellkraft der Federn F weiter nach unten. Mit dieser Kraft entsprechendem Druck (s. Diagramm 1) wird die Tablette zwischen den Elektroden kontaktiert. Die Stempel wurden aus Trovidur gefertigt, um Ströme durch die Metallteile der Presse möglichst klein zu halten (diese fließen parallel zum "Tablet-tenstrom" und werden mitgemessen). Auf die Stirnflächen sind Kupferelektroden geklebt. Um einen guten Kontakt zur Tablette zu gewährleisten, müssen die Kontaktflächen extrem plan geschliffen werden. Dies ist ein Problem, das erst



Kontaktierungsdruck in Abhängigkeit von der Umdrehungszahl der Flügelschraube

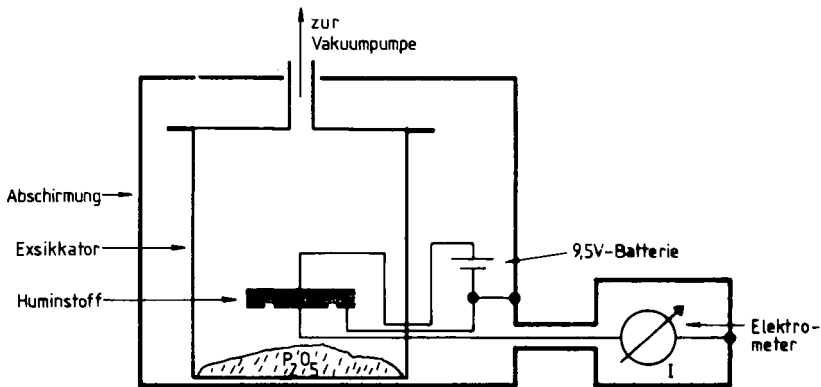
kürzlich zur Zufriedenheit gelöst wurde. Weiterhin sind die Elektroden anschließend galvanisch hartvergoldet worden, da Gold sich als Kontaktmaterial in der Halbleitertechnik bewährt hat.

Huminstoffe sind hydrophil. Dadurch entsteht ein schwerwiegendes Problem bei der Messung der Leitfähigkeit von Huminstoffen. Denn neben der Leitfähigkeit des nackten Huminstoffes geht immer auch die bei weitem überwiegende Leitfähigkeit des in der Tablette befindlichen Wassers ein. Im allgemeinen sind die ver-

schiedenen Huminstoffe in unterschiedlichem Maße hydrophil. Um die Leitfähigkeiten der Huminstoffe vergleichen zu können, und um absolute Messungen möglich zu machen, muß den Tabletten das Wasser entzogen werden. Die Kontaktierungspresse befindet sich daher in einem Vakuumexsikkator zusammen mit dem Trockenmittel P_2O_5 .

Die Niedrigstrommessung macht eine massive Abschirmung gegen elektrische Störfelder notwendig. Es wurde eine Box gebaut, die den Exsikkator und die Spannungsquelle aufnimmt. Von außen wurde sie vollkommen mit Kupferblech verkleidet. Elektromagnetische Störungen konnten danach nicht mehr beobachtet werden.

Skizziert sieht nun die gesamte Messapparatur folgendermaßen aus:



Erste Messergebnisse

Mit der Entwicklung der Apparatur und ihrer ständigen Verbesserung wurden schon Messungen an Huminstoffen durchgeführt, jedoch primär, um die Reproduzierbarkeit und damit die Verlässlichkeit der Messungen zu testen. So wurden mehrere Messungen an den Präparaten "Wasserlöslich" und Brenzkatechin durchgeführt, "HN", "HNac", "HNmeth", "H" wurden jeweils nur einmal vermessen (H = Hydrochinon).

Präparat	I [A]	d [mm]	$\sigma (W^{-1}cm^{-1})$	$\bar{\sigma} (W^{-1}cm^{-1})$
Wasserlöslich	$7,6 \cdot 10^{-12}$	0,58	$5,9 \cdot 10^{-14}$	
	$1,78 \cdot 10^{-12}$	0,70	$1,6 \cdot 10^{-14}$	
	$1,09 \cdot 10^{-11}$	1,11	$1,6 \cdot 10^{-13}$	
	$1,5 \cdot 10^{-11}$	1,11	$2,2 \cdot 10^{-13}$	
	$5,4 \cdot 10^{-12}$	1,11	$8,0 \cdot 10^{-14}$	$8 \cdot 10^{-14}$
	$1,5 \cdot 10^{-11}$	0,50	$1,0 \cdot 10^{-13}$	
	$3,6 \cdot 10^{-13}$	0,51	$2,5 \cdot 10^{-15}$	
	$5,4 \cdot 10^{-14}$	0,5	$3,6 \cdot 10^{-16}$	
	$1,8 \cdot 10^{-11}$	0,4	$9,7 \cdot 10^{-14}$	
Brenzkatechin	$1,7 \cdot 10^{-12}$	1,83	$4,2 \cdot 10^{-14}$	
	$1,1 \cdot 10^{-13}$	0,65	$9,6 \cdot 10^{-16}$	
	$1,45 \cdot 10^{-12}$	1,83	$3,6 \cdot 10^{-14}$	$2 \cdot 10^{-14}$
	$2,85 \cdot 10^{-14}$	0,85	$3,2 \cdot 10^{-16}$	
HN	$2,1 \cdot 10^{-14}$	0,87	$2,4 \cdot 10^{-16}$	$2,4 \cdot 10^{-14}$
HNac	$5,5 \cdot 10^{-15}$	0,70	$5,2 \cdot 10^{-17}$	$5,2 \cdot 10^{-17}$
HNmeth	$4,0 \cdot 10^{-15}$	0,5	$2,6 \cdot 10^{-17}$	$2,6 \cdot 10^{-17}$
H	$9,0 \cdot 10^{-15}$	0,5	$6,0 \cdot 10^{-17}$	$6,0 \cdot 10^{-17}$

Die Ergebnisse streuen noch sehr weit. Folgende Gründe könnten für die schlechte Reproduzierbarkeit in Frage kommen:

- Die Elektroden, die bisher zum Einsatz kamen, waren nicht ausreichend plan, wodurch der Kontakt zur Tablette schlecht war.
- Die noch nach Tagen der Aufbewahrung im Exsikkator verbleibende Feuchtigkeit in der Huminstoff-Tablette ist zu hoch und schwankt mit der Tablettendicke.

Durch eine neue Verfahrensweise bei der Herstellung der Elektroden ist es möglich geworden, diese extrem plan anzufertigen. Solche Elektroden kamen bisher jedoch noch nicht zum Einsatz.

Es wird in Zukunft eine einheitliche Tablettendicke angestrebt. Außerdem ist beabsichtigt, eine Vorrichtung zu schaffen, mit der die Tablette nach ihrer Trocknung im Vakuumexsikkator kontaktiert werden kann ohne ihn dazu öffnen zu müssen. Bisher muß er zur Kontaktierung geöffnet werden, wodurch Feuchtigkeit von der Tablette aufgenommen wird, die sie im kontaktierten Zustand, also mit einer sehr kleinen freien Oberfläche, wieder abgeben muß. Deswegen ist eine Vakuumdurchführung geplant, durch die sich der Schraubmechanismus der Kontaktierungspressen mechanisch vom Exsikkatoräußeren betätigen lassen wird.

^{13}C -NMR-spektroskopische Untersuchungen an

Waldhumusformen

von

Kögel, I. +)

Die Untersuchung der organischen Substanz von Böden mittels ^{13}C -NMR-Spektroskopie hat in den letzten Jahren weite Anwendung gefunden. Neben Huminsäuren, Fulvosäuren und Lösungsmittel-extrakten können durch die Weiterentwicklung der Feststoff-NMR-Technik jetzt auch Strukturen organischer Substanzen ohne Extraktion *in situ* untersucht werden. Allerdings ist das Auflösungsvermögen der Feststoff-NMR-Technik begrenzt. Dies gilt besonders für heterogene Materialien, wie sie Streuproben und Auflagehorizonte aus Waldhumusformen darstellen. Newman und Tate (1984) schlugen deshalb vor, NaOH-Extrakte in Lösung zu untersuchen. Diese zeigen bessere Auflösung, so daß die Zuordnung bestimmter Strukturelemente wesentlich sicherer möglich ist. Abb. 1 zeigt als Beispiel Feststoff-Spektrum (Gesamtprobe) und NaOH-Extrakt eines Rohhumus Ln aus Fichtenstreu. Ziel unserer Untersuchungen war, zu überprüfen, inwieweit NaOH-Extrakte geeignet sind zur Charakterisierung des Streuabbaus in Waldhumusformen.

Material und Methoden

Untersucht wurden Moder unter Buche und Rohhumus unter Fichte. Die Horizontierung erfolgte nach Bochter (1984). Die Erstellung der Feststoff- ^{13}C -NMR-Spektren ist bei Hatcher et al. (1983), die der NaOH-Extrakte in Lösung bei Fründ (1985) beschrieben.

Die Spektren können in verschiedene Bereiche eingeteilt werden (I - IV), die man grob bestimmten Strukturelementen zuordnen kann (Hatcher et al., 1983; Kalinowski et al., 1984; Fründ, 1985).

Bereich I (0 - 60 ppm): aliphatische C-Atome, C aus Aminosäuren (21 - 55 ppm); OCH_3 aus Lignin bei 55 ppm.

Bereich II (60 - 110 ppm): Polysaccharide; da Cellulose kaum alkalilöslich

* Lehrstuhl für Bodenkunde und Bodengeographie, Universität Bayreuth,
Postfach 3008, 8580 Bayreuth

ist, muß es sich im NaOH-Extrakt vornehmlich um Hemicellulosen und Pektine handeln (Fengel und Wegener, 1984).

Bereich III (110 - 160 ppm): aromatischer und olefinischer Kohlenstoff; Peaks bei 119, 130 und 150 ppm sind charakteristisch für Lignin.

Bereich IV (160 - 190 ppm): Carboxyl-, Ester- und Amid-C.

Ergebnisse und Diskussion

Vergleicht man die relativen Anteile der verschiedenen Bereiche I - IV, so fällt auf, daß in der frischen Streu der Anteil des aliphatischen Kohlenstoffs (I) mit 20 - 30 % relativ hoch ist (Abb. 2). Welchen Strukturelementen kann der aliphatische Anteil zugeordnet werden? Der NaOH-Extrakt zeigt deutliche Peaks bei 16 ppm für endständige Methylgruppen, bei 40 und 52 ppm, verursacht durch Aminosäuren und ein Maximum bei 30 ppm (langkettige, aliphatische Strukturen) (Abb. 3); ähnlich auch die Gesamtprobe. Der Anteil von Aminosäuren und Lipiden erklärt nach unseren Untersuchungen etwa 10 - 12 % des Gehalts an aliphatischen Strukturen in den Ln-Lagen. Als weitere aliphatische Komponente ist das Cutin zu nennen, das als unlösliches Polymer die Matrix der Cuticula bildet, in die die Wachse eingebettet sind. Cutin besteht aus verschiedenen Fettsäuren der Kettenlänge C-16 und C-18, die durch Ester- und Etherbindungen vernetzt sind. Das Cutin wird deshalb bei der üblichen Extraktion der Lipide mit organischen Lösungsmitteln nicht erfaßt. Ein großer Teil der C-Atome in diesen langkettigen Fettsäuren erscheint bei 29 - 30 ppm. Bereich II läßt sich etwa den Cellulose- und Hemicellulosebestandteilen zuordnen (~ 50 %), Bereich III dem Lignin (15 - 20 %). Im Bereich IV finden wir Amid- und Carboxyl-C aus Proteinen, Hemicellulosen und Fettsäuren.

Im folgenden soll am Beispiel des Moderprofils die Änderung der C-Grundstrukturen im Laufe der Humifizierung aufgezeigt werden (Abb. 3). Im NaOH-Extrakt nimmt von L zu Ah, d.h. mit zunehmender Humifizierung, der Anteil der Aliphaten von 30 auf 42 % zu, Kohlenhydrat- und Aromaten-C nehmen ab, Carboxyl-C zeigt keine Veränderung. In der Gesamtprobe ist eine starke Zunahme des Aliphaten-C festzustellen, Polysaccharide und Carboxylgruppen nehmen zu, der aromatische Bereich bleibt etwa gleich (Abb. 4). Für die Zunahme der aliphatischen Bestandteile spielen drei Prozesse eine Rolle: a) Anreicherung abbauresistenter aliphatischer Bestandteile, z.B. Cutin. Babel (1972) fand in Moderprofilen eine starke Anreicherung von cuticulärem Gewebe im O_h -Horizont. b) Nach Hatcher et al. (1983) führt die Anreicherung mikrobieller Lipide zur Erhöhung des aliphatischen Anteils. c) Beim Abbau von Lignin reichern sich aliphatische Bestandteile an (Ellwardt et al., 1981). Dieser Prozeß, wie auch

die Anreicherung von cuticulärem Material, erklärt auch die Zunahme der Carboxylgruppen. Der Ligninabbau führt zu einer Zunahme des Gehalts an Carboxylgruppen durch Oxidation der Seitenketten als auch durch Ringspaltung und Oxidation im intakten Ligninmolekül (Kirk, 1984). Dabei bilden sich zunehmend nicht NaOH-extrahierbare Strukturen in den Bereichen I, III und IV. Nur der Anteil der extrahierbaren Saccharide steigt an.

Diese Ergebnisse zeigen, daß zur Erfassung der Abbauvorgänge während der Humifizierung oder Kompostierung organischer Substanz nicht nur die NaOH-Extrakte, sondern auch die Gesamtprobe untersucht werden sollten.

Ich danke Dr. P. Hatcher (USGS, Reston, VA), Prof. H.-D. Lüdemann und R. Fründ (Universität Regensburg) für die Erstellung der ^{13}C -NMR-Spektren. Die Arbeiten wurden von der Deutschen Forschungsgemeinschaft (SFB 137) finanziell unterstützt.

Literatur

- Babel U. (1972): Moderprofile in Wäldern. Hohenheimer Arbeiten 60, Ulmer-Verlag, Stuttgart.
- Bochter R. (1984): Vorschlag zur Gliederung von Humusprofilen auf Kalkfels in der Waldstufe der Alpen. Z. Pflanzenernähr. Bodenk. 147, 232-241.
- Ellwardt P.-C., Haider K., Ernst L. (1981): Untersuchungen des mikrobiellen Ligninabbaues durch ^{13}C -NMR-Spektroskopie an spezifisch ^{13}C -angereicherterem DHP-Lignin aus Coniferylalkohol. Holzforschung 35, 103-109.
- Fengel D., Wegener G. (1984): Wood: chemistry, ultrastructure, reactions. De Gruyter, Berlin.
- Fründ R. (1985): Charakterisierung von natürlichen und chemisch modifizierten Humusfraktionen mit Hilfe der kernmagnetischen Resonanz. Diplomarbeit, Universität Regensburg.
- Hatcher P. G., Breger I. A., Dennis L. W., Maciel G. E. (1983): Solid-state ^{13}C -NMR of sedimentary humic substances: new revelations on their chemical composition. In: Aquatic and terrestrial humic materials (Christman R. F., Gjessing E. T., eds.), Ann Arbor, 37-81.
- Kalinowski H.-O., Berger S., Braun S. (1984): ^{13}C -NMR-Spektroskopie. Thieme, Stuttgart.
- Kirk T. K. (1984): Degradation of lignin. In: Microbial degradation of organic compounds (Gibson D. T., ed.), M. Dekker, New York, 399-437.
- Newman R. H., Tate K. R. (1984): Use of alkaline soil extracts for ^{13}C -NMR characterization of humic substances. J. Soil Sci. 35, 47-54.

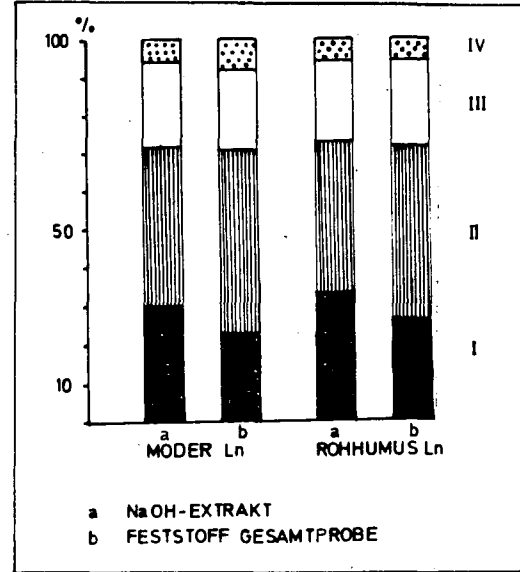
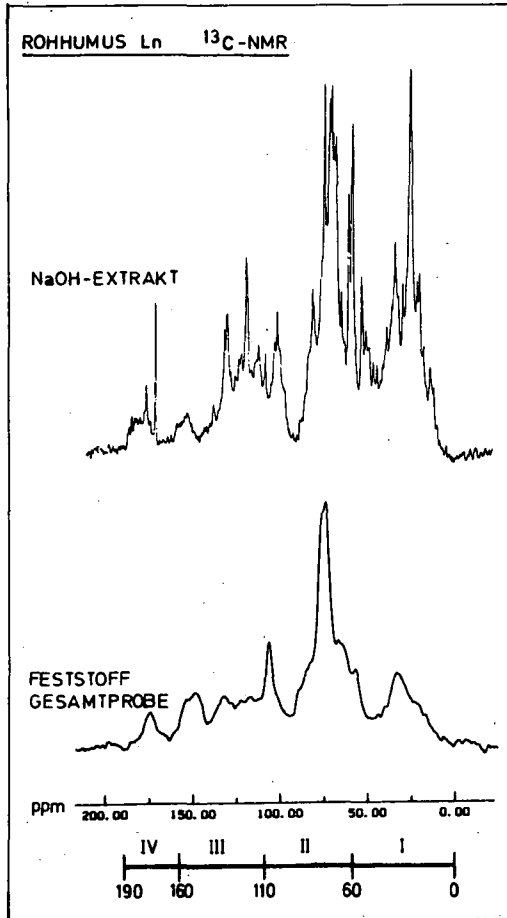


Abb.2: Anteil verschiedener C-Strukturen in NaOH-Extrakt und Gesamtprobe von Rohhumus Ln und Moder Ln.

Abb.1: Rohhumus Ln, NaOH-Extrakt in Lösung und Feststoffspektrum der Gesamtprobe.

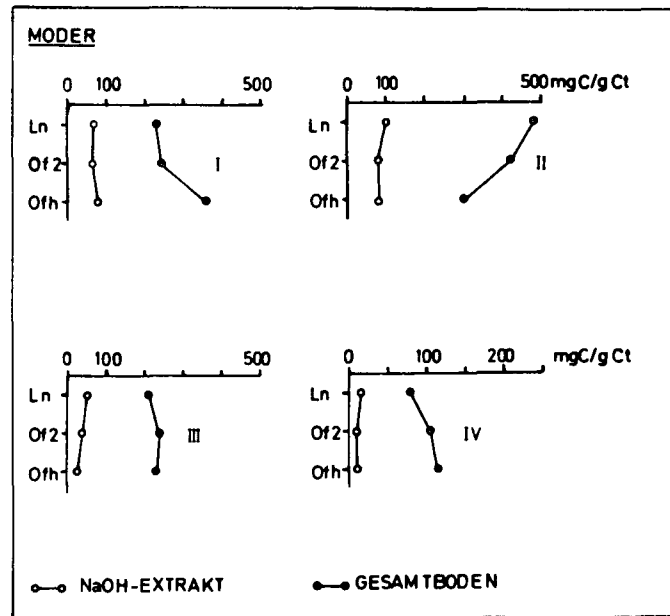
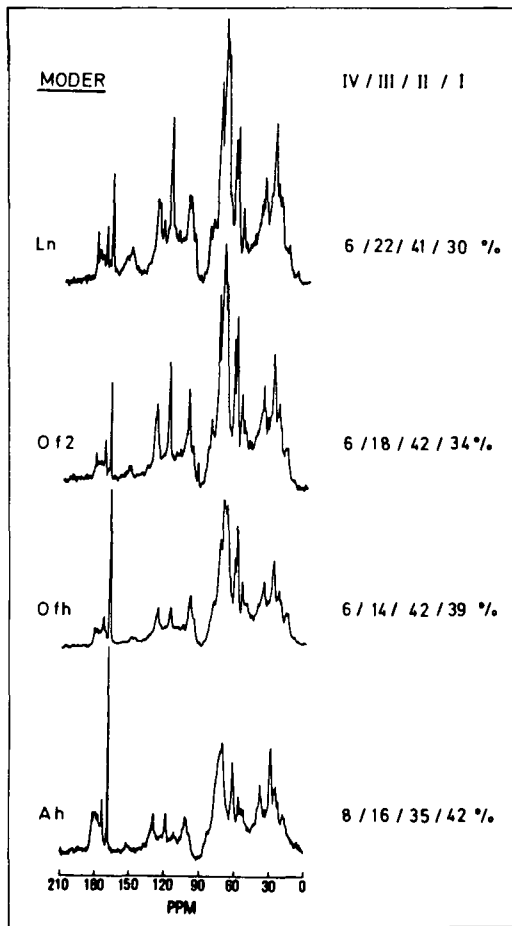


Abb. 4: Anteil verschiedener C-Strukturen am Gesamtkohlenstoff im Moderprofil.

Abb. 3: Anteil verschiedener C-Strukturen im NaOH-Extrakt des Moderprofils.



Einfluß der natürlichen organischen Substanzen auf
die Schwermetallmobilisierung in sauren Waldböden
durch Komplezierungs- und Sorptionsreaktionen

von
König, N. *

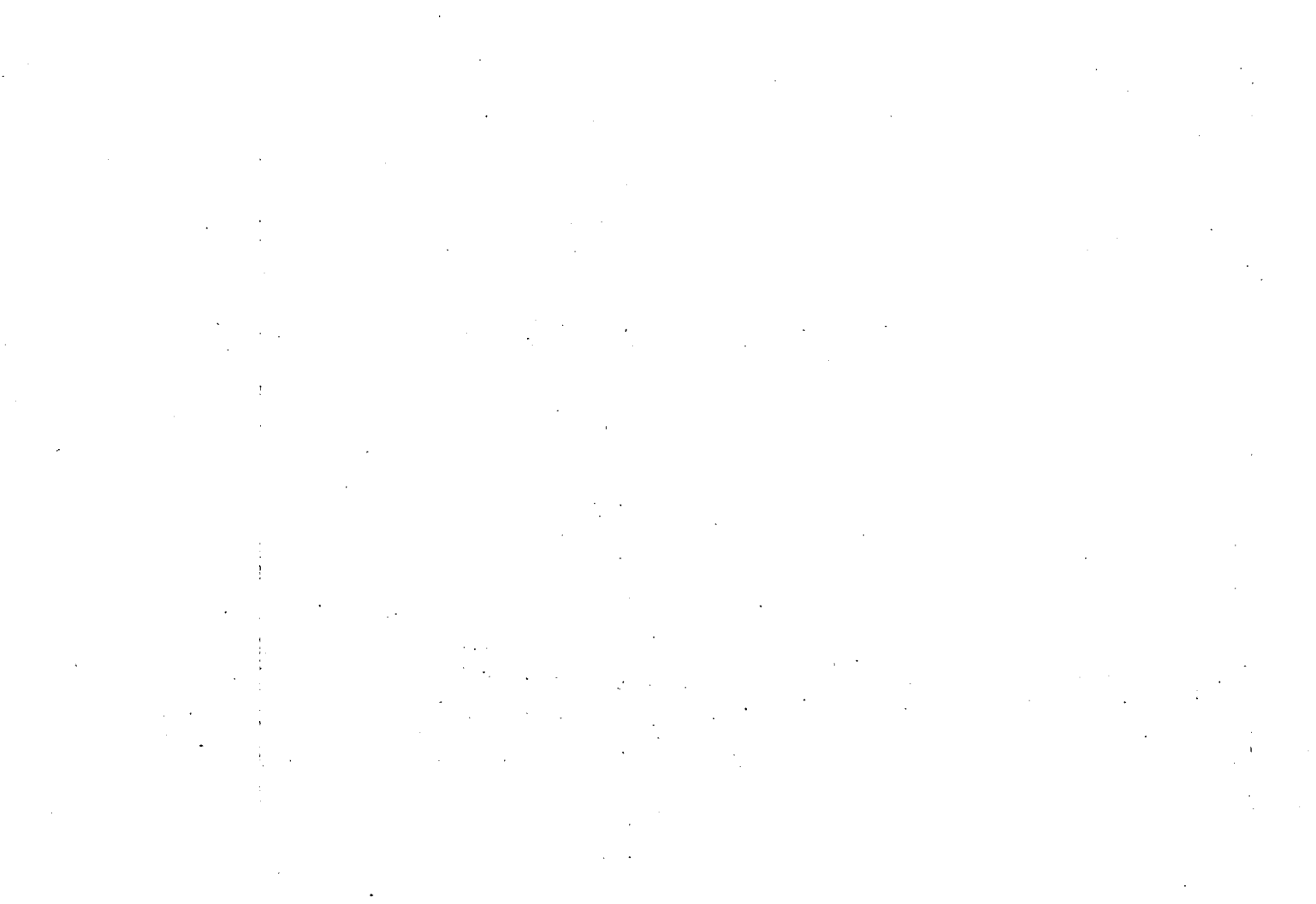
Zusammenfassung (eine ausführliche Darstellung der Untersuchungen befindet sich in den Mitteilgn. Dtsch. Bodenkundl. Gesellsch. 43/I, 383-388, 1985)

Proben einer Braunerde aus lößbürtiger Aufschüttung wurden mit Wasser extrahiert, um die Verteilung der Metalle Fe, Al, Pb, Cr, Cu, Co, Ni, Cd, Zn, Ca, Mn und Mg zwischen Boden und Bodenlösung in Abhängigkeit von der Konzentration an natürlichen organischen Substanzen, der Elektrolyt- und der H⁺-Konzentration zu untersuchen. Mittels HPLC und Dialyse wurde die Molekülgrößenverteilung der natürlichen organischen Substanzen bestimmt. Das Adsorptionsverhalten der Molekülgrößenfraktionen an Mineralboden wurde untersucht. Durch Ionenaustauscher- und Dialyse-Verfahren konnten Aussagen über das Komplezierungsverhalten der untersuchten Metalle und die Verteilung der komplexierten Metallanteile auf bestimmte Molekülgrößenfraktionen gemacht werden.

