Professur für Hydrologie

der Albert-Ludwigs-Universität Freiburg i. Br.

Laboruntersuchung der Bildungsrate des Tracerderivats TP510

Einfluss der Bodenbedingungen

Sebastian Spieler

Masterarbeit unter Leitung von apl.Prof. Dr. Jens Lange

Referent: apl.Prof. Dr. Jens Lange

Korreferentin: Prof. Dr. Friederike Lang

9. April 2021

Danksagung

Ich möchte mich an dieser Stelle bei den Menschen bedanken, die mich bei der Anfertigung dieser Arbeit unterstützt haben. Zuallererst möchte ich meinem Betreuer Prof. Dr. Jens Lange danken, der mit seinem Interesse für die Thematik und erfrischender Neugier immer wieder neue Denkanstöße für die Arbeit lieferte. Prof. Dr. Friederike Lang danke ich für die Übernahme des Korreferats und die technische Unterstützung durch die Bodenkunde bei der Bodencharakterisierung.
(Inzwischen wohl Dr.) Marcus Bork danke ich für seine unschätzbare Hilfe bei kniffligen Fragen und seiner Expertise bei Probenaufbereitung, Charakterisierung und dem Versuchsentwurf. Stefan Seeger möchte ich hier ebenfalls herausstellen, der uns mit seinen Programmierfähigkeiten besseren Zugang zu den Spektrometer-Dateien verschafft hat. Dr. Barbara Herbstritt möchte ich für ihre große Geduld, Hilfsbereitschaft und ihren persönlichen Einsatz danken, der uns die Fortsetzung unserer Arbeit unter Pandemieeinschränkungen ermöglicht hat. Wir haben dafür sicher nicht genug Kuchen gebacken.
Meiner Laborpartnerin Isabella Smekal ist es zu verdanken, dass es im Tracer-Labor bei aller Routine eigentlich nie langweilig wurde und die mit ihrer großen Ausdauer und ihrem beachtlichen Fleiß und Geschick die gemeinsame Arbeit stets zügig voranbrachte.
Meinen Jahrgangskollegen bin ich sehr dankbar für die tolle gemeinsame Studienzeit, Kameradschaft, Erlebnisse, die entstandenen Freundschaften und die moralische Unterstützung während der schwierigeren Phasen.
Meinen Freunden Jakob, Michi, Manon, Chris, Eva, Eva und Eva möchte ich danken für ihre Anregungen und Hilfe zum Inhalt dieser Arbeit, aber auch ihre unbezahlbare Fähigkeit, mich zu motivieren und in allen Lebenslagen zu unterstützen. Meinen Eltern möchte ich danken, dass sie mich in meinem gesamten Studienverlauf stets unterstützten und auf die ich mich jederzeit bedingungslos verlassen kann.

I Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung 1

2 Problemstellung und technischer Hintergrund 4

2.1 Problemstellung und Ziel des Versuchs 4

2.2 Technische Grundlagen 6

3 Material und Methoden 8

3.1 Materialaufnahme und Aufbereitung 8

3.2 Maßlösung und Messfenster 8

3.3 Vorbereitung der Proben 9

3.3.1 Einstellung der Feuchtebedingungen 10

3.3.2 Einstellung des pH-Werts der Pufferproben 11

3.3.3 Temperaturbedingungen 11

3.4 Probenaufbewahrung 11

3.5 Kalibrierung 11

3.6 Probenaufarbeitung und Durchführung der Messungen 12

3.7 Vorgehensweise bei der Bewertung der Ergebnisse 12

4 Ergebnisse 15

4.1 Kalibrierung des Fluoreszenzspektrometers 16

4.2 Bodenanalyse 18

4.3 Säurestabilität von TP510 20

4.4 Bildungsraten TP510 21

4.4.1 Temperaturproben 21

4.4.2 Feuchteproben 24

4.4.3 Pufferproben 26

4.5 Gravimetrische Feuchtebestimmung 29

4.6 Versuchsbedingungen 31

5 Diskussion 32

5.1 Eignung der Methoden 32

5.2 Vergleich der Substrate Ackerboden und Sand 33

5.3 Auswirkungen der pH-Pufferung 34

5.4 Bodenfeuchte 35

5.5 Temperatureffekt 36

5.6 Ausgangsstoffe und Umbaumechanismen 37
5.6.1 Mikrobieller Abbau 37
5.6.2 Photolytische Zersetzung 38
6 Fazit 40
Literatur 41
Anhang A Versuchsdurchführung 47
Anhang B Graphen 49
Anhang C Ehrenwörtliche Erklärung 57

II Abbildungsverzeichnis

Abbildung 2.1 Ausgangsstoffe für das Transformationsprodukt TP510.....5

Abbildung 2.2 Aufbau eines Fluoreszenzspektrometers.....6

Abbildung 2.3 Xanthen-Gerüst in offener und geschlossener Form.....7

Abbildung 2.4 Stokes-Verschiebung.....7

Abbildung 3.1 pH-Abhängigkeit diverser Fluoreszenzfarbstoffe 9

Abbildung 3.2 Schema des Entnahme-, Aufbereitungs- und Messvorgangs 14

Abbildung 4.1 Spektrum der Uraninbestimmung im zeitlichen Verlauf 15

Abbildung 4.2 Spektrum der Sulforhodamin- und TP510-Bestimmung im zeitlichen Verlauf.....15

Abbildung 4.3 Kalibriergerade Uranin am Fluoreszenzspektrometer.....16

Abbildung 4.4 Kalibriergerade Sulforhodamin B am Fluoreszenzspektrometer 17

Abbildung 4.5 Bodenart des Probenmaterials nach KA5 18

Abbildung 4.6 Kohlenstoff-Stickstoff-Verhältnis des Boden- und Sandmaterials 19

Abbildung 4.7 pH-Abhängigkeit des TP510-Signals.....20

Abbildung 4.8 Temperaturkurven über den Probenzeitraum mit TP510 22

Abbildung 4.9 Absorptionsspektren TB5 im Versuchsverlauf: TP510 und SRB 22

Abbildung 4.10 Absorptionsspektren SB im Versuchsverlauf: TP510 und SRB 23

Abbildung 4.11 Absorptionsspektren SB im Versuchsverlauf: UR.....23

Abbildung 4.12 Feuchte der Proben nach dem Verdunstungsausgleich. 24

Abbildung 4.13 Feuchteproben über den Probenzeitraum mit TP510 25

Abbildung 4.14 Absorptionsspektren FFKB im Versuchsverlauf: TP510 und SRB 25

Abbildung 4.15 Absorptionsspektren SB im Versuchsverlauf: TP510 und SRB 26

Abbildung 4.16 Pufferproben über den Probenzeitraum mit TP510.....27

Abbildung 4.17 Absorptionsspektren RESB im Versuchsverlauf: TP510 und SRB 27

Abbildung 4.18 Pufferproben über den Probenzeitraum mit UR.....28

Abbildung 4.19 Absorptionsspektren RESS im Versuchsverlauf: UR 28

Abbildung 4.20 Pufferproben über den Probenzeitraum mit SRB 29

Abbildung 4.21 Bei der Wägung bestimmte Feuchte der unterschiedlich gewässerten Proben 30

Abbildung 4.22 Aufzeichnungen Lufttemperatur und Lichteinstrahlung 31

Abbildung 5.1 Strukturformeln mit Positionsmarkern. links: SRB; rechts: TP510 38

Abbildung 5.2 spektrale Verschiebung durch Dealkylierung von Sulforhodamin B. Grafik aus: ... 39

Abbildung 6.1 Foto der Bodenaushebung 0-17 cm 47

Abbildung 6.2 ungemischte Proben nach der Nachbefeuchtung 47

Abbildung 6.3 Lagerung der Proben auf dem Labortisch 47

Abbildung 6.4 Temperaturkurven über den Probenzeitraum mit UR 49

Abbildung 6.5 Temperaturkurven über den Probenzeitraum mit SRB 49

Abbildung 6.6 Absorptionsspektren SS im Versuchsverlauf: UR 50

Abbildung 6.7 Absorptionsspektren SS im Versuchsverlauf: TP510 und SRB 50

Abbildung 6.8 Absorptionsspektren TB5 im Versuchsverlauf: UR 50

Abbildung 6.9 Absorptionsspektren TS5 im Versuchsverlauf: UR 51

Abbildung 6.10 Absorptionsspektren TS5 im Versuchsverlauf: TP510 und SRB 51

Abbildung 6.11 Absorptionsspektren TB30 im Versuchsverlauf: UR 51

Abbildung 6.12 Absorptionsspektren TB30 im Versuchsverlauf: TP510 und SRB 52

Abbildung 6.13 Absorptionsspektren TS30 im Versuchsverlauf: UR 52

Abbildung 6.14 Absorptionsspektren TS30 im Versuchsverlauf: TP510 und SRB 52

Abbildung 6.15 Absorptionsspektren FTRB im Versuchsverlauf: UR 53

Abbildung 6.16 Absorptionsspektren FTRB im Versuchsverlauf: TP510 und SRB 53

Abbildung 6.17 Absorptionsspektren FTRS im Versuchsverlauf: UR 53

Abbildung 6.18 Absorptionsspektren FTRS im Versuchsverlauf: TP510 und SRB 54

Abbildung 6.19 Absorptionsspektren FFKB im Versuchsverlauf: UR 54

Abbildung 6.20 Absorptionsspektren FTRS im Versuchsverlauf: TP510 und SRB 54

Abbildung 6.21 Absorptionsspektren FSAS im Versuchsverlauf: TP510 und SRB.....55

Abbildung 6.22 Absorptionsspektren RESS im Versuchsverlauf: TP510 und SRB.....55

Abbildung 6.23 Absorptionsspektren RESB im Versuchsverlauf: UR.....55

Abbildung 6.24 - Feuchteproben über den Probenzeitraum mit UR.....56

Abbildung 6.25 - Feuchteproben über den Probenzeitraum mit SRB.....56

III Tabellenverzeichnis

Tabelle 3.1 Probenbezeichnungen.....10

Tabelle 3.2 Daten zu Bestimmungs- und Nachweisgrenze.....13

Tabelle 3.3 Nachweis- und Bestimmungsgrenzen für TP510.....13

Tabelle 4.1 Korngrößenverteilung des Ackerbodens.....18

Tabelle 4.2 Rohmaterial und gepufferte Proben: pH und C/N-Verhältnis.....19

Tabelle 4.3 Säureabhängigkeit der Fluoreszenzmessungen.....20

Tabelle 4.4 Zusammenfassung der Identifikation von TP510.....21

Tabelle 6.1 Nachweis und Bestimmungsgrenze.....48

IV Abkürzungsverzeichnis

		Einheit
DIW	vollentsalztes bzw. deionisiertes Wasser	
EDTA	Ethylendiamintetraacetat	
FK	Feldkapazität	
FS	Fluoreszenzspektrometer	
$\vec{g}$	Schwerebeschleunigung der Erde	$m * s^{-2}$
GC	Gaschromatographie	
HCl	Salzsäure	
HPLC	Hochleistungsflüssigchromatographie	
KH_2PO_4	Kaliumdihydrogenphosphat	
L	Liter (zur besseren Lesbarkeit)	l
M	Molarität	mol/L
MS	Massenspektrometrie	
NaOH	Natriumhydroxid	
pF	dekadischer Logarithmus der Saugspannung	$\log_{10}$(hPa)
pH	negativ dekadischer Logarithmus der Protonenkonzentration	$\log_{10}$(mol/L)
UR	Uranin oder Dinatriumfluorescein	
w	Gravimetrische Feuchte	
$\bar{x}$	arithmetisches Mittel	
$\Delta\lambda$	Stokes-Verschiebung	nm
λ	Wellenlänge der elektromagnetischen Strahlung	nm
π	Charakter der Atombindungen nach Molekülorbitaltheorie	
σ	Standardabweichung des Mittelwerts	
Σ	Summe	
ω	Kreisfrequenz	s^{-1}

Zusammenfassung

Die fluoreszenten Xanthen-Derivate Uranin und Sulforhodamin B werden zur Erforschung und Modellierung hydrologischer Systeme als Tracer eingesetzt. In der Umwelt sind sie biotischen und abiotischen Abbauprozessen ausgesetzt und haben aufgrund ihrer strukturellen Ähnlichkeit das Potential, die Degradationsprozesse von Pestiziden nachzubilden. Die Analytik ist aufgrund der niedrigen fluorimetrischen Nachweisgrenzen für Uranin und Sulforhodamin B besser zugänglich als für Pestizide. Für ein bei hydrologischen Versuchen in der ungesättigten Zone häufig auftretendes Transformationsprodukt TP510 wird gezeigt, dass sowohl mikrobielle Metabolisierung als auch photolytischer Abbau zur Bildung von TP510 im Uranin / Sulforhodamin B - System führt. Mindestens ein Produkt unterliegt einer Blauverschiebung durch Dealkylierung und bildet sich aus Sulforhodamin B statt aus Uranin. Eine Temperaturabhängigkeit der Bildungsrate konnte nicht belegt werden. Die mikrobielle Bildung erfolgt in Ackerboden schneller als in Sand und wird durch Feuchtestress beeinträchtigt. Für die Photolyse ist primär die Lichtintensität maßgebend, nicht die Umgebungsbedingungen. Die Transformationsprodukte bedürfen weiterer struktureller Aufklärung zur Identifikation.

Schlagwörter: Pestizide, Fluoreszenztracer, Sulforhodamin B, Uranin, Photoblueing, Dealkylierung, Pseudomonas, Transformationsprodukt

1 Einleitung

Aufgrund des flächendeckenden Einsatzes von Pestiziden in Landwirtschaft und technischen Anwendungen ist es von zunehmender Bedeutung, deren Lebenszyklus in der Umwelt zu erforschen und mögliche Risiken nicht nur qualitativ, sondern auch quantitativ möglichst gut beurteilen zu können. Der Eintrag von Pestiziden ins Grundwasser stellt neben der kurzzeitigen ökotoxischen Wirkung im Gewässer (Schreiner *et al.*, 2021) auch eine erhebliche und langfristige Gefährdung für Trinkwasserressourcen dar (Vanclooster *et al.*, 2000; Sjerps *et al.*, 2019). Die jährliche Verkaufsmenge in der Summe aller zugelassenen Pestizide beträgt in der Europäischen Union etwa 360 Millionen kg (Eurostat, 2018) und 2 Milliarden kg weltweit (De *et al.*, 2014). Ihre Verwendung steht zunehmend im Fokus der Forschung zu zurückgehender Biodiversität (Geiger *et al.*, 2010; Brühl & Zaller, 2019).
Gleichzeitig sind Pestizide für die Aufrechterhaltung der Nahrungsmittelproduktion mindestens mittelfristig unerlässlich. Ein genereller Verzicht ist wegen der zu erwartenden Ernteausfälle von bis zu 40% kurzfristig keine sinnvolle Perspektive (Popp *et al.*, 2013). Zur besseren Beurteilung von Risiken und Nutzen ihres Einsatzes ist es daher notwendig, die Transport- und Abbauwege dieser Stoffe und ihrer möglichen Transformationsprodukte zu kennen (Gimsing *et al.*, 2019).
Pestizide verfügen über eine große Vielfalt an chemischen Strukturelementen und sich daraus ableitenden physikalischen und chemischen Eigenschaften. Ihre Grundgerüste umfassen unter anderem Triazine (*e.g.* Atrazin), Chloracetamide (*e.g.* Metazachlor), Phosphonate (*e.g.* Glyphosat), Carbamate (*e.g.* Methiocarb) und Neonikotinoide (*e.g.* Imidacloprid). Diese Stoffe sind in der Umwelt Degradation und Verflüchtigung ausgesetzt. Die Transformation ist für den Um- und Abbau von Pestiziden der wichtigste Prozess. Hierbei treten sowohl biotische (Metabolisierung, enzymatische Katalyse) als auch abiotische Prozesse (Photolyse, Hydrolyse, Pyrolyse) auf und können den jeweiligen Transformationsschritt dominieren. Oft kann auch bei gleichzeitigem Vorliegen der ermöglichenden Bedingungen eine Kopplung der Prozesse auftreten. Aus der strukturellen Vielfalt der Ausgangsstoffe ergibt sich ein breites Spektrum an möglichen Reaktionspfaden. Die Geschwindigkeit, mit der diese Reaktionen jeweils ablaufen, entscheidet somit über die vorrangige Bildung eines Produkts (kinetische Kontrolle unter natürlichen Bedingungen). Die Geschwindigkeit der Umbauprozesse hängt somit im Bodenökosystem sowohl von den abiotischen Umweltbedingungen als auch von den entsprechend aktiven Mikrobiota ab (Zaman, 2016).
Die Quantifizierung der Transformationsprozesse kann in der klassischen Laboranalytik durch direkte Bestimmung von Ausgangssubstanz und Transformationsprodukt(en) mit zeitlicher Auflösung bestimmt werden. Dies kann unter anderem durch Massenspektrometrie (MS), Gaschromatographie (GC) oder Hochleistungsflüssig-chromatographie (HPLC) (Alcantara-Licudine *et al.*, 1997; Reemtsma *et al.*, 2013) sowie Kopplungen verschiedener Methoden erfolgen (Sjerps *et al.*, 2019).

Hierbei treten jedoch in der Praxis Limitierungen hinsichtlich des Aufwandes in der Probenaufbereitung und Handhabung auf, da der Toxizität der Stoffe Rechnung getragen werden muss. Die Messtechnik für die Analyse von Pestiziden und Pestizidtransformationsprodukten ist zudem häufig mit einem großen wirtschaftlichen Aufwand bei Beschaffung und Betrieb verknüpft.

Da diese Transformationsprozesse strukturell analog zu Pestiziden auch an stark lumineszenten Markierstoffen (Käss & Behrens, 1998), (Leibundgut *et al.*, 2009), (Gerke *et al.*, 2013) aus der hydrologischen und bodenkundlichen Praxis (*e.g.* Uranin, Sulforhodamin B) beobachtet wurden (Lange *et al.*, 2018), bietet sich die Möglichkeit, diese Markierstoffe (Tracer) ebenfalls zur Bestimmung der wesentlichen Einflussgrößen für die Transformation zu nutzen. Die Tracer Uranin und Sulforhodamin sind hinsichtlich ihrer physikalischen, chemischen und toxikologischen Eigenschaften gut untersucht (Knop, 1878; Cotton, 1897; Zanker & Peter, 1958; Wernli, 1991; Sweeney, 2012; Fernández-Pascual *et al.*, 2019; Bork, 2020) und in der hydrologischen Praxis bewährt (Weiler & Flühler, 2004; Sweeney, 2012; Bork, 2020; Meus & Willems, 2021).

Für die Bestimmung hydrogeologischer Kenngrößen und des reinen Fließverhaltens ist es vorteilhaft „ideale Tracer“ (Käss, 1994; Flury, 2003) einzusetzen, die möglichst geringe Interaktionen (*e.g.* Sorption) mit der Bodenmatrix aufweisen. Für Untersuchung des chemischen Transformationsverhaltens anhand der Tracer ist es hingegen notwendig, dass diese unter den Bedingungen, denen die Pestizide ausgesetzt sind, ebenfalls nicht konservativ sind. Ihre Sorptions- und Transporteigenschaften verhalten sich ähnlich denen der modellierten Pestizide (Torrentó *et al.*, 2018). In dieser Untersuchung wird daher ein in Baden bei landwirtschaftlicher Nutzung typischer lehmiger Ackerboden verwendet (Bundesanstalt für Geowissenschaften und Rohstoffe, 2010) und mit Uranin sowie Sulforhodamin B versetzt.

Hierbei wird die Annahme getroffen, dass in ihrer chemischen Struktur übereinstimmende Moleküle bzw. deren Strukturelemente unter vergleichbaren Umwelt- bzw. Bodenbedingungen ähnliche Reaktivität und Stabilität zeigen (Willkommen *et al.*, 2021) und in diesem Kontext als *Proxy* für Pestizide dienen können (Lange *et al.*, 2011). Die Sulfonierung von Uranin zu seinem bei der Wellenlänge $\lambda = 510$ nm emittierenden Transformationsprodukt (TP510) verläuft demnach vergleichbar zur Sulfonierung gängiger Pestizide (*e.g.* Flufenacet, Metazachlor). Sulfonierung am Aromaten verläuft in der organischen Chemie in der Regel via elektrophile oder nukleophile Substitution und ist somit wesentlich von benachbarten Substituenten und elektronischen Effekten (induktiv, mesomer) beeinflusst (Brückner, 2004). Jedoch können sowohl durch die spezifische Anregungswellenlänge bei der Belichtung als auch durch enzymkatalysierte Metabolisierung Reaktionen ablaufen, die unter synthetischen, sterilen Bedingungen nicht favorisiert wären. Die Farb- bzw. Lichtintensität der Chromophore wird insbesondere durch Substituenten und Ausdehnung des mesomeren Systems bestimmt (Atkins & Paula, 2006; Tsai *et al.*, 2017).

Diese Annahme ermöglicht es, mit geringerem präparativen und weniger technischem Aufwand plausible Erkenntnisse über die bestimmenden Einflussfaktoren für den jeweiligen Umbauprozess zu erlangen. Die starke Fluoreszenz der Markierstoffe in wässriger Lösung ermöglicht die Vermessung sehr niedriger Konzentrationen, ihre relative Unbedenklichkeit im Vergleich zu den Pestiziden (Leibundgut *et al.*, 2009; Gombert *et al.*, 2017) senkt den präparativen Aufwand und die Umweltbelastung durch Abwässer.

2 Problemstellung und technischer Hintergrund

2.1 Problemstellung und Ziel des Versuchs

Im Rahmen dieser Arbeit soll in Laborversuchen an zwei Substraten (Ackerboden, technisches Sandgemisch) untersucht werden, wie Uranin (UR) in Anwesenheit von Sulforhodamin B (SRB) zu einem von bei Feldversuchen in Ackerböden vorgefundenen Transformationsprodukt „TP510“ (Lange *et al.*, 2018) umgebaut wird und welche Bedingungen (Bodenart, Temperatur, Bodenfeuchte, pH-Wert, Belichtung, mikrobielle Aktivität) diesen Umbau beeinflussen (Abbildung 2.1). Der Fokus der Auswertung und Bewertung liegt hier auf den Parametern Bodenart, Temperatur und Bodenfeuchte, der pH-Wert wird in geringerem Umfang betrachtet. Die Bewertungen der Belichtungs- und Autoklavierungseffekte und zur Quantifizierung des Wiedererhalts der Tracer sind in (Smekal, 2021) im Detail ausgeführt.
Eine wesentliche Herausforderung ist das Fehlen analytischer Standards für Transformationsprodukte. Daher können Intensitätswerte insbesondere für die jeweiligen Produkte nur relativ zueinander bewertet werden und wegen der unbekannten Quantenausbeute auch nur bedingt mit den Tracer-Konzentrationen in Relation gebracht werden.

Zur Bildungsrate von TP510 werden folgende Fragestellungen untersucht:

- Welchen Einfluss haben die Bodenart bzw. das Substrat auf die Bildungsrate?
  Hypothese 1: Die Bildungsraten in Ackerboden und Sand sind verschieden.
- Wie beeinflussen Temperaturunterschiede die Bildungsrate?
  Hypothese 2: Die Transformationsrate steigt mit der Temperatur.
- Wie wirken sich verschiedene Bodenfeuchten auf die Bildungsrate aus?
  Hypothese 3: Es gibt einen bevorzugten Feuchtebereich zur Bildung von TP510.
- Hat der pH-Wert des Bodens signifikanten Einfluss?
  Hypothese 4: Die Bildungsrate ändert sich durch Zugabe eines Puffers.
- Kann eine Aussage über einen dominanten Bildungsprozess gemacht werden?
  Hypothese 5: Die Degradation der Tracer erfolgt primär mikrobiologisch.

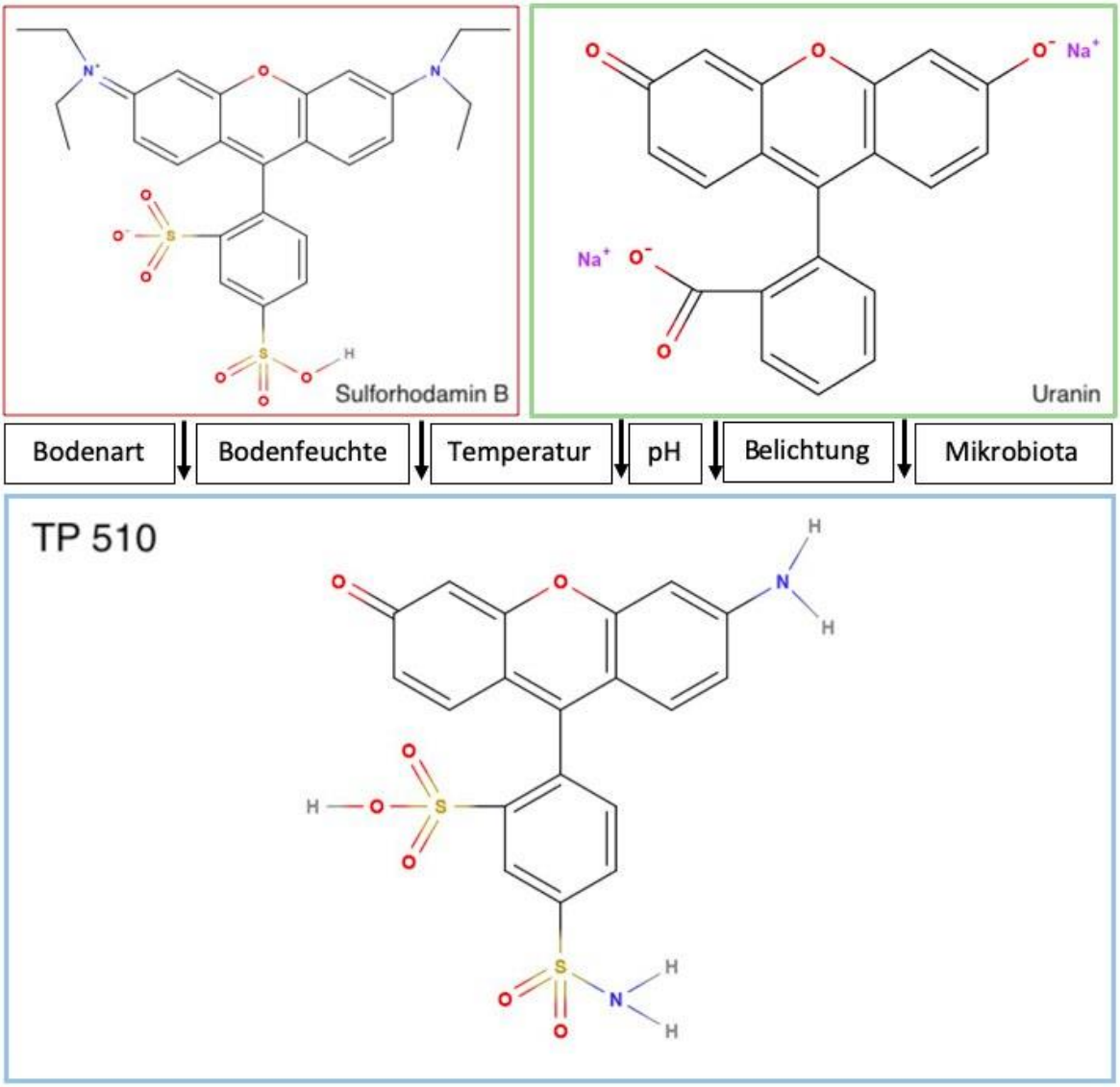

Abbildung 2.1 Angenommene Ausgangsstoffe Sulforhodamin B und Uranin für das Transformationsprodukt TP510 nach Lange *et al.,* 2018. Strukturen erzeugt mit Molview 2.4

2.2 Technische Grundlagen

Die Fluoreszenzspektroskopie (Aufbau: Abbildung 2.2) macht sich zunutze, dass nach dem Lambert-Beer-Gesetz (Gl. (1) die Intensität eines beobachteten Effekts, z.B. der Emission und Absorption von Licht einer bestimmen Wellenlänge durch eine Lösung außer für sehr hohe Konzentrationen, die einem Quenching-Effekt unterliegen, nahezu linear von der Konzentration des gelösten Stoffes abhängt. Damit ist es möglich, aus gemessenen Intensitäten mit Hilfe einer gerätespezifischen Kalibrierbeziehung (Kap. 3.5) die Konzentration des beprobten Stoffes zu berechnen. (Janiak, 2007)

$$E_\lambda = \left(\frac{I_0}{I_1}\right) = \varepsilon_\lambda * c * d \qquad \text{Gl. (1)}$$

mit I_0: Intensität des eingestrahlten Lichts; I_1: Intensität des transmittierten Lichts;
ε_λ: spektraler Extinktionskoeffizient; c: Stoffmengenkonzentration [mol * m^{-3}];
d: Schichtdicke der Probe [m]

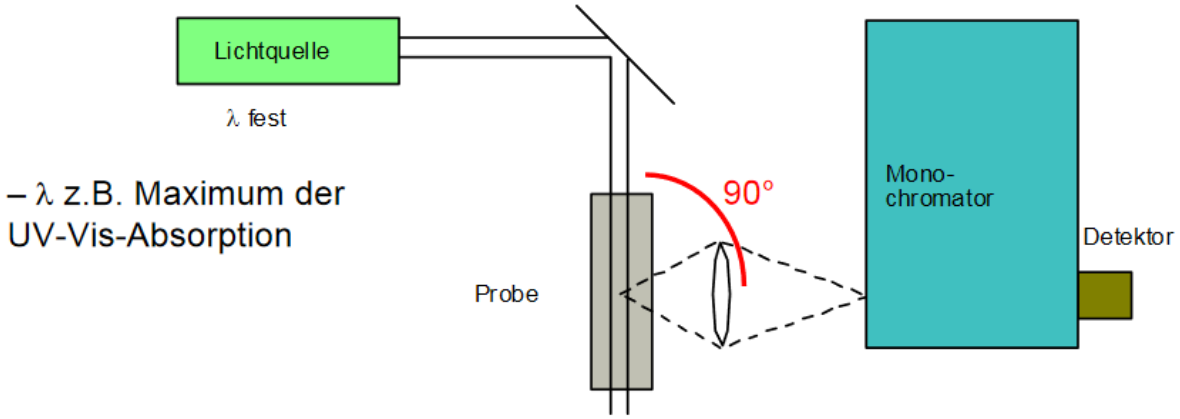

Abbildung 2.2 Aufbau eines Fluoreszenzspektrometers. Aus: (Janiak, 2007)

Die Absorption und Emission von Licht, die hierbei induziert bzw. gemessen wird beruht auf der Anregung und Relaxation des elektronischen Systems des jeweiligen Moleküls (UR, SRB, TP510). Die Valenzelektronen folgen dabei dem Schema spinerlaubter Übergänge (Jabłoński, 1933). Die Absorptions- und Emissionswellenlänge sind neben dem Lösungsmedium von verschiedenen induktiven und mesomeren Effekten, von Heteroatomen im Molekülgerüst und Substituenten am Aromaten (*e.g.* Carboxylat-, Amino-Gruppe, Abbildung 2.1) abhängig. Ihre Effekte beeinflussen das delokalisierte π-Elektronensystem (Brückner, 2004). Für die Xanthen-Derivate Uranin und Sulforhodamin sind eine offene, fluoreszente und eine geschlossene, nicht fluoreszente Form bekannt (Abbildung 2.3).

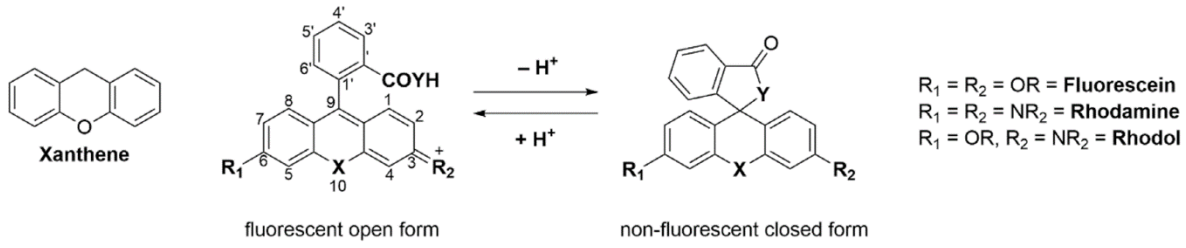

Abbildung 2.3 – Xanthen-Gerüst in offener und geschlossener Form. Aus: (Keller *et al.,* 2020)

Bei hinreichend großem Abstand der Wellenlängen-Maxima können mehrere Stoffe im gleichen Probenlauf nebeneinander bestimmt werden (Synchronscan-Verfahren). Da sich optimale Anregungs- und Emissionswellenlänge unterscheiden, ist es außerdem notwendig diese „Stokes-Verschiebung“ (Abbildung 2.4) zu kennen. Die Stokes-Verschiebung für Uranin in Wasser beträgt etwa $\Delta\lambda$ = 25 nm (Leibundgut *et al.*, 2009).

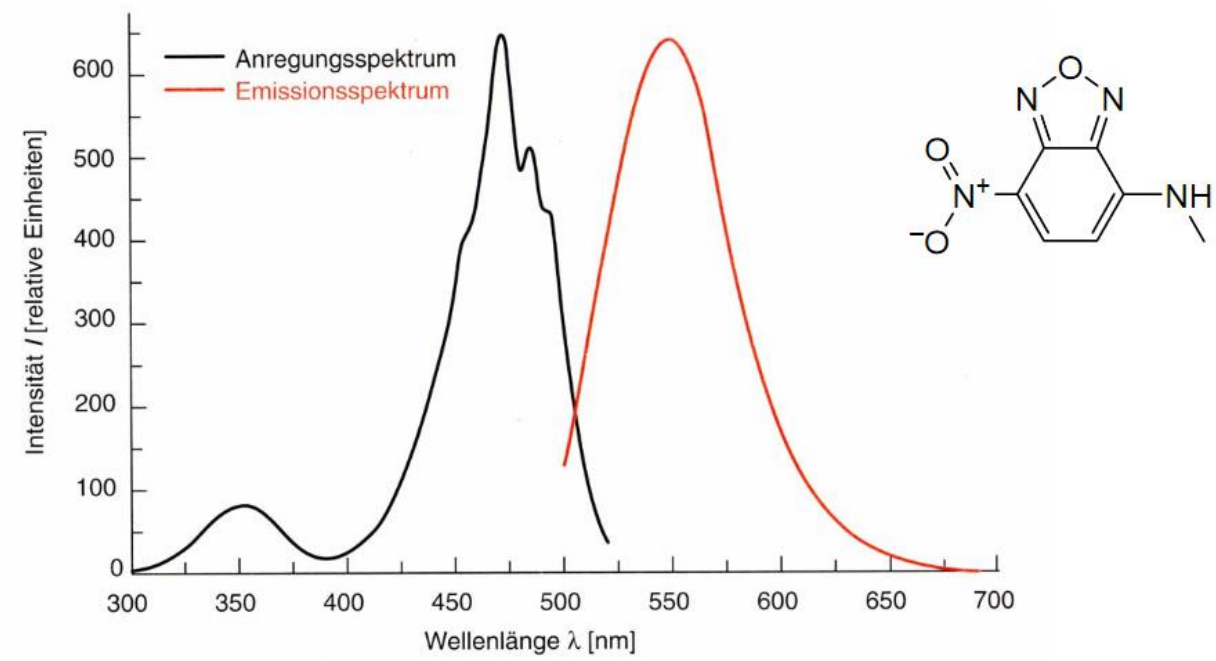

Abbildung 2.4 - Stokes-Verschiebung am Beispiel von 7-(N-Methylamino)-4-nitro-2,1,3-benzooxa-diazol (MNBDA). Aus: (Cammann, 2001)

3 Material und Methoden

3.1 Materialaufnahme und Aufbereitung

Die Versuchsreihen werden parallel mit einem technischen Sandgemisch (Fa. Kepes Handelsgesellschaft mbh Sand und Kies, Freiburg i. Br.) und unbehandeltem Ackerboden durchgeführt. Der technische Sand wird nicht weiter auf seine Korngrößenverteilung untersucht und lufttrocken gelagert. Nach grober Entfernung der Streuauflage wird das Ackerbodenmaterial am 28.07.2020 auf der Gemarkung March-Hugstetten (Koordinaten 48.0448 N, 7.7933 O) aus dem Oberboden (0 - 17 cm) entnommen und ca. 40 L Bodenmaterial in zwei offene Plastikeimer abgefüllt. Das Probenmaterial der beiden Eimer wird separat gesiebt (Korngröße 2 mm) und je 5 kg Siebgut zur Weiterverwendung als Bodensubstrat gut durchmischt. Die Bodenart wird nach der Bodenkundlichen Kartieranleitung KA5 (Ad-hoc-Arbeitsgruppe Boden, 2005) bestimmt.
Aus der feldfrischen Probe wird gravimetrisch die Bodenfeuchte bestimmt. Es werden je Substrat zweimal 10 g des frischen Materials eingewogen, 2 Tage bei 105°C getrocknet und erneut mit der Präzisionswaage (PCB 1000-2, Fa. Kern) ausgewogen. Bei beiden Substraten wird der pH-Wert in einer wässrigen Lösung mit der temperaturkompensierten pH-Elektrode (SenTix 81, WTW an Messgerät pH 597-S, ProfiLab) bestimmt. Hierzu werden je zwei Gemische aus 10 g des gesiebten Bodens und Sandes in je 30 mL deionisiertem Wasser (DIW) hergestellt und nach 1 min rütteln und Einstellung eines stabilen Wertes der pH-Wert abgelesen, die Werte ungewichtet gemittelt.

3.2 Maßlösung und Messfenster

Als Stammlösung für die Kalibrierung und Probennahmen werden je 20.00 g Uranin (Simon & Werner, Flörsheim) und Sulforhodamin B (Chroma, Münster) eingewogen und in einem 1-Liter-Maßkolben in DIW gelöst. Nach Rühren und einer Woche Lagerung im Kühlschrank (5°C, abgedunkelt) wird die Lösung auf die Proben aufgetragen. Die Kalibrierung des Spektrometers wird unmittelbar nach vollständiger Lösung mit Verdünnungen der Kalibrierlösung durchgeführt.
Die Tracer Uranin und Sulforhodamin B unterliegen einer deutlichen pH-Abhängigkeit in ihrer Fluoreszenzintensität (Abbildung 3.1). Daher ist es notwendig, zur Quantifizierung von Uranin, Sulforhodamin B und ihrem Transformationsprodukt den pH-Wert so zu wählen, dass sich die Messsignale der verschiedenen Stoffe nicht überlagern, gleichzeitig jedoch die Substanzen stabil und möglichst vollständig fluoreszent sind.

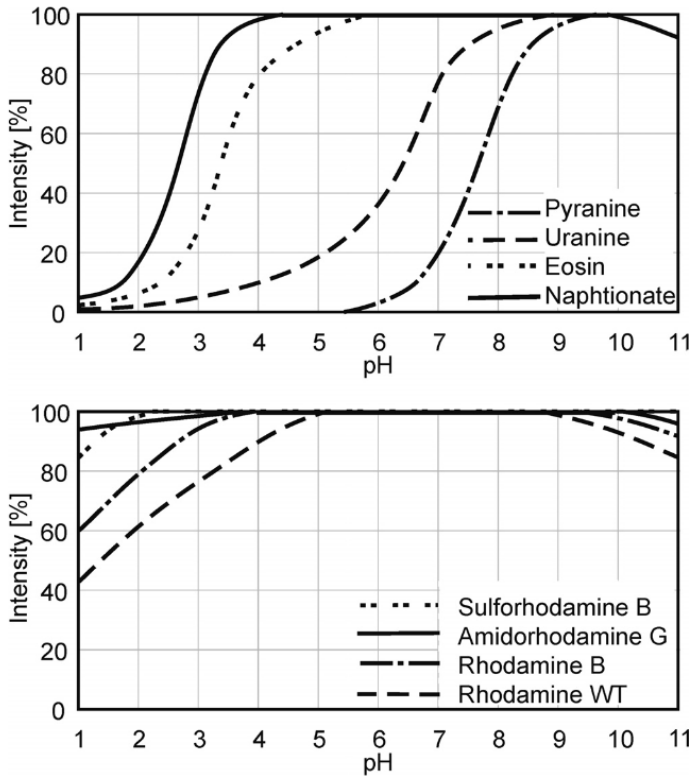

Abbildung 3.1 pH-Abhängigkeit diverser Fluoreszenzfarbstoffe, darunter oben: Uranin, unten: Sulforhodamin B. Aus: (Leibundgut *et al.*, 2009)

Die Säurestabilität des postulierten Transformationsproduktes TP510 wird in einer eigenen Messreihe überprüft, um das optimale pH-Messfenster zu erfassen, da die Fluoreszenz von Uranin bei der Vermessung des Produkts unterdrückt werden muss um eine Überlagerung der Signale zu verhindern (Leibundgut *et al.*, 2009). Zur Einstellung des gewünschten pH-Werts werden die Messlösungen mit Salzsäure (HCl) angesäuert.

3.3 Vorbereitung der Proben

In jedes Probengefäß (Schraubdeckelglas mit Durchmesser d = 7.0 cm und Volumen V = 212 mL, Abbildung 6.3) werden 100 g des luftgetrockneten Substrats (Boden oder Sand) eingewogen und mit der Messpipette 10 mL der Stammlösung auf die Proben aufgetragen und verteilt. Die Proben werden mit dem Metallspatel kräftig durchmischt. Für jede Probe werden drei Replikate erstellt, von denen mitunter zwecks Feuchtmessung die A-Probe 150 g statt 100 g Material enthält. Die Bezeichnungen der Proben sind in Tabelle 3.1 aufgeführt.

In Anlehnung an Willkommen *et al.* (2021) werden die Konzentrationen so gewählt, dass die Messsignale der Tracer und möglicher Transformationsprodukte sich vom Hintergrundsignal deutlich abheben. Hierzu werden mit obengenannter Lösung je 0.2 g der beiden Tracer auf den Boden aufgetragen (0.3 g bei 150 g Festmaterial). Bei Willkommen

et al. (2021) werden im Flächenbezug 12.5 g Uranin / m² verwendet werden, was ca. 0.05 g je Glas entspricht. In dieser Versuchsreihe wird mehr aufgetragen, da der hohe Hintergrund des Bodens gegenüber dem Messsignal abgeschwächt werden muss und somit die Detektion und Identifikation von Transformationsprodukten erleichtert wird.

Tabelle 3.1 Probenbezeichnungen

Parameter	Substrat	Kürzel + A/B/C
Standard	Boden	SB
	Sand	SS
Temperatur		
5°C	Boden	TB5
5°C	Sand	TS5
30 °C	Boden	TB30
30 °C	Sand	TS30
Feuchte		
trocken	Boden	FTRB
trocken	Sand	FTRS
Feldkapazität	Boden	FFKB
Feldkapazität	Sand	FFKS
Sättigung	Boden	FSAB
Sättigung	Sand	FSAS
pH-Puffer		
Phosphat pH 7	Boden	RESB
Phosphat pH 7	Sand	RESS

3.3.1 Einstellung der Feuchtebedingungen

Die Proben werden nach einer lufttrockenen Periode von 4 Wochen wöchentlich mit 10 mL deionisiertem Wasser versetzt (15 mL bei den Proben mit 150 g) und durchmischt. Die Feuchtemessung mittels Theta-Sonde erweist sich wegen der geringen Gefäßhöhe als unpraktikabel, so dass nur die gravimetrische Bestimmung der Feuchte durchgeführt wird. Ab Woche 5 werden alle Proben wöchentlich ausgewogen, um aus der Differenz zwischen Startgewicht, Entnahmemenge und Ist-Gewicht die aktuelle Bodenfeuchte zu bestimmen.
Den trockenen Proben wird nach Trocknung zu Beginn abweichend kein weiteres Wasser zugeführt. Die Proben zur Feldkapazität werden auf 15% (FFKS) und 30% (FFKB) eingestellt und nach wöchentlicher Wägung auf diesen Zielwert nachgestellt. Diese Werte ergeben sich aus Erkenntnissen der Vorversuche und stehen im Einklang mit Wessolek & Facklam (2009). Die Sättigungsproben werden jeweils bis zum oberen Rand der Festsubstanz mit deionisiertem Wasser eingestaut.

3.3.2 Einstellung des pH-Werts der Pufferproben

Bei den Proben RESB und RESS (Tabelle 3.1, [1]) werden je Replikat 10.0 mL des Phosphatpuffers aus einem KH_2PO_4/NaOH-Gemisch für pH = 7.0 zugegeben (ROTI® Calipure, Fa. Carl Roth, Karlsruhe) um den leicht sauren Ackerboden und den alkalischen Sand zu puffern. Der Auftrag des Puffers erfolgt einen Tag nach dem Versuchsbeginn der anderen Proben auf gleichzeitig angelegte Reserve.

3.3.3 Temperaturbedingungen

Die Lagerungstemperatur für die Proben TB5, TS5, TB30, TS30 wird gemäß Tabelle 3.1 festgelegt. Die Standardproben werden zum Vergleich mit der Raumtemperatur herangezogen und in gleichem Maße gewässert. Die Temperaturen aller Proben werden regelmäßig kontrolliert.

3.4 Probenaufbewahrung

Die Proben werden in den o.g. Schraubdeckelgläsern auf etwa 60 cm Höhe an der Fensterwand des Labors auf einem Tisch offen aufgestellt und die seitlichen Glaswände der Gefäße mit Aluminiumfolie lichtdicht abgedeckt (Abbildung 6.3), um den Lichteinfall nur von oben zu erzielen, wie er unter Feldbedingungen auch vorliegt. Die Temperaturproben werden im Kühlschrank bzw. Wärmeschrank (ohne Lichteinfall) temperiert. Die Lichteinstrahlung und Lufttemperatur im Probenzeitraum werden durch einen Datenlogger aufgezeichnet.

3.5 Kalibrierung

Zur Umrechnung der gemessenen Intensitäten der Probelösungen in Massenkonzentrationen werden Lösungen mit bekannter Konzentration aus der Stammlösung (Kap. 3.2) erstellt und die jeweiligen Intensitäten gemessen. Mit der Statistiksoftware RStudio (R Version 4.0.4) wird ein lineares Modell erstellt und das Gütemaß der Geradenanpassung R^2 berechnet. Es werden nur Messungen im linearen und gut kalibrierten Konzentrationsbereich durchgeführt.

3.6 Probenaufarbeitung und Durchführung der Messungen

Die Probenaufbereitung wird in Anlehnung an McMahon (2003) durchgeführt und nach den Erkenntnissen der Vorversuche zu Hintergrund und spektrometrischer Leistungsfähigkeit angepasst. Vor der wöchentlichen Entnahme des Aliquots (1.00 g) wird das Material durchmischt. Bei den tonhaltigen Proben (Sättigung: FSAB und Feldkapazität: FFKB) mit zwischenzeitlich großer Feuchte wird vorher das verhärtete Konglomerat intensiv zerkleinert. Das Aliquot wird in 100 mL deionisiertem Wasser suspendiert und 20 Stunden bei 150 Schwingungen pro Minute gerüttelt. Aus der gerüttelten Lösung werden 40 mL in Zentrifugenröhrchen pipettiert und 50 min bei 5000 U/min bzw. 4526 $\vec{g}$ zentrifugiert (Thermo Scientific, Heraeus Megafuge 16 Centrifuge Series). Mit einer Eppendorf-Pipette werden 1000 µL aus dem Überstand des Zentrifugenröhrchens entnommen und in einem Maßkolben mit deionisiertem Wasser (DIW) auf 200 mL aufgefüllt.
Aus dieser ersten Verdünnungsstufe (V1) werden 3 mL in eine Quarzglas-Küvette (Hellma Analytics, High Precision Cell, 101-40-10) überführt und mit 50 µL 1.37 M HCl angesäuert, um das Uranin-Signal zu unterdrücken. Die Küvettenfüllung wird unverzüglich im Fluoreszenzspektrometer (LS50B, Perkin Elmer) analysiert und die Werte der Maxima bei den entsprechenden Wellenlängen λ = {510: TP510, 560: SRB} nm ausgelesen.
Im zweiten Schritt wird zur Überprüfung des Verlaufs die Uranin-Konzentration bestimmt. Hierzu wird aus der Verdünnungsstufe V1 analog 5 mL auf 100 mL mit DIW aufgefüllt. Statt HCl werden 100 µL 1 M EDTA als alkalischer Puffer (pH ≈ 10) zugesetzt und die Probe vermessen. Die Messung erfolgt als Synchronscan-Verfahren (Kap. 0) und erfasst das Wellenlängenspektrum von 250 nm bis 650 nm. Aus der Kalibrierbeziehung kann die gemessene Intensität in eine Massenkonzentration umgerechnet werden. Die Vorgehensweise ist schematisch in Abbildung 3.2 dargestellt.