Die Untersuchungen ergaben, daß die natürlichen organischen Substanzen als Komplexbildner die Metalle Fe, Al, Pb, Cr und Cu zusätzlich zur pH-abhängigen Desorption oder Hydroxid-Auflösung mobilisieren und so die Lösungskonzentration der Metalle im pH-Bereich $> 3,7$ bis $> 4,2$ je nach Art des Metalls bestimmen. Die Komplezierungsstärke nimmt in der Reihenfolge $Cr > Fe > Al > Pb \gg Cu$ ab. Die bevorzugte Bindung an die hochmolekulare C_{org.}-Fraktion (12000) nimmt in der Reihenfolge $Fe \gg Pb > Al > Cr$ stark ab. Cu wird bevorzugt an die mittlere Fraktion (3500-12000) gebunden.

Die Elemente Ni, Co und Cd zeigen nur eine sehr schwache Tendenz zur Komplexbildung, die Elemente Zn, Mn, Ca und Mg gar keine. Für diese Metalle bestimmt deshalb in erster Linie die pH- und elektrolytkonzentrationsabhängige Sorption an den Partikeloberflächen die Lösungskonzentration der Metalle.

* Niedersächsische Forstliche Versuchsanstalt, Grätzelstraße 2,
3400 Göttingen



Unbeladene und vorbeladene Adsorbermedien vom Typ XAD-4 zur präparativen Abtrennung niedermolekularer Organica von komplexen natürlichen Matrices

von

Einleitung

Kutsch, H. *

Die präparative Abtrennung niedermolekularer organischer Substanzen von komplexen natürlichen Matrices, wie sie zum Beispiel Mineralböden oder Komposte darstellen, ist erfahrungsgemäß mit Schwierigkeiten verbunden. In unkompartimentierten Matrices stellen nämlich höhermolekulare Stoffe beziehungsweise Teilchen intramatrikale Adsorber dar, die eine mehr oder weniger große Anzahl von niedermolekularen Organica zu binden vermögen. Ähnliche Probleme sind grundsätzlich auch bei mazerierten Geweben zu erwarten, wenn die Kompartimentierung aufgehoben ist und sich adsorptive Effekte von Biopolymeren auf niedermolekulare Organica ergeben können.

Eine wesentliche Verbesserung ist dadurch zu erreichen, daß die intramatrikalen Adsorber im Lösungsmittel mit künstlichen, zugesetzten Adsorbentien, die ihrerseits eine große innere Oberfläche besitzen, um die niedermolekularen Substanzen konkurrieren (Abb. 1).

Damit würde die Gefahr einer Re-Adsorption im Extrakt verringert werden, denn in der Regel werden mit der niedermolekularen Spezies auch adsorptiv wirkende Polymere oder Teilchen koextrahiert. Eine Abtrennung ist naturgemäß nur dort zu erwarten, wo niedermolekulare Organica frei vorkommen, weniger fest mit Polymeren (z. B. Huminstoffen) oder Teilchen (z. B. Tonmineralien) der Stammatrix assoziiert sind und insbesondere durch die Anwendung von Ultraschall dissoziieren und in Lösung gehen.

Es wird ein Ein-Schritt-Verfahren vorgestellt, das den Vorgang der Lösung in wässrigem Milieu mit einer batch-chromatographischen Kombination aus Molekularausschluß und Adsorption aufgrund unterschiedlicher Polaritäten verbindet. Dabei werden Adsorbermedien vom Typ XAD-4 eingesetzt.

Konfektion der Adsorber

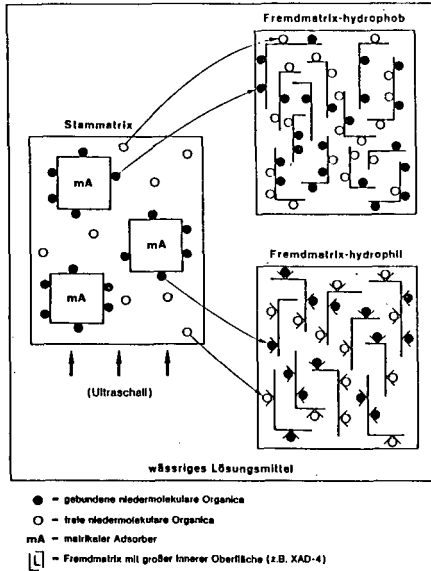
Amberlite^R XAD-4 (reinst) wird mehrmals mit Methanol und Aceton gewaschen, bis die Waschflüssigkeit eine Adsorption bei 260 nm von weniger als 0.2 aufweist. Das anschließend getrocknete Harz stellt den Adsorber I (= Ad I) dar.

Ad I wird in Triethylammoniumhydrogencarbonat (1 g XAD-4 pro 17 mL 0.05 M/L

* FB III/Geowissenschaften, Univ. Trier, 5500 Trier

TEA-HCO₃) bei zirka 10° C zwei Stunden lang vorsichtig gerührt. Der beladene Adsor-

Abb. 1: Konkurrierende Adsorber bei der Extraktion von niedermolekularen Organica aus komplexen natürlichen Matrices



ber XAD-4-TEA-HCO₃ (= Ad II) wird danach mit CO₂-gesättigtem Wasser gewaschen.

Eigenschaften der Adsorber

Ad I eignet sich zur unspezifischen Adsorption von unpolaren bis schwach polaren Substanzen (vergl. GRIESER/PIETRYZK, 1973). Ad II wurde bisher als Trennmedium in der HPLC von Nucleosiden und Nucleotiden verwendet (UEMATSU/SUHADOLNIK, 1976). Ad II vermag darüber hinaus auch andere polare Organica sowie organische Ionen zu adsorbieren. Die Desorption gelingt mit befriedigender Ausbeute mit Hilfe eines basischen Puffers (vergl. Tab. 1). Für die Adsorption kommen der Konzentrationsgradient zwischen Außen- und Innenlösung als allgemein antreibende Kraft und hydrophobe Wechselwirkungen (Ad I) sowie im Falle von Ad II Dipol-Dipol bezie-

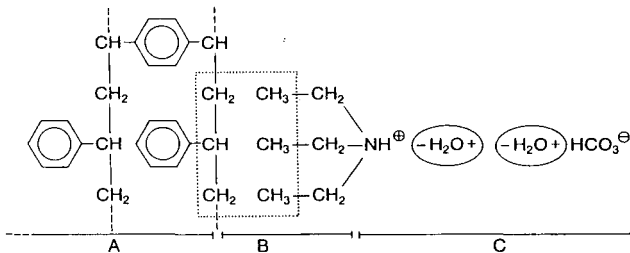
hungsweise Ion-Dipol-Effekte und Ionenaustausch in Betracht. Abbildung 2 vermittelt einen Eindruck von der Struktur des Adsorbers XAD-4-TEA-HCO₃. Gemäß den technischen Angaben (Fa. Serva, Heidelberg) besitzt XAD-4 eine spezifische Oberfläche von 750 m²/g, ein Dipolmoment von 0.3 D sowie eine durchschnittliche Porengröße von 5 nm; die molekulare Ausschlußgrenze liegt bei etwa M_r = 3000. Das Dipolmoment von TEA beträgt 0.76 D (LANDOLT/BÖRNSTEIN, 1931).

Tab. 1: Adsorptions (AR)- beziehungsweise Wiederfindungsraten (WR) bei XAD-4 (I) beziehungsweise XAD-4-TEA-HCO₃ (II)

Substanz ¹	Adsorber ²	AR (%) ³	WR (%) ⁴	Detektion
Menadion ⁵	I	30		400 nm
p-Chloranil ⁵	I	27		400 nm
Pyrogallol ⁵	I	8		285 nm
β-Carotin ⁵	I	57		400 nm
Nicotinsäureamid ⁵	I	~ 0		260 nm
Adenin ⁶	II		min. 87	259 nm
ATP-Na ₂ -Salz ⁶	II		67	259 nm
α-D-Glucose ⁶	II		65	RI
L-Glutamin ⁶	II		46	240 nm
Nicotinsäure ⁶	II		69	260 nm
Nicotinsäureamid ⁶	II		96	260 nm

- 1 Konz.: cMol — mMol/L; Appl.: je 10 mL
- 2 Je 1 g/Säule, dicht gepackt, 20° C
- 3 (100-AR) % verbleiben nach 48 h in DMSO gelöst
- 4 Nach Beladen mit Substanz Elution mit je 10 mL 1/15 M/L Na₂HPO₄, pH 8.9
- 5 In DMSO (> 99.9 %) gelöst
- 6 In H₂O gelöst

Abb. 2: Struktur des Adsorbers XAD-4-TEA-HCO₃



- A = Copolymer aus Vinylbenzol und p-Divinylbenzol
- B = Hydrophobe Wechselwirkung
- C = Hydrophiler Rasen mit solvatisiertem (R)₃NH⁺-Kation bzw. HCO₃⁻-Anion zur Einlagerung bzw. Adsorption polarer Substanzen

Technik der Adsorption/Extraktion

Das feingemahlene beziehungsweise gut mazerierte Untersuchungsmaterial wird wässrig suspendiert und vorsichtig ultrabeschallt (35 kHz, 3 bis 5 min; 0° C, N₂-Atmosphäre). Danach wird der Adsorber hinzugerührt und der Rührvorgang zirka 16 Stunden unter Kühlung (4 bis 10°) fortgesetzt. Mehrfache Ultrabeschallung im Falle der Verwendung des unbeladenen Adsorbers Ad I ist möglich, da sich das Harz im Rahmen der angegebenen Beschallungsintensität und -zeit als mechanisch widerstandsfähig erwiesen hat. Wird der vorbeladene Adsorber Ad II verwendet und will man ebenfalls mehrmals beschallen, empfiehlt es sich, den Rührvorgang zu unterbrechen und das aufschwimmende Harz zu dekantieren, um es nach Beendigung der Beschallung rasch wieder zuzugeben. Dieser Wechsel läßt sich technisch vereinfachen, wenn man den Adsorber in Dialyseschläuchen „kompartimentiert“. Damit läßt sich ein zusätzlicher Molekularausschlußeffekt erzielen.

Soll unter Sterilbedingungen gearbeitet werden, ist die radioaktive Bestrahlung von Stammmatrix und Adsorber die Methode der Wahl. Nach erfolgter Adsorption werden die Adsorber dekantiert. Die Elution der adsorbierten Substanzen gelingt mit Hilfe von Spritzen mit aufgesteckten HPLC-Filtern (z. B. Gelman; Fa. Biotest, Dreieich). Als Elutionsmittel hat sich bei Ad I Aceton (15—20 mL pro 1 g Harz) und bei Ad II Sörensen-Puffer (15—20 mL 1/15 M/L Na₂HPO₄, pH 8,9, pro 1 g Harz) bewährt. Im Falle von empfindlichen Organica sollten die Elutionsmittel vorgekühlt (4° C) und mit N₂ gesättigt werden.

Damit ist der Vorgang der semi-spezifischen Extraktion beendet. Die Eluate können nun mit Hilfe moderner Affinitätsmedien weiter spezifisch fraktioniert werden. So eignet sich das Kieselsäurederivat Diazoniumphenyl=SP500 (Fa. Serva, Heidelberg) zur Kupplung mit Phenolen im alkalischen Milieu sowie mit Aminen im sauren Milieu. Dihydroxyboryl=SP500 vermag Substanzen mit cis-Diol Konfiguration zu binden. Weitere wichtige, in diesem Zusammenhang getestete Affinitätsmedien sind Glutaraldehyd=SP500 (primäre und sekundäre Amine) und Epoxypropyl=SP500 (Carboxyl-, Amino-, alkoholische Hydroxyl- sowie Thiolfunktion).

Diskussion

Den Kern des vorgestellten Verfahrens bildet die gleichzeitige Sortierung der organischen Moleküle nach Größe und Polarität. Obwohl die hier verwendeten Adsorber nur eine grobe Fraktionierung („semi-spezifisch“) in jeweils zwei Klassen: größer oder kleiner $M_r=3000$ und polar oder unpolar beziehungsweise weniger polar erlauben, ist der Weg zu einer spezifischen Extraktion prinzipiell aufgezeigt: Es sollten Adsorber entwickelt werden, deren porenkontrollierte molekulare Ausschlußgrenze unterhalb von $M_r=3000$ liegt. Weiterhin müssen andere, geeignete Substanzen zur Vorbelegung gefun-

den werden. Die diesbezügliche Kombination von sterischen mit polaren Effekten wäre denkbar.

Solche Adsorber können als porenkontrollierte Affinitätsmedien bezeichnet werden, wobei jedoch im Unterschied zu den üblichen Affinitätsmedien die Bindung zwischen der Ankergruppe und dem Adsorbat ausschließlich durch nebervalente Bindungen zustandekommt.

Das Batch-Verfahren hat gegenüber der ebenfalls möglichen Säulentechnik den Vorteil, daß die Poren des Adsorbers sich nicht so leicht verstopfen. Dies gilt beispielsweise für die Extraktion aus huminstoffbefrachteten Matrices.

Die Reinigung der Eluate ist problemlos; es hat sich herausgestellt, daß insbesondere das Roheluat aus Ad II praktisch frei von phenolischen Kontaminationen ist, wenn zuvor der Adsorber I angewendet wurde.

Literatur

Grieser, M. D. und D. J. Pietryzk, *Anal. Chem.*, **45** (1973), 1348.

Landolt-Börnstein, *Phys.-Chem. Tab.*, 2. Erg.Bd., 1. Teil (1931⁵), 77.

Uematsu, T. und R. J. Suhadolnik, *J. Chromatog.*, **123** (1976), 347.



Die Charakterisierung von Huminstoffsystemen
in Abhängigkeit von der Nutzungsart

von
Maltz, D.^{*)}

Die Grundlage für den Ansatz dieser Arbeit beruht auf der großen Bedeutung, die die organische Substanz für die Bodeneigenschaften - und somit für die Pflanzenproduktion - hat. Die organische Substanz weist physikalische und chemische Eigenschaften auf, die die Bodenfruchtbarkeit ganz entscheidend beeinflussen. Um diesen Einfluß zu quantifizieren, wird im allgemeinen der Humusgehalt bzw. der Gehalt eines Bodens an organischer Substanz angegeben.

In diesem Vorhaben soll nun eine mehr qualitative Betrachtung der organischen Bodeninhaltsstoffe - insbesondere der Huminstoffe - in Abhängigkeit zweier Nutzungssysteme erfolgen, um daraus Anhaltspunkte über die stofflichen Konsequenzen ackerbaulicher Maßnahmen zu gewinnen.

Somit bilden die Huminstoffsysteme und die Nutzungsarten die beiden Eckpunkte dieser Arbeit.

Die Huminstoffe werden im Humifizierungsprozeß aus Ausgangsstoffen - den Nicht-Huminstoffen - aufgebaut und reichern sich durch ihre mikrobielle Resistenz im Boden an. Sie sollen hier ausgehend von ihrer Reaktivität in Huminsäurevorstufen, Huminsäuren und in die wenig reaktiven Humine eingeteilt werden. Die Gesamtheit dieser vier Komponenten wird als "Huminstoffsystem" bezeichnet.

Die andere Grundlage bilden die beiden Nutzungsarten "Ackerbau" und "Grünland", die mit einem Anteil von zusammen 98,2 % der landwirtschaftlich genutzten Fläche in der Bundesrepublik Deutschland den größten Teil dieser Fläche einnehmen (Faustzahlen, 1983). Die Kennzeichen des Ackerbaus bestehen in einer

*) Institut für Bodenwissenschaften, Abt. Chemie und Biochemie im System Boden, von Sieboldstr. 2, 3400 Göttingen

jährlichen Bodenbearbeitung und im Anbau sommer- und winteranueLLer Kulturpflanzen. Demgegenüber ist das Grasland durch die Nutzung der weitgehend natürlichen Vegetation und durch eine vollkommene Bodenruhe charakterisiert. Daraus folgt, daß unter ackerbaulicher Bewirtschaftung der Stoffumsatz im Boden hoch ist, so daß sich hier ein geringerer Gehalt an organischer Substanz einstellt als es unter Grasland der Fall ist. Es sind Böden dieser extrem unterschiedlichen Nutzungsarten gewählt worden, da hier die besten Voraussetzungen für die Entwicklung differierender Huminstoffsysteme gegeben sind.

Die Aufgabe dieses Vorhabens ist es nun darzulegen, ob sich die verschiedenen Nutzungsarten außer auf den Gehalt an organischer Substanz im Boden auch auf die Huminstoffe als Humusbestandteile auswirken. Neben der Charakterisierung der Systeme mit physikalischen und chemischen Methoden sollen insbesondere ihre Reaktivität und Dynamik dargestellt werden.

Als Material liegen Bodenproben aus dem Versuch "Hoffmannshof" des Institutes für Pflanzenbau der Universität Göttingen vor. Die Proben stammen von den Teilen eines Feldes, auf denen seit mehreren Jahrzehnten Ackerbau bzw. Graslandwirtschaft praktiziert wird, so daß sich hier entsprechende Huminstoffsysteme eingependelt haben können. Bei dem Boden handelt es sich um schluffigen Lehm, der als Parabraunerde ausgebildet ist (Lawane, 1984).

Die methodische Vorgehensweise beginnt mit der Gewinnung der Nicht-Huminstoffe und der Huminstoffe, die in Soxhletapparaturen durch die sukzessive Extraktion mit organischen Lösemitteln erfolgt. Dabei lösen die unpolaren Lösemittel die Nicht-Huminstoffe, und mit zunehmender Polarität der Lösemittel werden die Huminsäurevorstufen und die Huminsäuren in Lösung gebracht.

Zur Charakterisierung der in den Extrakten vorliegenden Bestandteile der Huminstoffsysteme werden die Extrakte zunächst mit chromatographischen Methoden aufgetrennt, um Erkenntnisse über vorhandene Stoffgruppen zu gewinnen.

Neben der UV-Spektroskopie wird dann die Infrarotspektroskopie Anwendung finden, mit deren Hilfe eine Aufklärung von Struktur-

anteilen bei Nicht-Huminstoffen und Huminstoffen angestrebt wird. Hierbei ist neben der Lage einzelner Banden auch die Differenzierung der Spektren von Bedeutung, da die Spektren mit zunehmender Humifizierung von differenzierten mit hoher Aussagekraft zu undifferenzierten und unspezifischen übergehen (Behmel, 1985).

Die sich anschließenden chemischen Untersuchungen werden sich mit der Bestimmung funktioneller Gruppen beschäftigen, um damit einen weiteren Mosaikstein zur Beschreibung der Systeme zu erhalten.

Desweiteren ist es von großer Bedeutung, Aussagen über die Reaktivität der Huminstoffsysteme zu treffen. Zu diesem Zweck sollen die Oxidierbarkeit und die inhibierende Wirkung der einzelnen Fraktionen untersucht werden. Das Maß für die Oxidierbarkeit ist die unter normierten Bedingungen aufgenommene Sauerstoffmenge. Geht man bei einem Huminstoffsystem davon aus, daß die Huminsäurevorstufen im Verlaufe des Humifizierungsprozesses unter Sauerstoffaufnahme in Huminsäuren übergehen, wird mit der Oxidierbarkeit die "Distanz" der Huminsäurevorstufe vom Status der stabilen Huminsäure bestimmt. Nimmt also eine Huminstofffraktion mehr Sauerstoff auf als eine andere, gehört sie zu den reaktiveren Bestandteilen des Huminstoffsystems. - Die auf den Humifizierungsprozeß hemmende Wirkung einiger Humus-inhaltsstoffe wurde u.a. von Pawelke, 1959, und von Azizi, 1977, beschrieben. Pawelke, 1959, hat festgestellt, daß aus einem Huminstoffsystem A, das zunächst mit organischen Lösemitteln extrahiert wird, anschließend mit Natronlauge mehr Huminsäuren gewonnen werden als aus einem System, das nicht mit organischen Lösungsmitteln behandelt wird. Diese Tatsache deutet auf die hemmende Wirkung von einzelnen Humus-inhaltsstoffen - den Inhibitoren - hin. Werden diese Inhibitoren mit organischen Lösemitteln entfernt, kommt es zu einer verstärkten Humifizierung bzw. Oxidation. Liegen sie dagegen im System vor, kommt ihre hemmende Wirkung zum Tragen, und sie stabilisieren das System. So stellen diese Inhibitoren Reduktionsmittel dar, und sie können beispielsweise aufgrund ihrer Eigenschaft, Elektronendonatoren zu sein, nachgewiesen werden (s. Abb.1).

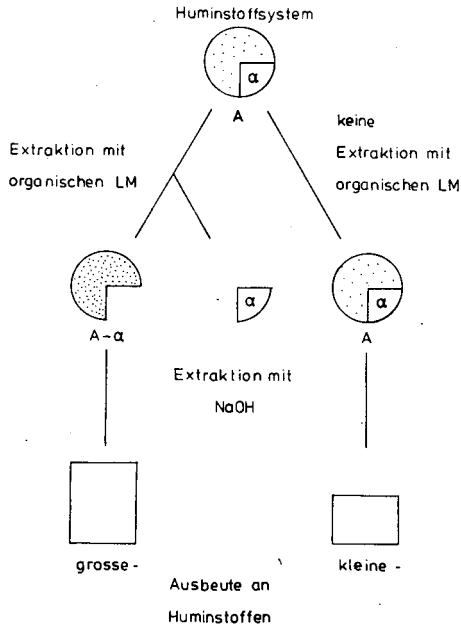


Abb.1 Die hemmende Wirkung von Huminstofffraktionen α - Inhibitoren (nach Pawelke, 1959, verändert)

In bezug auf die Dynamik werden schließlich die Böden der Nutzungsarten Ackerbau und Graslandwirtschaft hinsichtlich der quantitativen Anteile an Humusinhaltstoffen miteinander verglichen. Es wird hiermit angestrebt, Aussagen über den Stoffumsatz im Boden zu treffen.

Zur Interpretation der Ergebnisse werden diese zunächst aus chemischer Sicht betrachtet, und die Huminstoffsysteme der beiden Nutzungsarten werden miteinander verglichen. Es wird zu klären sein, ob die Huminstoffsysteme von den Nutzungsarten beeinflusst werden und welcher Art diese Wechselwirkungen sind. Mit Hilfe physiologischer Überlegungen wird versucht werden, die Ursachen dieser Wechselbeziehungen zu klären, um dann eventuelle Folgen und Nutzenwendungen zu formulieren.

Literatur:

- Azizi, P., 1977, Die Beschreibung von Huminstoffsystemen in Lössboden nach Rekultivierungsmaßnahmen durch Einbringung organischer Materialien
Dissertation Universität Göttingen
- Behmel, P., 1985, Prinzipielle Probleme bei der Interpretation von IR-Spektren von Huminsäuren
Mitteilgn. Dtsch. Bodenkundl. Gesellschaft, diese Ausgabe
- Faustzahlen für Landwirtschaft und Gartenbau, 1983
Verlagsunion Agrar
- Lawane, G., 1984, Mengenänderungen der organischen Bodensubstanz bei unterschiedlicher Bearbeitungsintensität
Dissertation Universität Göttingen
- Pawelke, G., 1959, Zur schonenden Gewinnung von Huminstoffen und Möglichkeiten zu ihrer Charakterisierung
Dissertation Universität Göttingen

Ober die Bindung von Aminosäuren, Peptiden
und Proteinen an Huminstoffe

von

Müller-Wegener, U.*

Bei der Betrachtung der Form in der der Stickstoff z.B. in einem A-Horizont im Boden anzutreffen ist fällt auf, daß mit ca. 60 % ein sehr hoher Anteil als Aminostickstoff vorliegt. Es muß also bei einer Diskussion der Wechselwirkung von Stickstoffverbindungen mit Huminstoffen des Bodens den Aminosäuren, Peptiden und Proteinen eine besondere Beachtung geschenkt werden.

In einer Reihe von Arbeiten wurden Reaktionsmechanismen für die Einbeziehung von Aminosäuren und ähnlichen Strukturen beim Aufbau der organischen Substanz des Bodens vorgeschlagen (Flaig et al., 1975, Haider et al. 1965). Für die nun darzustellenden Ergebnisse war jedoch eine andere Fragestellung von Bedeutung: Es war zu prüfen, ob die relativ reaktionsträgen, quasi "fertigen" Huminstoffe noch in der Lage sind, Aminosäuren, Peptide und Proteine zu binden.

Um solche Reaktionen aufzufinden, wurde zunächst für die Huminstoffe p-Benzochinon als Modellsubstanz eingesetzt, das es erlaubt, dank seiner definierten Eigenschaften, vorhandene Effekte klarer herauszuarbeiten und sich daneben auch als Strukturanteil in den Huminstoffen in unterschiedlicher Konzentration befindet. Aminosäuren und Peptide reagieren mit p-Benzochinon unter Bildung von tief rotgefärbten Elektronen-Donator-Akzeptor-Komplexen (Lorentz, 1974, Müller-Wegener, 1982), die sich im Spektrum durch neue Absorptionsmaxima im Bereich von 450 bis 550 nm darstellen lassen. Die Variation der Chinonkonzentration machte die Ermittlung der Extinktionskoeffizienten und Komplexbildungskonstanten der Molekülverbindungen möglich (Müller-Wegener, 1984).

In der Abbildung 1 sind zwei Beispiele für die Vielzahl unterschiedlicher Komplexspektren dargestellt. Schon die qualitative Betrachtung macht deutlich, daß sowohl in der Lage als auch in der Absorption des Maximums Unterschiede für die einzelnen Aminosäuren vorliegen.

Am Beispiel der Dipeptide wurde nun ausschnittsweise eine systematische Zusammenstellung der Ergebnisse durchgeführt (Tab. 1). Für alle eingesetzten Glycyl-Peptide ergibt sich für die drei zur Charakterisierung der Komplexe herangezogenen Größen eine weitgehende Übereinstimmung. Ist aber nun beim Aufbau des Dipeptids die Aminogruppe des Glycins in die Peptidbindung miteinbezogen, die der variierten Aminosäure aber frei, so werden deutliche Unterschiede offensichtlich. Die

*Institut für Bodenwissenschaften, Abt. Chemie und Biochemie im System Boden, von-Siebold-Str. 2, D-3400 Göttingen

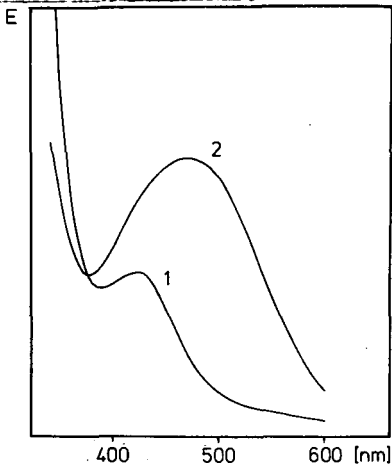


Abb. 1: Absorptionsspektren der Molekülkomplexe aus p-Benzochinon und Isoleucin (1) und Hydroxyprolin (2)

eine Peptidbindung verwickelt sind, haben auf die Ausbildung des Komplexes keinen Einfluß.

Tabelle 1: Absorptionsmaxima, Extinktionskoeffizienten und Gleichgewichtskonstanten der gebildeten Molekülkomplexe aus Peptiden und p-Benzochinon

Peptid	λ_{max} [nm]	$\lg \epsilon$	K_C
Glycyl-L-Tyrosin	470	3,419	700,9
Glycyl-L-Asparagin	470	3,440	426,1
Glycyl-L-Prolin	470	3,488	510,7
Glycyl-L-Hydroxyprolin	470	3,502	200,4
Glycyl-L-Leucin	470	3,467	346,1
Glycyl-L-Alanin	472	3,455	321,4
L-Prolyl-Glycin	502	3,067	1360,4
L-Histidyl-Glycin	468	3,541	78,7
L-Tyrosyl-Glycin	450	3,419	87,5
L-Valyl-Glycin	450	3,475	76,4
L-Leucyl-Glycin	470	3,367	125,5
Glycylethylester	470	3,490	220,0
N-Acetyl-DL-Prolin	---	---	---
N-Acetyl-L-Arginin	---	---	---
Glycyl-Glycin	470	3,473	257,2
Glycyl-Glycyl-Glycin	470	3,465	292,0
Glycyl-Glycyl-Glycyl-Glycin	470	3,462	262,1

Eine Begründung für dieses Verhalten ist aus der Chemie der Peptidbindung abzuleiten. Das freie Elektronenpaar des Stickstoffs ist in dieser Bindungsform nicht mehr als solches verfügbar, da es in die Mesomerie mit den Elektronen der Carbo-

Blockierung der Carboxylgruppe der Aminosäuren durch Veresterung, wie beim Glycylethylester durchgeführt, zeigt keinen Einfluß auf die Ausbildung der Komplexe, diese Reaktion hingegen an der α -Aminogruppe durchgeführt, bedingt ein vollständiges Ausbleiben der Komplexbildung mit p-Benzochinon.

Die Folgerung, daß ausschließlich die freie, nicht an einer Peptidbindung beteiligte Aminogruppe für die Ausbildung der Komplexe verantwortlich ist, wird noch durch das Verhalten des Di-, Tri- und Tetraglycins unterstrichen. Die die Komplexbildung charakterisierenden Daten stimmen sehr gut mit denen der Glycylpeptide überein. Die ein, zwei bzw. drei Aminogruppen, die in

nylgruppe miteinbezogen ist. Der in der Peptidbindung fixierte Stickstoff kann damit auch nicht mehr als Elektronendonator fungieren (1, 2).



Durch Gaswechsellmessungen wurden diese Überlegungen erneut bestätigt. Die Sauerstoffaufnahme der Reaktionslösung aus p-Benzochinon und einem Dipeptid zeigt zu Beginn der Reaktion einen geringeren Wert als die der reinen Chinonlösung (Abb. 2). Diese Hemmung ist auf die Ausbildung der Komplexe des Peptids mit dem Chinon

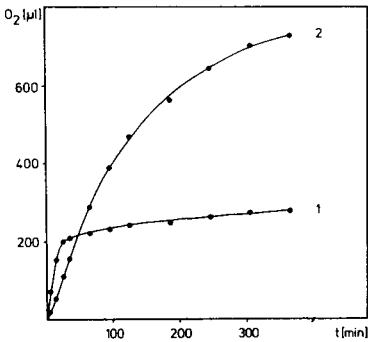


Abb. 2: Sauerstoffaufnahmen der Chinonlösung (1) und der Reaktionslösung aus p-Benzochinon und Glycyl-Glycin

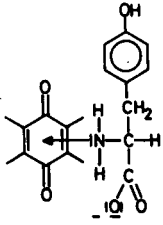
zurückzuführen, da das gebundene Chinon nicht mehr an der unter Sauerstoffaufnahme ablaufenden Weiterreaktion teilnehmen kann. Im weiteren Verlauf wird die Sauerstoffaufnahme gefördert, wofür in der Literatur eine Reihe von Begründungen zu finden sind, so z.B. die Ausbildung sehr schnell oxydierender Aminophenole (Flaig et al., 1975).

Eine Erhöhung des pH-Wertes der Reaktionslösung führt zu einer Verstärkung der Hemmung der ersten Phase der Reaktion. Die dadurch verursachte Annäherung des pH's der Reaktionslösung an den pK der Aminogruppe der Aminosäure bzw. des Peptids bedingt eine Konzentrationsverschiebung

zugunsten der zu EDA-Reaktionen befähigten Aminoform gegenüber der bei niedrigem pH vermehrt vorliegenden Ammoniumform. Diese ist, da das freie Elektronenpaar des Stickstoffs in ein bindendes überführt worden ist, nicht mehr in der Lage als Elektronendonator zu fungieren.

Die Übertragung dieser am Modell gefundenen Ergebnisse auf das natürliche System der Huminstoffe ist nun wegen der stofflichen Eigenschaften der Verbindungen nicht immer direkt zu vollziehen. So liegen die als Elektronenakzeptorstrukturen aufzufassenden Chinoneinheiten in den Huminstoffen nur in vergleichsweise geringer Konzentration vor. Auch die spektroskopischen Eigenschaften der Huminstoffe, ein monoton zu längeren Wellenlängen hin abnehmendes Spektrum im sichtbaren Bereich, lassen die direkte Auffindung von Komplexen nicht zu. Dennoch kann über einige Experimente berichtet werden, die die am Modell erhaltenen Aussagen bestätigen.

Durch die Aufnahme von Differenzspektren einer Reaktionslösung aus Huminstoffen und Tyrosyl-Glycin gegen deren Einzelkomponenten gleicher Konzentration können (3)



Änderungen im Absorptionsspektrum dargestellt werden. Es entsteht ein neues Maximum bei 290 nm. Paralleluntersuchungen haben gezeigt, daß es sich bei dieser Absorption um die der dissoziierten phenolischen Hydroxygruppe des Tyrosins im Peptid handelt. Diese Dissoziation wird durch die Ausbildung des EDA-Komplexes zwischen den chinoiden Gruppen der Huminsäure als Elektronenakzeptor und dem freien Elektronenpaar des Aminostickstoffs initiiert. Der dadurch hervorgerufene partielle Elektronenmangel

am Stickstoff setzt sich innerhalb des Moleküls der Aminosäure durch induktive Effekte fort und führt damit zu einer erhöhten Dissoziation der phenolischen Hydroxygruppe (3).

Eine deutliche Abhängigkeit der neuen Bande im Differenzspektrum von der Konzentration des zugefügten Peptids, ist aus der Abbildung 3 zu entnehmen. Ein steigen- der pH-Wert der Reaktionslösung beeinflußt die Absorption ebenfalls positiv (Abbildung 4). Dadurch ist einerseits auszuschließen, daß es sich bei den beobachteten Effekten um die Folgen von Wasserstoffbrückenbindungen handelt und andererseits zeigt sich, ebenso wie bei der Konzentrationsabhängigkeit, eine deutliche Übereinstimmung mit dem am Modell erarbeiteten Ergebnis.

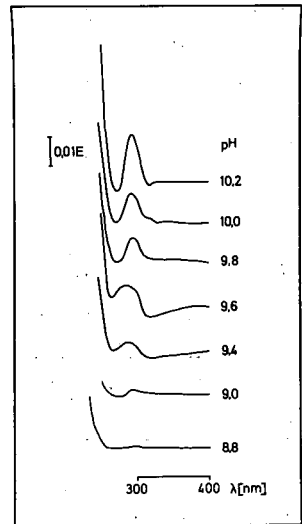
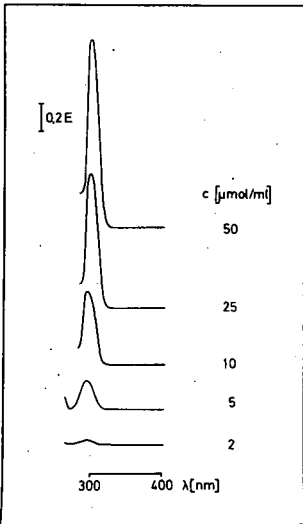


Abb. 3: Differenzspektren der Reaktionslösung gemessen gegen die unvermischten Einzelproben Ammoorgley-Huminsäure und L-Tyrosyl-Glycin steigender Konzentration

Abb. 4: Differenzspektren der Reaktionslösung gegen die unvermischten Einzelproben Ammoorgley-Huminsäure und L-Tyrosyl-Glycin für steigende pH-Werte der Reaktionslösung

Die Gelchromatographie im Zustand des Gleichgewichtes ermöglicht es, auch solche Interaktionen zweier Substanzen mit geringen Bindungsenergien darzustellen. Da sich unter den gewählten experimentellen Bedingungen das Elutionsvolumen der Huminsäure und des Peptides geringfügig überlappen, wurde durch die Messung bei zwei Wellenlängen der Absorptionsanteil der Huminsäure eliminiert (Müller-Wegener, 1983). So konnte die ausschließlich durch das Peptid hervorgerufene Extinktion ermittelt werden. Sie stellt sich, bedingt durch die Bindung des Peptids an die Huminstoffe, als eine Absenkung der Gleichgewichtskonzentration dar (Abb. 5).

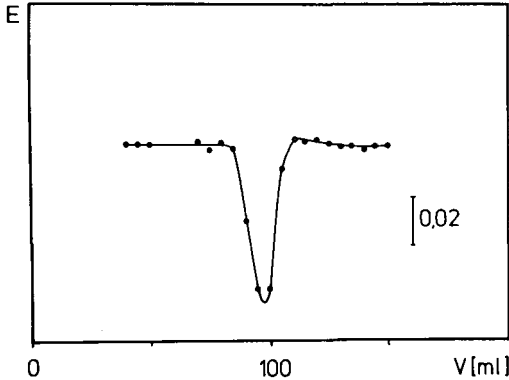


Abb. 5: Elutionsdiagramm bereinigt um die Absorption der Huminstoffe für die Trennung im Gleichgewicht von 20 mg Synthesehuminstoff und L-Tyrosyl-Glycin (vgl. Müller-Wegener, 1982)

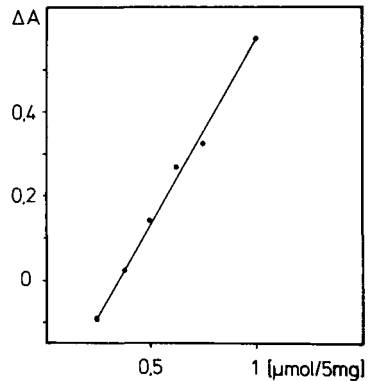


Abb. 6: Änderung der Fläche der Abweichung in den Elutionskurven von der Gleichgewichtskonzentration für L-Tyrosyl-Glycin bei konstanter Huminstoffmenge

Für unterschiedliche Mengen des in der aufgetragenen Reaktionslösung enthaltenen Peptids weist auch die Absenkung der Elutionskurve eine abweichende Fläche aus (Abb. 6). Die Peptidkonzentration in der Ausgangslösung ist dabei linear verknüpft mit der Fläche des Minimums, bzw. bei höheren Konzentrationen in der Reaktionslösung auch des Maximums in der Elutionskurve. Aus dem Nulldurchgang der Geraden wurde die Menge an Peptid ermittelt, die durch den Huminstoff aus der Reaktionslösung heraus gebunden wurde.

Um die Größenordnung dieser Wechselwirkung zu veranschaulichen, sollen für zwei Beispiele die gebundenen Mengen angegeben werden: So wurde an eine Synthesehuminsäure aus Hydrochinon 70 $\mu\text{mol}/\text{g}$ Tyrosin und 65 $\mu\text{mol}/\text{g}$ Tyrosyl-Glycin gebunden. Für eine natürliche, aus einem Anmoorgley extrahierte Huminsäure wurden übereinstimmend jeweils 20 $\mu\text{mol}/\text{g}$ für das Tyrosin und das Tyrosyl-Glycin als gebundene Menge ermittelt.

Die jeweils annähernd gleiche Bindung der Aminosäure und des Dipeptids zeigt nun auch für das natürliche System, daß ausschließlich die freien, nicht in einer

Peptidbindung fixierten Aminogruppen zu Bindungen nach Art der Elektronen-Donator-Akzeptor-Komplexe befähigt sind.

Literatur

Flaig, W., Beutelspacher, H., Rietz, E. in Gieseking, J.E., Soil Components, Vol I, 1 - 211, 1975, Springer, Berlin

Haider, K., Frederick, L.R., Flaig, W., Plant and Soil 22, 49, 1965

Lorentz, K., Z. Anal. Chem. 269, 182, 1974

Müller-Wegener, U., Z. Pflanzenernaehr. Bodenk. 145, 411, 1982

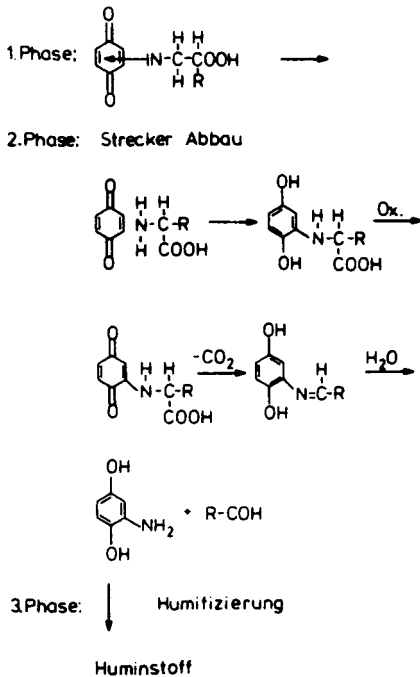
Müller-Wegener, U., Chem. Erde 42, 111, 1983

Müller-Wegener, U., Z. Pflanzenernaehr. Bodenk. 147, 110, 1984

Die Wechselwirkungen zwischen natürlichen
Huminstoffen und Aminosäuren

von
Naschinski, D.⁺)

Die chemischen Reaktionen zwischen Aminosäuren und sich bildenden Huminstoffen wurden bisher u.a. in Modellreaktionen untersucht (Flaig, Niemeyer). Es lassen sich einzelne Phasen des Einbaus erkennen und in ein Schema einfügen:



⁺ Institut für Bodenwissenschaften, Chemie und Biochemie im System Boden,
Von-Siebold-Str. 2, 3400 Göttingen

Nach Ausbildung eines Elektron-Donator-Acceptor-Komplexes wird die Aminosäure in eine Reaktionssequenz (Streckerscher Abbau) desaminiert; das entstandene Aminophenol bildet dann den Ausgangspunkt der Huminstoffgenese.

Bislang ist dieses Schema an Reaktionen mit natürlichen Huminsäurevorstufen noch nicht überprüft worden. Zu diesem Zweck wurden Huminsäurevorstufen aus dem A_h -Horizont eines Podzols mit organischen Lösemitteln zunehmender Polarität gewonnen. Nach UV / VIS spektroskopischen Untersuchungen erwies sich der Diethylether-Extrakt als der reaktionsfreudigste.

Dieser wurde mit einem Puffer (pH 8,0; 0,05m Borat) unterschichtet, und anschließend erfolgte die Messung der zeitabhängigen Verbräunung der wäßrigen Phase.

Abb. 1 zeigt den prinzipiellen Meßaufbau:

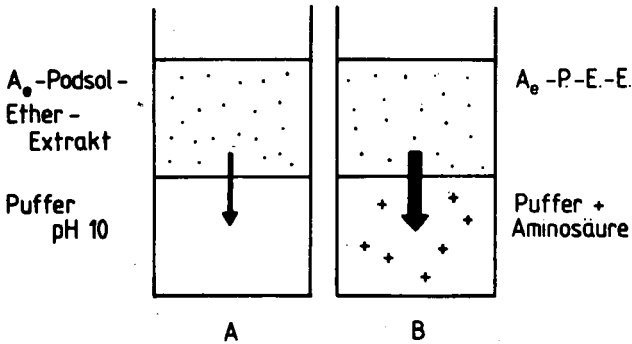


Abb. 1: Prinzipieller Meßaufbau zur Messung der Verbräunung von Huminsäurevorstufen

Die sauer reagierenden Huminsäurevorstufen durchtreten die Phasengrenze, werden im alkalischen Milieu ionisiert und durchlaufen dann die beobachteten Humifizierungsreaktionen.

Abb. 2 zeigt die gemessene Abhängigkeit der Verbräunung mit der Reaktionszeit für einen Ansatz ohne Aminosäurezusatz (A) und mit Alanin als Aminosäurezusatz (B).

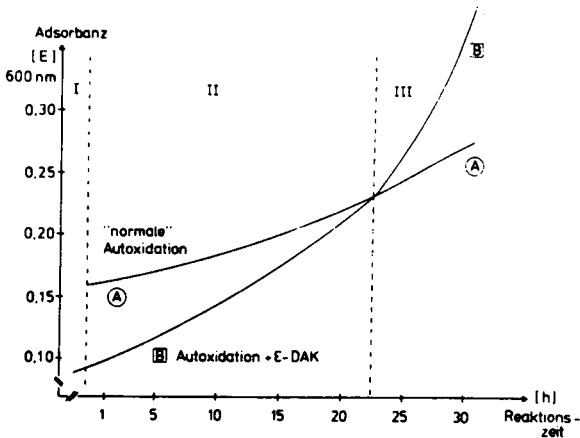


Abb. 2: Zeitabhängige Verbräunung von Huminsäurevorstufen ohne Aminosäurezusatz (A) und mit Aminosäurezusatz (B)

Der Verlauf der beiden Kurven läßt sich analog den Versuchen mit Modellreaktionen in zwei Phasen einteilen. In der ersten Phase verläuft die Humifizierung in Gegenwart der Aminosäure langsamer; hier ist eine Reaktionshemmung durch charge-transfer-Komplexbildung und dem sich anschließenden Streckerschen Abbau zu verzeichnen. Die zweite Phase zeichnet sich durch eine vergleichsweise höhere Huminstoffbildung aus; hier kommen nun die neuen Reaktionsmöglichkeiten der gebildeten Umsetzungsprodukte zum Tragen.

Es kann zusammenfassend festgestellt werden, daß die in Modellversuchen entwickelten Vorstellungen zum Stickstoffeinbau auf das natürliche Geschehen übertragbar sind und daß daher ebenfalls von mehrphasigen Einbaureaktionen auszugehen ist.

Literatur

- Flaig, W., Beutelspacher, H.; Rietz, E. (1975)
Chemical composition and physical properties of the humic substances
in: Gieseking, J.E., Soil components, Vol.I, 1 - 211
Springer, Berlin
- Niemeyer, J. (1984)
Dissertation Göttingen

Sorptionsbestimmte vertikale Wanderung von xenobiotischen
Substanzen im Boden; ein chromatographisches Modell

von

Wiemeyer, J. +)

Sorptive Wechselwirkungen mit der Bodenmatrix beeinflussen das Wanderungsverhalten im Wasserstrom sowohl von geladenen Spezies (z.B. NO_3^-) als auch von ungeladenen Molekülen (z.B. Tetrachlorkohlenstoff). Für diese Vorgänge sind Simulationsmodelle entwickelt worden (Bolt, van Genuchten u.a.), die es ermöglichen, diese Migrationsprozesse mit großer Genauigkeit zu simulieren.

Um die in einem gewissen Zeitraum maximal mögliche Eindringtiefe eines Kontaminates in den Boden abschätzen zu können und so für Maßnahmen im Feld erste Anhaltspunkte zu bekommen, wird in der Literatur (Greenland) ein einfaches Modell beschrieben.

In diesem Ansatz wird als Kennzahl der in der Theorie der Chromatographie benutzte R_f Wert (Schwedt) auf Vorgänge im Boden übertragen. Dieses ist unter folgenden Voraussetzungen möglich.

- Der Transport findet mit Wasser als mobiler Phase statt.
- Der Boden ist mit Wasser gesättigt.
- Der Boden ist im ganzen betrachteten Bereich hinsichtlich aller ausschlaggebender Parameter (Porenvolumen, Porenverteilung usw.) homogen.

+ Institut für Bodenwissenschaften, Chemie und Biochemie im System Boden,
Von-Siebold -Str. 2 , 3400 Göttingen

Unter diesen Bedingungen wird die größte Eindringtiefe des Sickerwassers und damit des Kontaminates zu erwarten sein. In der Regel werden unter Feldbedingungen (ungesättigte Wasserbewegung usw.) geringere Tiefen zu erwarten sein, so daß sich hier ein zusätzlicher Sicherheitsspielraum ergibt. Dieser R_f Wert ist über die Beziehung (1) mit Bodenparametern verknüpft:

$$R_f = \frac{1}{1 + \left(\frac{b \cdot \varrho}{\Theta}\right)} = \frac{d_s}{d_L} \quad (1)$$

- ϱ : Trockendichte des Bodens
- Θ : Wassergehalt bei Wassersättigung
- b : Steigung der Adsorptionsisotherme

Anschaulich wird diese Kenngröße durch Abb.1.

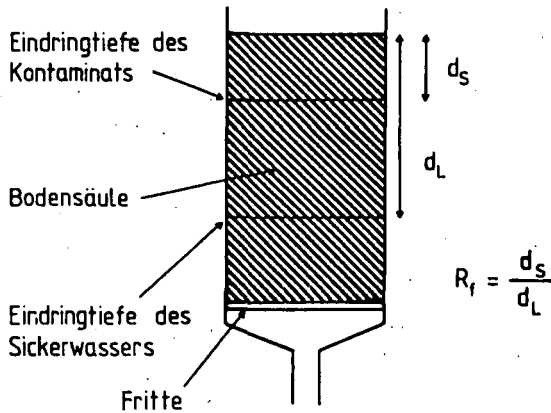


Abb. 1: Idealisierte Bodensäule zur Erläuterung des R_f Wertes

Für die betrachtete Bodensäule gelten die obengenannten idealisierten Bedingungen.

Wird die Sorptionskapazität eines betrachteten Bodens nur durch eine Bodenkomponente bestimmt, läßt sich Gleichung (1) durch Einsetzen von (2) umformen.

Es gilt

$$b_{\text{Boden}} = b_{\text{Komponente}} \cdot \frac{\text{Masseanteil}}{\text{Komponente}} \quad (2)$$

Damit wird (1) zu (3).

$$R_f^{\text{Boden}} = \frac{1}{1 + \left(\frac{b \cdot \rho \cdot m}{\Theta} \right)} \quad (3)$$

Bei Kohlenwasserstoffen und chlorierten Kohlenwasserstoffen sind die Huminstoffe des Bodens fast ausschließlich für die sorptiven Eigenschaften dieser Böden verantwortlich (Friesel et al.), da nur mit dem Gehalt an organischen Huminstoffen das Sorptionsvermögen des Bodens korreliert.

Wird nun die Adsorptionsisotherme im System Huminstoff/Kohlenwasserstoff bzw. chlorierter Kohlenwasserstoff bestimmt, kann der ermittelte Adsorptionskoeffizient des Huminstoffes auf den Wert des Bodens nach (2) umgerechnet werden.

Tabelle 1 zeigt das Ergebnis einer solchen Umrechnung für einen Boden. Hierbei wurden folgende Werte als Bodenparameter angesetzt:
Masseanteil Huminstoff: 0,02 ; Dichte: 1,4 ; Wassergehalt: 0,4 .