3.7 Vorgehensweise bei der Bewertung der Ergebnisse

Nach DIN 32645 (Deutsches Institut für Normung, 2008) wird die Nachweisgrenze (NWG) und die Bestimmungsgrenze (BG) ermittelt. Die Nachweisgrenze gibt an, ab welcher Konzentration (hier: Intensität) ein Stoff in der Probe vor dem gemessenen Blindwert (Messung des Substrats ohne Tracer, bei gleicher Aufarbeitung) mit einer definierten Sicherheit nachgewiesen werden kann. Die Bestimmungsgrenze gibt an, ab welcher Intensität die quantitativ richtige Bestimmung als gesichert gilt. Für die Verdünnungsstufen werden wegen des veränderlichen Hintergrundes separate Standardabweichungen σ bestimmt. In Gl. (2-4) werden diese aus der experimentell ermittelten Standardabweichung berechnet und sind in Tabelle 3.2 aufgelistet.

Tabelle 3.2 - Daten zu Bestimmungs- und Nachweisgrenze

	Verdünnung 1:4000	Verdünnung 1:200	Verdünnung 1:200	keine Verdünnung		
Probe	λ_{max} = 488 nm; UR	510; TP510	560; SRB	488	510	560
Boden_A	70.3	42.9	5.6	135.0	76.4	25.2
Boden_B	64.0	46.7	5.8	127.4	73.2	21.8
Boden_C	40.3	48.8	6.2	69.6	51.8	9.0
Sand_A	69.5	27.3	3.5	104.2	59.0	9.9
Sand_B	29.7	28.4	3.7	71.1	45.9	5.5
Sand_C	67.6	21.6	2.8	59.8	45.7	8.0
$\bar{x}$ Boden	58.2	46.1	5.9	110.6	67.1	18.6
$\bar{x}$ Sand	55.6	25.8	3.3	78.4	50.2	7.8
σ Boden	15.8	3.0	0.3	32.2	13.4	8.2
σ Sand	22.5	3.6	0.4	23.0	7.6	2.2

Mit dem

$\bar{x}_{B,S}$ = Mittelwert der Leerprobe und der

$\sigma_{B,S}$ = Standardabweichung der Leerprobe

gilt für die Intensitäten von TP510 bei seiner Verdünnung 1:200 (Messverdünnung):

Tabelle 3.3 – Nachweis- und Bestimmungsgrenzen für TP510

$$NWG_{Boden,TP510} = \bar{x}_B + 3 * \sigma_B = 55.0 \quad \text{Gl. (2)}$$

$$BG_{Boden,TP510} = \bar{x}_B + 10 * \sigma_B = 75.7 \quad \text{Gl. (3)}$$

$$NWG_{Sand,TP510} = \bar{x}_S + 3 * \sigma_S = 36.6 \quad \text{Gl. (4)}$$

$$BG_{Sand,TP510} = \bar{x}_S + 10 * \sigma_S = 62.0 \quad \text{Gl. (5)}$$

Neben der Bewertung der Ergebnisse nach diesen Kriterien soll auch durch visuelle Ableitung untersucht werden, ob sich TP510 gebildet hat, da es für diesen Stoff keinen analytischen Standard gibt. Hierbei wird bewertet, ob sich ein lokales Maximum von seiner spektralen Umgebung sichtbar abhebt und klar zu erkennen ist.

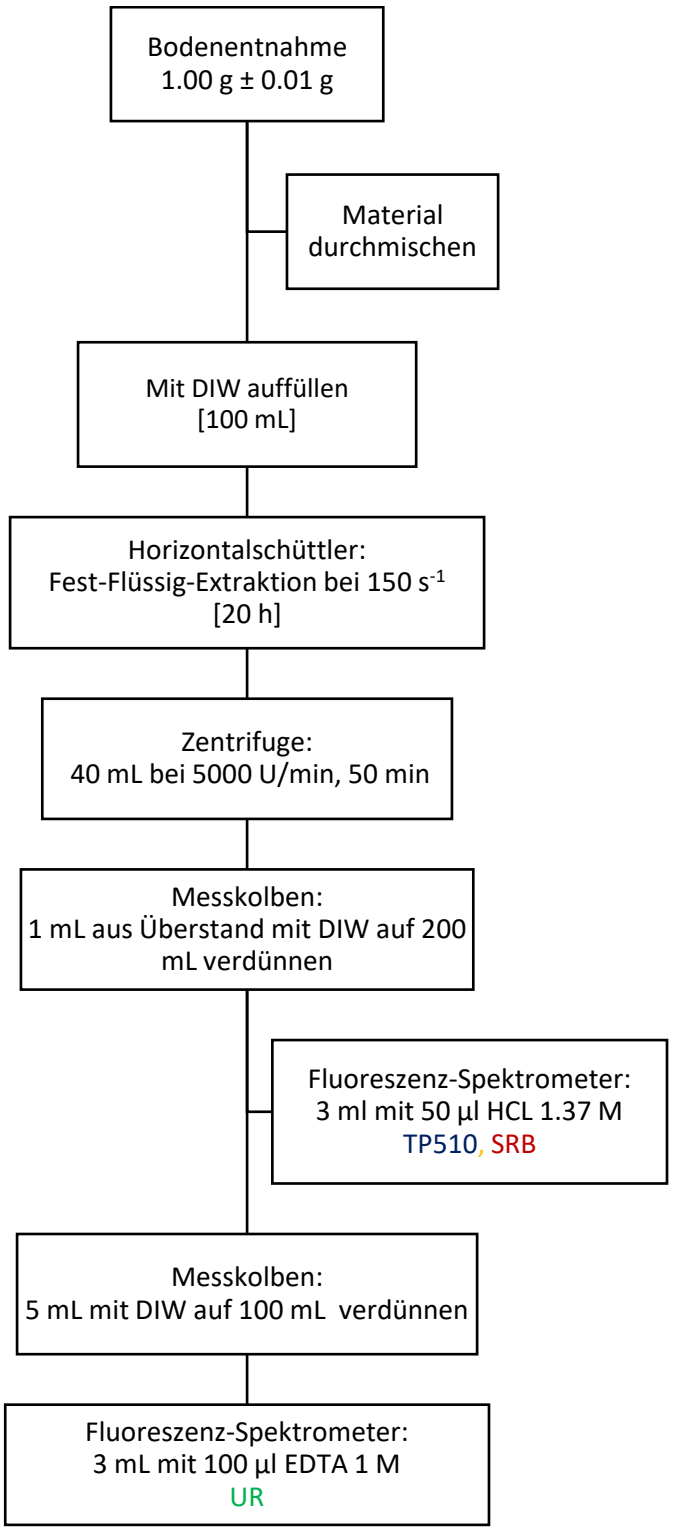

Abbildung 3.2 Schema des wöchentlichen Entnahme-, Aufbereitungs- und Messvorgangs für jede Probe. Intensitätsmessungen jeweils farbig im Ablauf angegeben. Verändert aus: Smekal (2021)

4 Ergebnisse

Die Spektren der Proben wurden aufgezeichnet, mit spLib (Seeger, 2020) decodiert und sind exemplarisch für die Ackerboden-Standards (SB) in Abbildung 4.1 und Abbildung 4.2 dargestellt:

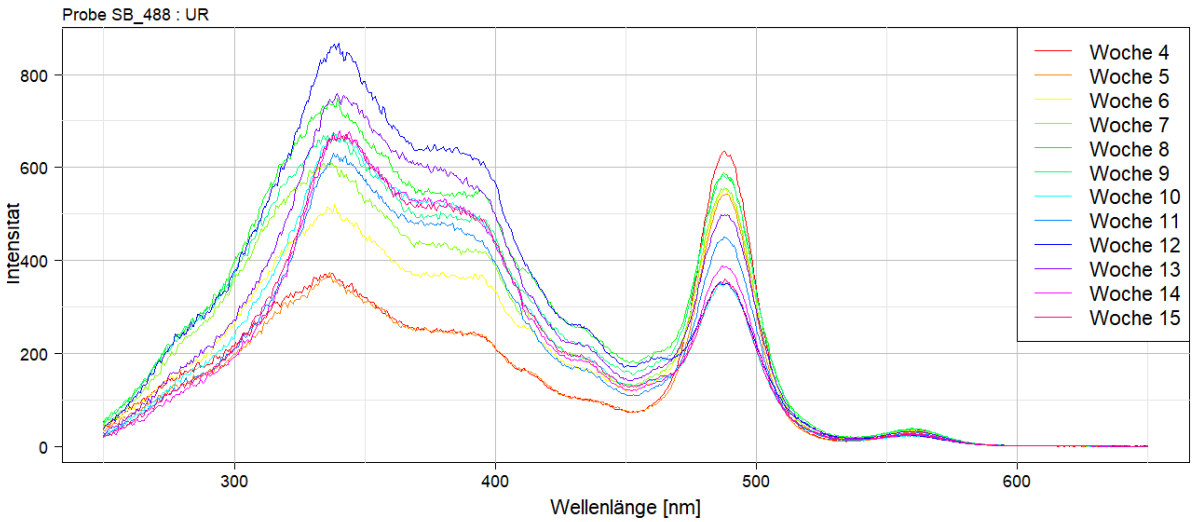

Abbildung 4.1 Spektrum der Uraninbestimmung im zeitlichen Verlauf

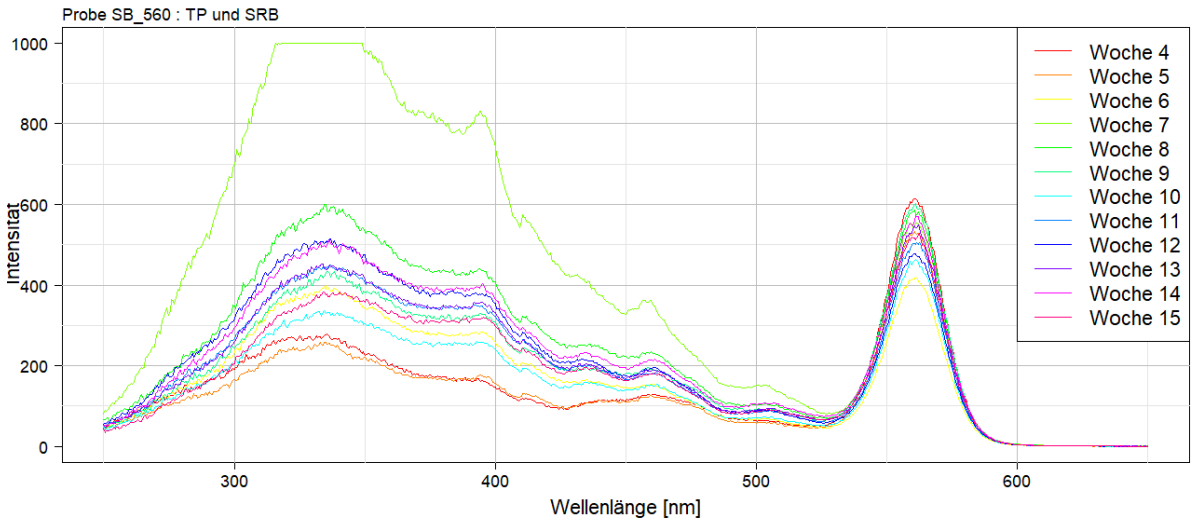

Abbildung 4.2 Spektrum der Sulforhodamin- und TP510-Bestimmung im zeitlichen Verlauf

Abbildung 4.1 zeigt den graduellen Abbau der Absorptionsintensität des Uranins bei $\lambda = 488$ nm durch die Degradation des Tracers. Im kurzwelligeren Bereich sind die Hintergründe und EDTA-Messpuffer aufgezeichnet. Abbildung 4.2 stellt entsprechend Sulforhodamin dar. Zu sehen ist die geringe Schwächung von SRB bei $\lambda = 560$ nm. TP510 bildet sich nur in geringer Menge.

4.1 Kalibrierung des Fluoreszenzspektrometers

Die Kalibrierbeziehung (Abbildung 4.3, Abbildung 4.4) zwischen Konzentration des Tracers in der vermessenen Lösung und gemessener Intensität ist entsprechend der Kap. 3.5 beschriebenen Vorgehensweise:

Für Uranin: $$y = 8.631 + 47.69 * x \quad \text{Gl. (6)}$$

Für Sulforhodamin B: $$y = 0.477 + 2.434 * x \quad \text{Gl. (7)}$$

Die Konzentration des Tracers ist damit gegeben durch:

$$Konzentration\ UR = \frac{Intensität_{\lambda=488\,nm} - 8.631}{47.69} \quad \text{Gl. (8)}$$

$$Konzentration\ SRB = \frac{Intensität_{\lambda=560\,nm} - 0.477}{2.434} \quad \text{Gl. (9)}$$

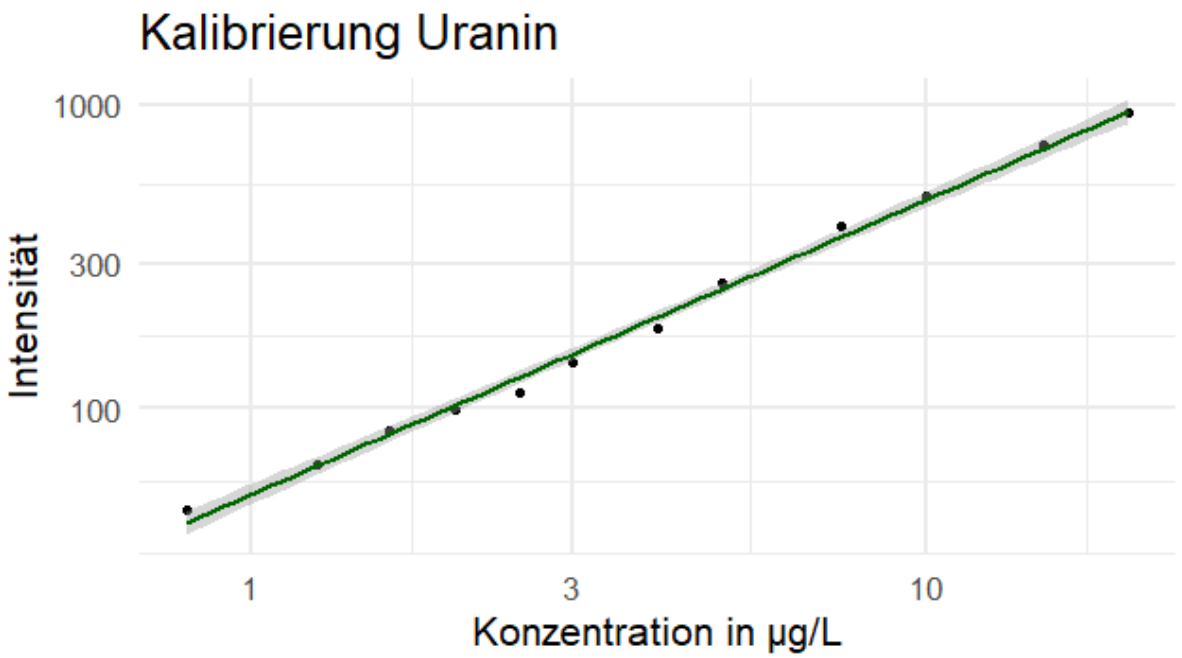

Abbildung 4.3 Kalibriergerade Uranin am Fluoreszenzspektrometer; Rechenvorschrift s. Gl. (6). Logarithmische Auftragung zur Darstellung der Verteilung der Datenpunkte

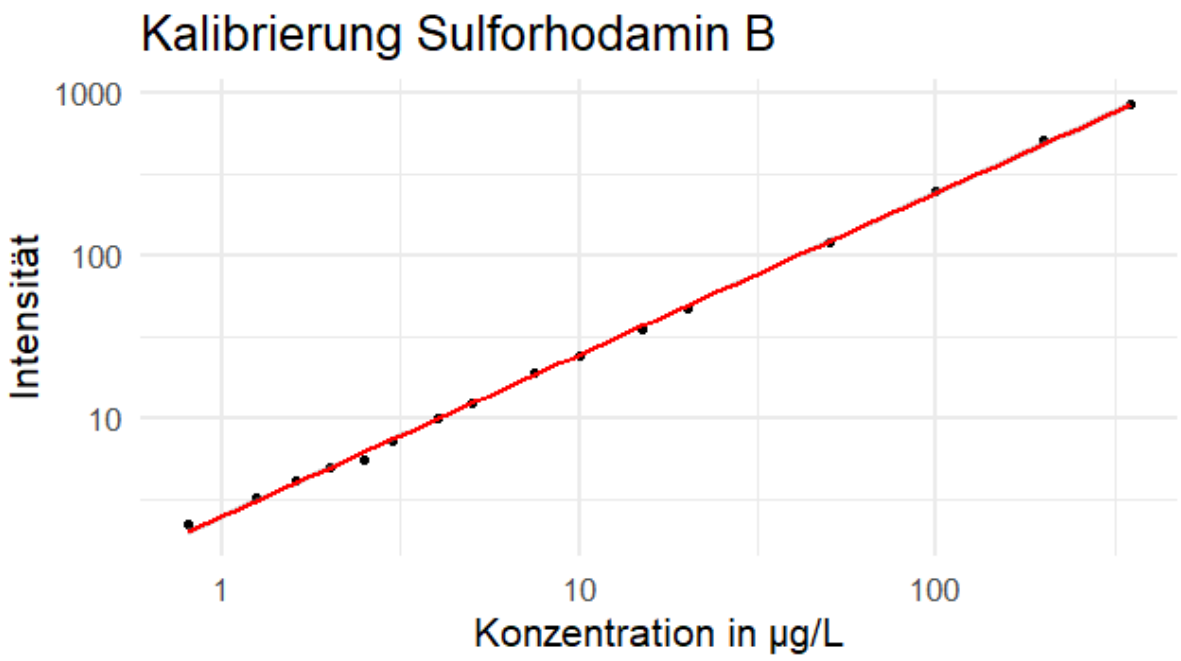

Abbildung 4.4 Kalibriergerade Sulforhodamin B am Fluoreszenzspektrometer; Rechenvorschrift s. Gl. (7). Logarithmische Auftragung zur Darstellung der Verteilung der Datenpunkte

Die Intensitäten an den Absorptionsmaxima der untersuchten Stoffe werden manuell aus der Spektrometer-Ausgabeanzeige (FL WinLab) ausgelesen. Die vollständigen Spektren werden mit der Programmbibliothek ‚spLib' (Seeger, 2020) in die Software R (Version 4.0.4) importiert und konvertiert.

4.2 Bodenanalyse

Gemäß der Kartieranleitung KA5 (Ad-hoc-Arbeitsgruppe Boden, 2005) wurde der Ackerboden als schwach toniger Lehm (Lt2) bestimmt (s. Tabelle 4.1; Abbildung 4.5). Die Bodenartbestimmung durch die Bodenkunde Freiburg wurde abweichend von der entnommenen Probe (0-17 cm) für die Tiefe 0-27 cm in einem früheren Versuch vorgenommen.

Tabelle 4.1 - Korngrößenverteilung des Ackerbodens

Fraktion	Korndurchmesser [µm]	Anteil [%]
Ton	<2.0 µm	26.088
Feinschluff	2.0-6.3 µm	3.216
Mittelschluff	6.3-20 µm	18.259
Grobschluff	20-63 µm	23.396
Feinsand	63-200 µm	0.083
Mittelsand	200-630 µm	28.956
Grobsand	630-2000 µm	0.003
Σ Ton	<2.0 µm	26.088
Σ Schluff	2.0-63 µm	44.870
Σ Sand	63-2000 µm	29.042
		100.000

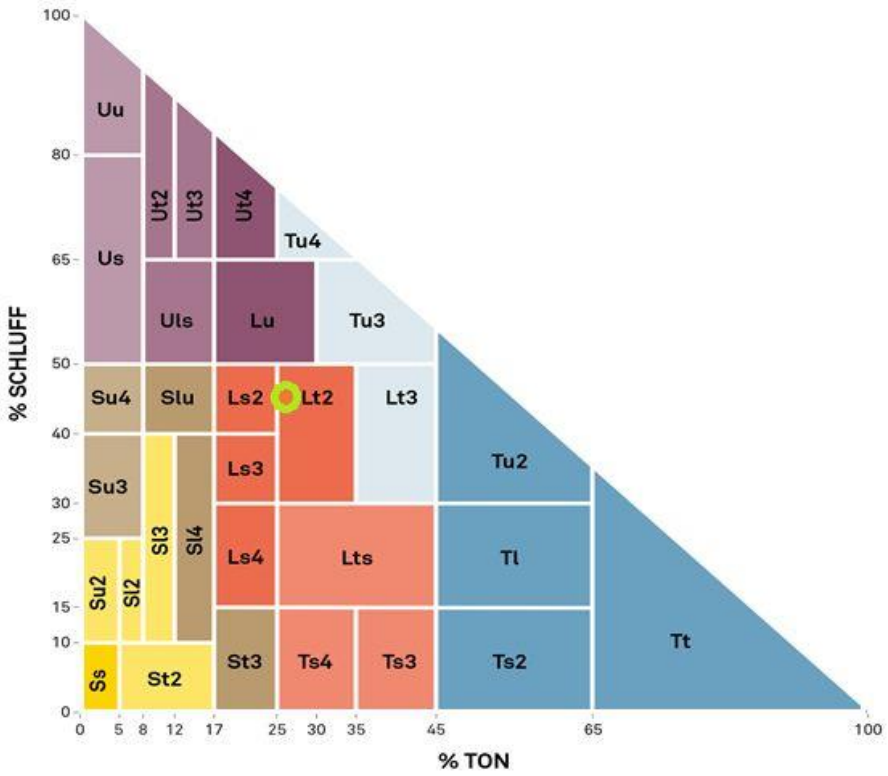

Abbildung 4.5 Bodenart des Probenmaterials nach KA5 (Ad-hoc-Arbeitsgruppe Boden, 2005), Bodenkunde Freiburg. Hervorgehoben in hellgrün: Lage des Probenmaterials im Körnungs-diagramm

Die Messung der pH-Werte mit den in Kap. 3.1 beschrieben Vorgehensweise ergab einen leicht sauren Wert für den Ackerboden (pH = 5.5), für den Sand leicht alkalisch (pH = 8.9). Die Werte sind in Tabelle 4.2 zusammengefasst.

Durch Verbrennungsanalyse wurde das Kohlenstoff-Stickstoff-Verhältnis (C/N) an drei Replikaten bestimmt (Abbildung 4.6). Im Analyseverfahren wurde nicht zwischen organischem und anorganischem Kohlenstoff aufgeschlüsselt.

Tabelle 4.2 – Rohmaterial und gepufferte Proben: pH und C/N-Verhältnis

Probe	Boden frisch	Sand frisch
pH	5.5	8.9
C/N	9.2	43.2

	Boden gepuffert Start	Sand gepuffert Start	Boden gepuffert Ende	Sand gepuffert Ende
pH	5.9	8.4	6.0	9.0

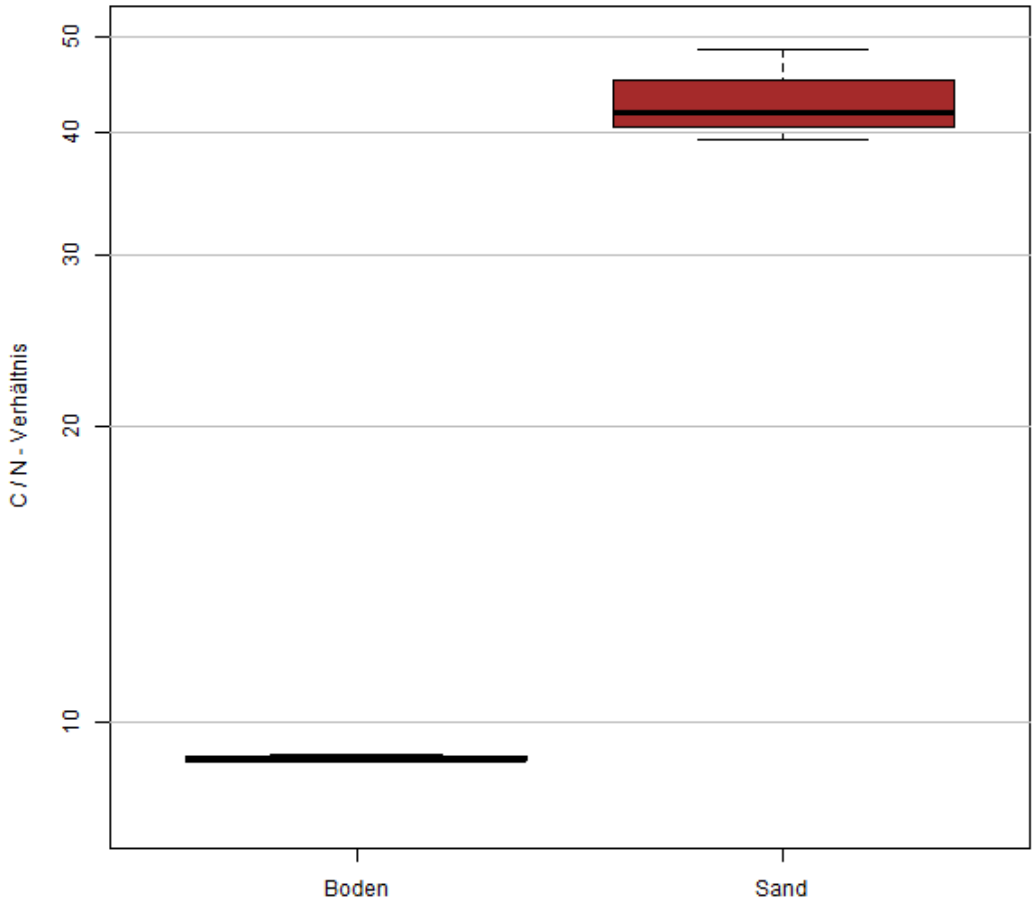

Abbildung 4.6 - Kohlenstoff-Stickstoff-Verhältnis des Boden- und Sandmaterials

4.3 Säurestabilität von TP510

Wie in Kap. 3.2 beschrieben, wird das optimale pH-Fenster bestimmt, um die TP510-Konzentration fluorometrisch zu bestimmen. Zur Bestimmung wird der Überstand der Probe LIS-A (Belichtung Sand, 29.9.2020; Smekal, 2021), die zu diesem Zeitpunkt die höchsten TP510-Werte aufweist, in der Verdünnung 1:100 mit DIW verwendet.