Die Werte der Sorptionskonstante sind für die halogenierten Substanzen der Literatur entnommen (Friesel et al.); für die Kohlenwasserstoffe wurden eigene Meßergebnisse verwandt.

Tabelle

	R _f -Wert
Trichlorethan	0,18
Trichlorethen	0,18
Tetrachlorethan	0,10
o-Dichlorbenzol	0,05
m-Dichlorbenzol	0,05
p-Dichlorbenzol	0,06
1,2,4-Trichlorbenzol	0,02
1,3,5-Trichlorbenzol	0,01
Benzol	0,01
Toluol	0,02

Eine geringe Wanderungsgeschwindigkeit ist zu beobachten, d.h. die Substanzen werden nach diesem Ansatz sehr langsam im Boden verlagert.

Dieses hier dargestellte einfache Modell erlaubt die Bestimmung von Faustzahlen, die bei Vorlage eines Gefahrenpotentials durch eingehende Analyse aller bestimmenden Faktoren präzisiert und den Gegebenheiten angepaßt werden müssen.

Literatur

Bolt, G. H., Ed.

Soil Chemistry

B. Physico-Chemical Models

Amsterdam 1979

van Genuchten, M. Th.

in: Bolt, G. H., Ed.

Soil Chemistry

B. Physico-Chemical Models

Amsterdam 1979

Greenland, D. J.; Hayes, M.H.B., Ed.

The Chemistry of Soil Processes

Chichester 1981

Friesel, P.; Milde, G.; Steiner, B.

Fresenius Z. Anal. Chem. (1984), 319: 160 - 164

Schwedt, G.

Chromatographische Trennmethoden

Stuttgart 1979

Organischer Substanz Abbau und Kohlenstoff Profildynamik in Böden

von

Scharpenseel, H.W., P. Becker-Heidmann u. J. Freytag

C-Profildynamik = f (O.S. Abbauterm ; H.St.-Aufbauterm; C-Transportterm)

Die Rahmendaten:

Organischer Substanzpool interrestrischen Böden bis 1 m Tiefe	ca	$2,4 \times 10^{12}$ t C
Organische Substanz durch Photosynthese, terrestrischer Bereich	ca	112×10^9 t C/a
Demgemäß "steady state" Abbau bei gleichbleibender C-Bilanz	>	100×10^9 t C/a
Entsprechende N-Freisetzung dabei	>	1×10^9 t C/a
Demgegenüber Gesamtproduktion von N-Mineraldünger	ca	60×10^6 t N/a
C - Pool in der Atmosphäre	ca	700×10^9 t C
C-Pool in oberen 1000 m des Ozeans	ca	700×10^9 t C
Zusätzliche C-Freisetzung in die Atmosphäre durch anthropogene Nutzung von fossilen C-Reserven	ca	5×10^9 t C / a
Zusätzliche C-Freisetzung in die Atmosphäre durch Brandrodung wie "Land and Djungle Clearing "	ca	$1,5 \times 10^9$ t C/a
C-Sinks zur Kompensation gegen Erhöhung des C-Gehalts der Atmosphäre :		

- Bindung von mehr C in höheren Erträgen durch Düngung
- Übergang auf photosynthetisch effizientere C-4 Pflanzen
- Förderung stärkerer Wurzelentwicklung durch Untergrundlockerung und Kalkung bei Al-Toxizität und Fragipans

Indikator für Photosynthesemechanismus der Vegetation:

C-3 Pflanzen; (Calvin), $\Delta^{13}\text{C}$ gegen PDB-Standard (Craig, 1953)	- 25 ‰
C-4 Pflanzen (Hatch and Slack, 1966), $\Delta^{13}\text{C}$ gegen PDB-Standard	- 10 ‰
CAM Pflanzen (Avadhani et al, 1971), $\Delta^{13}\text{C}$ gegen PDB-Standard	- 17 ‰

Abbaudaten:

Abbaugeschwindigkeit

Untersuchungen zur Abbaugeschwindigkeit wurden durchgeführt mit allseitig ^3H , ^{13}C , ^{14}C oder ^{15}N markierten Pflanzen oder organischen Substanzen :

^3H : Scharpenseel, 1960 a,b

^{13}C : Broadbent and Norman, 1946; Broadbent, 1947; Broadbent and Bartholomew, 1948

- ¹⁴C: Sauerbeck,1960, 1966,1968; Sauerbeck und Führ,1971 ; Sauerbeck und Johnen, 1974; Jenkinson,1960, 1964, 1965, 1966, 1968, 1971, 1977 a,b; Jenkinson und Rainer, 1977; Oberländer,1970, 1973; Oberländer und Roth, 1968 a,b, 1972, 1974, 1975, 1980; Mayaudon and Simonart,1958 a,b, 1959 a,b ;Mayaudon and Batistic,1970; Paul and Van Veen,1978; Shields and Paul,1973; Jenkinson and Ayanaba,1977; Sauerbeck und Gonzalez,1977; Martin,Neue,Scharpenseel und Becker,1983; Neue, 1985; Martin,Becker-Heidmann und Scharpenseel,1985; Becker-Heidmann,Martin und Scharpenseel,1985;
- ¹⁴C+¹⁵N: Haider und Farook-e-Azam,1983; Krishnappa und Shinde,1978;

Zur quasi logarithmisch verlaufenden,schnellen,ersten Abbauphase:

Grundlegende Daten für die Abbaugeschwindigkeit der organischen Substanz ergaben im gemäßigten Klimabereich Abbau auf ca 20% des eingetragenen C nach 4 Jahren, stärker bei C von Primärprodukten wie Stroh und Gründünger, schwächer bei teilumgesetzten Materialien wie Stallmist und Gülle plus Stroh (insbesondere Arbeiten von Jenkinson,Oberländer und Roth, Sauerbeck et al). Unter feucht tropischem Klima (Nigeria,Jenkinson und Ayanaba; Costa Rica, Sauerbeck und Gonzalez) beschleunigt sich die schnell verlaufende erste Abbauphase um einen Faktor von mindestens vier. Nach einem Jahr waren nurmehr 10 - 20% des C-Inputs erhalten. In überstaunten Böden der nassen Tropen (Philippinen,Martin,Neue,Scharpenseel) verlief der Abbau mit markiertem Reisstroh initial ähnlich schnell,aber zu etwa 2/3 über CH₄, zu 1/3 über CO₂. Nach einem Jahr waren noch 12-15 % des zugegebenen ¹⁴C im Boden erhalten. Im semiariden Klimabereich sind analoge Untersuchungen mit ¹⁴C-Sorghumstroh (Hyderabad, Mantler und Scharpenseel) in Gang. Ansätze, die Abbaukurven aus den verschiedenen Klimaten durch Transformation über Van tHoff- oder Arrhenius-Temperatur-Reaktionsgeschwindigkeit-Beziehungen auf Deckungsfähigkeit zu überprüfen wurden von verschiedenen Seiten mit einigem Erfolg unternommen. Zur statistischen Absicherung reichen die wenigen komplett vorhandenen Abbaukurven kaum aus.

Zum "Steady State" - Abbau:

Untersuchungen zum"Steady State"-Abbau ,zeitlich jenseits erfaßbarer Daten durch Abbau allseitig markierten organischen Materials , beruhen auf natürlichen Radio-kohlenstoffmessungen. Hohes ¹⁴C-Probenalter bedeutet hohes Potential des Bodens zur Konservierung der alten C-Spezies ,aber auch zum schnellen Abbau nachgelieferten jungen Kohlenstoffs.

Paul et al,1964; Jenkinson, 1969; Polach,1971; Geyh et al,1971; Scharpenseel, 1971, 1972, 1977; Scharpenseel und Schiffmann 1977 a,b; Scharpenseel et al,1984, 1986 a,b; Becker-Heidmann et al, 1985 a ;

Aus Alter versus Tiefe und Alter/Profilhöchstalter versus Tiefe - Darstellung von schichtweise oder dünn-schichtweise datierten Profilen, einzeln oder zu mehreren, aus der gleichen Herkunftsregion zusammengefaßt, läßt sich über den Steigungskoeffizienten X der Regressionskurve ($y = aX + b$) die Steilheit ermitteln und vergleichen. Eine steile Alter versus Tiefe - Kurve indiziert starke Altersprogression in die Tiefe, steile Alter / Profilhöchstalter versus Tiefe - Darstellung gibt einen Abbaubezug. Werte nahe 1,0 und steile Tendenz nach 1,0 zeigen starkes Vorwiegen der Höchstalter - C-Spezies und entsprechend schnellen Abbau der nachgelieferten jungen organischen Substanz; Werte nahe 0 kennzeichnen starken Eintrag und Überwiegen von jungem Kohlenstoff bei verzögertem Abbau. Ein integrierendes Modell für die primäre, schnelle Abbauphase allseitig markierter organischer Substanz wie für die natürlichen ^{14}C -Konzentrationen ist die Zielvorstellung dieser Arbeiten.

Formen des Abbaus:

Erforschung der Varianten des Abbaus, biotisch-zymogener-, rein chemischer - protolytischer-, photochemischer Abbau begann mit Berthelot schon Ende des 19. Jahrhunderts.

Anderson und Domsch, 1978; Berthelot und André, 1892; Deuel, Dubach und Bach, 1958; Hofmann und Hoffmann, 1962; Jenkinson und Powlson, 1976; Laura, 1975 a,b, 1976; Beckmann und Scharpenseel, 1964; Scharpenseel und Beckmann, 1964; Scharpenseel und Neue, 1982; Scharpenseel et al, 1984; Singhania und Sauerbeck, 1980; Tsutsuki und Ponamperuma, 1982; Wurzer, 1981.

Es zeigte sich, daß nach Sterilisation der organischen Substanz bei Reinfektion eine Lawine intensiven Abbaus erfolgt (Anderson und Domsch, Jenkinson und Powlson), ferner, daß neben biotisch-zymogenem Abbau auch rein chemisch und photochemisch begründete Abbauvorgänge von Bedeutung sind (Berthelot, Deuel, Laura, Beckmann, Scharpenseel et al, Tsutsuki und Ponamperuma). Singhania und Sauerbeck wie Wurzer und Scharpenseel et al demonstrierten den variablen Einfluß monotypischer Kationenkonzentrationen auf den organischen Substanzabbau.

Kohlenstoff-Profildynamik:

Systematische schicht-/horizont -weise $\Delta^{13}\text{C}$ und $\Delta^{14}\text{C}$ -Untersuchungen an Bodenprofilen gaben differenzierte Einblicke in die C-Profildynamik und Bodenbildungsprozesse, wie Podsolierung, Lessivierung, Pseudovergleyung, Peloturbation, Bioturbation, Kalkkrustenbildung etc..

Becker-Heidmann und Scharpenseel, 1985; Freytag, 1985; Kerpen und Schleser, 1983; Nissenbaum und Schallinger, 1974; Scharpenseel et al, 1985, 1986 a,b; Schleser et al, 1981 a,b; Schleser et al, 1983.

C-Ein- und Austrag bei Prozessen der Pseudovergleyung wurden aufgrund von $\Delta^{13}\text{C}$ - An- oder Abreicherung verfolgt (Schleser, Pohling und Kerpen). Bei kritischer Betrachtung der Peloturbation in Vertisolen durch schichtweise ^{14}C -Datierung und $\Delta^{13}\text{C}$ -Messung konnten durch die Eindringtiefen des Baumwoll - C-3 - und des Durra -C-4 - Kohlenstoffs sowie durch sprunghafte ^{14}C -Alterszunahme untere Schrumpfrißtiefe und funktionierende Peloturbation markiert werden (Scharpenseel, Freytag, Becker-Heidmann). Steile Alters/Tiefen-Kurven, vergleichende Kornfraktions- ^{14}C -Daten und Datierung des Körper - C von Regenwürmern aus verschiedenen Profiltiefen von Mollisolen zeigten, daß Bioturbation keine organische Substanz-Homogenisierung einschließt. Aller Regenwurm-C ist völlig rezent. Koproogene Produkte werden oberflächlich und in minderm Maße im tiefsten Bereich der Fluchtgänge deponiert (Scharpenseel, Tsutsuki, Becker-Heidmann, Freytag). $\Delta^{13}\text{C}$ und $\Delta^{18}\text{O}$ -Messungen in Kalkkrusten zeigen, daß ein Temperaturbezug besteht, die Krusten aber prinzipiell "ad descensum" durch Eintrag, nicht als oberflächliche Evaporite entstanden sind (Schleser, Bertram, Scharpenseel, Kerpen, Freytag). $\Delta^{14}\text{C}$ und $\Delta^{13}\text{C}$ -Dünnschichtuntersuchungen in Alfisolen der BRD und SO-Asiens zur Definition der Wanderungsprozesse sind in Arbeit (Becker-Heidmann und Scharpenseel).

Literatur:

- Anderson, J.P.E. und Domsch, K.H. (1978): in E.A. Paul and van Veen, J.A., ISSS symposia paper, 3, S. 61-102.
- Avadhani, P.N., Osmond, C.D. und Tan, K.K. (1971): Photosynthesis and Photorespiration, Wiley, Interscience, N.Y., 288.
- Becker-Heidmann, P. und Scharpenseel, H.W. (1985): 12th International Radiocarbon-Conference, Trondheim, Norway (under print).
- Becker-Heidmann, P.; Martin, U. und Scharpenseel, H.W. (1985): Mitt. Dtsch. Bodenk. Ges. (Göttingen-Jahrestagung) (im Druck).
- Becker-Heidmann, P. und Scharpenseel, H.W. (1986): (in Vorbereitung).
- Beckmann, H. und Scharpenseel, H.W. (1964): Z. Pflanzenernähr. Bodenkunde 105:102-112.
- Berthelot, M. und André, G. (1892): C.R. Acad. Sci. Paris, 114, 41.
- Broadbent, F.E. und Norman, A.G. (1946): Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 11:264-267.
- Broadbent, F.E. (1947): Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 12:264-267.
- Broadbent, F.E. und Bartholomew, W.V. (1948): Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 13:271-274.
- Craig, H. (1953): Geochim. Cosmochim. Acta, 3, 53-94.
- Deuel, H., Dubach, P. und Bach, R. (1958): Z. Pflanzenernähr. Düng. Bodenkunde, 81, 189-201.
- Freytag, J. (1985): Hamburger Bodenkundliche Arbeiten, 3, 1-265, (Diss.)
- Geyh, M.A., Benzler, J.H. und Röschmann, G. (1971): Paleopedology, Jerusalem, 63-75.

- Haider, K. und Farooq-e-Azam, (1983): Z. Pflanzenernähr. Bodenkunde, 151-159.
- Hatch, M.D. und Slack, C.R. (1966): Biochem. J. 101-111.
- Hofmann, E. und Hoffmann, G. (1962): Z. Pflanzenernähr. Bodenkunde, 97, 97-100.
- Jenkinson, D.S. (1960): Plant and Soil 13:279-290.
- Jenkinson, D.S. (1964): Experimental Pedology, Butterworth, London, 199-207.
- Jenkinson, D.S. (1965): J. Soil Sci. 16:104-115.
- Jenkinson, D.S. (1966): Rep. FAO/IAEA Techn. Meet. Pergamon, Oxford, 187-197.
- Jenkinson, D.S. (1968): J. Soil Sci. 19:25-39.
- Jenkinson, D.S. (1971): Soil Sci. 111: 64.
- Jenkinson, D.S. (1977a): J. Soil Sci. 28:417-423.
- Jenkinson, D.S. (1977b): J. Soil Sci. 28: 424-434.
- Jenkinson, D.S. und Powlson, D.S. (1976): Soil Biol. Biochem. 8:167-177.
- Jenkinson, D.S. und Ayanaba, A. (1977): Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 41.912-915.
- Jenkinson, D.S. und Rayner, J.H. (1977): Soil Sci. 123:298-305.
- Jenkinson, D.S. (1969): Rep. Rothamsted Exper. Stat. for 1968, 73.
- Kerpen, W. und Schleser, G.H. (1983): Mitt. Dtsch. Bodenkundl. Ges. 38, 507-512.
- Krishnappa, A.M. und Shinde, J.E. (1978): FAO/IAEA-Int. Sympos. Colombo, SM-235/32.
- Laura, R.D. (1975a): Pedologie, 25, 157-170.
- Laura, R.D. (1975b): Plant and Soil 44: 463-465.
- Laura, R.D. (1976): Can. J. Soil Sci. 379-382.
- Martin, U., Neue, H.U., Scharpenseel, H.W. und Becker-Heidmann, P. (1983): Mitt. Dtsch. Bodenk. Ges. 38, 245-250.
- Martin, U., Becker-Heidmann, P. und Scharpenseel, H.W. (1985): Mitt. Dtsch. Bodenk. Ges. (Druck)
- Mayaudon, J. und Simonart, P. (1958a): Plant and Soil 9:381-384.
- Mayaudon, J. und Simonart, P. (1958b): Plant and Soil 9:376-380.
- Mayaudon, J. und Simonart, P. (1959a): Plant and Soil 11:170-175.
- Mayaudon, J. und Simonart, P. (1959b): Plant and Soil 11:181-192.
- Mayaudon, J. und Batistic, L. (1970): Ann. Inst. Pasteur, Paris, 118:191.
- Neue, H.U. (1985): Intern Rice Res. Institut. 25th Anniv. Book, 80-82.
- Nissenbaum, A. und Schallinger, K.M. (1974): Geoderma 11:137-145.
- Oberländer, H.E. (1970): 100 J. Landw. Chem. Bund. Anst. Wien, 161-163.
- Oberländer, H.E. (1973): Pontif. Acad. Sci. Scripta Varia 38:1001-1062.
- Oberländer, H.E. und Roth, K. (1968a): Atompraxis, 14:288.
- Oberländer, H.E. und Roth, K. (1968b): FAO/IAEA Techn. Meet. Vienna, 351-361.
- Oberländer, H.E. und Roth, K. (1972): Landw. Forsch. 25:295.
- Oberländer, H.E. und Roth, K. (1974): Bodenk. 25:111.
- Oberländer, H.E. und Roth, K. (1975): Bodenk. 26:139.
- Oberländer, H.E. und Roth, K. (1980): Landw. Forschung 33:179-188.
- Polach, H.A. und Costin, A.B. (1971): Paleopedology, Jerusalem, 89-96.
- Paul, E.A., Campbell, C.A., Rennie, D.A. und McCallum, K.J. (1964): Transac. ISSS Congr. Bukarest, 201-208.

- Paul, E.A. und Van Veen, J.A. (1978): Transac. ISSS-Congr. Edmonton, Vol. 3, 61-102.
- Sauerbeck, D. (1960): Atompraxis 6:221-225.
- Sauerbeck, D. (1966). Habil-Schrift Univ. Bonn.
- Sauerbeck, D. (1968): IAEA/FAO-Sympos. Vienna, 3, 219.
- Sauerbeck, D. und Führ, F. (1971): Trans. Int. Symp. "Humus et Planta" Prag, 173.
- Sauerbeck, D. und Johnen, B. (1974): Landw. Forschung Sonderheft 30, 11:137.
- Sauerbeck, D. und Gonzalez, M.A. (1977): FAO/IAEA-Symp. Braunschweig, 159-170.
- Scharpenseel, H.W. (1960a): Z. Pflanzenernähr. Bodenkde. 91:131-146.
- Scharpenseel, H.W. (1960b): Z. Pflanzenernähr. Bodenkde. 91:131-146.
- Scharpenseel, H.W. (1971): Paleopedology, Jerusalem, 77-88.
- Scharpenseel, H.W. (1972): Z. Pflanzenernähr. Bodenkde. 133:241-163.
- Scharpenseel, H.W. (1977): Proc. IAEA-Conf. Braunschweig, 193-200.
- Scharpenseel, H.W. und Beckmann, H. (1964): Pflanzenernähr. Bodenkde. 104:110-119.
- Scharpenseel, H.W. und Schiffmann, H. (1977a): Z. Pflanzenernähr. Bkd. 140:159-174.
- Scharpenseel, H.W. und Schiffmann, H. (1977b): Geophys. Surveys 3:143-156.
- Scharpenseel, H.W. und Neue, H.U. (1982): Proc. O.M. in Rice, IRRI, Los Banos, 273-309.
- Scharpenseel, H.W., Wurzer, M., Freytag, J., Neue, H.U. (1984): Z. Pflanzenern. Bkd. 147, 502-16.
- Scharpenseel, H.W. und Schiffmann, H. (1985): Z. Pflanzenernähr. Bodenkde. 148, 113-130.
- Scharpenseel, H.W., Freytag, J. und Becker-Heidmann, P. (1986): Z. Pflanzenernähr. Bodenkde. (im Druck)
- Scharpenseel, H.W., Tsutsuki, K., Becker-Heidmann, P. und Freytag, J. (1986): Z. Pflanzenern. Bodenkde. (im Druck).
- Schleser, G.H., Pohling, R. und Kerpen, W. (1981a): Z. Pflanzenern. Bodenkde. 144, 149-155.
- Schleser, G.H., Pohling, R. und Kerpen, W. (1981b): KFA Jülich-Report .
- Schleser, G.H., Bertram, H.G., Scharpenseel, H.W. und Kerpen, W. (1983): Mitt. Dtsch. Bodenk. Ges. 38, 573-578.
- Shields, J.A. und Paul, E.A. (1973): Can. J. Soil Sci. 53:297-306.
- Singhania, R.A. und Sauerbeck, D. (1980): Z. Pflanzenernähr. Bodenkde. 143: 385-390.

* Die Graphiken und Tabellen des zugrundeliegenden Vortrages würden die Seitenzahl-Begrenzung sprengen. Die wichtigsten befinden sich in Scharpenseel et al 1982, 1984, 1986 a,b.

Pyrolyse - Massenspektrometrie zur Charakterisierung

von Bodenuminstoffen und Böden

von
Schulten, H-R. ^{*)}

Die schnelle, reproduzierbare, chemische Charakterisierung von komplexem Bodenmaterial und Bodeninhaltsstoffen wie Gesamtboden, Huminstoffen, Cellulose, Lignin usw. kann im ersten analytischen Schritt durch thermischen Abbau durchgeführt werden. Man zerlegt die Biomakromoleküle in einem kurzzeitigen Abbauschritt im Hochvakuum in chemische Untereinheiten. Kurze Reaktionszeiten und kleine Substanzmengen begünstigen die Erzeugung primärer Bruchstücke, also solchen chemischen Bausteinen die sich unmittelbar mit der Struktur der untersuchten Substanz korrelieren lassen. Dieses Verfahren wird im folgenden kurz als Pyrolyse (Py) bezeichnet.

Zum Nachweis der Pyrolysate wird die temperatur-kontrollierte Py mit Massenspektrometrie (MS) kombiniert. Die typischen Heizraten liegen bei 1°C/s und einem Temperaturbereich von 50° bis 500°C . Vorzugsweise werden schonende Ionisierungsverfahren wie Feldionisation (FI), Felddesorption (FD) und Fast Atom Bombardment (FAB) eingesetzt. Das Ziel ist die massenspektrometrische Fragmentierung zu vermeiden und durch hohe Molekülionen-Intensitäten der Pyrolyseprodukte die thermische Fragmentierung zu erfassen. Je höher die Masse der durch Py erzeugten, ionisierten Moleküle ist, umso näher kommt man dem primären Pyrolyseschritt und damit der Struktur der untersuchten hochmolekularen Substanz.

In Abbildung 1 ist schematisch der Aufbau der Kombination von Py und FIMS in der Ionenquelle des Massenspektrometers gezeigt. Wichtig ist, daß alle zur Zeit angebotenen Massenspektrometer als Option mit schonenden Ionisierungsverfahren ausgerüstet werden. Da ausserdem das üblicherweise kommerziell erhältliche direkte Einlaßsystem für die Py benutzt wird, entfällt eine apparative Umrüstung des Massenspektrometers.

*) Fachhochschule Fresenius, Abteilung für Spurenanalytik,
Dambachtal 20, D-6200 Wiesbaden

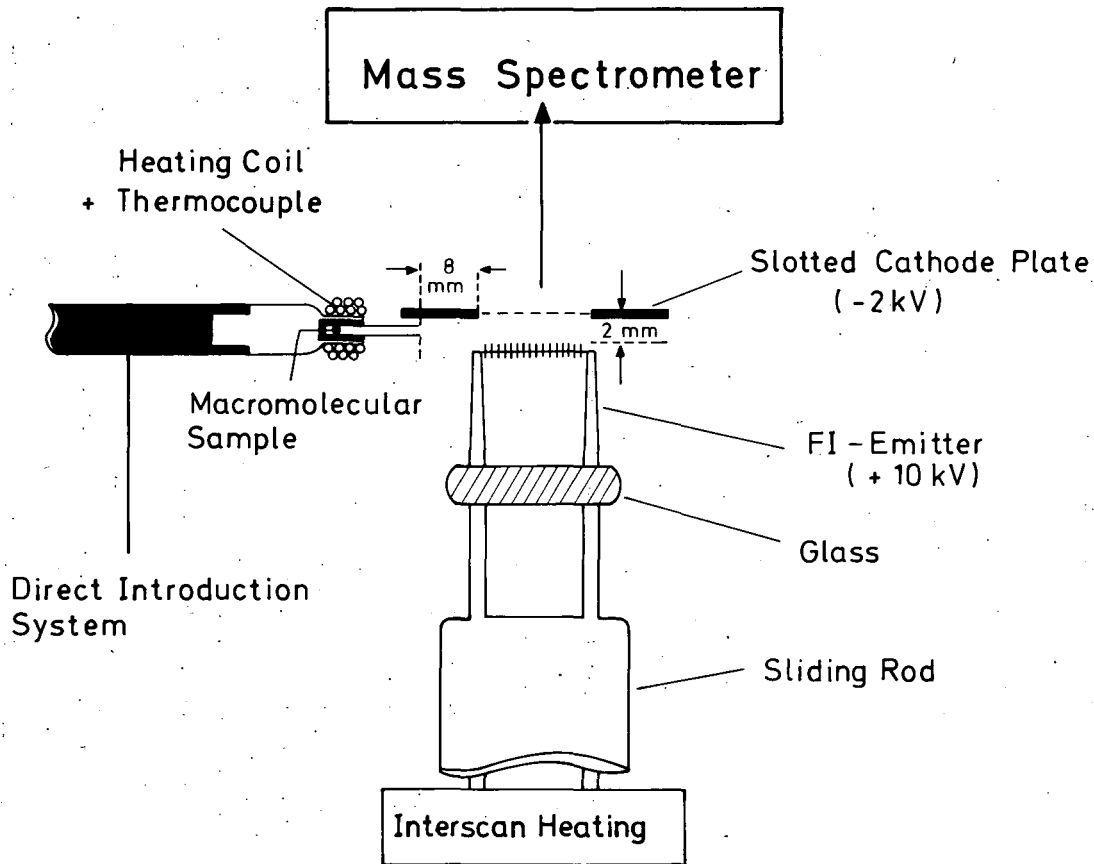


Abbildung 1
 Py-FIMS
 Ionenquelle (1)

Da dieses Verfahren kürzlich ausführlich beschrieben wurde (1), können die experimentellen Bedingungen stichwortartig wie folgt zusammengefasst werden :

- Probenmenge kleiner als 1 mg ;
- Analysenzeit kürzer als 30 min. insgesamt ;
- gute Kurz- und Langzeit-Reproduzierbarkeit ;
- hohe Signifikanz der erhaltenen Daten ;
- Möglichkeiten der statistischen Auswertung ; und
- Erstellung einer Spektrenbibliothek.

Die Korrelation zwischen den registrierten, thermisch produzierten Untereinheiten des Makromoleküls und seinem Aufbau wird in folgenden analytischen Stufen untersucht :

1. Niedrig-aufgelöste integrierte Massenspektren liefern eine erste Übersicht. Die Fingerabdruck-Spektren (finger prints) können mit statistischen Verfahren (z. B. pattern recognition, cluster -/factor analysis) quantitative ausgewertet werden. Damit wird eine Klassifizierung möglich.
2. Hochauflösende Massenspektrometrie und Präzisions-Massenbestimmung ergibt Möglichkeiten zur Bestimmung der elementaren Zusammensetzung.
3. Der Absicherung der Ergebnisse kann zusätzlich eine direkte Isotopenbestimmung dienen.
4. Die Identifizierung der strukturellen Untereinheiten erfolgt abschliessend durch Pyrolyse verbunden mit Gas-Chromatographie (GC) gekoppelt an EI/FI Massenspektrometrie. Durch den Vergleich mit Spektrensammlungen (kommerzieller Art bzw. selbst erstellt) und chemischen Abbauschritten ist damit die Basis für die Zuordnung der Bausteine und ihrer Verknüpfung im Molekül zugänglich.

Wenn möglich, wird in einer Art 'konzertierter Aktion' versucht die so gewonnenen Daten mit den Ergebnissen der anderen analytischen Verfahren, besonders UV-VIS, NMR, FT-IR etc. und den vorhandenen chemischen Kenntnissen zu korrelieren und eine Gesamtauswertung durchzuführen.

Lignin

Als Beispiel für die Untersuchungen von Bodeneinhaltsstoffen ist das Py FI Massenspektrum von Brauns Lignin aus Weizenstroh beschrieben worden (2). Das Basissignal in diesem Spektrum liegt bei m/z 180. Das Lignin grasartiger Pflanzen ist ein Polymer aus Koniferyl-(Mol. gew. 180) und Sinapyl-Alkoholen (Mol. gew. 210)

und enthält ebenso einige Cumaryl-Alkoholeinheiten (Mol. gew. 150). Diese typischen Verbindungen werden durch die Ionen bei m/z 150, m/z 180 und m/z 210 deutlich angezeigt. Als charakteristische Signale für Phenole erscheinen m/z 94, m/z 108, m/z 120 und m/z 134 ; für Dimethylphenole m/z 124, m/z 138, m/z 150 und m/z 164. Syringol wird m/z 154 zugeordnet. Weiterhin werden Signale bei m/z 168 und m/z 194 nachgewiesen, die auf Syringyl-Bruchstücke mit der Propen-Seitenkette hinweisen. Im Massenbereich zwischen m/z 272 und m/z 386 wird eine Anzahl von Signalen von dimeren Guaiacyl-Syringyl oder Syringyl-Syringyl Einheiten mit dieser verlängerten Seitenkette gefunden. Nach der Hochvakuum Pyrolyse ergeben sich auch thermische Bruchstücke am oberen Massenende des FI Spektrum bei m/z 402 und m/z 418 für dimere Einheiten des Sinapyl-Alkohols (2). Grundsätzlich wird deutlich, daß gerade die oligomeren Untereinheiten des Lignins die wichtigsten Informationen für die Verknüpfungen im Biomakromolekül liefern.

Huminsäuren

Das Py FI Massenspektrum eines Huminsäurepräparates aus einem podzoligen Boden wurde kürzlich beschrieben (2). Einige intensive Abbauprodukte im niedrigen Massenbereich werden gefunden, z. B. m/z 30 (Formaldehyd), m/z 32 (Methanol), m/z 42 (Keten), m/z 60 (Essigsäure). Das Spektrum zeigt aber auch die typischen Signale die auch in den Pyrolysaten von Schwarztorf und Braunkohle nachgewiesen werden (2). Darüberhinaus werden intensive und charakteristische Ionen für den thermischen Abbau von Polysacchariden bei m/z 96 (2,5 - Dimethylfuran, bzw. Furfural), m/z 98 (Furfuryl-Alkohol), m/z 110 (5-Methyl-2-furfural), m/z 126 (Levogluconon), m/z 144 (1,4:3,6 - Dianhydroglucopyranose) und m/z 162 (Levoglucozan) gefunden und zeigen die Gegenwart von Hexosen an. Diese Zuordnungen sollen jedoch nur erste Möglichkeiten der Identifizierung von Pyrolyseprodukten aufzeigen. Inzwischen sind grundsätzliche und umfangreiche Untersuchungen von aquatischen Huminstoffen durchgeführt worden und belegen die analytische Aussagekraft des beschriebenen Verfahrens (3).

Gesamtboden

Der Gesamtboden aus dem die beschriebene Huminsäure isoliert wurde, ist ebenfalls mit Py FIMS untersucht worden (Abbildung 2). Es fällt auf, dass ausser den intensiven Signalen für Lignin und Polyhexosen nun bei m/z 114 und m/z 132 auch Pentosen deutlich angezeigt werden. Allerdings ist zum gegenwärtigen Stand nur wenig über die Interpretation der Pyrolysedaten von Böden bekannt und intensive Untersuchungen in dieser Richtung sind zur Zeit in unserer Arbeitsgruppe

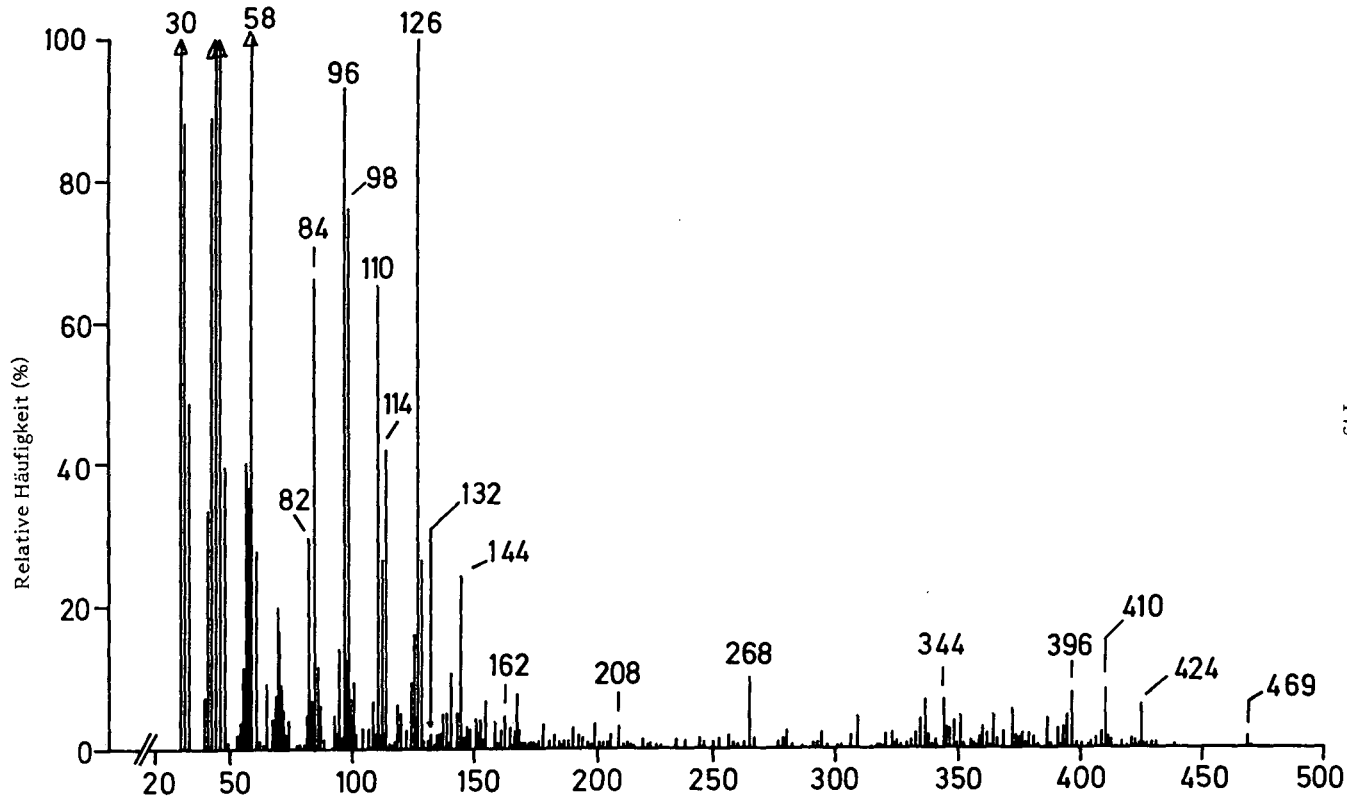


Abbildung 2 :

Py FIMS von Gesamtboden Podzol 'Hohes Moor'.

m / z →

im Gange. Da die gesamte organische Substanz einer Bodenprobe bei der Pyrolyse erfasst wird, eignet sich die vorgestellte Methode besonders zum Vergleich verschiedener Horizonte innerhalb eines Profils sowie zum Vergleich unterschiedlicher Bodentypen und Humusformen.

Danksagung

Die vorliegenden Arbeiten wurden durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft, Bonn Bad Godesberg und das Umweltbundesamt, Berlin, finanziell unterstützt. Herrn Dr. K. Haider, Institut für Biochemie des Bodens, Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft, Braunschweig, gebührt ganz besonderer Dank für die langjährige, fruchtbare Zusammenarbeit auf dem Gebiet der Pyrolyse von Böden und Bodenbestandteilen.

Literatur

- (1) SCHULTEN, H.-R. (1984) : Relevance of Analytical Pyrolysis Studies to Biomass Conversion. J. Anal. Appl. Pyrol. 6, 251 - 272 und zit. Referenzen.
- (2) HAIDER, K. und SCHULTEN, H.-R. (1985) : Pyrolysis Field Ionization Mass Spectrometry of Lignins, Humic Compounds and Whole Soil. J. Anal. Appl. Pyrol. 8, 317 - 331.
- (3) SCHULTEN, H.-R., ABBT, G., FRIMMEL, H. (1986) : Time-Resolved Pyrolysis Field Ionization Mass Spectrometry of Humic Material Isolated From Fresh Water. Environ. Sci. Technol., zur Veröffentlichung eingereicht.

Möglichkeiten der Fluid-Extraktion zur Gewinnung von Bodeninhaltsstoffen

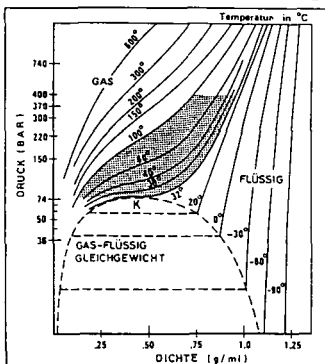
von

Spiteller, M.⁺⁾

Zu den bedeutendsten Methoden der Gewinnung von Extrakten aus einem Gemisch zählen die Destillation und die Extraktion. Während die Trennung durch Destillation auf den unterschiedlichen Dampfdrücken der einzelnen Komponenten beruht, werden bei der Extraktion die unterschiedlichen Verteilungskoeffizienten eines Stoffes zwischen zwei verschiedenen Phasen ausgenutzt. Die Extraktion mit überkritischen Gasen verbindet jedoch Phänomene von Destillation und Extraktion, d.h. Dampfdruckerhöhung und Mehrphasigkeit. Obwohl Hannay und Hogarth bereits 1879 Kaliumjodid mit überkritischem Ethanol lösten, begannen systematische Untersuchungen und Überlegungen zur großtechnischen Anwendung erst in den sechziger Jahren. Die Anwendung der Destillation auf Bodenproben mit CO_2 als Extraktionsmittel sowie mit wässrigen Gemischen organischer Lösungsmittel soll im folgenden vorgestellt werden.

Aus dem Druck-Dichte Diagramm für CO_2 (Abb. 1) läßt sich ablesen, daß der Zweiphasenbereich Gas-Flüssigkeit mit zunehmender Temperatur immer kleiner wird.

Abb 1:
Druck-Dichte-Diagramm für CO_2



Das Ende des Zweiphasengebietes kennzeichnet der sogenannte kritische Punkt K, oberhalb dessen es unmöglich ist, das Gas durch Druckerhöhung zu verflüssigen. Der kritische Druck P_k beträgt für CO_2 73,5 bar, bei einer kritischen Temperatur T_k von 31 °C. Die Dichte des überkritischen Fluids liegt im Bereich des verflüssigten CO_2 ; gleiches gilt für den Diffusionskoeffizienten. Dagegen liegt die Viskosität der überkritischen Phase in derselben Größenordnung wie die des Gaszustandes.

Institut für Bodenkunde und Waldernährung der Universität Göttingen,
Büsgenweg 2, 3400 Göttingen
neue Adresse: BAYER AG, Institut für Metabolismusforschung, PF-A/CE-ME,
5090 Leverkusen, Bayerwerk

Somit bietet eine mobile Phase bei superkritischen Bedingungen drei wesentliche Vorteile:

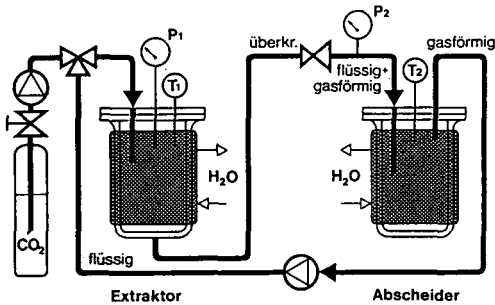
- hohe Dichten
- höhere Diffusionskoeffizienten als Flüssigkeiten
- niedrige Viskosität

Für die Extraktion von Bodenproben mit CO_2 konnte freundlicherweise eine Laborapparatur der Firma HAG AG benutzt werden.

Der schematische Aufbau des CO_2 -Hochdruckextraktors ist in Abb. 2 wiedergegeben.

Abb. 2:
Schematischer Aufbau einer CO_2
Hochdruck-extraktions-Anlage

CO_2 -HOCHDRUCKEXTRAKTION



Die Bodenprobe -ca.1 kg- wird in den 2l Edelstahlextraktor eingefüllt und das System mit CO_2 bis zu einer Dichte von $0,7 \text{ g/cm}^3$ aus einem Vorratsbehälter gefüllt.

Nach der Temperatureinstellung im Extraktor und Abscheider über einen Wärmetauscher wird mit einer Membranpumpe das CO_2 in Umlauf gebracht und die Abscheidung des Extraktes über ein Drosselventil eingeregelt. Als Untersuchungsmaterial dient eine Podsol B₁ Probe (Schneeberg, Fichtelgebirge) und eine A₁ Probe einer eutrophen Braunerde auf Basalt (Göttingen-Dransfeld Hoher Hagen).

Bei Verwendung von reinem CO_2 scheidet sich der Extrakt als sauberes, weißes Pulver ab; die Gesamtausbeute liegt jedoch bei nur ein bis zwei Prozent des extrahierbaren Kohlenstoffs.

Zur chemischen Charakterisierung wurden die Extrakte gaschromatographisch-massenspektrometrisch untersucht. Während sich der reine CO_2 -Extrakt wegen des zu hohen Molekulargewichts der Verbindungen zunächst nicht gaschromatographisch analysieren ließ, konnte nach 6h HCL-Hydrolyse eine homologe Reihe an Fettsäuren und Dicarbonsäuren nachgewiesen werden.

Dieser Befund deutet darauf hin, daß wir es ursprünglich mit einem Gemisch von hochmolekularen Fetten und Wachsen zu tun hatten.

Es scheint, daß die CO_2 -Extraktion zur Gewinnung reiner Extrakte unpolarer Stoffe aus komplexen Naturstoffgemischen die Methode der Wahl darstellt, während polare Komponenten höheren Molekulargewichts - wie sie in Huminstoffen vorkommen - unlöslich bleiben.

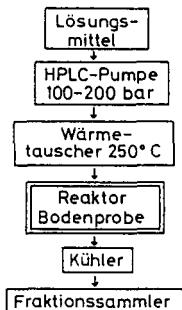
Hochsiedende, schwerflüchtige Naturstoffpolymere wie Lignin, Zellulose und Hemizellulose sind in vielen Fällen mit organischen Lösungsmitteln gar nicht oder nur in ganz geringen Mengen extrahierbar.

Während einige dieser Naturstoffe, z.B. Lignin oder Zellulose, als nachwachsende Rohstoffe zur Verfügung stehen, sind wir bei anderen Naturstoffen auf die vorhandenen Ressourcen angewiesen. Daher ist es wichtig, Verfahren zu entwickeln, mit denen diese Stoffe optimal genutzt werden können, was

zudem durch die ständig steigenden Rohstoffpreise von zunehmender Bedeutung ist. Unter diesen Gesichtspunkten scheint der Lösungsmittelaufschluß bei überkritischen Bedingungen eine interessante Alternative zu den herkömmlichen Verfahren bieten zu können.

In Abb. 3 ist der schematische Aufbau einer Destraktionsapparatur dargestellt. Zur Erzeugung des überkritischen Drucks wird Lösungsmittel über eine Hochdruckpumpe komprimiert und über Vorwärmekapillare in das Aufschlußrohr gepumpt. Über einen Kühler und ein zweistufiges Reduzierventil wird der Extrakt in der überkritischen Phase entspannt und als Flüssigkeit gesammelt.

Abb. 3:
Block-Diagramm zur Superkritischen Fluid Extraktion (SFE)



Um die Gesamtausbeute einer Extraktion von Bodenproben mit überkritischen Gasen zu ermitteln, wurde mit den Lösungsmittelgemischen Ethanol/Wasser, Methanol/Wasser und Aceton/Wasser im Verhältnis 4:6 gearbeitet.

Tabelle 1 informiert über die Ergebnisse hierzu.

Tabelle 1: Gesamtausbeute und Elementgehalte von Huminsäuren (HS) und Fulvosäuren (FS) im Vergleich zu superkritischen Fluid-Extrakten (SFE)

Probe	HS+FS		HS		FS		SFE		SFE	
	Ausbeute Gew.%		%C	%N	%C	%N	Ausbeute Gew.%		%C	%N
Podsol O _l	18,3		56,9	3,4	48,2	2,1	53,8		53,3	2,6
Podsol O _h A _h	15,6		55,8	2,5	47,2	1,1	40,7		49,4	1,4
Podsol B _h	4,7		55,3	2,6	49,1	0,9	11,1		54,3	2,2

Es fällt der hohe Anteil an extrahierbarem organischen Kohlenstoff im A₁ der Mullrendzina auf, da im Vergleich zur herkömmlichen NaOH/HCL-Extraktion auch bei der Anwendung von Lösungen hoher Ionenstärke die Gesamtausbeute immer unter 50 % bleibt. Bemerkenswert ist der niedrige Aschegehalt des durch Abdampfen des EthanoIs und Gefrietrocknung gewonnen Präparats. So gesehen erscheint das Verfahren der Hochdruck-Hochtemperatur-Extraktion auch unter dem Aspekt des zeitlichen Aufwandes und des Lösungsmittelverbrauchs interessant zu sein.

Je nach Wahl des Lösungsmittels und der Reaktionsbedingungen kann der Abbau der Huminstoffe thermisch oder solvolytisch gelenkt werden. Wie die Elementaranalysen zeigen, ist damit natürlich eine Veränderung der organischen Substanzen verbunden. Während der Podsol O₁ eine Zusammensetzung von 54,1 % C, 6,9 % H, 38,7 % O und 2,3 % N aufweist, enthält der Gesamtextrakt (Ethanol/Wasser) 60,1 % C, 6,6 % H, 31,5 % O und 1,9 % N. Man

erkennt, daß die größten Änderungen im C/O-Verhältnis auftreten. Dies ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß labile Sauerstoffverbindungen - wie beispielsweise die β -Benzylether-Bindung im Lignin - unter Methanol- bzw. Wasserabgabe gespalten werden und Zucker in ihre Dehydroderivate übergehen.

Ein weiteres Ziel der Untersuchung war es, durch den Einsatz verschiedener Lösungsmittel die Möglichkeit der gezielten Fraktionierung des Untersuchungsmaterials zu prüfen.

Wie die gaschromatographische-massenspektrometrische Analyse zeigt, lösen sich in Pentan hauptsächlich Fette und Wachs.

Wie zu erwarten, konnte eine Reihe homologer Fettsäuren von der Myristinsäure bis zur Lignocerinsäure in beachtlichen Mengen nachgewiesen werden, wobei die geradkettigen Vertreter dominieren.

Des weiteren lassen sich eine Reihe von Dicarbonsäuren nachweisen, die unter diesen Extraktionsbedingungen in Pentan löslich sind.

Da bekannt ist, daß viele Fettsäuren in Form von Estern an Glyceride gebunden sind oder in anderer komplexer Form vorliegen, wurde der Pentanextrakt einer sauren Hydrolyse unterzogen. Dabei zeigt sich, daß die Gehalte der meisten Fettsäuren relativ konstant bleiben. Es treten aber 2 neue Hauptkomponenten auf, die durch massenspektrometrische Analyse sowie durch Vergleich mit Referenzverbindungen als Fettsäuren mit einer endständigen Hydroxygruppe - sogenannte ω -Hydroxysäuren - identifiziert wurden (ω -Hydroxy-Tetradecansäure und ω -Hydroxy-Hexadecansäure).

ω -Hydroxy-Fettsäuren dieser Kettenlänge sind als strukturelle Bausteine des Cutins, eines pflanzlichen Fettpolymers der Cuticula, bekannt.

Die Ethanol-extrakte bestehen aus einem komplizierten Gemisch verschiedener Phenole, womit auch das rasche Nachdunkeln der Lösung beim Stehenlassen an Luft erklärt werden kann. Zudem kommen in dieser Fraktion leicht abbaubare Hemicellulosen vor. Mit überkritischem Ethanol läßt sich außerdem ein Großteil des Aminosäurestickstoffs isolieren. Aus dem Ethanol-Wasser-Extrakt kann nach Abdestillieren des Alkohols und Gefrier-trocknen der Lösung jeweils ein braunes amorphes Präparat gewonnen werden.

Eine Zusammenfassung der Ausbeutewerte für die einzelnen Fraktionen der überkritischen Gasextraktion findet sich in Tabelle 2. Die Bilanz von

Tabelle 2:
Stoffbilanz der verschiedenen Extraktionsfraktionen

Fraktion	Ausbeute in Gewichts-% der Einwaage		
	O _l	O _n A _n	B _n
I	13,1	9,0	1,4
II	14,6	9,1	3,3
III	3,6	2,4	1,0
IV	18,3	9,2	3,9
V	16,6	6,4	3,4
Σ I-V	66,2	36,1	13,0
Rückstand	22,5	55,5	83,5
Differenz zu 100%	11,3	8,4	3,5
NaOH-HCl Extraktion	18,3	15,6	4,7
Σ HS und FS			

extrahierten Stoffen und Rückstand im Extraktionsrohr einen ergibt Differenzbetrag von 11,3 %. Dieser Gewichtsverlust beruht auf der Bildung leicht flüchtiger Produkte bei der solvolytischen bzw. thermischen Spaltung von Bindungen.

Ein Vergleich mit der NaOH/HCl-Extraktion zeigt, daß die überkritische Gasextraktion der untersuchten Podsol-Proben etwa dreimal so wirkungsvoll ist.

Wie die osmometrische Molekulargewichtsbestimmung der mengenmäßig größten Fraktionen III, IV und V ergab, ist das mittlere Molekulargewicht so hoch, daß sich keine flüchtigen Derivate zur gaschromato-

graphischen Analyse bilden. Um aber wenigstens eine Vorstellung über die möglichen Grundkörper dieser Polymere zu erhalten, wurden sie wie die oxidierten Huminsäuren einem Permanganatabbau unterworfen. Als Hauptprodukte wurden Benzol- und Phenolpolycarbonsäuren identifiziert.