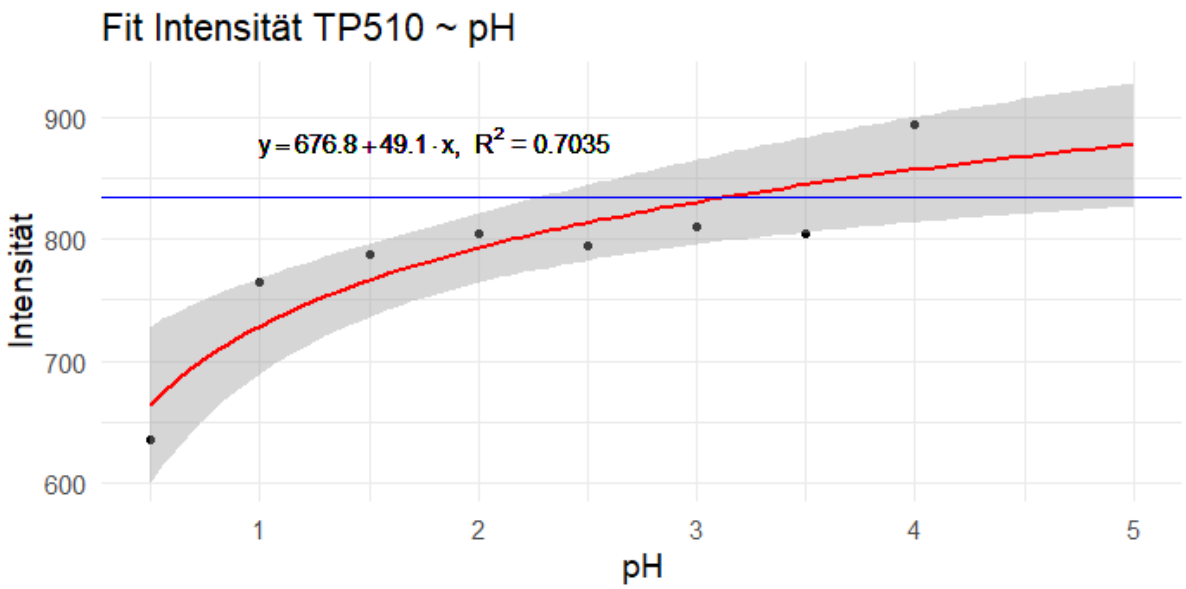

Abbildung 4.7 pH-Abhängigkeit des TP510-Signals; Fit durch linear model mit logarithmischer Beziehung; R Version 4.0.4

Durch die in Kap. 3.2 und Abbildung 3.1 dargelegten Limitierungen ergibt sich als optimales Messfenster um das Transformationsprodukt in Anwesenheit von Uranin zu quantifizieren der pH-Bereich < 5.

TP510 hingegen zeigt stärkere Aktivität bzw. Stabilität bei pH > 1.5. Soll die Vermessung von TP510 gleichzeitig mit Sulforhodamin B erfolgen, so muss gelten pH >= 2. Als am besten geeignetes Messfenster wurde der Bereich zwischen pH = 2.0 und pH = 3.5 bestimmt (Tabelle 4.3). Die Unterdrückung der Fluoreszenz des Uranins durch Protonierung ist in diesem Bereich hinreichend, um das Messsignal des Transformationsproduktes (λ = 510 nm) ohne Störung durch Uranin (λ = 488 nm) auszuwerten.

Tabelle 4.3 - Säureabhängigkeit der Fluoreszenzmessungen und ausgewähltes Messfenster. [a] vgl. Kap. 3.2; [b] relative Intensität zur regulären Messung LIS-A am 29.9.2020, Verdünnung eingerechnet

pH	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	3.5	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0	9.0	10.0	10.5	11.0
$UR_{[a]}$			Signal unterdrückt						unvollständig			vollständig			
$SRB_{[a]}$	unvollständig							vollständig						unvollständig	
$TP510_{[b]}$	instabil		> 80%			< 110%		unbekannt							

4.4 Bildungsraten TP510

In den Abbildungen der Messwerte (Abbildung 4.8 bis Abbildung 4.20) sind modellierte Zerfallskurven (UR, SRB) bzw. Aufbaukurven (TP510) für eine angenommene Reaktion 1. Ordnung (Wang & Hoffman, 1991) berechnet und eingefügt. Diese entsprechen nicht einer kontinuierlichen Zeitreihe mit infinitesimal kleinen Zeitschritten, sondern dienen lediglich als Orientierungshilfe und zur Visualisierung des Trends, wo vorhanden. Die Auswertung der Messwerte nach den ermittelten statistischen Schwellenwerten und durch visuelle Ableitung (Kap. 3.7) ist in Tabelle 4.4 dargestellt.

Tabelle 4.4 - Zusammenfassung der Identifikation von TP510. [1] nach visueller Ableitung; [2] Wellenlänge verschoben; Peaks: *schwach, **deutlich, ***stark ausgeprägt

Probe	Kürzel	über NWG in Woche	über BG in Woche	Peak erkennbar [1]
Standard Boden	SB	4	6	7 *
Standard Sand	SS	4	8	10 *
Temperatur 5 °C Boden	TB5	5	6	7 **
Temperatur 5 °C Sand	TS5	5	nein	nein
Temperatur 30 °C Boden	TB30	4	5	nein
Temperatur 30 °C Sand	TS30	5	8	nein
Feuchte: trocken Boden	FTRB	4	5	nein
Feuchte: trocken Sand	FTRS	4	4	nein
Feuchte: Feldkapazität Boden	FFKB	4	5	7 *
Feuchte: Feldkapazität Sand	FFKS	4	8	nein
Feuchte: Sättigung Boden	FSAB	5	5	9 *** [3]
Feuchte: Sättigung Sand	FSAS	4	7	nein
pH-Puffer Boden	RESB	4	8	4*
pH-Puffer Sand	RESS	4	7	nein

4.4.1 Temperaturproben

Die unterschiedlichen Temperaturen der Proben (Standards: SB, SS; 5 °C: TB5, TS5; 30 °C: TB30, TS30) zeigen inkonsistente Effekte auf die Bildungsrate von TP510. Im Bodensubstrat zeigt sich die größte Bildungsrate bei 5 °C, bei 30 °C unterscheidet sie sich kaum vom Standard bei Raumtemperatur 19-21 °C (Abbildung 4.8). Das Spektrum der entsprechenden Probe TB5 zeigt im zeitlichen Verlauf den Anstieg der Intensität bei $\lambda = 510$ nm und gegenläufig den Abbau von Sulforhodamin B (Abbildung 4.9). Im Vergleich dazu ist der Peak des Transformationsprodukts um Standard deutlich schwächer ausgeprägt (Abbildung 4.10). Der Rückgang des Uranins ist in Abbildung 4.11 ersichtlich.

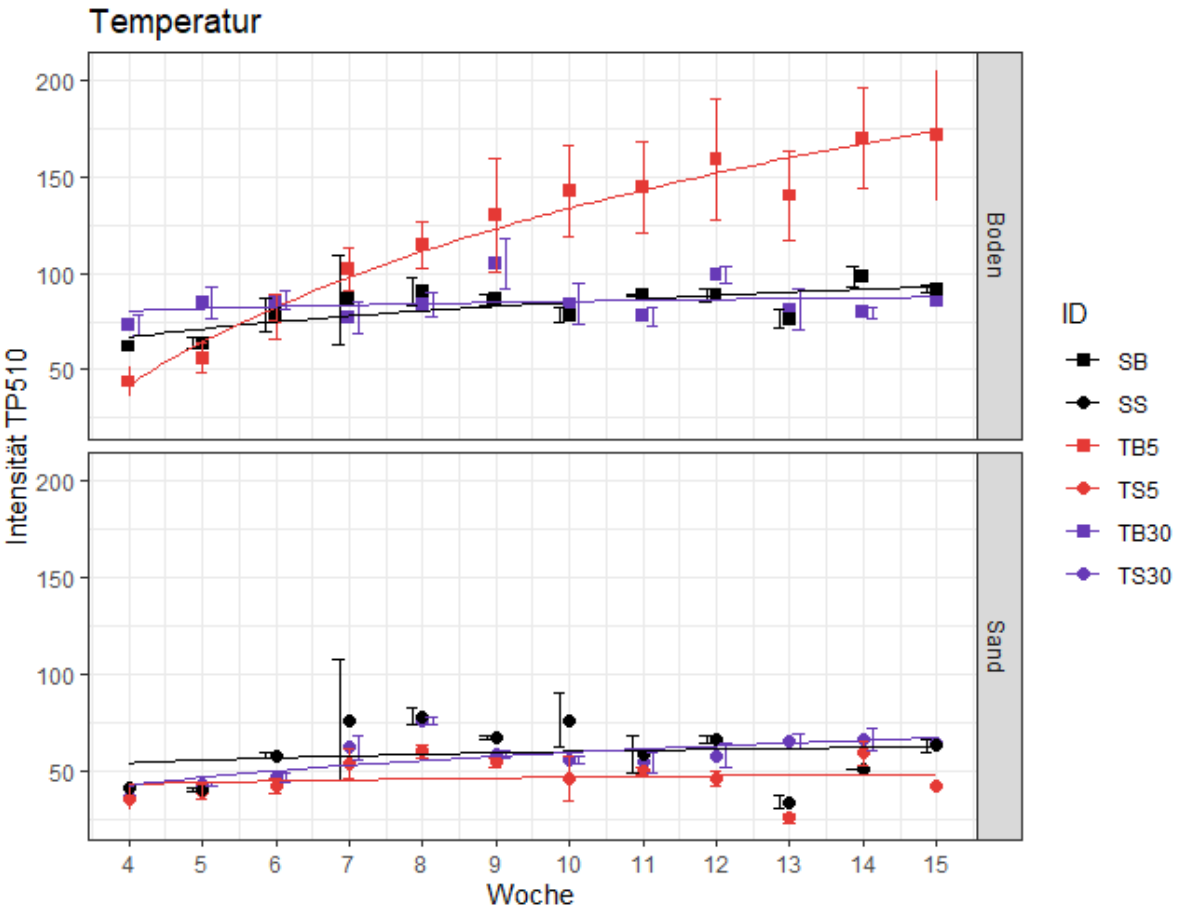

Abbildung 4.8 - Temperaturkurven über den Probenzeitraum mit TP510

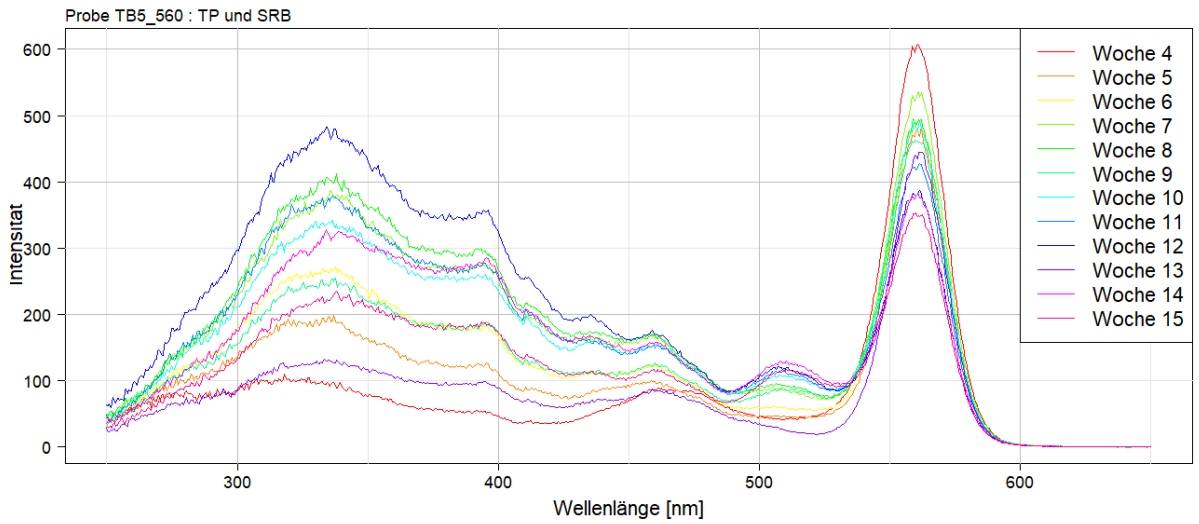

Abbildung 4.9 Absorptionsspektren TB5 im Versuchsverlauf: TP510 und SRB

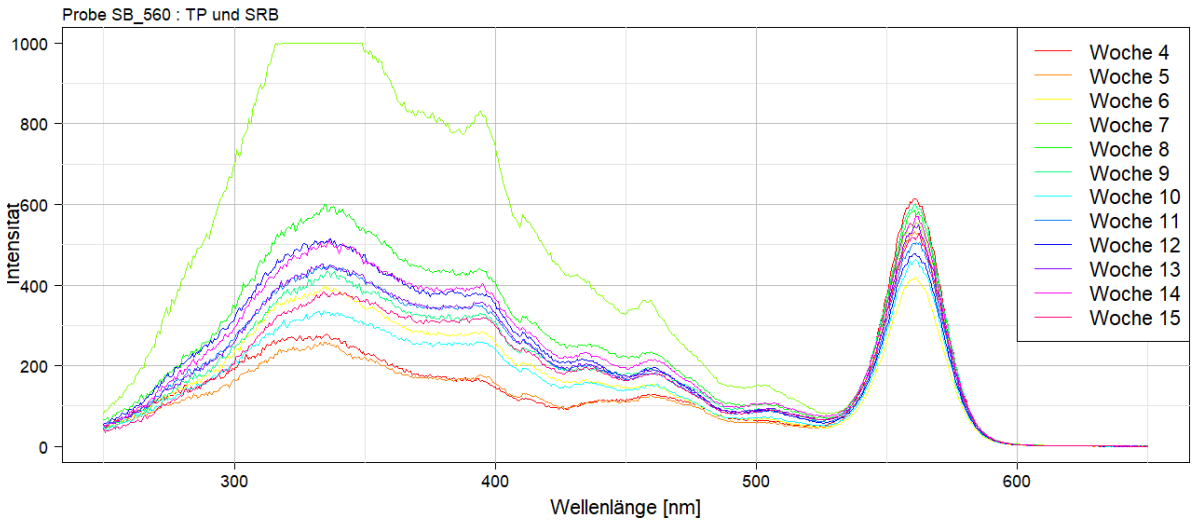

Abbildung 4.10 Absorptionsspektren SB im Versuchsverlauf: TP510 und SRB

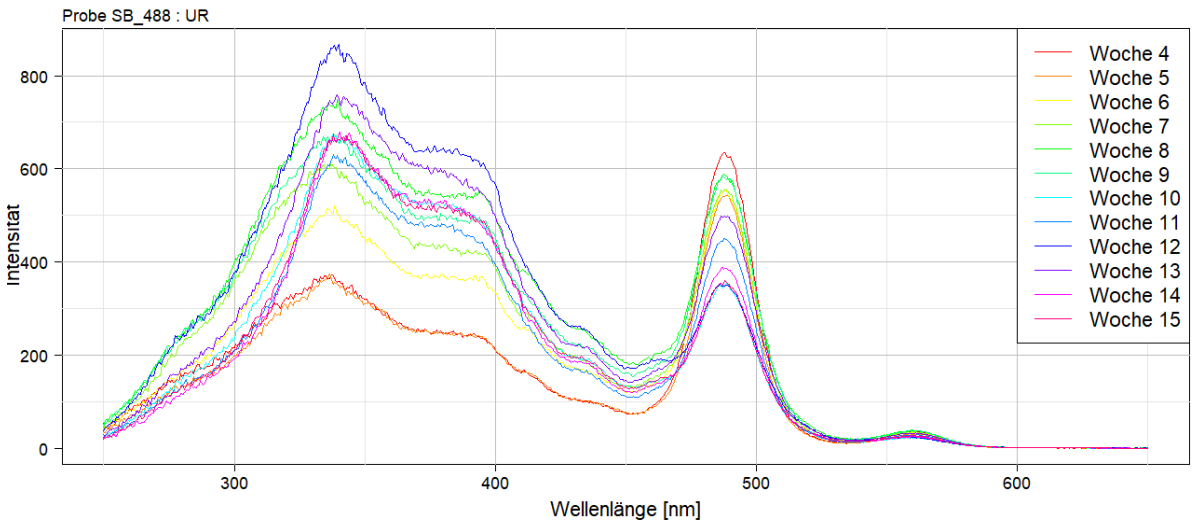

Abbildung 4.11 Absorptionsspektren SB im Versuchsverlauf: UR

Im Weiteren sind hier nur die Graphen dargestellt, die zur Überprüfung der Hypothesen wesentlich beitragen, alle anderen sind in Anhang B ergänzend eingefügt.

4.4.2 Feuchteproben

Die Proben zur Untersuchung des Effekts der Bodenfeuchte (s. Tabelle 3.1) wurden auf die in Kap. 3.3.1) beschriebenen Feuchten eingestellt und nach Wägung das Defizit ausgeglichen. Diese Zielfeuchten sind in Abbildung 4.12 dargestellt. Die Wägung der Trockengewichte ist in Abbildung 4.21 als Feuchtegehalt visualisiert. Alle anderen Proben wurden wie die Standardproben wöchentlich mit 10 mL DIW nachgefeuchtet.

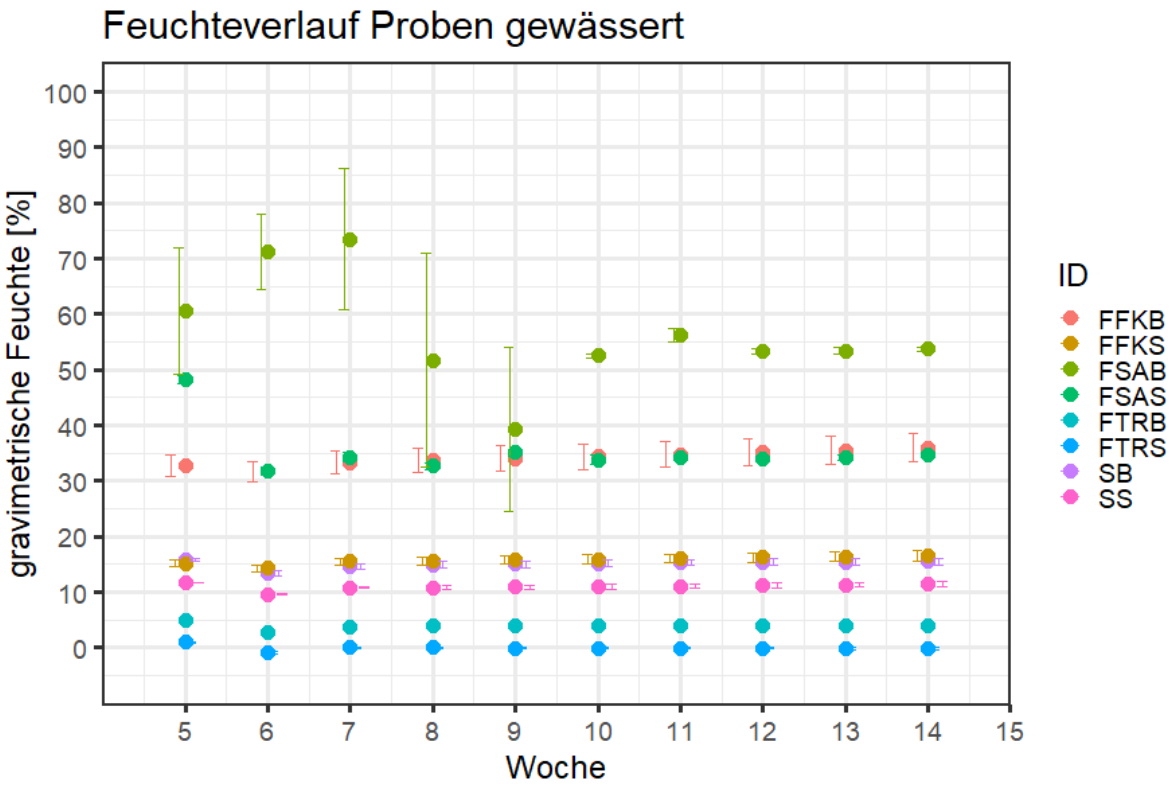

Abbildung 4.12 Feuchte der Proben nach dem Verdunstungsausgleich. Feuchtegrade trocken: FTRB, FTRS; Feldkapizität: FFKB, FFKS; Sättigung: FSAB, FSAS. Vergleich mit Standards: SB, SS. Sandproben mit S, Bodenproben mit B endständig bezeichnet

In Abbildung 4.12 sind die berechneten Feuchtwerte aus der Trockenwägung der Proben (Abbildung 4.21) aufgetragen. In Abbildung 4.13 sind die Proben verschiedener Feuchten dargestellt. Die Zuwachsraten sind insgesamt gering und für alle Proben geringer als der Vergleichsstandard (SB; SS). Bei den gesättigten Bodenroben kommt es vermehrt zu starken Ausreißern (FSAB Woche 10, Woche 13).