Nach den Erfolgen bei der Extraktion der hier dargestellten Böden mit überkritischen Fluids stellte sich die Frage, ob dieses Verfahren auch für mit herkömmlichen Methoden schwer extrahierbare Böden geeignet ist. Hierzu wurden vulkanische Ascheböden und Oxisole aus Mittel- und Südamerika ausgewählt (Proben Nr. 1-4).

In Tab. 3 sind einige Analysedaten der untersuchten Böden dargestellt

Tabelle 3:

Ausbeute an Huminsäuren (HS) und Fulvosäuren (FS) sowie an superkritischen Fluid-Extrakten (SFE) in % Gesamtkohlenstoff und % Gesamtstickstoff

Proben Nr.	%C	%C SFE	%C SFE	%N SFE	%N SFE
	HS+FS	MeOH/H ₂ O	Aceton/H ₂ O	MeOH/H ₂ O	Aceton/H ₂ O
1	9,7	50,3	55,9	69,9	72,8
2	10,1	36,5	43,6	63,5	66,8
3	9,4	55,1	43,7	77,7	66,8
4	7,2	62,7	73,2	72,4	69,2

und in Tab. 4 die auf den extrahierbaren Kohlenstoff und Stickstoff

Tabelle 4:

Kohlenstoff- und Stickstoffgehalte von Fulvosäuren (FS), Huminsäuren (HS) und superkritischen Fluid-Extrakten (SFE)

Proben Nr.	HS		FS		SFE MeOH/H ₂ O		SFE Aceton/H ₂ O	
	%C	%N	%C	%N	%C	%N	%C	%N
	1	54,9	4,4	50,6	3,3	55,3	7,3	57,3
2	54,4	5,5	42,8	2,0	54,1	6,9	58,1	6,3
3	53,1	3,9	44,2	2,9	47,3	3,8	49,4	4,6
4	52,2	3,8	43,9	2,1	49,6	5,5	53,3	3,6

bezogenen Prozentzahlen wiedergegeben.

Für diese Böden wurden die Systeme Methanol/Wasser und Aceton/Wasser zur Extraktion herangezogen. Es fallen sowohl die 3 bis 5 mal so hohen Ausbeuten an extrahierbarem Kohlenstoff auf, als auch die beachtlich hohen Stickstoffgehalte. Den Hauptteil stellt dabei der Aminostickstoff, was mit Hilfe eines Aminosäure-Autoanalysers nachgewiesen wurde.

Diese Versuche verdeutlichen, daß das hier vorgestellte Verfahren für die Humuschemie schwer extrahierbarer Böden neue Chancen bietet.

Ein weiteres Arbeitsgebiet der SFE-Methode bietet sich im Bereich der Pestizid-Analyse an.

Die Extraktion von Pestiziden aus Böden wird durch die starke Adsorption an die organische und anorganische Materie wesentlich erschwert. Der im Boden gebundene Rückstand ist jener nicht extrahierbare Anteil, der an Fulvosäuren, Huminsäuren und Huminen auch nach erschöpfender Extraktion zurückbleibt.

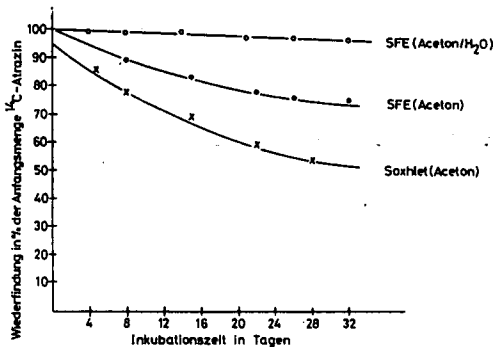
Der gebundene Rückstand kann langsam von Mikroorganismen abgebaut werden, Regenwürmer können ihn in ihrer Biomasse ebenso anreichern, wie Pflanzen. Dies zeigt, daß der gebundene Rückstand durchaus eine Rolle im biochemischen Kreislauf der Bodenflora und -fauna spielt, und seine Bestimmung von ökologischer Relevanz ist.

Bei dem üblichen Verfahren zur quantitativen Bestimmung des gebundenen Rückstandes wird der Boden mit einem radioaktiv markierten Pestizid versetzt, erschöpfend extrahiert, und aus der Menge des bei der Veraschung des Rückstandes freigesetzten $^{14}\text{CO}_2$ auf den Gesamtgehalt des gebundenen Anteils geschlossen. Um Informationen über die chemische Natur des adsorbierten Restes zu erhalten, schlagen Khan et al. (1980) eine Hochtemperatur-Destillation des Bodenextraktes unter Schutzgasatmosphäre vor. Diese Methode versagt jedoch bei mineralischen Horizonten und kann deshalb gerade bei landwirtschaftlich genutzten Böden, wo die Rückstandsanalytik der Pestizide von besonderer Bedeutung ist, nicht angewendet werden.

Ziel eigener Untersuchungen war es daher zu prüfen, ob das in Böden gebundene Pestizid mit überkritischen Gasen erfaßt werden kann, und sich damit eine Möglichkeit zur Strukturbestimmung des Rückstandes bietet. Hierzu wurde jeweils eine Probe eines landwirtschaftlich genutzten Bodens bei konstanter Temperatur (28 °C) unter aeroben Bedingungen 4 - 6 Wochen inkubiert.

Mit fortschreitender Versuchsdauer wurde jeweils eine Probe a) mit Aceton im Soxhlet extrahiert b) mit überkritischem Aceton und c) mit überkritischem Aceton/Wasser in der Hochdruck-Apparatur behandelt. Die Restaktivität des Rückstands wurde radiochemisch ermittelt. Die graphische Darstellung der Ergebnisse für Atrazin zeigt, daß bereits nach einem Monat nur mehr 50 % der ursprünglichen Aktivität meßbar ist. Mit der SFE-Methode ist bei Anwendung von Aceton eine Steigerung auf 80 % möglich, während mit Aceton/Wasser-Gemischen fast die gesamte eingesetzte Aktivität wiedergefunden wird (Abb. 4).

Abb. 4: Wiederfindungsraten für die Extraktion von ^{14}C -markiertem Atrazin in Abhängigkeit von Extraktionsmethode Versuchsdauer



Bei der gaschromatographischen Analyse der gewonnenen SFS's hinsichtlich Atrazin und Metaboliten ergaben sich jedoch zum Teil niedrigere Wirkstoffkonzentrationen als in den Soxhlet-Extrakten. Dies deutet darauf hin, daß Atrazin möglicherweise während der Extraktion zerstört wird. Tatsächlich konnten die Ergebnisse durch eine Änderung der Extraktionsbedingungen von 250 °C/200 bar auf 210 °C/200 bar (d.h. unterhalb der kritischen Daten) wesentlich verbessert werden.

30 % der extrahierten Radioaktivität enthalten unverändertes Atrazin.

Literatur: Khan, S.U. und H.A. Hamilton, J. Agr. Food Chem 28, 126-132 (1980)



Genese und Analyse von Ton-Huminstoff-Komplexen

von

1. Einleitung

Tadjerpisheh, N.⁺⁾

Neben den Huminstoffen gehören die Tonminerale zu den wichtigsten Bodeninhaltsstoffen. Sie können aufgrund ihrer geochemischen und kristallstrukturellen Eigenschaften unterschiedliche organische Verbindungen an Kanten, äußeren Basisflächen und in den Zwischenschichträumen adsorbieren und diese, wie an Modellversuchen gezeigt werden konnte, auch teilweise katalytisch verändern (THENG 1974, ZIECHMANN 1980, TADJERPISHEH 1983, TADJERPISHEH et al. 1984).

Nach GREENLAND (1965) liegt der Anteil des so an Tonmineralmatrix gebundenen organischen Materials zwischen 50-90 % des gesamten Kohlenstoffes im Boden. Entsprechend den chemischen Eigenschaften der beteiligten Komponenten kommen verschiedene Bindungstypen für diese Wechselwirkung in Betracht, die von zahlreichen Autoren für Modellkomplexe diskutiert werden.

Trotz der offensichtlichen Erfolge, die die Auswertung von Modellversuchen erbracht hat, ist es ersichtlich, daß erst die Analyse synthetischer und natürlicher tonorganischer Komplexe weiterführende Aussagen über die vorliegenden Bindungsverhältnisse für diese Stoffgruppe ermöglichen kann. Daher wird im Folgenden über die Genese und Analyse von Ton-Huminstoff-Komplexen im Hinblick auf die neugewonnenen Ergebnisse berichtet.

2. Genese

Unter Ausnutzung der katalytischen Eigenschaft der Tonminerale wurden in Modellversuchen tonorganische Komplexe durch die Wechselwirkung von Hydrochinon (ZIECHMANN 1980), natürlichen Huminstoffen (Huminsäure-Vorstufen HsV) (ESLAM-KISCH 1981) mit Tonmineralen hergestellt. Die Tonmineralzwischenschicht fungiert bei diesen Autoxidationsvorgängen (Einleitung der Huminstoffgenese bzw. Veränderung der Huminsäure-Vorstufe zu Huminsäure) als E-Acceptor, wobei der entstehende Huminstoff durch E-Donator-Acceptor-Beziehung, H-Brückenbindung und Van der Waal's Kräfte in der Zwischenschicht gefangen wird. Durch weitere Elektronenübergänge pflanzt sich die Huminstoffgenese "sektkorkenartig" in den Außenraum fort. Die Abbildung 1 verdeutlicht die ablaufenden Prozesse bei der

+) Inst. f. Bodenwissenschaften ; Abt.: Chemie und Biochemie im System Boden,
Von-Siebold-Str. 2, D 3400 Göttingen

Genese der tonorganischen Komplexe .

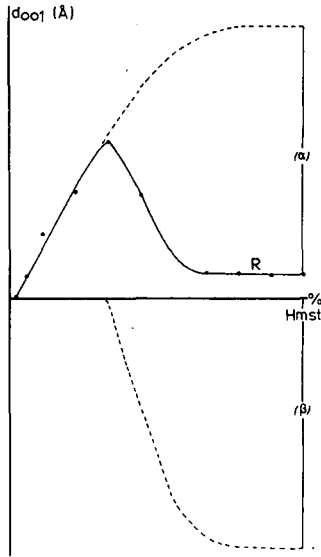


Abb.1: Die d_{001} -Werte von tonorganischen Komplexen (mit Na-Bentonit) in Abhängigkeit von den zugesetzten Huminstoffen(Hmst.)(ESLAM-KISCH 1981)

Wie die Kurve R zeigt ,erreicht die Gittererweiterung schnell ein Maximum(15,04 Å bei 1,5 % Hmst.). Danach setzt trotz eines vermehrten Zusatzes von Huminstoffen eine Verminderung des Gitterabstandes ein. Es handelt sich hier um zwei gegenläufige Teilvorgänge, wie die Zerlegung der Kurve R zu zeigen vermag .

Der Teilvorgang α führt zur Erweiterung des Gitterabstandes und ist auf die Einlagerung der Huminsäure-Vorstufen in die Zwischenschichtträume zurückzuführen . Von einer bestimmten Huminstoffkonzentration (1,5 % Hmst.) an überwiegt die Gitterenergie des Tonminerals, und eine Mehraufnahme kann nicht mehr erfolgen . Trotz weiteren Zusatzes von Huminstoffen bleibt die Gitteraufweitung nun konstant. Der gegenläufige Prozeß β führt zu einer Verminderung des Gitterabstandes und setzt ein, nachdem die Aufweitung ihr Maximum erreicht hat, d.h. die Kapazität des Tonminerals erschöpft ist. Das ist der Beginn für eine " sektorkorkenartige" Erweiterung des tonorganischen Komplexes in den Außenraum über zwischenmolekulare Kräfte. Die Abbildung 2 gibt die bei der Genese von tonorganischen Komplexen ablaufenden Prozesse schematisch wieder .

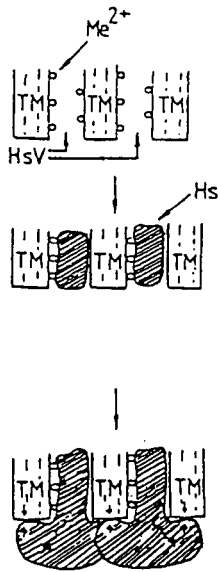


Abb.2: Schematische Darstellung der ablaufenden Prozesse bei der Genese der tonorganischen Komplexe

3. Analyse

Nun konnte unter Einsatz von unterschiedlichen Trennmaßnahmen, nämlich mit Hilfe von Extraktion mit diversen Lösungsmitteln und Ultraschallbehandlung (US) die so gebundene organische Substanz von der Tonmineralmatrix abgetrennt werden (Abb. 3) (TADJERPISHEH 1983).

In der Tabelle 1 ist der organische Kohlenstoffgehalt in natürlichen tonorganischen Komplexen nach den unterschiedlichen Behandlungsverfahren zusammengestellt. Wie aus der Tabelle zu ersehen ist, wurde durch den Einsatz von Ultraschall fast der gesamte organische Kohlenstoff abgetrennt .

Um die gewonnenen Ergebnisse zu ergänzen, wurden auch synthetische tonorganische Komplexe (gewonnen aus Hydrochinon und Ca-Bentonit) diesen Trennmaßnahmen unterworfen .

Die " sektorkorkenartigen " Stülpungen konnten hierbei durch Extraktion mit organischen Lösungsmitteln abgetrennt werden (von 4,56 % C_{org.} vor der Extraktion auf 2,72 % C_{org.} nach der Extraktion). Die Gitteraufweitung bleibt bestehen. Die in den Zwischenschichten gebundene Substanz wurde durch Ultraschallbehandlung in Wasser gewonnen . Der Schichtabstand kontrahierte von 15,22 Å auf die ursprüngliche Gitteraufweitung von 14,71 Å und behielt diesen Wert mit zunehmender Behandlungsdauer bei (Abb.4) .

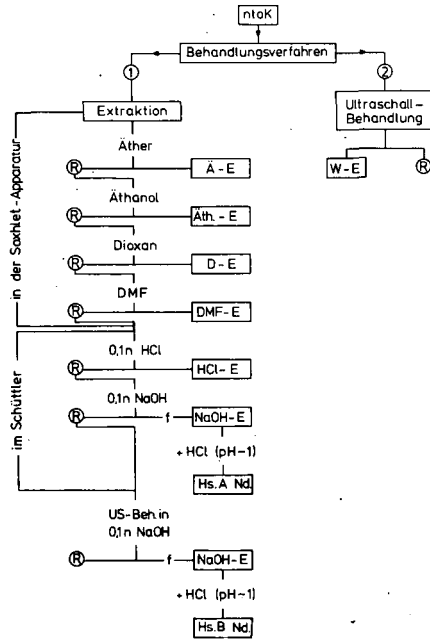


Abb.3: Schematische Darstellung der Arbeitsgänge bei der Behandlung der natürlichen tonorganischen Komplexe(ntoK)

Tab.1: % organischer Kohlenstoff in den natürlichen tonorganischen Komplexen nach den unterschiedlichen Behandlungen

Behandlung	1.1 ¹⁾	1.2	2.1	2.2	3.1	3.2
unbehandelt	5,03	6,21	2,86	4,10	1,73	2,52
Ultraschallbehandlung (in H ₂ O)	1 ²⁾	4,95	6,17	2,80	3,63	1,62
	2	4,74	6,05	2,40	3,54	1,46
	3	4,81	5,76	2,60	3,57	1,51
nach der Extraktion mit organischen Lösungsmitteln und NaOH	0,75	2,35	0,60	0,90	0,72	0,98
nach der Extraktion mit org.Lösungsmitteln und anschließender Ultraschallbehandlung in NaOH	0,19	0,29	0,04	0,02	0,13	0,06

1) 1.1= Carbonat-Anmoor (0,2-0,63μ); 1:2= Carbonat-Anmoor(0,63-2,0μ); 2.1 und 2.2= Schwarzerde; 3.1 und 3.2 = Rendzina
 2) 1= 5 min. 2= 15 min. 3= 30 min.

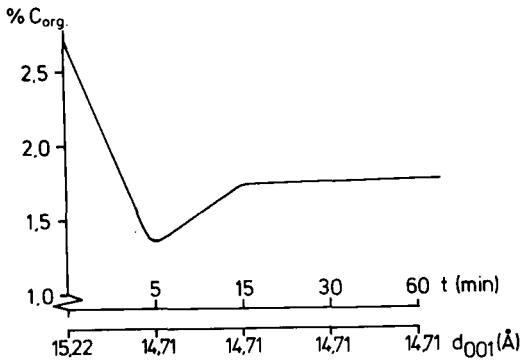


Abb.4: Die d_{001} -Werte und % organischer Kohlenstoffgehalt der synthetischen tonorganischen Komplexe in Abhängigkeit von Ultraschallbehandlungsdauer in Wasser

Ab 5 Minuten Ultraschallbehandlung steigt der C_{org} -Gehalt in den Restkomplexen wieder an (Abb.4). Parallel hierzu erfolgt eine zunehmende Aggregatbildung der Restkomplexe (TADJERPISHEH 1983).

4. Schlußfolgerungen

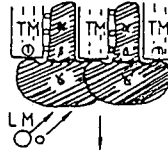
Die Genese der tonorganischen Komplexe erfolgt über verschiedene Phasen der Huminstofffixierung an Tonmineralmatrix. Durch Ultraschall (US) und Extraktion mit diversen Lösungsmitteln wurden tonorganische Komplexe sukzessiv in Ihre Bestandteile zerlegt .

Die gewonnenen Ergebnisse lassen auf eine sehr feste Bindung von Huminstoffen an Tonmineralmatrix schließen und 3 verschiedene Bindungsformen bei den gebundenen Organica unterscheiden (Abb. 5) :

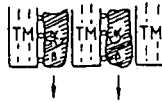
- a) Locker gebundene Organica an Kanten und an äußeren Oberflächen
" Huminsäure-Vorstufen , HsV " (γ -Anteile)
- b) Fest gebundene Organica in den Zwischenschichten " Huminsäuren, Hs.A " (β -Anteile)
- c) Fester gebundene Organica tief in den Zwischenschichträumen
" Huminsäuren, Hs.B " (α -Anteile)

Es ist anzunehmen, daß in natürlichen tonorganischen Komplexen alle diese 3 Phasen gleichzeitig vorliegen .

- 1) Abtrennung der "sektkorkenartigen" Ausstülpungen durch Extraktion mit OLM und Ultraschallbehandlung in Wasser. Gitteraufweitung bleibt bestehen.



- 2) Isolierung der fest gebundenen Organica durch weitere Ultraschallbehandlung der Restkomplexe. B-Anteile werden bei ntoK durch NaOH-Extraktion und α -Anteile aber erst durch US-Behandlung der Restkomplexe in NaOH herausgelöst.



- 3) Wiederbindung der isolierten Organica durch weitere US-Behandlung.

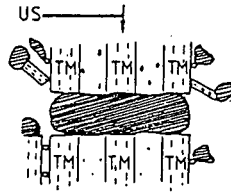


Abb.5: Schematische Darstellung der Vorgänge bei der Ultraschallbehandlung der tonorganischen Komplexe

5. Literatur

- ESLAM-KISCH, T. (1981) : Tonorganische Komplexe in natürlichen Systemen .
Diss. TU Clausthal.
- GREENLAND, D.J. (1965) : Interaction between Clays and organic Compounds in soil. Soil and Fert. 28;412-425
- TADJERPISHEH, N. (1983) : Die Analyse der Struktur natürlicher tonorganischer Komplexe durch Trennmaßnahmen und anschließende chemische und physikalische Untersuchungen. Diss. TU Clausthal.
- TADJERPISHEH, N. und W. ZIECHMANN (1984) : Veränderung und Fixierung von Lignin durch Ca-Bentonit. Z. Pflanzenernaehr. Bodenk. 147(5), 627-634
- ZIECHMANN, W. (1980) : Huminstoffe (Probleme, Methoden, Ergebnisse). Verlag Chemie Weinheim, Deerfied Beach, Florida, Basel.

Maßnahmen gegen Wachstumshemmungen
durch Ernterückstände

von

Weichelt, Th.*

Einleitung: Wachstumshemmungen sind in der landwirtschaftlichen Praxis ein allgemein beobachtetes Phänomen. Als Ursache dafür werden jedoch vielfach ausschließlich Nährstoffentzüge bei der Verrottung durch Ernterückstände angesehen, wobei dem C/N-Verhältnis eine dominierende Rolle zugeschrieben wird. Obwohl diesen Annahmen prinzipiell nichts entgegensteht, gibt es dennoch eine weitere Ursache für Wachstumshemmungen, nämlich schädliche Pflanzeninhaltsstoffe in Ernterückständen. Hierfür konnte eine Reihe von Nachweisen gefunden werden.

Befunde von Wachstumshemmungen durch Pflanzeninhaltsstoffe:

- Durch Entfernen von Stroh nach der Ernte fiel das Jugendwachstum von W-Gerste im Vergleich zur mit Stroh "gedüngten" Restfläche besser aus.
- In Gefäßversuchen verschlechterte sich durch Zugabe von Stroh bei verschiedenen Testpflanzen (Kresse, W-Raps, Getreidearten) der Keimaufbau. Aufgrund günstiger Nährstoffversorgung, vor allem mit Stickstoff, aber auch durch Aufsprühen von Fe-, Cu- und Zn-Sulfaten auf Stroh konnten diese Wachstumshemmungen reduziert werden.
- Kulturen mit *Chlorophytum comosum*, einer Coleus- sowie Hederaart in Leitungswasser ergaben drastische Wachstumsstörungen, wenn diesen frisches Getreidestroh zugegeben wurde.

* Abt. Chemie und Biochemie im System Boden -Lehrgebiet Chemie-Institut für Bodenwissenschaften der Georg-August-Univ. Göttingen

Die Pflanzen starben nach einigen Wochen ab, während die ohne Stroh Blüten- und Fruchtbildung zeigten. Nach Zufuhr von Fe-, Cu- und Zn-Sulfat verminderten sich die Wachstumshemmungen.

- Bekannte Pflanzeninhaltsstoffe (s. Tab. 1) führten bei Gartenkresse zu Keimaufschäden.
- Feld-Exakt-Versuche an Phacelia zur Beurteilung des Keimauflaufes ergaben bezüglich Anzahl der Pflanzen pro Fläche und TS-Ertrag im Jugendstadium wiederum positive Effekte, wenn Fe-, Cu- und Zn-Sulfat vor der Einbringung des Strohes aufgesprüht wurden (Weichelt, 1985).
- Durch spektroskopische und dünnschichtchromatographische Untersuchungen in Kombination mit speziellen Anfärbereagenzien konnte aufgezeigt werden, daß wässrige Strohextrakte aromatische Stoffe (Phenole, Chinone sowie Aldehyde und Ketone) enthalten. Diese können auf Pflanzen wachstumshemmend wirken. Die wässrigen Strohextrakte sowie parallel als Testsubstanzen verwendetes Phenol und Chinon setzen sich mit $\text{FeSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$ um. Dabei waren Humifizierungsprozesse maßgeblich beteiligt (Weichelt u. Behmel, 1985).

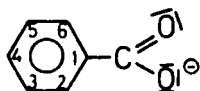
Ursachen für Wachstumshemmungen: Für Wachstumshemmungen durch Inhaltsstoffe in Ernterückständen kommt eine Fülle von Substanzen infrage, die hier keineswegs dargestellt werden können. In Tab. 1 und 2 sind schädliche Stoffe zusammengefaßt, die phenolische, carboxylische und teilweise auch methoxylische Struktur besitzen. Sie kommen in Pflanzenresten frei oder verestert vor und entstehen auch beim Abbau von Ligninen im Boden.

Gegenmaßnahmen: Da i.d.R. giftige Inhaltsstoffe in Pflanzenresten durch gezielte Kulturmaßnahmen nicht vermieden werden können, muß nach der Ernte eine rasche Umwandlung der wachstumshemmenden Stoffe zu unschädlichen oder gar nützlichen erreicht werden.