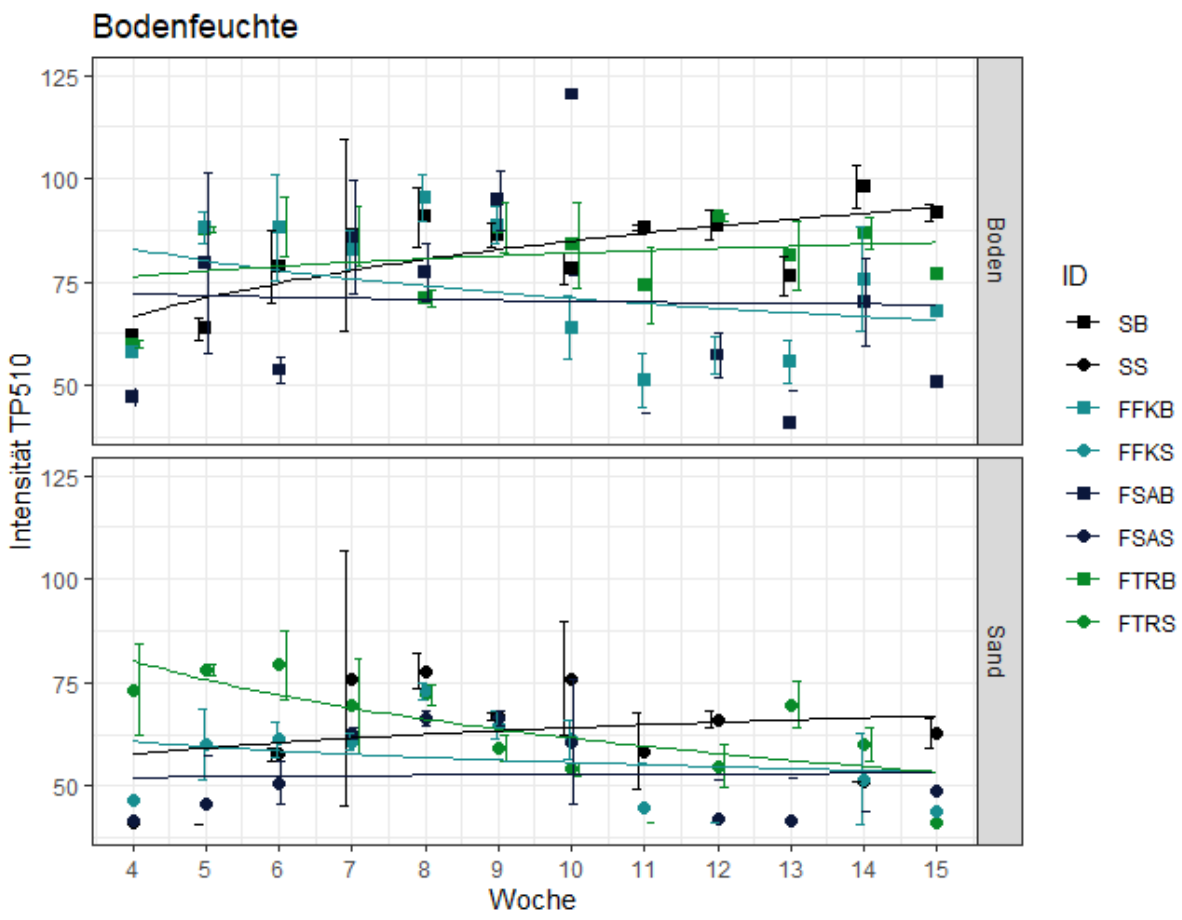

Abbildung 4.13 - Feuchteproben über den Probenzeitraum mit TP510

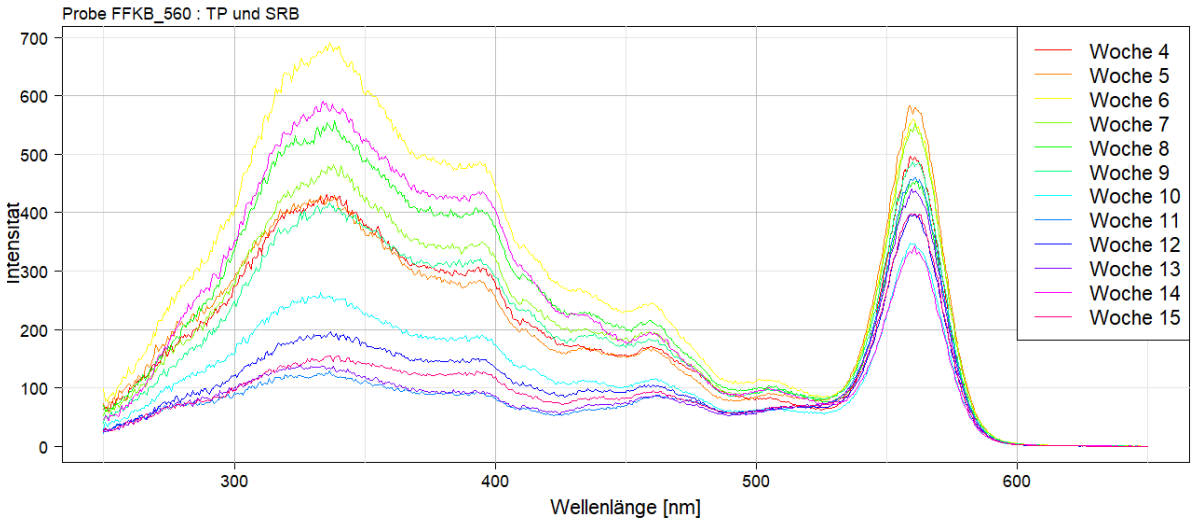

Abbildung 4.14 Absorptionsspektren FFKB im Versuchsverlauf: TP510 und SRB

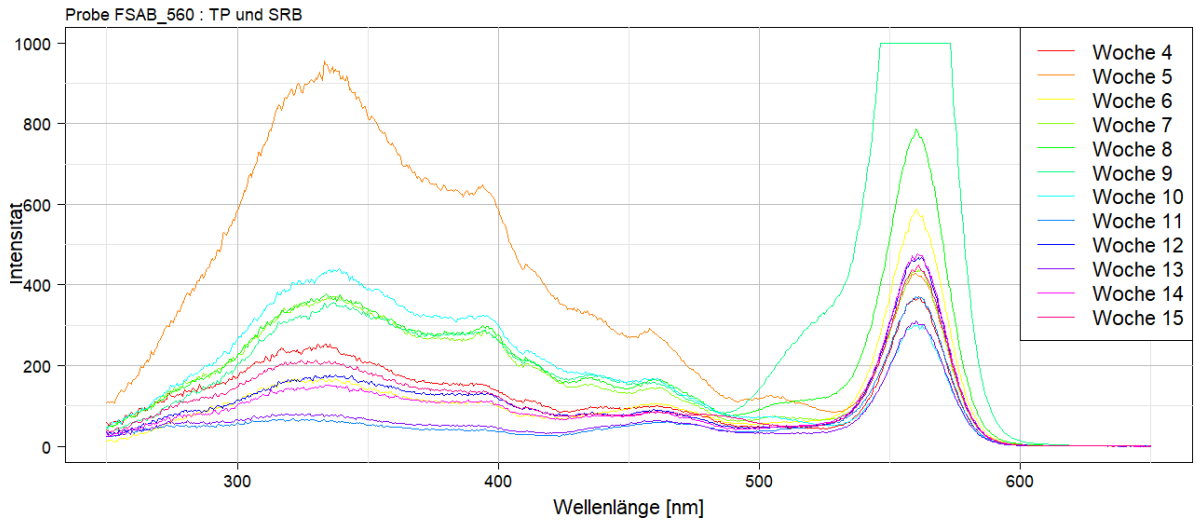

Abbildung 4.15 Absorptionsspektren SB im Versuchsverlauf: TP510 und SRB

4.4.3 Pufferproben

Die Pufferung der Substrate erzielte nur teilweise den gewünschten Effekt der Annäherung an den Neutralpunkt. Wie in Tabelle 4.2 dargelegt wurde der pH-Wert des Ackerbodenmaterials von 5.5 auf 5.9 erhöht. Der reine technische Sand wurde mit der Pufferung von pH 8.9 auf pH 8.4 gebracht. Bei der Messung am Versuchsende zeigt sich, dass der Sand zu seinem ursprünglichen pH-Wert zurückkehrt, der Boden jedoch nicht. Die Werte sind in Tabelle 4.2 festgehalten.

In Abbildung 4.16 sind vergleichen die Verläufe der Produktkurven mit (RESB; RESS) und ohne Puffer (SB, SS) dargestellt. Es bildet sich mehr TP510 bildet im Standard verglichen zu der gepufferten Bodenprobe. Im Sand ist der Unterschied zwischen der gepufferten und der nicht gepufferten Probe sehr gering. Die Spektren (Abbildung 4.17) zeigen keinen deutlichen Peak für das Produkt.

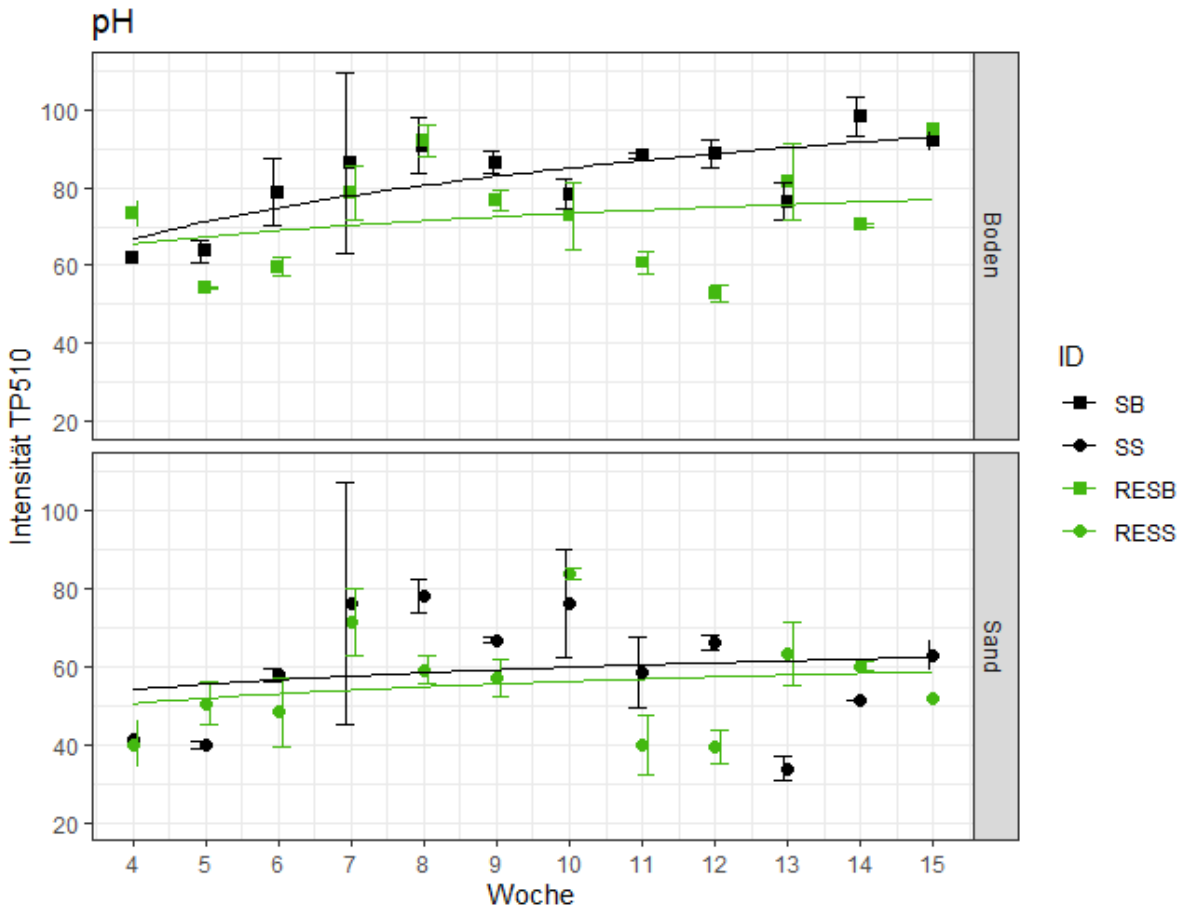

Abbildung 4.16 - Pufferproben über den Probenzeitraum mit TP510

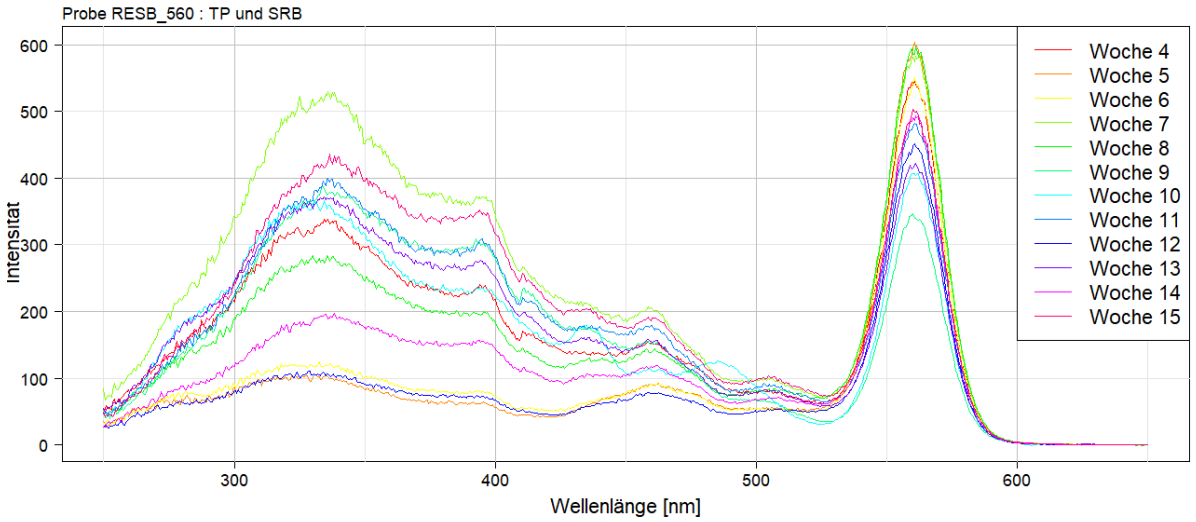

Abbildung 4.17 Absorptionsspektren RESB im Versuchsverlauf: TP510 und SRB

Aus Abbildung 4.18 und Abbildung 6.23 ist ersichtlich, dass der Rückgang der Uraninkonzentration im Sand bei Pufferzusatz deutlich beschleunigt ist im Vergleich zur Standardprobe. Im Boden ist dieser Effekt sehr gering.

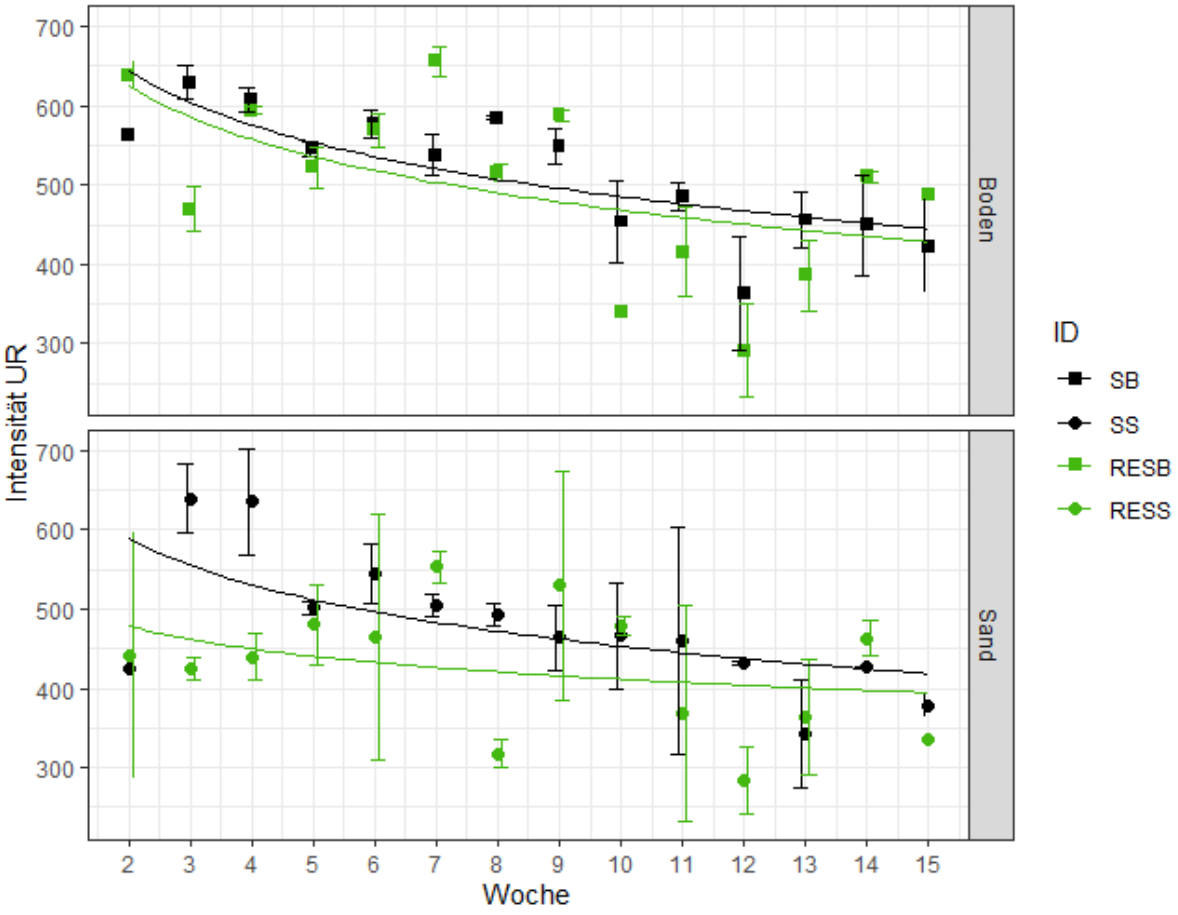

Abbildung 4.18 - Pufferproben über den Probenzeitraum mit UR

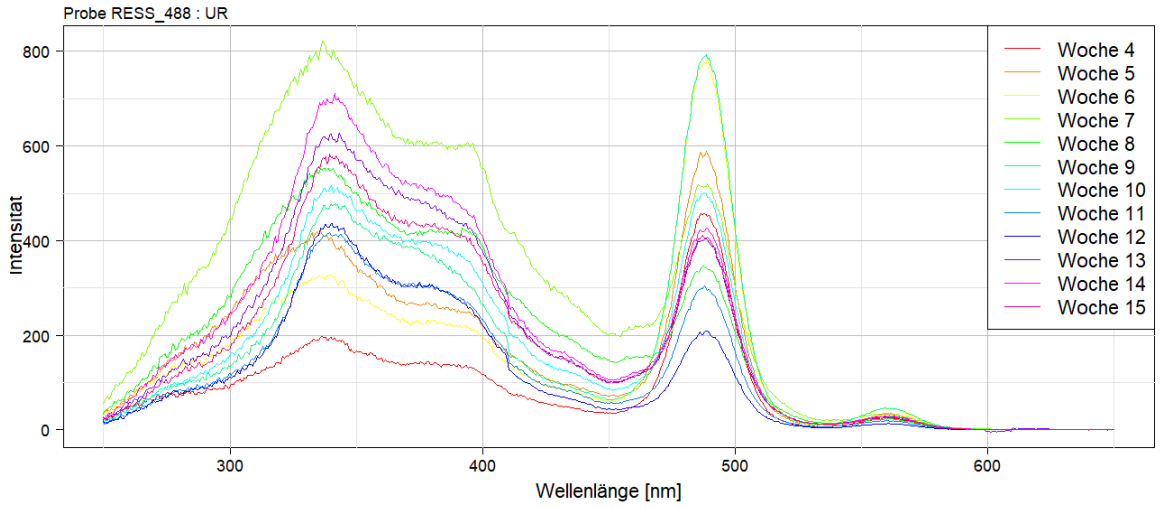

Abbildung 4.19 Absorptionsspektren RESS im Versuchsverlauf: UR

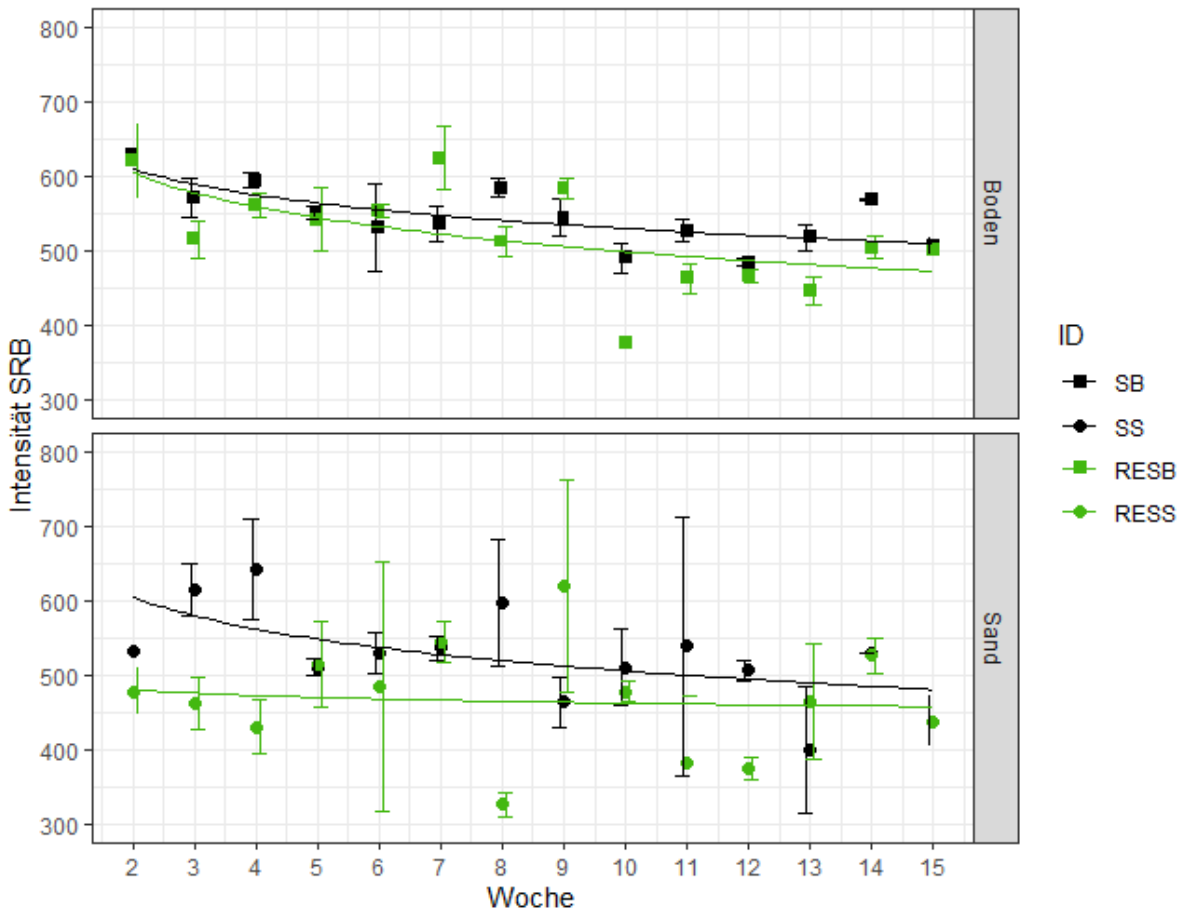

Abbildung 4.20 - Pufferproben über den Probenzeitraum mit SRB

4.5 Gravimetrische Feuchtebestimmung

Die Proben werden wöchentlich gewogen und die gravimetrische Feuchte w berechnet. Diese berechnet sich nach Gl. (10) und ist in Abbildung 4.21 gezeigt:

$$w = \frac{m_{Wasser}}{m_{Substrat}} = \frac{m_{Gesamt} - m_{Boden,trocken} - m_{Gefäß}}{m_{Substrat,Start} - m_{Substrat,entnommen}} \qquad \text{Gl. (10)}$$

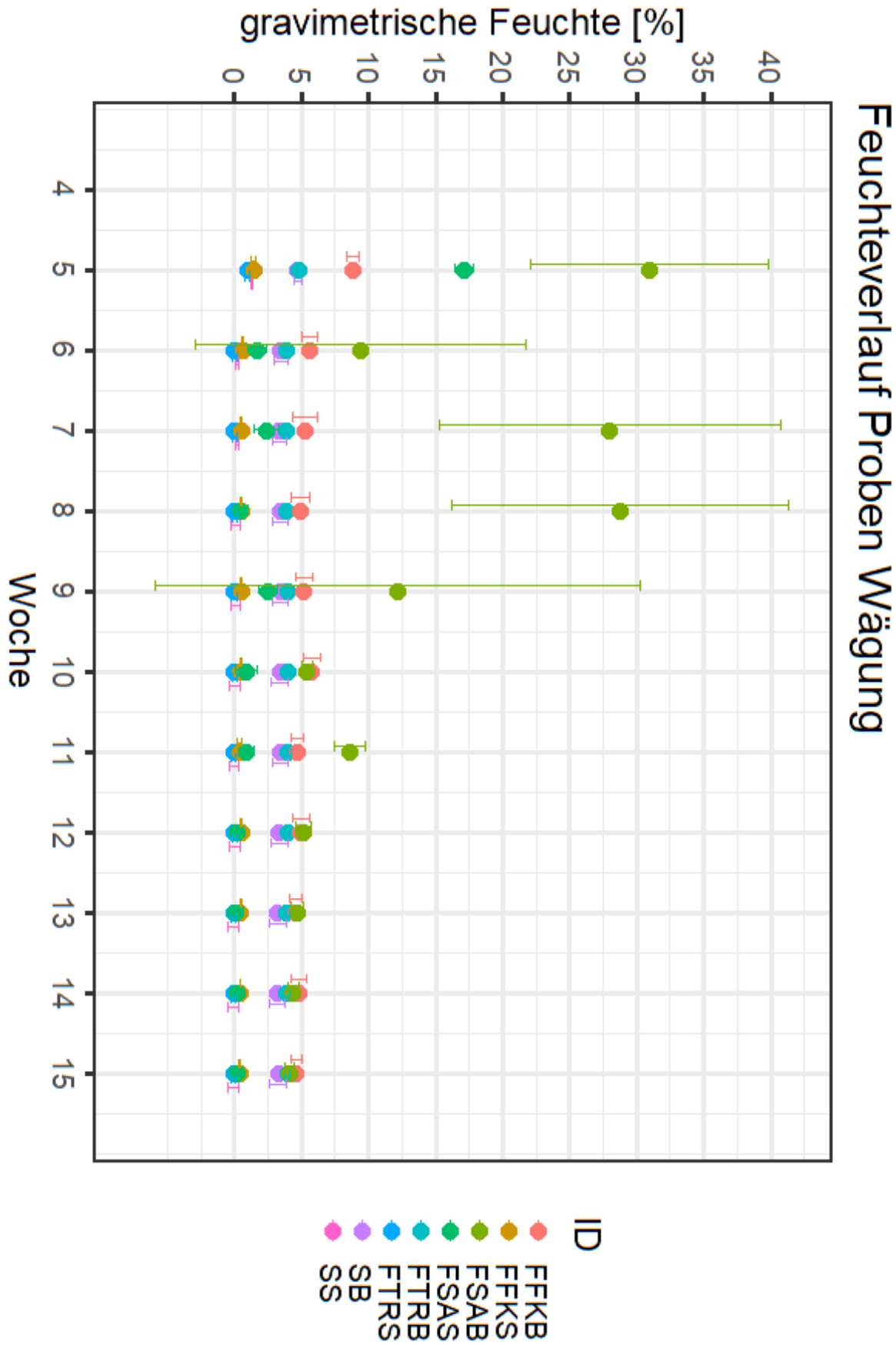

Abbildung 4.21 Bei der Wägung bestimmte Feuchte der unterschiedlich gewässerten Proben

4.6 Versuchsbedingungen

Die Lufttemperatur und Lichteinstrahlung werden ab Woche 5 mit einem Datenlogger (HOBO Pendant Temp/Licht UA-002-08) aufgezeichnet und ausgelesen. Die Verläufe sind in Abbildung 4.22 dargestellt und zeigen eine stabile Temperaturkurve mit Tageszyklen. Die Strahlung variiert stärker und zeigt eine deutlich fallende Tendenz.