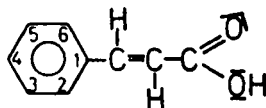
Wachstumshemmungen sind vor allem nach den ersten größeren

Tab. 1

Hydroxybenzoe- und Hydroxyzimtsäuren



Hydroxybenzoesäure



Hydroxyzimtsäure

Substituten	Trivialname	UV-Maxima (nm)	Eichfaktor
	Hydroxybenzoesäuren		
2-OH	Salicylsäure	207, 236, <u>305</u>	1.74
3-OH	m-Hydroxybenzoe- säure	210, 234, <u>298</u>	2.60
4-OH	p-Hydroxybenzoe- säure	207, <u>253</u>	0.49
2,3-di-OH	o-Pyrocatechus- säure	213, 246, <u>318</u>	2.43
2,4-di-OH	β-Resorcylsäure	210, 256, <u>295</u>	1.34
2,5-di-OH	Gentisinsäure	212, 230sh, <u>330</u>	1.78
2,6-di-OH	γ-Resorcylsäure	216, 249, <u>317</u>	2.47
3,4-di-OH	Protocatechusäure	217sh, <u>258</u> , 295	0.82
3,5-di-OH	α-Resorcylsäure	215, 250, <u>310</u>	2.88
3,4,5-tri-OH	Gallussäure	215, <u>221</u>	0.89
2,4,6-tri-OH	Phloroglucinsäure	220, <u>261</u> , 297	0.61
3-OCH ₃ , 4-OH	Vanilinsäure	207, 216, <u>258</u> , 290	0.81
3-OH, 4-OCH ₃	Isovanilinsäure		
3,5-di-OCH ₃ , 4-OH	Syringasäure	219, <u>272</u>	0.88
	Hydroxyzimtsäuren		
2-OH	o-Cumarsäure	214, 273, <u>325</u>	0.98
3-OH	m-Cumarsäure	214, 232, <u>276</u> , 312sh	0.44
4-OH	p-Cumarsäure	210, 223, 293sh, 302sh	0.40
3,4-di-OH	Kaffeensäure	217, 240, 297sh, <u>325</u>	0.56
3-OCH ₃ , 4-OH	Ferulasäure	217, 233, 297sh, <u>320</u>	0.58
3-OH, 4-OCH ₃	Isoferulasäure	217, 240, 292, <u>322</u>	0.64
3,5-di-OCH ₃ , 4-OH	Sinapinsäure	225sh, 235, <u>322</u>	0.61

Anmerkung: sh = Schulter; Hauptmaxima sind unterstrichen

Eichfaktor = einer Extinktion von 0,500 entsprechenden Menge in mg/100ml Methanol

nach Literatur: HASLAM, E.R.; D. HAWORTH and D.A. LAWTON (1963):

Gallotannins VIII. The preparations and properties of some galloyl esters of quinic acid. J. Chem. Soc. (London) 2173-2181

HORMANN, I. and R. VIANI (1972): The nature and conformation of the coffeine-chlorogenate complex of coffee. J. Food Sci., **32**, 925-927HERMANN, K. (1978): Hydroxybenzoesäuren enthaltende Naturstoffe in Pflanzen. Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe, **35**, 73-132

Tab. 2 Produkte von Kiefer- und Fichtenlignin durch Weißrottepilze gebildet

Produkte	Pilzgruppe A		Pilzgruppe B	
	Ligninisolierung			
	Brauns lignin	Milled wood Lig.	Brauns Lignin	Milled wood Lig.
- HBS → Vanilinsäure	+	+	+	+
- HBS → p-Hydroxybenzoesäure	+	+	+	+
- HZS → Ferulasäure	-	-	+	+
4-Hydroxy-3-methoxyphenylpyrovat	-	-	+	+
- HZS → p-Hydroxyzimtsäure	+	+	+	+
Guaiacylglycerol	-	-	-	-
Vanilin	+	+	+	+
Dehydrodivanilin	+	+	+	+
Coniferylaldehyd	+	+	+	+
p-Hydroxycinnamaldehyd	+	-	+	+
Guaiacylglycerol- β -0-4 coniferylalkohol	-	-	+	+

Pilzgruppe A = Polyphenoxidasereich: Polyporus hirsutus, Polyporus versicolor, Poria subacida

Pilzgruppe B = Polyphenoxidasearm: Poria subacida, fomentarius, Fomes annosus, Frametes pini

HBS = Hydroxybenzoesäure

HBZ = Hydroxyzimtsäure

aus Sarkanen u. Ludwig, 1971, modifiziert

Tab. 3 Zur Untersuchung von Wachstumshemmungen
(Auflauf und Trockensubstanz bei S-Raps, HORSCH-System) 1985

Varianten	Strohreste I (viel) vom Vorjahr				II wie I aber 100 dt/ha W-Weizenstroh gleich nach der Einsaat oben auf, nicht eingearbeitet			
	Auflauf		Trockensubst.		Auflauf		Trockensubst.	
	Anz. Pfl. m ²	rel.	g	rel.	Anz. Pfl. m ²	rel.	g	rel.
NULL, Vergleich (unbehandelt) außer Stroh bei II	230,2	100	12,9	100	267	100	12,0	100
Harnstoff 50 kg/ha	189,3	82,8	19,9	154,3	222,5	83,3!	18,9	157,5
Mischung aus 50 kg/ha Harnstoff 75 kg/ha Eisensulfat (getrocknet) 7 kg/ha Dicyandiamid 1 kg/ha Kupfersulfat 0,75 kg/ha Zinksulfat	253,7	110,2	15,7	121,7	279,5	104,7	15,1	103,1
Kohlensaurer Kalk (85 % CaCO ₃)	3 dt/ha	118	51,3	—	187,5	70,2!	10,5	87,5
	10 dt/ha	151	66	6,1	47,3	—	—	—
	30 dt/ha	70	30,4	3,1	24!	—	—	—

4 Parallelen
Parzellengröße 2 x 7 m
Schwarzerde/Fehmarn

Landwirt: Michael Mackeprang
Meeschendorf/Westfehmarn

Niederschlägen auf mit "Stroh gedüngten " Flächen beobachtbar. Es liegt deshalb nahe, daß viele Giftstoffe wasserlöslich sind und den Standort relativ schlagartig verseuchen können.

Hinsichtlich der Art der chemischen Umwandlung von schädlichen Inhaltsstoffen sollte insbesondere Humifizierungsvorgängen Vorschub geleistet werden, jedoch können prinzipiell auch andere chemische Umsetzungen günstig sein.

Nach den vorliegenden Ergebnissen von Feld-Exakt-Versuchen mit Phacelia (Weichelt, 1985) im üblichen Ackerbau und mit S-Raps nach Anwendung des HORSCH-Verfahrens (zusammengefaßt in Tab. 3), verminderten Fe-, Cu- und Zn-Sulfat $\cdot X H_2O$ auf Stroh gespritzt Wachstumshemmungen. Diese Befunde stehen im Einklang mit denen der beschriebenen Gefäß-Exakt-Versuche und Wasserkulturen.

Die geschilderten Erkenntnisse wurden bei der Entwicklung eines Spezialdüngers zur verbesserten Verwertung von Stroh im Acker- und Pflanzenbau (Teilzersetzung auf dem Felde, Förderung der Verrottung, Reduzierung von Fußkrankheiten, Mehrertrag) berücksichtigt (Gebhardt, 1984, Weichelt, 1984, Weichelt u. Gebhardt 1985).

Literatur:

- Gebhardt, H. (1984): Feld-Exakt-Versuch mit dem neuen Stroh-Verwertungs-Dünger. Hann. Land-u. Forstw. Z., 36,31
- Sarkanen, K. und C.H. Ludwig: Lignins, Wiley Interscience, New York, 1971
- Weichelt, Th. (1985): Dünger zur verbesserten Verwertung von Stroh im Zwischenfurchtanbau, auch mit Gülle. (Agrochimica, in Druck)
- Weichelt, Th. und P. Behmel (1985): Wachstumshemmungen durch Stroh. (Agrochimica, in Druck)

Ich danke allen, die bei dem Feld-Exakt-Versuch hilfreich waren, insbesondere dem Landwirt Michael Mackeprang, Meschendorf/Westfehmarn

CPMAS-¹³C-NMR-Spektren von Oxisol- und
Terra preta-Humus

von
Zech, W. *)

1) Einleitung und Problemstellung

Im Amazonastiefland gibt es in großer Verbreitung Oxisols. Daneben ist als Besonderheit die nur kleinflächig vorkommende Terra preta do indio (= Indianerschwarzerde) zu erwähnen. Es handelt sich um einen schwarzerdeähnlichen, anthropogenen Boden von hoher nachhaltiger Fruchtbarkeit. In seiner Tonmineralgarnitur überwiegen wie im Oxisol die Kaolinite; auch die Schwermineralverteilung läßt keine lithogene Differenzierung zu. Die chemische Kennzeichnung ergibt für die oberen 20 cm des Mineralbodens folgenden Befund (in Klammern die entsprechenden Werte für Oxisols):

$C_{\text{Org}} = 6 - 9 \%$ (1 - 3), $N_t = 4 - 6,8$ (1 - 2,7), $C/N = 14 - 15$ (10 - 11), $KAK = 41 - 44$ mval/100 g Boden (9 - 15), $Ca_{\text{austb.}} = 20 - 39$ mval/100 g Boden (Spuren), $P_t = 2000$ ppm (200) und $pH = 5,6 - 6,3$ (3,7 - 4,0). Die Nachhaltigkeit dokumentiert sich in einer deutlich verminderten CO_2 -Mineralisationsrate (ZECH et al., 1979).

Da GC-MS-Studien keine Unterschiede zwischen Terra preta- und Oxisol-Humus erkennen ließen, interessierte die Frage, ob mit Hilfe der NMR-Spektroskopie eine humuschemische Differenzierung vorzunehmen ist.

*) Lehrstuhl für Bodenkunde und Bodengeographie, Universität Bayreuth, Postfach 3008, D-8580 Bayreuth

2) Untersuchungsmaterial und Methoden

Untersucht wurden Terra preta- und Oxisol-Profile aus Santarem, Brasilien. EMBRAPA-GTZ in Belém danken wir verbindlichst für die Hilfestellung bei der Beschaffung der Bodenproben. Herr Dr. Förster, Bruker, erstellte freundlicherweise die CPMAS-¹³C-NMR-Spektren der Oberböden (0 - 20 cm) an einem 300 MHz-Gerät. Im einzelnen gilt:

	Abbildungen			
	1 a	1 b	2 a	2 b
Sendefrequenz (MHz)	75,5	75,5	75,5	75,5
Spektrale Weite (Hz)	31250	31250	125·10 ³	125·10 ³
Anzahl der Messungen	29453	6522	22550	5700
Aquisition time (sec)	0,008	0,008	0,002	0,002
Kontaktzeit (m sec)	0,7	0,7	1	1
Rotationsfrequenz (KHz)	4,5	4,75	4,5	4,5

Die Interpretation der Abb. 1 und 2 erfolgt in Anlehnung an PRESTON und SCHNITZER (1984), DEREPEPE et al. (1980) und FRÜND (1985).

3) Ergebnisse

Der dominierende Peak in Abb. 1 a mit einer chemischen Verschiebung von etwa 70 ppm ist auf Polysaccharide zurückzuführen. Zusammen mit dem Signal bei 103 ppm beweist er, daß Oxisol-Humus besonders reich an Kohlehydraten ist. Auffallend ist des weiteren ein scharfes Signal bei 175 ppm. Es ist durch Carboxyl-, Ester- und Amidgruppen bedingt. Relativ breite Peaks kennzeichnen den Bereich zwischen 0 - 50 ppm, der für Alkane typisch ist; am deutlichsten ist das auf Polymethylengruppen (-CH₂-)_n zurückzuführende Signal bei 30 ppm. Der Gehalt an Aromaten (chemische Verschiebung zwischen 110 - 160 ppm) erscheint niedrig. Die Peaks bei 130 und 117 ppm dürften von Ligninbausteinen herrühren, deren Methoxygruppe das Signal bei 56 ppm verursacht.

Im Gegensatz zum Oxisol-Humus weist Terra preta-Humus hohe Signale bei 130 und 175 ppm auf; außerdem sind im Bereich nahe 190 ppm zahlreiche kleinere, jedoch markante Peaks zu erkennen. Zwischen 0 - 50 ppm werden die Signale etwas schwächer, jedoch

schärfer. Daraus folgt: Terra preta-Humus ist im Gegensatz zu Oxisol-Humus reicher an alkylsubstituierten Benzol- und Chinonderivaten sowie reicher an Carboxyl-, Ester- und Amideinheiten, während die Gehalte an aliphatischen Gruppen niedriger sind. Der Aldehyd- und Ketonbereich um 190 ppm erscheint im Terra preta-Humus etwas deutlicher ausgeprägt.

Überblickt man diese Ergebnisse, so gilt, daß Oxisol-Humus nach Abb. 1 a ähnlich aufgebaut ist wie Fulvosäuren, während Terra preta-Humus (Abb. 1 b) ein für Huminsäuren typisches ^{13}C -NMR-Spektrum aufweist. Möglicherweise hat der Input von Ca, P, N und reichlich organischer Substanz die mikrobiellen Prozesse in Richtung auf verstärkte Huminsäure-Produktion gelenkt.

Studiert man nur die NaOH-Extrakte NMR-spektroskopisch, so dominieren im Terra preta-Humus wiederum aromatische C-C- und C=O- sowie aliphatische $-\text{CH}_2$ -Bindungen, während der Polysaccharid-Anteil stark abnimmt und um 170 - 175 ppm 2 Signale entstehen. Darüber soll an anderer Stelle ausführlich berichtet werden.

Abschließend diskutiere ich noch die Spektren in Abb. 2. Es handelt sich um die CPMAS- ^{13}C -Spektren von Huminen aus Oxisol- und Terra preta-Humus. Man erkennt deutliche Unterschiede im Aromaten-, Polysaccharid- und Aliphatenbereich. Oxisol-Humine enthalten nämlich mehr aliphatische CH_2 -Gruppen (30 ppm) und reichlich Kohlehydrate (70 ppm). Im Gegensatz dazu überwiegen die alkylsubstituierten Benzol- und Chinonderivate (130 ppm) in den Terra preta-Huminen. Sie zeigen außerdem kaum phenolische Strukturen, die in Oxisol-Huminen bei 150 ppm auftreten. Die Signale um 175 ppm (Carboxyl-, Ester- und Amidgruppen) sind in beiden Fällen etwa gleich stark ausgeprägt. In der Zwischenzeit ist es uns gelungen, durch Extraktion mit organischen Lösungsmitteln den besonders wichtigen Bereich um 130 ppm in eine Vielzahl einzelner Signale aufzulösen, deren Zuordnung jedoch noch nicht befriedigend gelöst ist.

Folgerungen

Die höhere Stabilität des Terra preta-Humus korreliert mit seinem ausgeprägten "Huminsäure-Charakter". Es ist anzunehmen, daß Stimulation der Mikroorganismen durch Applikation von Ca, P,

N und reichlich organischer Substanz die Entstehung höherpolymerer aromatischer Strukturen begünstigt.

Literatur

- DEREPPE, I.-M., MOREAUX Cl. und DEBYSER, Y. (1980): Investigation of marine and terrestrial humic substances by ^1H and ^{13}C nuclear magnetic resonance and infrared spectroscopy. Organic Geochemistry 2, 117 - 124
- FRÜND, R. (1985): Charakterisierung von natürlichen und chemisch modifizierten Humusfraktionen mit Hilfe der kernmagnetischen Resonanz. Diplomarbeit, Institut für Biophysik und Physikalische Biochemie, Universität Regensburg
- PRESTON, C. M. und SCHNITZER, M. (1984): Effects of chemical modifications and extractions on the carbon-13-NMR spectra of humic materials. Soil Sci. Soc. Am. J. 48, 305 - 311
- ZECH, W., PABST, E. und BECHTOLD, G. (1979): Analytische Kennzeichnung der Terra preta do indio. Mitteilgn. Dtsch. Bodenkundl. Gesellsch., 29, 709 - 716.

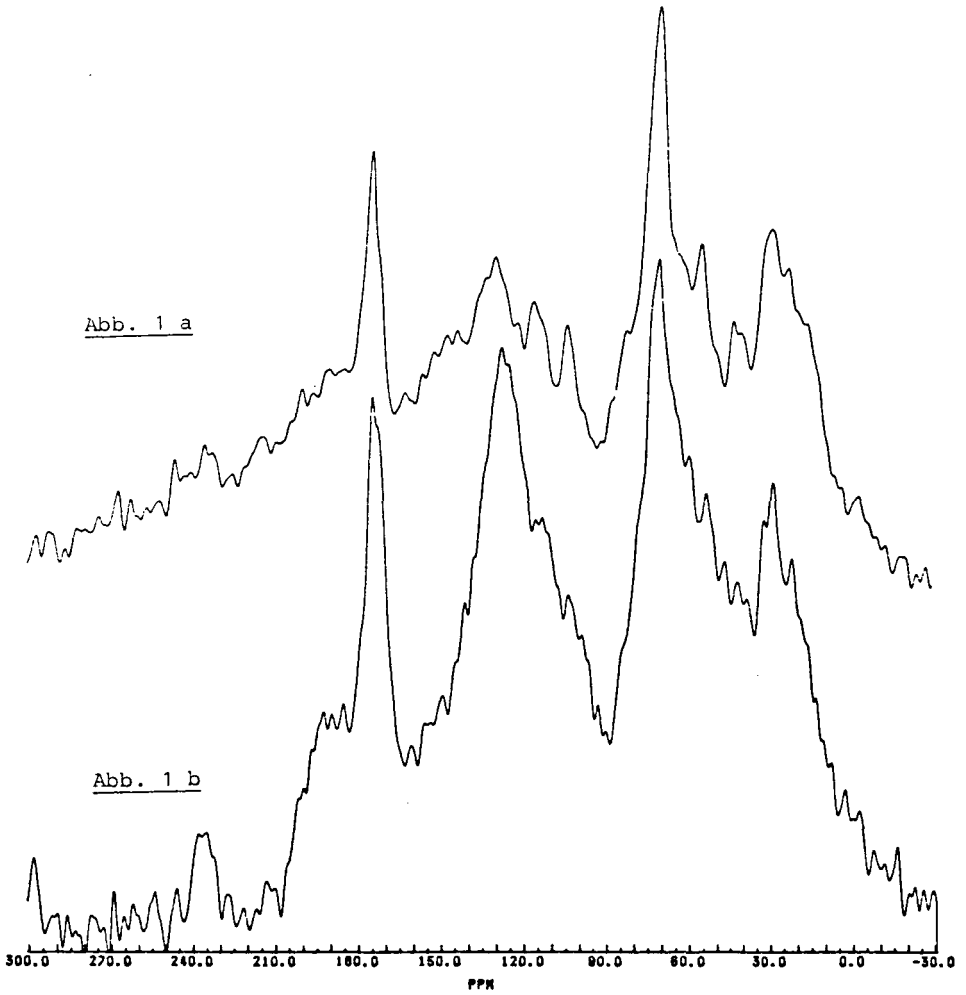


Abb. 1: CPMAS-¹³C-NMR-Spektren von Oxisol (Abb. 1 a) und Terra preta-Humus (Abb. 1 b)

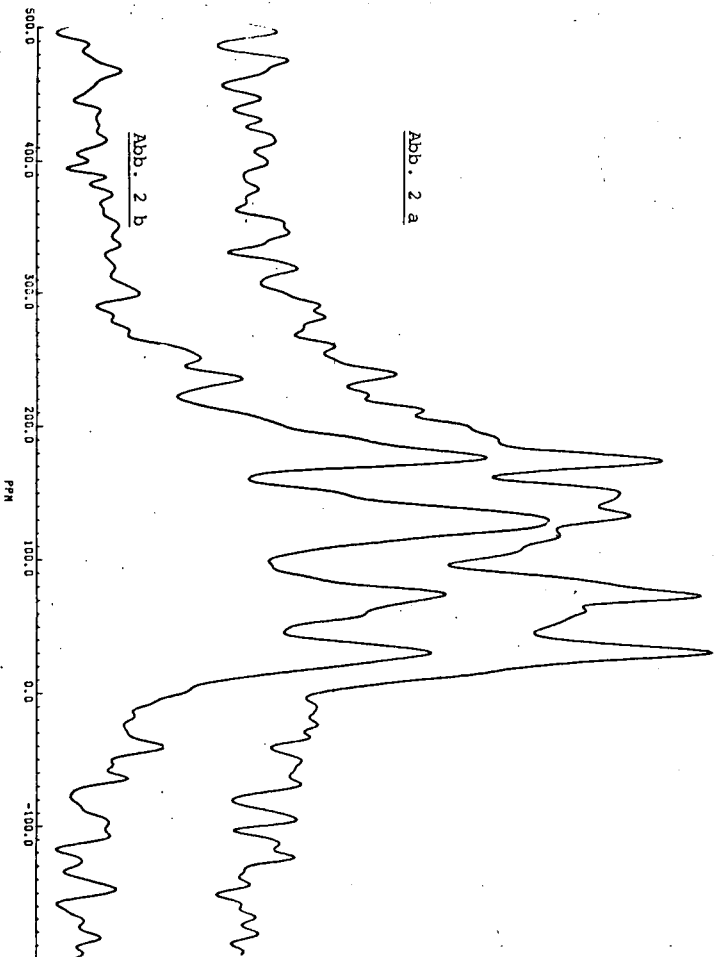


Abb. 2: CPMAS- ^{13}C -NMR-Spektren von Oxisol- (Abb. 2 a) und Terra preta- (Abb. 2 b) Huminen.

Möglichkeiten der Verwendung von Modellen
zur Klärung des Huminstoffproblems

von

Ziechmann, W. *)

1. Vorbemerkungen

Modelle sind Hilfsmittel zur Erhellung verwickelter Sachverhalte. Vielfach machen sie angesichts einer weitgehenden, oft nicht mehr analysierbaren Problemverflechtung die sinnvolle Anwendung wissenschaftlicher Kategorien erst möglich. Bekannt ist das vielfach variierte Modell der sogenannten " Synthesehuminsäuren " wonach in alkalischer Lösung unter Einwirkung des Sauerstoffs phenolische Verbindungen unter Verbräunung eine oxidative Veränderung erfahren und huminsäureähnliche Produkte bilden (ELLER, 1921).

Von größerer Tragweite ist ein modifizierter Ansatz, der nicht das Endprodukt, die " synthetische " Huminsäure, sondern vielmehr den Prozess als solchen, also die Huminstoffgenese als Modell betrachtet. Hier hat sich die Beobachtung, daß ϵ -Übergänge die Anfangsphase der Humifizierung im Modellsystem mit Phenolen bestimmen insofern bewährt, weil Radikale und Radikalreaktionen auch bei natürlichen Huminstoffen nachgewiesen und später allgemein akzeptiert wurden. Ganz ähnlich verhält es sich mit dem Nachweis von ϵ -Donator-Acceptor-Beziehungen, die zuerst an Modellsubstanzen studiert wurden und dann auf natürliche Huminstoffe übertragen werden konnten (ZIECHMANN, 1972).

Radikalreaktionen schöpfen im Zuge einer intramolekularen Mesomerie alle Möglichkeiten zur Bildung von zwischenatomaren Bindungsbeziehungen aus, die nach dem Aufbau eines stabilen Huminstoffteilchens " verlängert " werden durch intermolekulare Wechselwirkungen, wie elektrostatische bzw. van der Waals-Kräfte, Wasserstoffbrücken oder schließlich im Zuge einer intermolekularen Mesomerie durch die erwähnten ϵ -Donator-Acceptor-Wechselwirkungen und Komplexe dieser Machart.

2. Die strukturchemische Stellung der Huminstoffe

Die Besonderheit der Huminstoffe im Rahmen bekannter und nicht oder wenig definierter Naturstoffe kann unter Verwendung der Parameter " Grundeinheit ", " Bindungsform " und " Substrat " mit entsprechenden Qualitäten (Abb. 1) im folgenden Diagramm (Abb. 2) erkannt werden.

*) Abt. Chemie und Biochemie im System Boden - Lehrgebiet Chemie -
Institut für Bodenwissenschaften der Georg-August-Universität Göttingen

Kriterien	Parameter	Varianten	Qualität
Bausteine	ⓐ	□-□-□	homogen (ho)
		(X-X-X-X)	heterogen (he)
		□-X-X	heterogen (he)
Bindung	ⓑ	-□-□-□-	homogen (ho)
		□-□-□-□-	heterogen (he)
		-X-□-□-□-	heterogen (he)
Teilchengröße	ⓒ	<□-□>	niedermolekular (nm)
		<□-□-□>	niedermolekular (nm)
		<X-□>	niedermolekular (nm)
		<□-□-□-□-□>	hochmolekular (hm)
		<X-□-□-□-□>	hochmolekular (hm)

Abb. 1 Variationsmöglichkeiten der Parameter Grundeinheit, Bindungsform und Substrat

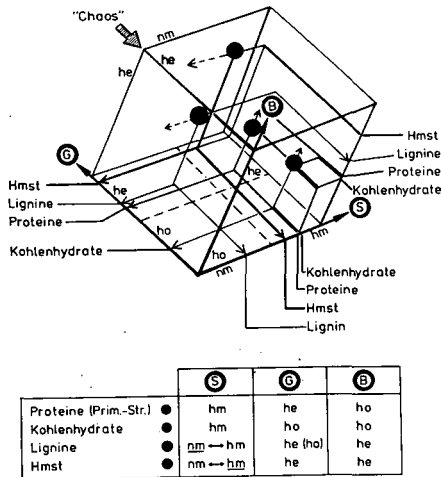


Abb. 2 Zur strukturchemischen Stellung der Huminstoffe

Bemerkenswert sind an diesem Diagramm zwei Fakten:

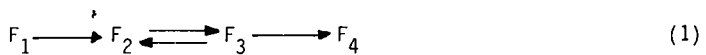
1. Die Position der Huminstoffe ist quasi weitab von der der Kohlenhydrate und Proteine, aber "näher" zu den Ligninen hin orientiert.
2. Es könnte in diesem Diagramm ein bestimmter Status postuliert werden, der sich durch
 - heterogene Bindungsformen
 - heterogene Grundeinheiten und
 - ein niedermolekulares Substrat,
 als besonders "einfache" Gegebenheiten auszeichnet.

Dieser, von der klassischen präparativen Chemie meist ausgesparte Ausgangszustand kann als spezifisch für die Huminstoffe und ihre Genese angesehen werden: jedes Molekül jeder Verbindung kann im Prinzip mit jedem einer je anderen reagieren; der Zufall ist also das eigentliche Regulativ, wodurch Voraussetzungen gegeben sind, die für eine Chaos-Analyse anwendbar scheinen. Damit sind für die Huminstoffgenese jene Kriterien zu erkennen, die als chemische Aspekte für das Phänomen " Chaos " gelten können:

- (1) eine unübersehbare Vielfalt der Reaktionspartner,
- (2) keine Dominanz irgendeiner Reaktion die auf bestimmten funktionellen Gruppen beruht wie bei Kohlenhydraten oder Proteinen
- (3) jedes Molekül ist im Prinzip Reaktionspartner für jedes andere, weil
- (4) keine steuernden und ordnenden Kräfte im Boden - Enzyme, sonstige Katalysatoren, energiereiche Verbindungen, Membranen - das Geschehen kontrollieren, weshalb
- (5) alles letztlich dem Zufall überlassen bleibt.