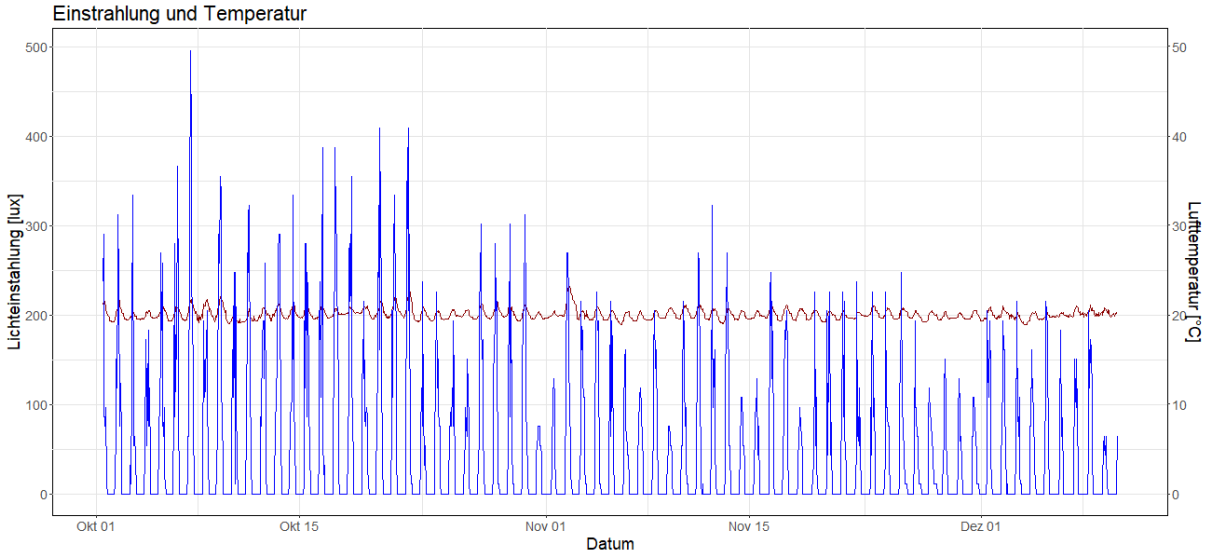

Abbildung 4.22 Aufzeichnungen des HOBO-Loggers bei den Proben am Laborfenster: Lufttemperatur und Lichteinstrahlung

Mit dem Pyranometer (SP-110-SS, Apogee Instruments & DT-3900, Digiwork Instruments) werden an einem Strahlungstag als Energieflussdichte 10 W/m² gemessen.

5 Diskussion

5.1 Eignung der Methoden

Es stellte sich als schwierig heraus, Proben für vom Standard abweichende Temperaturbedingungen (TB5, TS5, TB30, TS30) in einem für den Lichteinfluss notwendigen offenen Gefäß unter vergleichbaren und stabilen Bedingungen zu halten. Insbesondere die Feuchte des Materials weist daher starke Schwankungen auf. Die wöchentlichen Verdunstungsraten variierten stark, jedoch musste eine einheitliche Probenbehandlung gefunden werden. Daher wurde für alle nicht feuchtespezifischen Proben die wöchentliche Gabe auf Grundlage der mittleren wöchentlichen Verdunstungsraten auf 10 mL gesetzt. Zwar kann die Strahlung durch das Laborfensterglas in den Tageszyklen gut verteilt werden und sollte die Proben in ähnlichem Maße erreicht haben. Dies gilt jedoch nicht für die Proben, die in einem Wärmeschrank oder Kühlschrank aufbewahrt werden mussten. Deren Vergleich mit anderen unter Lichtausschluss gelagerten Dunkelproben (DUB, DUS, Smekal 2021) wäre vermutlich naheliegender, als mit den tageslichtexponierten Standards. Der Effekt der direkten Einstrahlung auf die Oberfläche der Probengläser konnte ebenfalls nicht genau bestimmt werden. Der Probenzeitraum erstreckt sich zudem auf den Herbst, so dass die Einstrahlung mit der Zeit leicht abnahm (Abbildung 4.22).

Der Auftrag der im Vergleich zu (Willkommen *et al.*, 2021) vierfachen Tracer-„Konzentration“ erwies sich nach Vorversuchen als notwendig und geeignet, deutliche Messsignale vor dem Hintergrund insbesondere des Bodenextrakts zu erzielen. Er erhöhte jedoch erheblich den Aufwand in der Probenaufbereitung durch hochpräzise Verdünnungsschritte zur Messung der Uranin-Degradation, was sich angesichts der großen Anzahl der Messungen (mit Vorversuchen etwa 3000) als zeitlich schwer zu bewerkstelligen herausstellte. Hier wäre es besser, in einem Bereich arbeiten zu können, für den nur ein im Labor praktikabler Verdünnungsschritt mit der hinreichenden Präzision nötig ist, um den gut kalibrierten Bereich des Spektrometers zu erreichen. Es muss auch beachtet werden, dass im Laborversuch ein praktisch abgeschlossenes System für den Feststoff Tracer vorliegt, den dieser nur durch die Probe verlassen kann. Im Feldversuch kann jedoch Transport sowohl vertikal als auch horizontal mit einem Wasserstrom erfolgen.

5.2 Vergleich der Substrate Ackerboden und Sand

In den ansonsten gleich behandelten Proben zeigt sich, dass der Umbau der Tracer zu TP510 im Boden etwas schneller abläuft als im Sand (Abbildung 4.13), wenngleich zumeist auf niedrigem Niveau. Der Rückgang der Uranin- und Sulforhodamin B-Konzentrationen korreliert hierbei leicht mit dem Aufbau des Transformationsprodukts (Abbildung 4.8, Abbildung 6.4, Abbildung 6.5). Die Hypothese der schnelleren TP510-Bildung im Boden gegenüber dem Sand wird demnach weitgehend angenommen.

Die Korrelation des Anstiegs bei TP510 mit dem SRB-Abbau erscheint hier deutlicher als mit dem Abbau des Uranins, auch wenn die stark unterschiedliche Verdünnung und Quantenausbeute von SRB (8% bezogen auf UR = 100%, (Leibundgut *et al.*, 2009) einen direkten Abgleich von Uranin und TP erschwert.

Auch in den Standardproben ist erkennbar, dass nur im Boden ein gut messbarer Anstieg des Transformationsprodukts vorliegt. Da der tonhaltige Boden wesentlich besser vor rascher Austrocknung geschützt ist und noch 35% gravimetrische Feuchte halten kann gegenüber 13 % beim Sand (bei pF = 1.8, Wessolek & Facklam, 2009) liegen im Boden zum einen stabilere, zum anderen mikrologisch günstigere Feuchtebedingungen vor (Barros *et al.*, 1995).

Betrachtet man das System Boden unter reaktionskinetischen Aspekten, so kann unabhängig von der Mikroflora die Oberfläche von Lt2 als erheblich höher als von Ss angenommen werden. Dies gilt wegen der Kapillarspannung umso mehr für die mit Wasser benetzte Fläche, die für die Mikrobiota lebenswichtig ist (Hattori, 1973). Im Bodensubstrat steht also vereinfacht bei den Größen Oberfläche, Mikrobiota, Zeit mit hinreichender Feuchte und Nährstoffdargebot (vgl. Tabelle 4.2) bei jedem Faktor mehr zur Verfügung als im Sand.

Die Bestrahlungsversuche mit intensiverer Belichtung (LIB, LIS, Smekal, 2021) deuten darauf hin, dass die Eindringtiefe des Lichtes im Sand höher ist. Es wurde auch ein ausgeprägteres Ausbleichen der Farbintensität unter der Oberfläche festgestellt. Es ist daher anzunehmen, dass rein photolytische Schritte im Sand schneller ablaufen können. Hydrolyse und Biotransformation sind demnach im Boden begünstigt. Interessant ist in diesem Zusammenhang auch, wie ein Wasserstrom im Probenglas nur von unten nach oben stattfinden kann zur Verdunstungsoberfläche hin, während dies im Feld nicht zwingend der Fall ist. Damit einher geht auch eine Stoffverlagerung, der zu einem vermehrten Transport der Tracer und des TP an die belichtete Oberfläche führen kann. Dies führt zwangsläufig einem Konzentrationsgradienten und erheblicher Inhomogenität der Proben. So wurden z.B. in Woche 9 in allen drei Replikaten stark erhöhte Konzentrationen von Sulforhodamin B festgestellt (Abbildung 6.25), die auf derartige Konkretionen hinweisen und die Bewertung anderer Effekte erschweren. Ein deutlicher Effekt der Sorption am Festmaterial konnte bei der Wiedergewinnung von SRB bei der Extraktion anhand der Daten nicht belegt werden.

5.3 Auswirkungen der pH-Pufferung

Die Bildungsraten von TP510 wurden durch den Puffer verändert, jedoch für Boden und Sand in unterschiedlicher Ausprägung. Die Literatur bietet Hinweise auf verschiedene Ursachen der beobachteten uneinheitlichen Entwicklung.

Die pH-Puffer-Versuche (RESB und RESS) unterlagen der Problematik, dass ein gegenüber mikrobiologischem Abbau inerter Puffer für den Zielbereich um pH = 7 nicht zur Verfügung stand und in der Form auch nicht direkt käuflich erhältlich ist. Es wäre bei der Herstellung zu beachten, im Pufferanion nur schwer biologisch angreifbare Bestandteile zu verwenden und der gleichzeitig auch bei stöchiometrischem Zusatz keinen erheblichen zusätzlichen Stickstoff-, Schwefel- oder Phosphor-Eintrag darstellt.

Es wurde hier versucht, den pH-Wert des Bodens von pH = 5.5 auf pH = 5.9 mit dem Phosphatpuffergemisch (Kap. 3.3.2) leicht anzuheben und den des Sandes abzusenken. Einerseits sollte so die Aziditätsdifferenz der Substrate zwecks besserer Interpretation der Effekte in den anderen Proben verringert werden, andererseits überprüft werden, ob ein signifikanter pH-Effekt auf die Bildungsrate festgestellt werden kann. Hierbei konnten im leicht alkalischen Sand keine signifikanten Änderungen der Aufbauraten des Transformationsproduktes gefunden werden (Abbildung 4.16 oben), im Boden wurden sogar geringere Konzentrationen gemessen. Dies deutet darauf hin, dass entweder die Aufbaurate im Boden bei dessen unverändertem pH-Wert besser ist oder der Abbau von TP510 durch den erhöhten pH beschleunigt wurde. Da TP510 nach den Stabilitätsversuchen im pH-Bereich der beiden Substrate chemisch stabil ist (Tabelle 4.3), liegt nahe, dass ein biologischer Prozess dominiert. Die Bodenmikrobiota arbeiten in dem pH-Bereich am besten, in dem sie natürlich vorkommen (Killham, 1985) und sind stark vom Phosphorangebot und pH-Wert abhängig (Bergkemper *et al.*, 2016). Veränderungen hingegen können die Produktivität verringern, wie die Ergebnisse dieser Untersuchung zeigen. Ali *et al.* (2014) konnten in ihrer Untersuchung der Degradationsfaktoren für Pestizide ebenfalls den negativen Effekt der pH-Veränderung belegen.

Beim Sand (Abbildung 4.16 unten) ist kein signifikanter Effekt auf die ohnehin sehr geringe Aufbaurate zu erkennen. Auffällig ist, dass die Intensitäten der Tracer Uranin (Abbildung 4.18) und Sulforhodamin B (Abbildung 4.20) frühzeitig stark verringert sind. Da kein Quenching der Fluoreszenz durch Phosphat in den verwendeten Konzentrationen in der Literatur bekannt ist, kann eine durch den Pufferzusatz signifikant erhöhte Abbauaktivität gegenüber den Ausgangsstoffen UR und SRB angenommen werden. Dies ist dahingehend schlüssig, dass sich die reine Sandprobe derart nährstoffarm ist (Tabelle 4.2), dass bereits eine kleine Zugabe einen im Vergleich zum reichhaltigeren Boden großen Effekt hervorruft. Die Tracer-Abbaurate im späteren Verlauf ist nur gering. Diese Annahme stützt auch der pH-Wert des gepufferten Sandes (RESS) am Ende (pH 9.0), der vom nicht gepufferten Sand (pH 8.9) praktisch nicht mehr zu unterscheiden war (zu Beginn: pH 8.4), während der pH-Wert des gepufferten Bodens (RESB) stabiler war und sich bis zum Schluss deutlich

vom Standard unterschied (Tabelle 4.2). Die mikrobiologische Aktivität ist erheblich vom Nährstoffdargebot abhängig (DeBruyn *et al.*, 2004).
(Rodríguez & Fraga, 1999) sowie (Srivastava *et al.*, 2018) legen dar, wie unter anderem *Pseudomonas sp.* bei der Mobilisierung von Phosphor in Ökosystemen eine bedeutende Rolle spielt. Die Mineralisierungsrate in Böden hängt neben Stickstoff wesentlich vom Phosphorgehalt ab (Giovannini *et al.*, 2013). (Singh *et al.*, 2003) konnten zeigen, dass das als Pestizid eingesetzte Organophosphat Chlorpyrifos nur unterhalb des pH-Wertes von 6.7 kontinuierlich bakteriell abgebaut werden konnte und die chemische Hydrolyse durch die Aziditätsunterschiede nicht beeinflusst wird. Hierbei ist bemerkenswert, dass auch eine Isolation und genetische Sequenzierung der transformierenden Bodenmikroorganismen erfolgte, die auf toxisch sehr resistente und streng aerobe Bakterien der Gattung *Pseudomonas* (Garrity *et al.*, 2005) als Haupt-Metabolisierer hindeutet.

5.4 Bodenfeuchte

Anhand der Transformationsraten der Feuchteproben lässt sich kein bevorzugter Bereich der Bodenfeuchte identifizieren. Als größte Beeinträchtigung der experimentellen Aussagekraft ist die rasche Austrocknung aller nicht explizit davor geschützter Proben zu nennen. Die trockene Laborluft und Aufbewahrung im offenen Gefäß lassen die Proben zu rasch austrocknen. Eine Zugabe müsste gleichmäßiger erfolgen, um längere Zeit die Feuchte in den angepeilten Bereichen zu stabilisieren.
Dennoch können zum Effekt der Bodenfeuchte durch die Interaktion mit anderen Proben einige Aussagen gefasst werden. Proben, die vor der raschen Verdunstung geschützt waren (TB5, TS5) zeigen den größten Effekt des Bodensubstrats auf. Die geringe Fluktuation der Feuchte kann also als positiver Effekt auf die Umbaurate bewertet werden. Da die autoklavierten Bodenproben (AKB, Smekal, 2021) bei ähnlich stabiler Feuchte, Raumtemperatur und Belichtung keinen Umbau zeigen kann die Feuchte jedoch nicht der einzige wirksame Prädiktor sein. Die Erwartung, bei höherer Feuchte höhere Transformationsraten zu beobachten (Tate & Terry, 1980; Orchard & Cook, 1983) konnte im Experiment nicht bestätigt werden. Wang *et al.* (2019) beschrieben als Ergebnis ihrer Modellierung die Bodenfeuchte als wichtigsten Faktor für die mikrobielle Aktivität im Boden. Im Widerspruch dazu stellen Borowik & Wyszkowska (2016) die Bodenfeuchte als weniger wichtige Einflussgröße als die Bodenart dar.

5.5 Temperatureffekt

Die unterschiedlichen Temperaturen im Versuch konnten keinen von anderen Prädiktoren bereinigten Trend aufzeigen. Einen Reaktionsgeschwindigkeit/Temperaturdifferenz-Koeffizienten zu bestimmen wie ihn (Marín-Benito *et al.*, 2019) in ihrem Versuch zwischen 16°C und 6°C für den selben Vorgang berechnen war nicht möglich, da die Temperierung die Belichtungs- und Feuchtebedingungen ebenfalls veränderte.

Die Hypothese eines Anstiegs der Bildungsrate mit der Temperatur (Hypothese 2, Kap. 2.1) kann anhand der Daten nicht belegt werden. Die gewählte Temperaturspanne war zu groß gewählt und birgt enorme Verzerrungen durch rasche Verdunstung. Es ist auffällig, dass gerade die Bodenprobe, die im Kühlschrank bei etwa 6 °C gelagert wurde, als einzige der Temperaturproben einen robusten Zuwachs an TP510 verzeichnet (Abbildung 4.8, Abbildung 4.9). Dieser Zuwachs ist deutlich höher als im Standard, der bei Raumtemperatur und Fenster-Belichtung gelagert wurde. Beim Sand tritt dieser Effekt hingegen nicht auf, daher kann auch keine negative Korrelation von Temperatur und Bildungsrate aufgestellt werden.

Es wird deutlich, dass die Temperatur von der Bodenfeuchte nicht unabhängig betrachtet werden kann, und eine eindeutige Aussage zu einem isolierbaren Trend mit den Daten nicht gemacht werden kann. Die klassischen Annahmen der chemischen Reaktionskinetik können schwer eindimensional angewandt werden (Behradek, 1930; Bååth, 2018). Beim Sand ist der Effekt der Bodenproben invertiert und die gekühlte Probe TS5 zeigt den geringsten Zuwachs (Abbildung 4.8). Diese Beobachtung entspricht eher der Erwartung, die Geschwindigkeit biochemischer Vorgänge beschleunige sich mit steigender Temperatur, solange Enzyme durch die Hitze nicht desaktiviert oder denaturiert werden.

5.6 Ausgangsstoffe und Umbaumechanismen

Als wesentlichste Degradationsprozesse (vgl. Kap. 1) treten in diesem Versuchskontext photolytischer Zerfall und Metabolisierung durch Mikroorganismen auf. Die Ergebnisse werfen die Frage auf, ob einer der beiden Prozesse allein zum postulierten Transformationsprodukt TP510 führen kann, sie als Sequenz stattfinden, oder mehrere schwer unterscheidbare Produkte entstehen.

5.6.1 Mikrobieller Abbau

Die Hypothese des primär mikrobiellen Abbaus wird von mehreren, voneinander unabhängigen Faktoren gestützt. Dazu gehört die Untersuchungsreihe von Smekal (2021), die durch Autoklavierung eine zur Referenzprobe stark verminderte Aufbaurate von TP510 aufweist. Die Aussagekraft dieser Reihe wird gestützt durch die gekühlten Proben dieser Untersuchung (TB5), die geringeren Feuchtefluktuationen und durchgehend höheren Feuchten ausgesetzt waren. Die Temperatur in Boden und Sand war gleich (TB5 und TS5), es bildete sich jedoch erheblich mehr TP510 im Ackerboden. In der Literatur sind die mikrobiell katalysierten Reaktionen, die zur Bildung des TP510 führen können an ähnlichen Substraten weitgehend bekannt.

Chen *et al.* (2007) beschreiben umfassend die Bedingungen, unter denen der mit den Farbtracern Uranin und Sulforhodamin B strukturverwandte Farbstoff Kristallviolett durch *Pseudomonas putida* auf verschiedenen Reaktionspfaden schrittweise an seinen tertiären Aminogruppen (Abbildung 5.1, [a] links) vollständig dealkyliert wird (N-Demethylierung bei Kristallviolett bzw. N-Deethylierung bei SRB). Rodríguez & Fraga (1999), Singh *et al.* (2003) sowie Srivastava *et al.* (2018) identifizieren übereinstimmend mit Chen *et al.* (2007) *Pseudomonas sp.* als dealkylierende Mikrobiota. *Psesudomonas sp*. sind aerob und besonders psychrothroph (Neumeister *et al.*, 2009).

Zhang *et al.* (2002) untersuchten die Dealkylierung (an Methylenblau) sowie Mägdefessel (1990) an Sulforhodamin B. Dieser Prozess zeigt dieselbe Reaktion jeweils an derselben Position mit dem analogen Endprodukt: einem primären Amin (Abbildung 5.1, [a] rechts).

Bei Zhang *et al.* (2002) wurde wie in diesem Versuch bei der Pufferung ein phosphatreiches Nährmedium zugesetzt. Der optimale pH-Bereich für die Metabolisierung ist mit 6.0 – 7.5 angegeben. Hierbei ist jedoch als Vorstufe auch Sulforhodamin B denkbar, das bereits die Vorläufer-Aminogruppen (Position a, Abbildung 5.1) aufweist. In diesem Zusammenhang würde ein Konstitutionsisomer von TP510 mit der Vertauschung der primären Aminogruppe an Position c mit dem Sauerstoff an Position b (beide Abbildung 5.1) eine mögliche alternative Struktur gleicher Masse und massengleicher Teilelemente darstellen. Dieses entspricht exakt dem Produkt der in der Literatur beschriebenen Dealkylierungen. Gesicherte Aussagen über eine alternative Konstitution eines derartigen ‚TP510-Doppelgängers‘

könnten anhand der C=O-Dippelbindung und der S-N-Bindung mittels Schwingungs-spektroskopie erlangt werden.

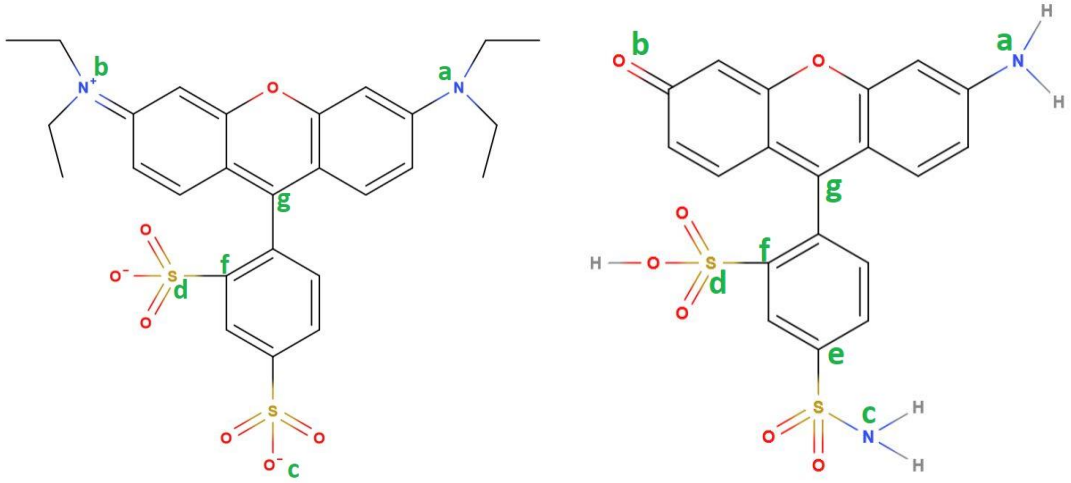

Abbildung 5.1 – Strukturformeln mit Positionsmarkern. links: SRB; rechts: TP510

5.6.2 Photolytische Zersetzung

Aus den Experimenten zur Belichtung (Proben SRB, Smekal, 2021) wird deutlich, dass durch Bestrahlung von Sulforhodamin B in Abwesenheit von Uranin ebenfalls ein oder mehrere Produkte mit Absorptionsmaximum bei etwa λ = 510 nm entstehen. Diese Produkte entstehen trotz hoher Trockenheit, und treten deutlich schneller in gut messbarer Konzentration auf (1-2 Wochen statt 2-3 Monaten) als die dem mikrobiellen Umbau zugeschriebenen Produkte. Dies steht im Einklang mit Mägdefessel (1990) sowie den Erkenntnissen von Wang *et al.* (2008), die die Photodegradation von Xanthen-Derivaten unter Lichteinfluss beschreiben. In einem Nebenversuch wurden entsprechende Substanzen bei der Wellenlänge λ = 510 nm gemessen, die demnach nicht im Synchronscanverfahren mit dem postulierten Uranin-Derivat TP 510 vermessen werden können.