3. Mathematische Modelle

Diesen Bedingungen wurde in einem mathematischen Modell Rechnung getragen, welches die Humifizierung als Markoff-Prozess *) interpretiert (KAPPLER u. ZIECHMANN, 1969, DOOB, 1960). Vom autoxidierenden Hydrochinon ausgehend (ein Ausgangsstoff !) wurde folgender vereinfachter Reaktionsablauf:



mit 2 irreversiblen und 1 reversiblen Schritt postuliert und die für das Markoff-Modell notwendigen Übergangswahrscheinlichkeiten

$$p_{ij} (t_{v-1}); \quad (i = 1, \dots, n, j = 1, \dots, n) \quad (2)$$

als den von der Fraktion F_i an die Fraktion F_j abgegebener Massenanteil experimentell nach einer Auftrennung des Systems ermittelt.

In der Funktion

$$H = - \sum_{i=1}^n p_i \log p_i ; \quad p_i \geq 0 , \quad \sum p_i = 1 \quad (3)$$

mit dem relativen Massenanteil p_i der i -ten Fraktion wurde eine Kenngröße gefunden, die die Huminstoffgenese zu beschreiben vermag.

*) Markoff-Prozesse: Unter einem Markoff'schen Prozess sei eine Folge von Ereignissen verstanden, bei denen das Eintreten des Ereignisses E zum Zeitpunkt v , also E_v nur vom vorhergehenden Ereignis E_{v-1} , nicht aber den weiter zurückliegenden abhängt.

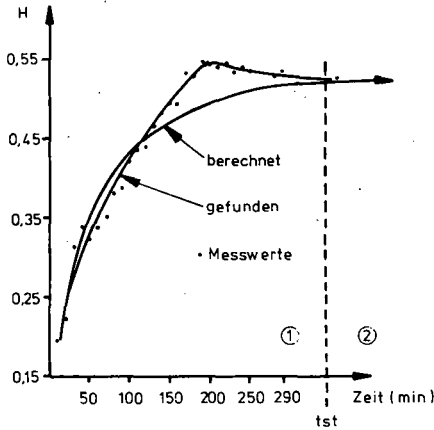


Abb. 3 Der Verlauf der Entropie H während der Huminstoffbildung im Modellversuch

Damit kann die Humifizierung für die genannten Bedingungen durch die zeitliche Abhängigkeit der H-Funktion beschrieben werden, womit 2 Phasen verifizierbar sind:

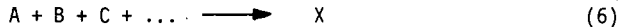
(1) mit $\lim_{t \rightarrow \infty} \frac{dH}{dt} \neq 0$, das System in statu nascendi und (4)

(2) mit $\lim_{t \rightarrow \infty} \frac{dH}{dt} = 0$, das System im stationären Zustand. (5)

Nun erhält auch der Begriff eines Huminstoff-Systems (Phase 2) mit daraus resultierenden Anwendungen.

In diesem vereinfachten Modell kann die 1. Phase auf Radikalreaktionen, mit einer drastischen Änderung der Teilchenmassen bezogen werden (hohe Bindungsenthalpie), die 2. hingegen auf intermolekulare Wechselwirkungen, bei denen eine verhältnismäßig geringe Bindungsenthalpie zu keinen großen Verschiebungen der Mengenanteile in den Fraktionen (in (1)) führt.

Ein wesentlich vereinfachtes Modell mit vorgegebenen Massenangaben und ihren Veränderungen geht von der realistischen Voraussetzung aus, daß mehrere Moleküle gleichzeitig sich umsetzen können.



Aus den nachfolgend angenommenen Massenanteilen ergeben sich die Einzelwerte von H mit

$$c_i = \frac{n_i}{n} \sim p_i \quad (7)$$

und

$$H = -\sum_i c_i \cdot \ln c_i \quad (8)$$

für folgenden Reaktionsablauf:

REAKTIONSSCHRITTE					
Substanzen H-Werte	1.	2.	3.	4.	5.
c_A	100	70	50	40	35
c_B	100	70	50	40	35
c_C	100	70	50	40	35
$H_i^{*)}$	0,52	0,518	0,500	0,482	0,469
$\sum H_i$	1,56	1,554	1,500	1,446	1,407
c_X	0	30	50	60	65
H_X	0	0,375	0,500	0,528	0,530
$\sum_{i=1}^4 c_i$	300	240	200	180	170
$\sum H$	1,56	1,93	2,00	1,97	1,94

Für weitere Modelle ergeben sich folgende Sachverhalte (Abb. 4)

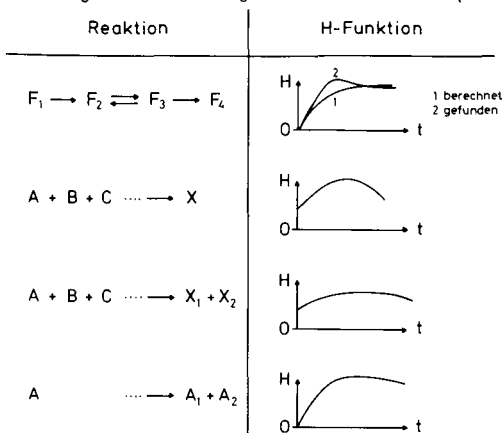


Abb. 4 Huminstoff-Genese-Modelle und ihre H-Funktion

*) $H_i = H_A = H_B = H_C$

Die H-Funktion geht für die Fälle (b) und (c) der Humifizierung durch ein Maximum, also erfolgt keine weitere Zunahme. Dieses Maximum ist dann erreicht, wenn eine möglichst gleichmäßige Besetzung aller Fraktionen gegeben ist (beim Reaktionsschritt 3; $c_A = c_B = c_C = c_X = 50$). Im Falle eines Abbaus (d) beginnt die H-Funktion im Ursprung, steigt schnell an und nimmt, wenn der Zustand einer Gleichverteilung durchlaufen ist, langsam ab. Die H-Funktion, der SHANNON-Entropie entsprechend, ist nicht identisch mit der thermodynamischen Entropie. Für diese läßt sich sogar mit einer Abnahme der mittleren spezifischen Wärme mit fortschreitender Humifizierung nach

$$\Delta S = c_p/T \, dt \quad \text{oder} \quad dS = c_p/T \, dt$$

ebenfalls eine Verminderung vermuten (LENTZ, ZIECHMANN, 1968).

Nach diesen Überlegungen ist die Bildung der Huminstoffe ein erster Schritt vom "Chaos" zu geordneter Materie. Umgekehrt bedeutet dies aber auch, daß ihre u.U. sehr rasch eintretende, auch nur partielle Autolyse das System sofort wieder in den Zustand des Chaos zurückfallen läßt, also keine einheitlichen Huminstoff-Fragmente zu erwarten sind, wie dies bei Hochmolekularen mit bestimmtem Baumuster der Fall sein kann.

Daher kann auch keine irgendwie abgeleitete Strukturformel für ein Huminstoffpartikel oder seine Teile, z.B. " Fulvosäure " - Molekül, verbindlich für das Substrat " Huminstoff " sein (wie in Abb. 5).

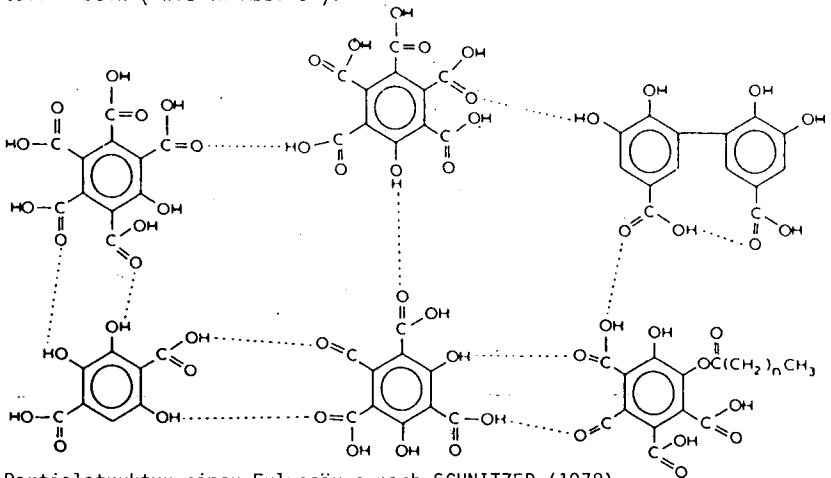


Abb. 5 Partialstruktur einer Fulvosäure nach SCHNITZER (1978)

Allenfalls ließe sich unter Verzicht auf chemische Details ein Strukturmuster oder eine prinzipielle Zustandsbeschreibung für Huminstoffe vertreten, die mit experimentell erwiesenen Fakten konform geht, andererseits diese nicht überinterpretiert (Abb. 6).

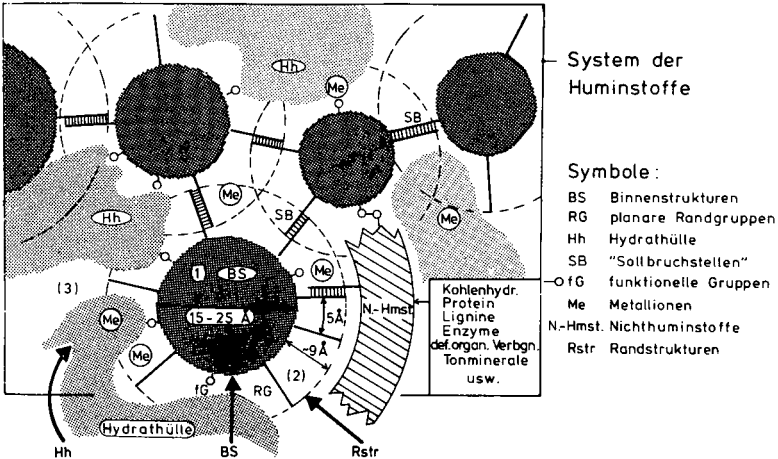


Abb. 6 Strukturmuster eines Huminstoff-Systems

- a) Binnen- oder Kernstrukturen (BS) mit Kovalenzen als Folge von (überwiegend) Radikalreaktionen
- b) planare Randgruppen (RG) mit ϵ -DA-Beziehungen, an denen das System reversibel verändert werden kann (gew. die " Sollbruchstellen " des Systems).

Im Verlaufe der Humifizierung gelangen Substanzen aus dem Zustand einer intramolekularen (Radikale und ihre Reaktionen) in den einer intermolekularen Mesomerie (ϵ -Donator-Acceptor-Komplexe); das dürfte die lapidare Formel für die Huminstoffgenese sein.

Welche Voraussetzungen sind nun für die Reaktionen der chemisch unterschiedlichsten Substanzen gegeben, damit diese aus dem Zustand des Chaos in den einer quasi-stabilisierten oder Präordnung eines Systems übergehen ?

Eine vorläufige Antwort: durch ein Muster von bestimmten Reaktionen, zunächst Radikalreaktion, dann ϵ -Donator-Acceptor-Beziehungen oder allgemein durch spezifische ϵ -Übergänge.

4. Einige Definitionen

(1) Humifizierung: Bildung von Huminstoffen aus Monomeren als Folge zufälliger Ereignisse.

Ihr Verlauf wird durch die thermodynamische Entropie oder die H-Funktion beschrieben.

Das Reaktionssystem durchläuft die Phasen einer

- . intramolekularen, sodann
- . intermolekularen Mesomerie.

Es gilt $\lim_{t \rightarrow \infty} \frac{dH}{dt} \neq 0$

(2) Huminstoffe repräsentieren jenen Zustand der Materie, der aus einem Chaos in

den einer beginnenden Ordnung (= Präordnung) überleitet.

Sie sind mit anderen Substanzen die konstitutiven Einheiten eines Huminstoffsystems.

(3) Huminstoffsystem

Zwischenmolekulare Kräfte wirken über eine Huminstoff-Partikel hinaus und bilden größere Einheiten, in denen auch Nicht-Huminstoffe integriert sind. Es können Binnen-(Kern) und Randstrukturen unterschieden werden.

Huminstoffsysteme sind die reaktiven Einheiten der Huminstoffe.

Es gilt
$$\lim_{t \rightarrow \infty} \frac{dH}{dt} = 0$$

Mit der Darstellung der Analyse dieser Modelle verbindet sich die Hoffnung, daß bei ihrer sachgerechten Variation auch solche Phänomene deutlicher hervortreten mögen, in denen die eigentliche, von anderen Naturstoffen sich abhebende Qualität der Huminstoffe gesehen wird; z. B.:

- . ihre Farbe,
 - . Leitfähigkeitsphänomene - Reaktionsmöglichkeit
- und
- . möglicherweise auch ihre Fähigkeit am Energietransport mitzuwirken.

L I T E R A T U R

- | | |
|--|--|
| DOOP, J. L.; | Stochastic Processes, New York-London (1960) |
| ELLER, W.; | Künstliche und natürliche Huminsäuren, Brennstoff-Chemie, <u>2</u> , 129-133 (1921). |
| KAPPLER, H. und
W. ZIEHMANN; | Ein mathematisches Modell zur Beschreibung von Humifizierungsvorgängen, Brennstoff-Chemie, <u>50</u> , 348-351 (1969). |
| LENTZ, H. und
W. ZIEHMANN; | Physikalisch-chemische Untersuchungen an Huminstoffen, Brennstoff-Chemie, <u>49</u> , 154-157 (1968). |
| SCHNITZER, M. and
S. U. KHAN; (editors) | Soil organic matter, 1978 S. 47 |
| ZIEHMANN, W.; | Ober die Elektronen-Donator- und Acceptor-Eigenschaften von Huminstoffen
Geoderma, <u>8</u> , 111-131 (1972). |

Veränderung von Lignin in Waldhumus im
Laufe der Streuzersetzung

von

Ziegler, F., I. Kögel u. W. Zech *

1. Einleitung und Problemstellung

Lignin ist nach Cellulose der mengenmäßig häufigste Naturstoff und stellt einen wichtigen Bestandteil der Pflanzenwelt und der organischen Bodensubstanz dar. Im Rahmen unserer Untersuchungen über Streuzersetzung und Humifizierung interessierte die Frage, wie Lignin in Waldhumus abgebaut wird. Im folgenden berichten wir über die mit Hilfe der CuO-Oxidation erhaltenen Befunde.

2. Material und Methoden

Untersucht wurden drei Humusprofile aus dem Fichtelgebirge, und zwar ein Moder unter Fichte (Profil 1), ein Rohhumus unter Fichte (Profil 2) und ein Moder unter Buche (Profil 3). Eine ausführliche Beschreibung der Horizontfolge und wichtiger Eigenschaften findet sich bei Ziegler et al. (1986).

Die CuO- Oxidation erfolgte nach Hedges und Ertel (1982), die Extraktion, Trennung und Quantifizierung der Lignin-Oxidationsprodukte nach Kögel und Bochter (1985).

Die alkalische CuO- Oxidation ist eine häufig verwendete Methode zur Charakterisierung von Lignin in Sedimentproben,

* Lehrstuhl für Bodenkunde und Bodengeographie,
Universität Bayreuth, Postfach 3008, 8580 Bayreuth

Pflanzengewebe und sich zersetzendem Streumaterial. Diese relativ milde Prozedur erzeugt eine Reihe einfacher phenolischer Ligninabbauprodukte, die in ihren chemischen Eigenschaften noch in hohem Maße mit den Originalbausteinen des Ligninpolymers übereinstimmen (Hedges und Mann, 1979a; Johansson et al., 1986). Man erhält vor allem Vanillyl- (vom Coniferylalkohol abzuleiten), Syringyl- (vom Sinapinalkohol abzuleiten), p-Hydroxyl- (vom p-Cumaralkohol abzuleiten) und Cinnamyl- Einheiten. Die Vanillyl- Einheiten (V, Vanillinsäure und Vanillin), Syringyl- Einheiten (S, Syringasäure und Syringaaldehyd) und Cinnamyl- Einheiten (C, p-Cumarsäure und Ferulasäure) können zur Beschreibung des Lignins in Waldhumus dienen (Kögel, 1986). Zusammen bilden sie die Summe der Ligninoxidationsprodukte (V+S+C). P-Hydroxyl- Komponenten sind zwar Reaktionsprodukte von Gymnospermen- und Angiospermenlignin, können aber daneben auch anderen quantitativ bedeutenden Quellen wie aromatischen Aminosäuren (Tyrosin) entstammen. Da demnach ihre Verwendungsmöglichkeit zur Lignincharakterisierung sehr begrenzt ist (Hedges und Parker, 1976), zählen wir sie nicht zur Summe der Lignin- Oxidationsprodukte.

3. Ergebnisse und Diskussion

Lignin- Oxidationsprodukte:

Die Summe der Lignin- Oxidationsprodukte zeigt in allen drei Profilen eine starke Abnahme von der Streulage zum Mineralboden (Abb.1). Die Tiefenfunktionen der einzelnen Säuren und Aldehyde sind allein nur wenig aussagekräftig. Zur näheren Beschreibung des Gymnospermen- und Angiospermenlignins in verschiedenen Stadien des Abbauprozesses werden deshalb folgende Parameter verwendet: S/V ist das Gewichtsverhältnis der gesamten Syringyl- zu Vanillyl- Einheiten; $(ac/al)_V$ stellt das Säure/Aldehyd-Verhältnis für die Vanillyl- Einheiten (Vanillinsäure/Vanillin) dar. Da Syringyl- Einheiten in Gymnospermenstreu

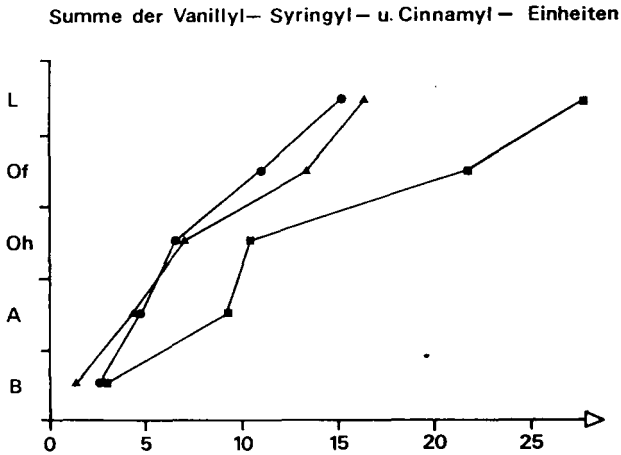


Abb.1: Tiefenfunktion der CuO- Oxidationsprodukte V+S+C in mg/g O.S.; (●) Profil 1, (▲) Profil 2, (■) Profil 3.

nur eine untergeordnete Rolle spielen, ist S/V nur für den Angiospermenstandort (Profil 3) definiert (Ertel und Hedges, 1984).

Lignin- Parameter S/V:

Während der Zersetzung von Angiospermenlignin durch Weißfäule- Pilze werden Sinapinalkohol- Einheiten gegenüber Coniferylalkohol- Einheiten bevorzugt abgebaut. Dies wird entweder durch die leichtere Abbaubarkeit der Sinapinalkohol- Einheiten oder durch die Art der Verteilung von Sinapinalkohol- und Coniferylalkohol- Einheiten im Pflanzengewebe erklärt (Kirk et al., 1975). Diese Tatsache äußert sich in der relativen Anreicherung von Vanillyl- Einheiten in den tieferen Bereichen des Humusprofils (Kögel, 1986). Das S/V- Verhältnis des Buchenprofils (Profil 3) nimmt von 2.04 im L bis auf 0.80 im B- Horizont ab (Abb.2), zeigt aber ein deutliches Minimum von 0.40 im intensiv

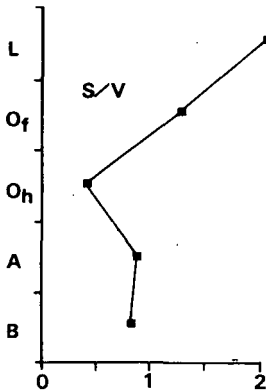


Abb.2:

S/V- Verhältnis
(■) Profil 3

durchwurzelten Oh. Dieses Minimum kann durch den Einfluß von Wurzelstreulignin erklärt werden, das nach Erickson et al. (1973) bei der Buche fast ausschließlich aus Coniferylalkohol- Einheiten aufgebaut ist. Hedges und Mann (1979a) und Ertel und Hedges (1984) fanden mittlere S/V-Verhältnisse von 1.4 in nicht verholztem Angiospermengewebe und von 0.6 in einem Mineralboden. Kögel (1986) berichtet über S/V- Verhältnisse von 1.64 für einen Moder- L- Horizont und 0.47 für einen Ah unter Buche.

Säure/Aldehyd- Verhältnisse:

Bekanntlich wird während der Zersetzung durch Weißfäulepilze das Ligninmolekül verändert, indem Mikroorganismen α C- β C - Bindungen aliphatischer Seitenketten der Phenylpropan-Bausteine lösen und durch anschließende Oxidation Carboxylgruppen produzieren (Kirk und Chang, 1975). Die Oxidation mit CuO zeigt, daß mit zunehmendem Streuabbau, d.h. mit zunehmender Tiefe im Humusprofil, Phenolsäuren auf Kosten der phenolischen Aldehyde relativ zunehmen. Deshalb sind die Säure/ Aldehyd- Verhältnisse der Vanillyl- Einheiten

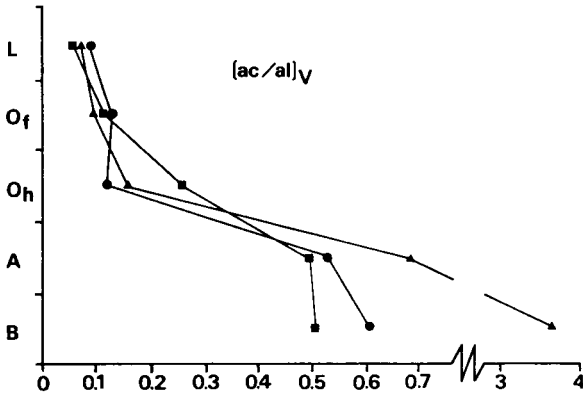


Abb.3: $(ac/al)_V$; (●) Profil 1, (▲) Profil 2, (■) Profil 3

gute Indikatoren für den Grad der Ligninveränderung während des Abbauprozesses. In Profil 1 und 2 (Fichte) nehmen die $(ac/al)_V$ -Verhältnisse von 0.08 bzw. 0.07 in den L-Lagen schwach bis auf 0.11 bzw. 0.15 im Oh zu (Abb.3). Dann steigen sie stark auf 0.52 bzw. 0.67 in den A-Horizonten an und erreichen schließlich ihr Maximum in den B-Horizonten mit 0.60 bzw. 3.85. Das Buchenprofil (Profil 3) zeigt das gleiche Verhalten mit einem $(ac/al)_V$ von 0.06 im L, 0.26 im Oh und Werten um 0.5 in den A- und B-Horizonten. Ähnliche Ergebnisse berichten Ertel und Hedges (1984) für das Gewebe höherer Pflanzen (0.15 im Mittel) und für Bodenproben (0.61). Kögel (1986) gibt für ein Moderprofil unter Buche Verhältnisse zwischen 0.1 (Ln) und 0.5 (Ah) an. Die Tiefenfunktionen der $(ac/al)_V$ -Verhältnisse in allen drei untersuchten Profilen weisen darauf hin, daß das Lignin im Waldhumus in ähnlicher Weise verändert wird, wie es Kirk und Chang (1975) für in vitro-Versuche mit Weißfäule-Pilzen beschreiben.

4. Zusammenfassung:

Betrachtet man den starken Anstieg der (ac/al)_v- Verhältnisse und die deutliche Abnahme des S/V- Verhältnisses mit der Tiefe, sowie die nur geringen Gehalte an CuO-Oxidationsprodukten in den Mineralbodenhorizonten, so läßt sich die Aussage treffen, daß das Lignin der Pflanzenstreu im Laufe des Abbauprozesses einer beträchtlichen Veränderung unterworfen ist, die am deutlichsten am Übergang von der Humusaufgabe zum Mineralboden in Erscheinung tritt.

5. Literatur:

- Erickson, M. et al. (1973) Holzforschung 27, 113-117
Ertel, J.R. und J.I. Hedges (1984) Geochim.Cosmochim.Acta 48, 2065-2074
Hedges, J.I. und J.R. Ertel (1982) Anal.Chem. 54, 174-178
Hedges, J.I. und D.C. Mann (1979a) Geochim.Cosmochim.Acta 43, 1803-1807
Hedges, J.I. und P.L. Parker (1976) Geochim.Cosmochim.Acta 40, 1019-1029
Johansson, M.B. et al. (1986) Soil Biol.Biochem. eingereicht.
Kirk, T.K. und H.-m. Chang (1975) Holzforschung 29, 56-64
Kirk, T.K. et al. (1975) Wood Sci.Technol. 9, 81-86
Kögel, I. (1986) Soil Biol.Biochem. eingereicht.
Kögel, I. und R. Bochter (1985) Soil Biol.Biochem. 17, 637-640
Ziegler, F. et al. (1986) Z.Pflanzenern.Bodenkd. im Druck.