Ein weiterer Hinweis auf unvorhergesehene Nebenprodukte ergibt sich aus der Probe FSAB in Woche 9 (Abbildung 4.15). Es ist deutlich zu sehen, dass neben der hohen Intensität für SRB eine ausgeprägte Schulter bei λ = 510-520 nm abzeichnet. Diese Wellenlänge entspricht zwar auch der des Eosins (Leibundgut *et al.*, 2009), da aber bereits monatelang mit den gleichen Gefäßen und Geräten gearbeitet wurde, ist eine Verunreinigung nicht plausibel. Es wird daher angenommen, dass ein oder mehrere weitere Nebenprodukte entstehen, die in ihrer Struktur abweichen müssen (vgl. Kap. 2.2). In den Sättigungsproben kommt es zudem vermehrt zur in Kap. 0 beschriebenen Verlagerung mit dem Wasserfluss. Da die Redox-Bedingungen mit der Wassersättigung in den eingestauten Proben verknüpft sind und mindestens zeitweise von den anderen Proben abweichen, tritt das Redoxpotential als zusätzliche Variable und mögliche Interaktion auf. Die Photolyse von sorbiertem SRB durch

sichtbares Licht ist in Liu *et al.* (2000) untersucht und zeigt die sukzessive Verbreiterung des SRB-Peaks, was auf eine Mehrzahl an Produkten hinweist. Der als „Photoblueing“ bezeichnete Effekt entsprechender Dealkylierungen ist Gegenstand der aktuellen Forschung (Butkevich *et al.*, 2019; Ye *et al.*, 2019). Schiller (2010) untersucht die Möglichkeiten zur Unterdrückung des Effekts durch Modifikation der N-Substituenten. Eine Verwendung anderer, weniger photodegradabler Markierstoffe läuft jedoch dem einfachen Zugang und geringen Beschaffungsaufwand zuwider, der in diesem Versuchsansatz genutzt werden soll.

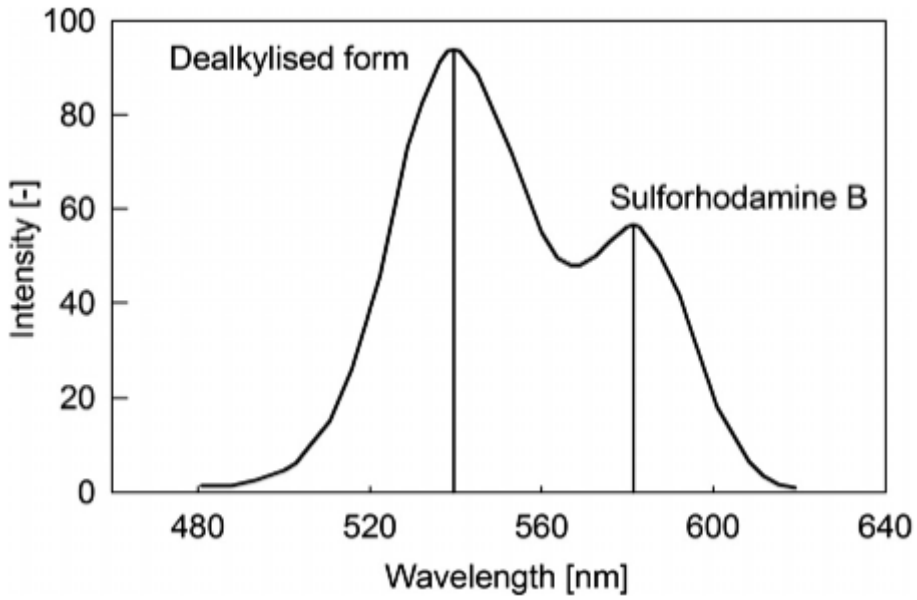

Abbildung 5.2 spektrale Verschiebung durch Dealkylierung von Sulforhodamin B. Grafik aus: (Leibundgut *et al.*, 2009) nach (Mägdefessel, 1990)

6 Fazit

Die Ergebnisse zeigen, dass TP510 auf unterschiedliche Weise entstehen kann und dass es sich hierbei um mehr als ein einzelnes Produkt handeln kann. Sowohl durch mikrobiologischen Umbau als auch durch Bestrahlung konnte mindestens ein Transformationsprodukt der Absorptionswellenlänge $\lambda \approx 510$ nm identifiziert werden. Neben der Metabolisierung von Uranin kommt nach den Mechanismen der mikrobiellen und photolytischen Dealkylierung in der Literatur auch Sulforhodamin B als Edukt in Frage.
Mit den hier angewandten Methoden kann nicht sicher entschieden werden, ob es sich um ein und dasselbe Produkt handelt. Einzelne Produktproben zeigen abweichende, verbreiterte Maxima oder spektrale Verschiebung. Mittels Schwingungsspektroskopie können hier weitere Erkenntnisse über die Bindungsverhältnisse und Identität der Substanzen gemacht werden.
Die Einflussgröße Bodensubstrat wirkt sich in einigen Fällen erheblich auf die Bildungsrate von TP510 aus. Im mikrobiellen Prozess wird in feuchten Böden TP510 schneller gebildet als im Sand. Die Gesamtschau der Ergebnisse legt nahe, dass für diesen Vorgang alle Bedingungen günstig für die Aktivität sein müssen, während für die photolytische Bildungsrate die eingestrahlte Leistung entscheidend ist. Die Daten zeigen ebenfalls, dass TP510 zu weiteren Folgeprodukten abgebaut werden kann und damit kein streng monotoner Anstieg der Konzentration mit der Zeit vorliegt. Die Ermittlung des optimalen pH-Fensters für die fluorimetrische Bestimmung von TP510 ergab einen klaren Rahmen, in dem das Produkt sicher quantifiziert werden kann. Weitere Untersuchungen sind notwendig, um Interaktionen zwischen den Einflussgrößen aufzuklären. Bestrahlung und Sterilisierung bieten Möglichkeiten, Effekte von der mikrobiellen und photolytischen Transformation klarer zu trennen. Eine bessere Kenntnis der Abbauprozesse ermöglicht es, durch gezieltere Anwendung geeigneter Pestizide bei gleichzeitiger Bewahrung ihrer Wirkung am Zielorganismus die Wasser- und Bodenressourcen besser zu schützen und bietet daher weiterhin ein attraktives Forschungsfeld.

Literatur

Ad-hoc-Arbeitsgruppe Boden. 2005. *Bodenkundliche Kartieranleitung: Mit 103 Tabellen und 31 Listen,* 5., verbesserte und erweiterte Auflage. E. Schweizerbart'sche Verlagsbuchhandlung (Nägele und Obermiller): Stuttgart.

Alcantara-Licudine JP, Kawate MK, Li QX. 1997. Method for the Analysis of Phloxine B, Uranine, and Related Xanthene Dyes in Soil Using Supercritical Fluid Extraction and High-Performance Liquid Chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **45**: 766–773. DOI: 10.1021/jf960372k.

Ali M, Kazmi AA, Ahmed N. 2014. Study on effects of temperature, moisture and pH in degradation and degradation kinetics of aldrin, endosulfan, lindane pesticides during full-scale continuous rotary drum composting. *Chemosphere* **102**: 68–75. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2013.12.022.

Atkins PW, Paula J de. 2006. *Physikalische Chemie,* 4., vollst. überarb. Aufl. Wiley-VCH: Weinheim.

Bååth E. 2018. Temperature sensitivity of soil microbial activity modeled by the square root equation as a unifying model to differentiate between direct temperature effects and microbial community adaptation. *Global change biology* **24**: 2850–2861. DOI: 10.1111/gcb.14285.

Barros N, Gomez-Orellana I, Feijóo S, Balsa R. 1995. The effect of soil moisture on soil microbial activity studied by microcalorimetry. *Thermochimica Acta* **249**: 161–168. DOI: 10.1016/0040-6031(95)90686-X.

Behradek J. 1930. Temperature Coefficients in Biology. *Biological Reviews* **5**: 30–58. DOI: 10.1111/j.1469-185X.1930.tb00892.x.

Bergkemper F, Welzl G, Lang F, Krüger J, Schloter M, Schulz S. 2016. The importance of C, N and P as driver for bacterial community structure in German beech dominated forest soils. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* **179**: 472–480. DOI: 10.1002/jpln.201600077.

Bork M. 2020. *Tracer Approaches to Assess the Environmental Fate of Organic Pollutants: Evidence from the Transport of Biocides in Urban Storm Water Infiltration Systems*. Dissertation: Freiburg i. Br.

Borowik A, Wyszkowska J. 2016. Soil moisture as a factor affecting the microbiological and biochemical activity of soil. *Plant, Soil and Environment* **62**: 250–255. DOI: 10.17221/158/2016-PSE.

Brückner R. 2004. *Reaktionsmechanismen: Organische Reaktionen, Stereochemie, moderne Synthesemethoden,* 3. Aufl., aktualisiert und überarb. Elsevier Spektrum Akad. Verl.: München.

Brühl CA, Zaller JG. 2019. Biodiversity Decline as a Consequence of an Inappropriate Environmental Risk Assessment of Pesticides. *Frontiers in Environmental Science* **7.** DOI: 10.3389/fenvs.2019.00177.

Bundesanstalt für Geowissenschaften und Rohstoffe. 2010. *Bodenübersichtskarte von Deutschland BÜK 200: Kartenabschnitte 7110, 7118, 7910, 7918, 8710, 8718*: Hannover.

Butkevich AN, Bossi ML, Lukinavičius G, Hell SW. 2019. Triarylmethane Fluorophores Resistant to Oxidative Photobluing. *Journal of the American Chemical Society* **141**: 981–989. DOI: 10.1021/jacs.8b11036.

Cammann K (ed). 2001. *Instrumentelle analytische Chemie: Verfahren, Anwendungen und Qualitätssicherung*. Spektrum Akademischer Verlag: Heidelberg.

Chen C-C, Liao H-J, Cheng C-Y, Yen C-Y, Chung Y-C. 2007. Biodegradation of crystal violet by Pseudomonas putida. *Biotechnology letters* **29**: 391–396. DOI: 10.1007/s10529-006-9265-6.

Cotton A. 1897. Br. DONATH. — Bolometrische Untersuchungen über Absorptionsspectra fluorescirender Substanzen und ätherischer Oele (Recherches bolométriques sur les spectres d'absorption de diverses substances fluorescentes et des essences). — Wied. Ann., t. LVIII, p. 609-662; 1896. *Journal de Physique Théorique et Appliquée* **6**: 309–311. DOI: 10.1051/jphystap:018970060030901.

De A, Bose R, Kumar A, Mozumdar S. 2014. Worldwide Pesticide Use. In *Targeted Delivery of Pesticides Using Biodegradable Polymeric Nanoparticles*, De A, Bose R, Kumar A, Mozumdar S (eds). Springer India: New Delhi, s.l., pp 5–6.

DeBruyn JM, Leigh-Bell JA, McKay RML, Bourbonniere RA, Wilhelm SW. 2004. Microbial Distributions and the Impact of Phosphorus on Bacterial Activity in Lake Erie. *Journal of Great Lakes Research* **30**: 166–183. DOI: 10.1016/S0380-1330(04)70338-X.

Deutsches Institut für Normung. 2008. *Chemische Analytik: Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze; Ermittlung unter Wiederholbedingungen; Begriffe, Verfahren, Auswertung*. Beuth: Berlin.

Eurostat. 2018. *Sales of pesticides in the EU*. https://ec.europa.eu/eurostat/de/web/products-eurostat-news/-/DDN-20200603-1

Fernández-Pascual E, Zaman S, Bork M, Lang F, Lange J. 2019. Long-term mesocosm experiments to investigate degradation of fluorescent tracers. *Journal of Hydrology X* **2**: 100014. DOI: 10.1016/j.hydroa.2018.100014.

Flury M. 2003. Dyes as tracers for vadose zone hydrology. *Reviews of Geophysics* **41.** DOI: 10.1029/2001RG000109.

Garrity GM, Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT, Bergey DH. 2005. *Bergey's manual of systematic bacteriology: The proteobacteria*, 2nd ed. Springer: New York.

Geiger F, Bengtsson J, Berendse F, Weisser WW, Emmerson M, Morales MB, Ceryngier P, Liira J, Tscharntke T, Winqvist C, Eggers S, Bommarco R, Pärt T, Bretagnolle V, Plantegenest M, Clement LW, Dennis C, Palmer C, Oñate JJ, Guerrero I, Hawro V, Aavik T, Thies C, Flohre A, Hänke S, Fischer C, Goedhart PW, Inchausti P. 2010. Persistent negative effects of pesticides on biodiversity and biological control potential on European farmland. *Basic and Applied Ecology* **11**: 97–105. DOI: 10.1016/j.baae.2009.12.001.

Gerke KM, Sidle RC, Mallants D. 2013. Criteria for selecting fluorescent dye tracers for soil hydrological applications using Uranine as an example. *Journal of Hydrology and Hydromechanics* **61**: 313–325. DOI: 10.2478/johh-2013-0040.

Gimsing AL, Agert J, Baran N, Boivin A, Ferrari F, Gibson R, Hammond L, Hegler F, Jones RL, König W, Kreuger J, van der Linden T, Liss D, Loiseau L, Massey A, Miles B, Monrozies L, Newcombe A, Poot A, Reeves GL, Reichenberger S, Rosenbom AE, Staudenmaier H, Sur R, Schwen A, Stemmer M, Tüting W, Ulrich U. 2019. Conducting groundwater monitoring studies in Europe for pesticide active substances and their metabolites in the context of Regulation (EC) 1107/2009. *Journal of Consumer Protection and Food Safety* **14**: 1–93. DOI: 10.1007/s00003-019-01211-x.

Giovannini C, Garcia-Mina JM, Ciavatta C, Marzadori C. 2013. Effect of organic-complexed superphosphates on microbial biomass and microbial activity of soil. *Biology and Fertility of Soils* **49**: 395–401. DOI: 10.1007/s00374-012-0731-0.

Gombert P, Biaudet H, Sèze R de, Pandard P, Carré J. 2017. Toxicity of fluorescent tracers and their degradation byproducts. *International Journal of Speleology* **46**: 23–31. DOI: 10.5038/1827-806X.46.1.1995.

Hattori T. 1973. *Microbial life in the soil: An introduction*. Dekker: New York.

Jabłoński A. 1933. Efficiency of Anti-Stokes Fluorescence in Dyes. *Nature* **131**: 839–840. DOI: 10.1038/131839b0.

Janiak C. 2007. *Vorlesung Analytische Chemie I: Instrumentelle quantitative Analyse*.

Käss W. 1994. Hydrological tracing practice on underground contaminations. *Environmental Geology* **23**: 23–29. DOI: 10.1007/BF00773135.

Käss W, Behrens H. 1998. *Tracing technique in geohydrology*. Balkema: Rotterdam.

Keller SG, Kamiya M, Urano Y. 2020. Recent Progress in Small Spirocyclic, Xanthene-Based Fluorescent Probes. *Molecules (Basel, Switzerland)* **25.** DOI: 10.3390/molecules25245964.

Killham K. 1985. A physiological determination of the impact of environmental stress on the activity of microbial biomass. *Environmental Pollution Series A, Ecological and Biological* **38**: 283–294. DOI: 10.1016/0143-1471(85)90133-3.

Knop A. 1878 Über die hydrographischen Beziehungen zwischen der Donau und der Aachquelle im badischen Oberlande. In *Neues Jahrbuch Fur Mineralogie 1878*, pp 350–363.

Lange J, Olsson O, Sweeney B, Herbstritt B, Reich M, Alvarez-Zaldivar P, Payraudeau S, Imfeld G. 2018. Fluorescent tracers to evaluate pesticide dissipation and transformation in agricultural soils. *The Science of the total environment* **619-620**: 1682–1689. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.10.132.

Lange J, Schuetz T, Gregoire C, Elsässer D, Schulz R, Passeport E, Tournebize J. 2011. Multi-tracer experiments to characterise contaminant mitigation capacities for different types of artificial wetlands. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* **91**: 768–785. DOI: 10.1080/03067319.2010.525635.

Leibundgut C, Maloszewski P, Külls C. 2009. *Tracers in hydrology*. Wiley-Blackwell: Chichester.

Liu G, Li X, Zhao J, Hidaka H, Serpone N. 2000. Photooxidation Pathway of Sulforhodamine-B. Dependence on the Adsorption Mode on TiO 2 Exposed to Visible Light Radiation. *Environmental Science & Technology* **34**: 3982–3990. DOI: 10.1021/es001064c.

Mägdefessel J. 1990. *Zum Fliessverhalten von Tracern und Schadstoffen im Porengrundwasser*. Diplomarbeit: Freiburg i. Br.

Marín-Benito JM, Carpio MJ, Sánchez-Martín MJ, Rodríguez-Cruz MS. 2019. Previous degradation study of two herbicides to simulate their fate in a sandy loam soil: Effect of the temperature and the organic amendments. *The Science of the total environment* **653**: 1301–1310. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.11.015.

McMahon PB. 2003. *Water movement through thick unsaturated zones overlying the central High Plains aquifer, southwestern Kansas, 2000-2001,* 3rd edn.

Meus P, Willems L. 2021. Tracer tests to infer the drainage of the multiple porosity aquifer of Luxembourg Sandstone (Grand-Duchy of Luxembourg): implications for drinking water protection. *Hydrogeology Journal* **29**: 461–480. DOI: 10.1007/s10040-020-02274-z.

Neumeister B, Braun R, K. Geiss H, Kimmig P. 2009. *Mikrobiologische Diagnostik,* 2., vollständig überarbeitete Auflage. THIEME: Stuttgart.

Orchard VA, Cook FJ. 1983. Relationship between soil respiration and soil moisture. *Soil Biology and Biochemistry* **15**: 447–453. DOI: 10.1016/0038-0717(83)90010-X.

Popp J, Pető K, Nagy J. 2013. Pesticide productivity and food security. A review. *Agronomy for Sustainable Development* **33**: 243–255. DOI: 10.1007/s13593-012-0105-x.

Reemtsma T, Alder L, Banasiak U. 2013. A multimethod for the determination of 150 pesticide metabolites in surface water and groundwater using direct injection liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of chromatography. A* **1271**: 95–104. DOI: 10.1016/j.chroma.2012.11.023.

Rodríguez H, Fraga R. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances* **17**: 319–339. DOI: 10.1016/S0734-9750(99)00014-2.

Schiller M. 2010. *PVC-Stabilisatoren: Marktsituation, Anwendungen, Trends*. Hanser: München.

Schreiner VC, Link M, Kunz S, Szöcs E, Scharmüller A, Vogler B, Beck B, Battes KP, Cimpean M, Singer HP, Hollender J, Schäfer RB. 2021. Paradise lost? Pesticide pollution in a European region with considerable amount of traditional agriculture. *Water research* **188**: 116528. DOI: 10.1016/j.watres.2020.116528.

Seeger S. 2020. *spLib: R-Toolbox to open spectroflourometer data obtained by the FLWinlab software*: Department of Hydrology University of Freiburg.

Singh BK, Walker A, Morgan JAW, Wright DJ. 2003. Effects of soil pH on the biodegradation of chlorpyrifos and isolation of a chlorpyrifos-degrading bacterium. *Applied and environmental microbiology* **69**: 5198–5206. DOI: 10.1128/AEM.69.9.5198-5206.2003.

Sjerps RMA, Kooij PJF, van Loon A, van Wezel AP. 2019. Occurrence of pesticides in Dutch drinking water sources. *Chemosphere* **235**: 510–518. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2019.06.207.

Smekal I. 2021. *Analyse der Bildungsparameter des Tracer-Transformationsproduktes TP510: Batchversuche und Grundlagen*: Freiburg i. Br.

Srivastava S, Srivastava S, Bist V, Awasthi S, Chauhan R, Chaudhry V, Singh PC, Dwivedi S, Niranjan A, Agrawal L, Chauhan PS, Tripathi RD, Nautiyal CS. 2018. Chlorella vulgaris and Pseudomonas putida interaction modulates phosphate trafficking for reduced arsenic uptake in rice (Oryza sativa L.). *Journal of hazardous materials* **351**: 177–187. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2018.02.039.

Sweeney BJ. 2012. *Using Hydrological tracers toStudy Pesticide Fate andTransport on an AgriculturalField*. Masterarbeit: Freiburg i. Br.

Tate RL, Terry RE. 1980. Variation in Microbial Activity in Histosols and Its Relationship to Soil Moisture. *Applied and environmental microbiology* **40**: 313–317.

Torrentó C, Prasuhn V, Spiess E, Ponsin V, Melsbach A, Lihl C, Glauser G, Hofstetter TB, Elsner M, Hunkeler D. 2018. Adsorbing vs. Nonadsorbing Tracers for Assessing Pesticide Transport in Arable Soils. *Vadose Zone Journal* **17**: 170033. DOI: 10.2136/vzj2017.01.0033.

Tsai M-S, Ou C-L, Tsai C-J, Huang Y-C, Cheng Y-C, Sun S-S, Yang J-S. 2017. Fluorescence Enhancement of Unconstrained GFP Chromophore Analogues Based on the Push-Pull Substituent Effect. *The Journal of organic chemistry* **82**: 8031–8039. DOI: 10.1021/acs.joc.7b01260.

Vanclooster M, Boesten J, Trevisan M, Brown CD, Capri E, Eklo OM, Gottesbüren B, Gouy V, van der Linden A. 2000. A European test of pesticide-leaching models: methodology and major recommendations. *Agricultural Water Management* **44**: 1–19. DOI: 10.1016/S0378-3774(99)00081-5.

Wang G, Huang W, Mayes MA, Liu X, Zhang D, Zhang Q, Han T, Zhou G. 2019. Soil moisture drives microbial controls on carbon decomposition in two subtropical forests. *Soil Biology and Biochemistry* **130**: 185–194. DOI: 10.1016/j.soilbio.2018.12.017.

Wang TC, Hoffman M. 1991. Degradation of Organophosphorus Pesticides in Coastal Water. *Journal of AOAC INTERNATIONAL* **74**: 883–886. DOI: 10.1093/jaoac/74.5.883.

WANG H, WANG W-X, YANG Y, CAI W-M. 2008. Visible Light Induced Photodegradation and Phototoxicity of Phloxine B and Uranine. *Biomedical and Environmental Sciences* **21**: 438–441. DOI: 10.1016/S0895-3988(08)60066-5.

Weiler M, Flühler H. 2004. Inferring flow types from dye patterns in macroporous soils. *Geoderma* **120**: 137–153. DOI: 10.1016/j.geoderma.2003.08.014.

Wernli HR. 1991. *Einführung in die Tracerhydrologie: Hydrologisches Praktikum*.

Wessolek G, Facklam M (eds). 2009. *Bodenphysikalische Kennwerte und Berechnungsverfahren für die Praxis*. TU Berlin Selbstverl.: Berlin.

Willkommen S, Lange J, Ulrich U, Pfannerstill M, Fohrer N. 2021. Field insights into leaching and transformation of pesticides and fluorescent tracers in agricultural soil. *The Science of the total environment* **751**: 141658. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.141658.

Ye Z, Yang W, Wang C, Zheng Y, Chi W, Liu X, Huang Z, Li X, Xiao Y. 2019. Quaternary Piperazine-Substituted Rhodamines with Enhanced Brightness for Super-Resolution Imaging. *Journal of the American Chemical Society* **141**: 14491–14495. DOI: 10.1021/jacs.9b04893.

Zaman S. 2016. *Phytoremediation of Hydrological Tracers in Lab-scale Wetland Systems*.

Zanker V, Peter W. 1958. Die prototropen Formen des Fluoresceins. *Chemische Berichte* **91**: 572–580. DOI: 10.1002/cber.19580910316.

Zhang T, Oyama Tk, Horikoshi S, Hidaka H, Zhao J, Serpone N. 2002. Photocatalyzed N-demethylation and degradation of methylene blue in titania dispersions exposed to concentrated sunlight. *Solar Energy Materials and Solar Cells* **73**: 287–303. DOI: 10.1016/S0927-0248(01)00215-X.

Anhang A Versuchsdurchführung

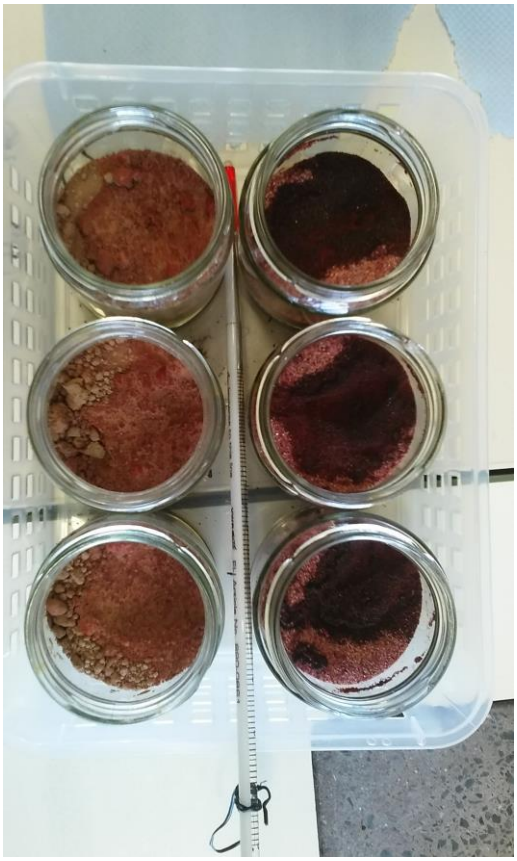

Abbildung 6.1 Foto der Bodenaushebung 0-17 cm
Abbildung 6.2 ungemischte Proben nach der Nachbefeuchtung

Abbildung 6.3 Lagerung der Proben auf dem Labortisch

Tabelle 6.1 - Nachweis und Bestimmungsgrenze

				100 µl EDTA [1 M/l]	50 µl HCL [1.5 M/l]				
	Verdünnung*4000	Verdünnung*200		Verdünnung *4000	Verdünnung *200	Verdünnung*0			
Probe	Int. 488	Int. 510	Int. 560	Graph No.	Graph No.	Int. 488	Int. 510	Int. 560	Graph No.
Boden_A	70.28	42.94	5.55	223b#709	223b#708	134.95	76.43	25.16	223b#720
Boden_B	64.01	46.7	5.83	223b#711	223b#710	127.4	73.17	21.8	223b#721
Boden_C	40.32	48.78	6.18	223b#713	223b#712	69.55	51.78	8.95	223b#722
Sand_A	69.5	27.29	3.49	223b#715	223b#714	104.16	59.04	9.89	223b#723
Sand_B	29.66	28.38	3.66	223b#717	223b#716	71.09	45.94	5.53	223b#724
Sand_C	67.61	21.64	2.84	223b#719	223b#718	59.84	45.72	7.95	223b#725
SD Boden	15.80	2.96	0.32	Intensität		32.20	13.44	8.15	Intensität
SD Sand	22.48	3.62	0.43	Intensität		23.04	7.63	2.18	Intensität
NWG Boden	105.61	55.02	6.80	Intensität		207.23	107.44	43.10	Intensität
	8134.46	NA	519.63	Konzentration µg/l		4.16		17.51	Konzentration µg/l
NWG Sand	123.02	36.62	4.63	Intensität		147.48	73.12	14.34	Intensität
	9594.80	NA	341.15	Konzentration µg/l		2.91	NA	5.70	Konzentration µg/l
BG Boden	216.22	75.74	9.01	Intensität		432.62	201.52	100.17	Intensität
	17412.52	NA	701.20	Konzentration µg/l		8.89		40.96	Konzentration µg/l
BG Sand	280.35	61.95	7.66	Intensität		308.74	126.51	29.63	Intensität
	22791.81	NA	590.10	Konzentration µg/l		6.29	NA	11.98	Konzentration µg/l

Anhang B Graphen

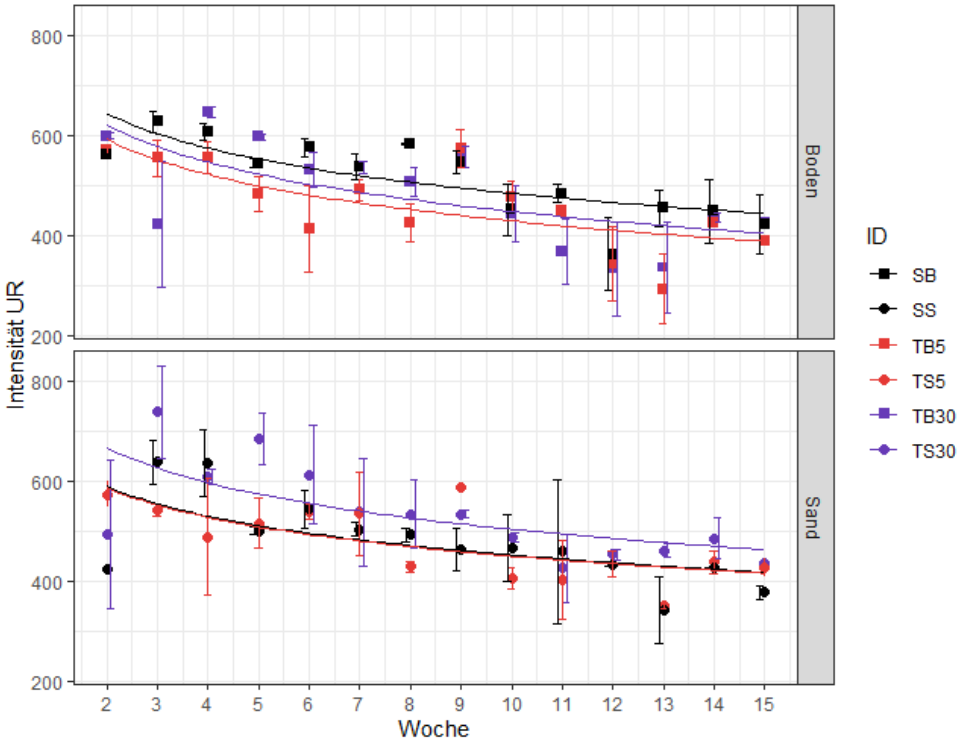

Abbildung 6.4 - Temperaturkurven über den Probenzeitraum mit UR

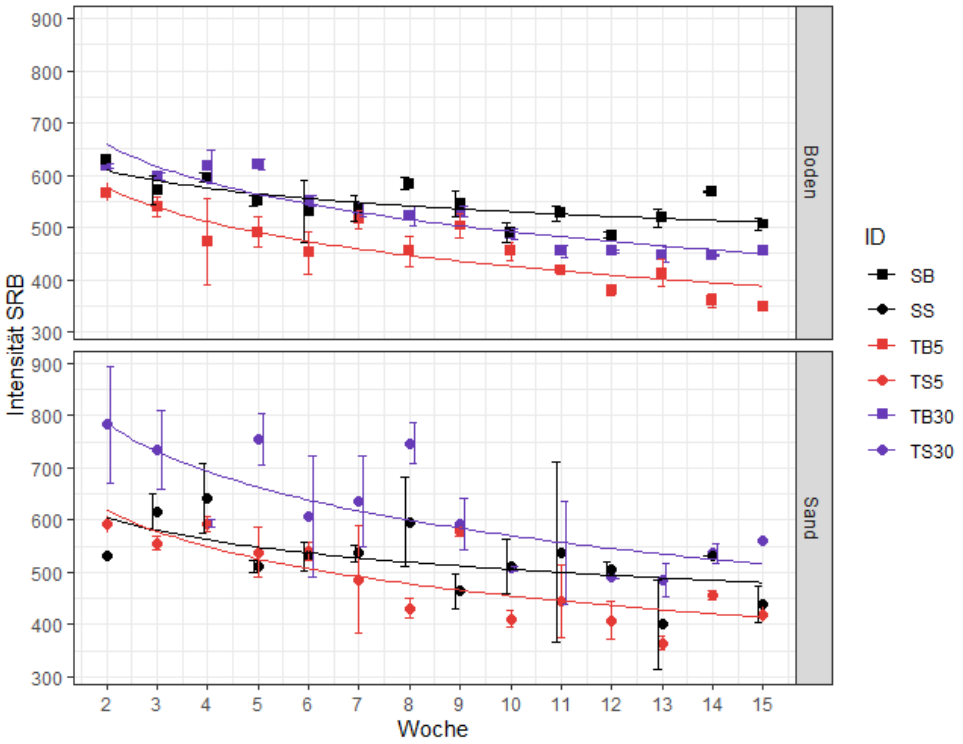

Abbildung 6.5 - Temperaturkurven über den Probenzeitraum mit SRB

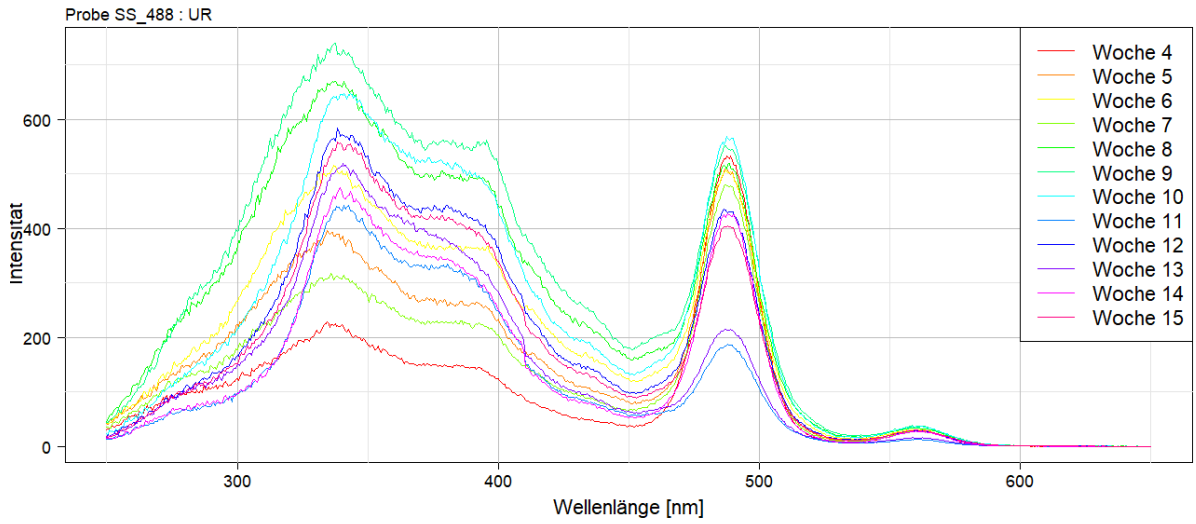

Abbildung 6.6 Absorptionsspektren SS im Versuchsverlauf: UR

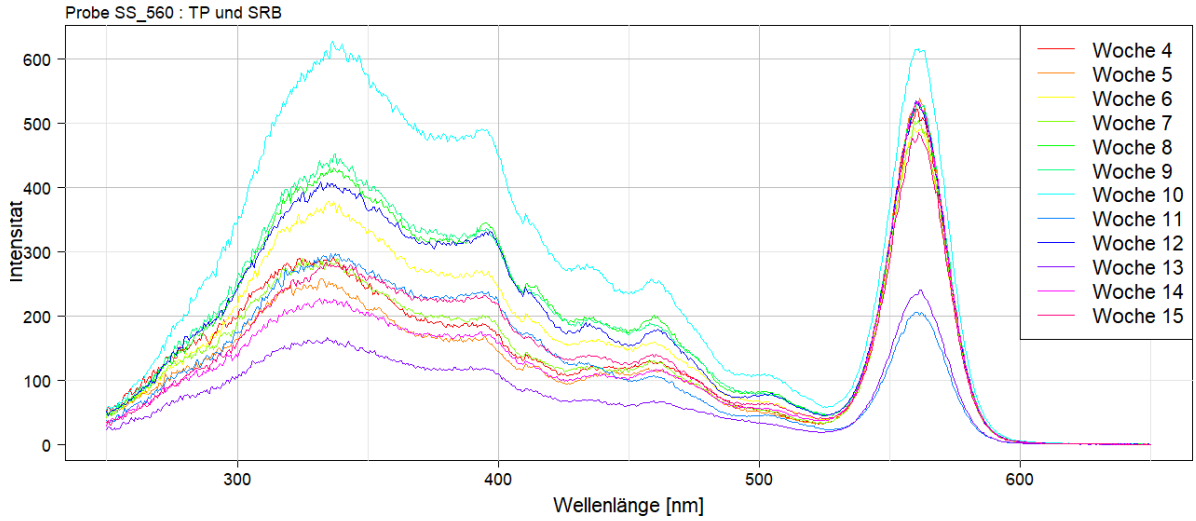

Abbildung 6.7 Absorptionsspektren SS im Versuchsverlauf: TP510 und SRB

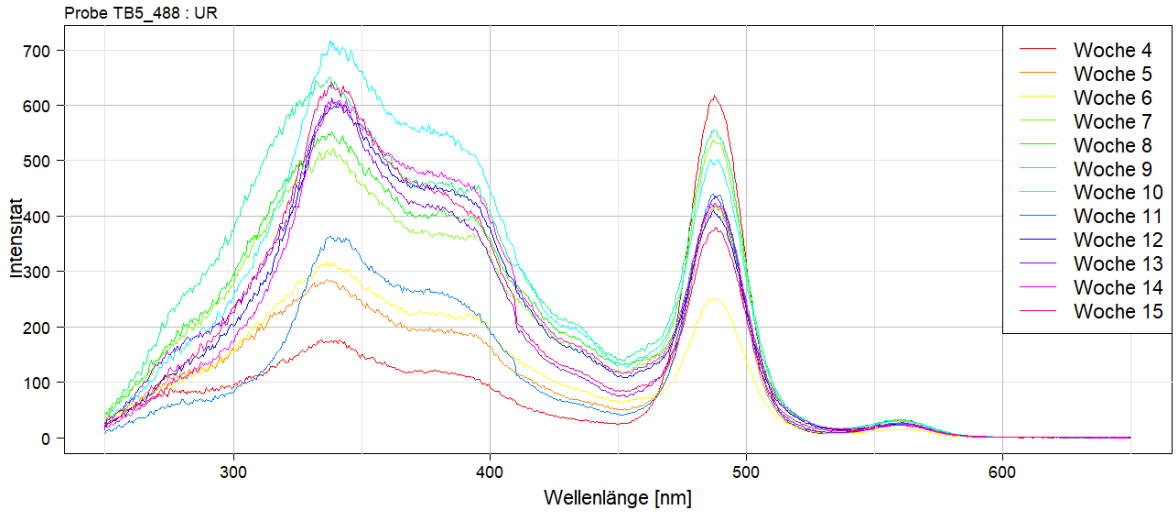

Abbildung 6.8 Absorptionsspektren TB5 im Versuchsverlauf: UR

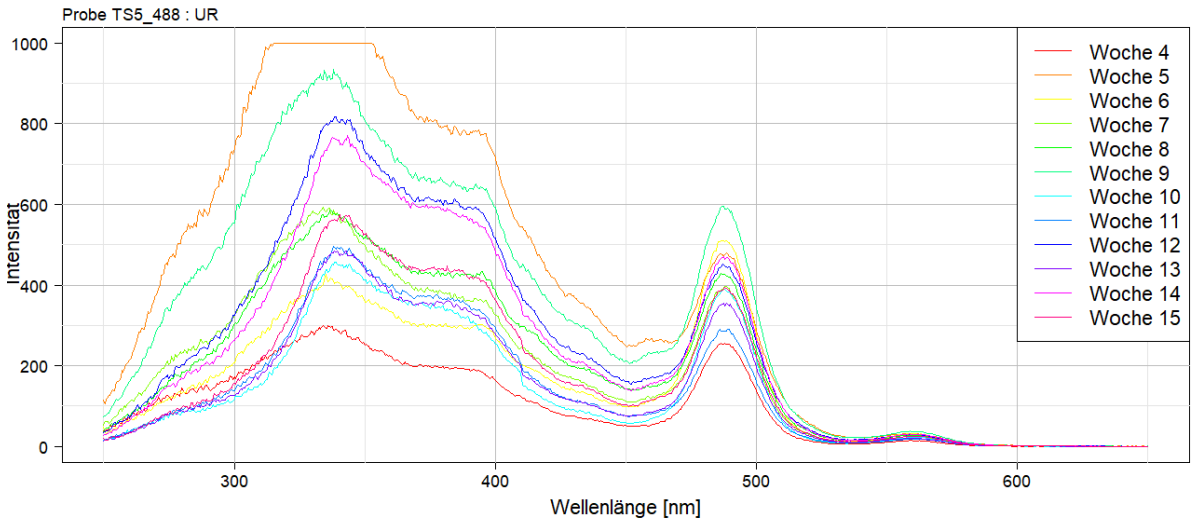

Abbildung 6.9 Absorptionsspektren TS5 im Versuchsverlauf: UR

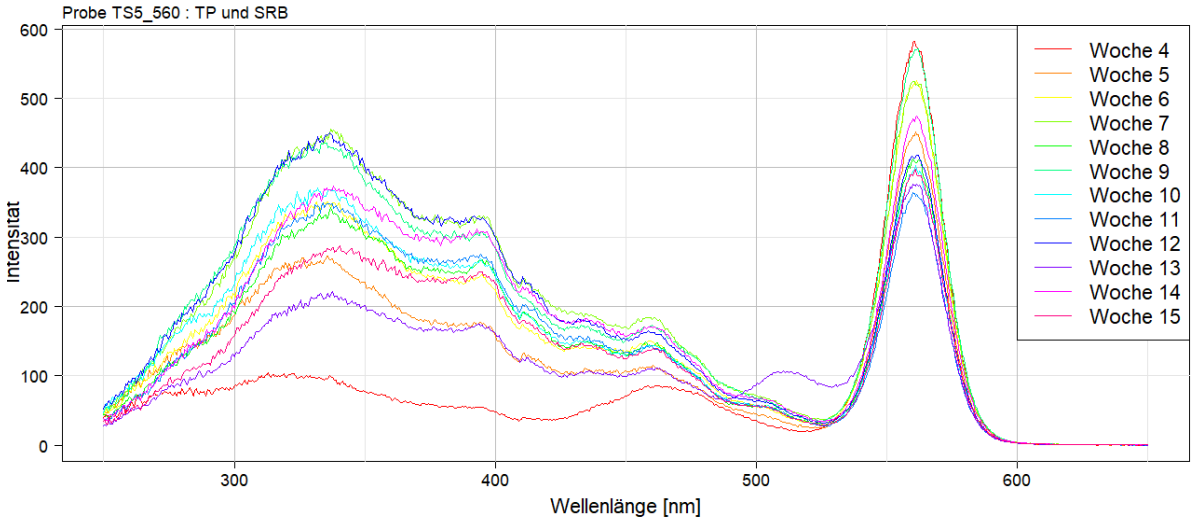

Abbildung 6.10 Absorptionsspektren TS5 im Versuchsverlauf: TP510 und SRB

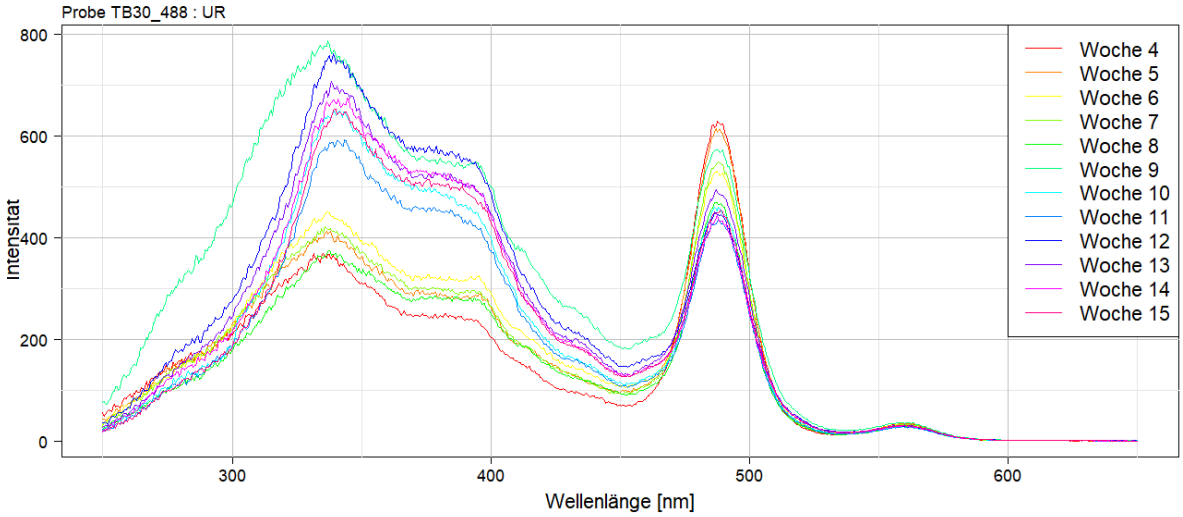

Abbildung 6.11 Absorptionsspektren TB30 im Versuchsverlauf: UR

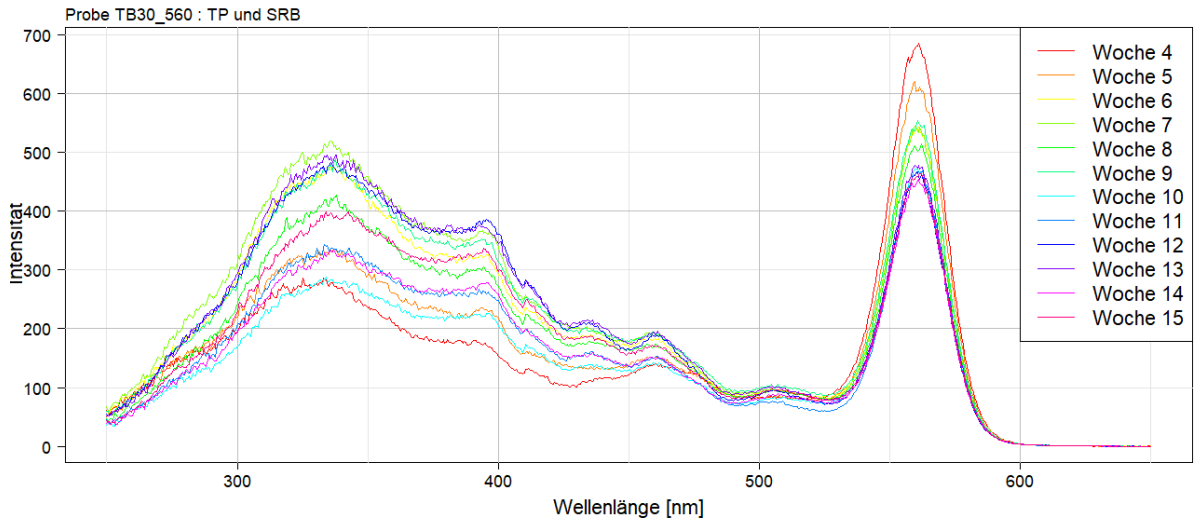

Abbildung 6.12 Absorptionsspektren TB30 im Versuchsverlauf: TP510 und SRB

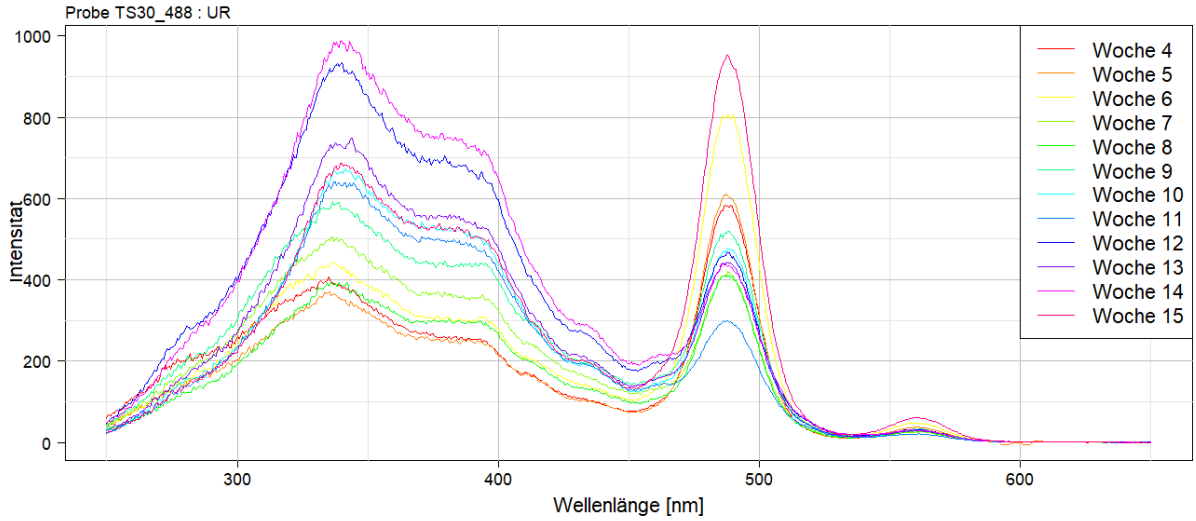

Abbildung 6.13 Absorptionsspektren TS30 im Versuchsverlauf: UR

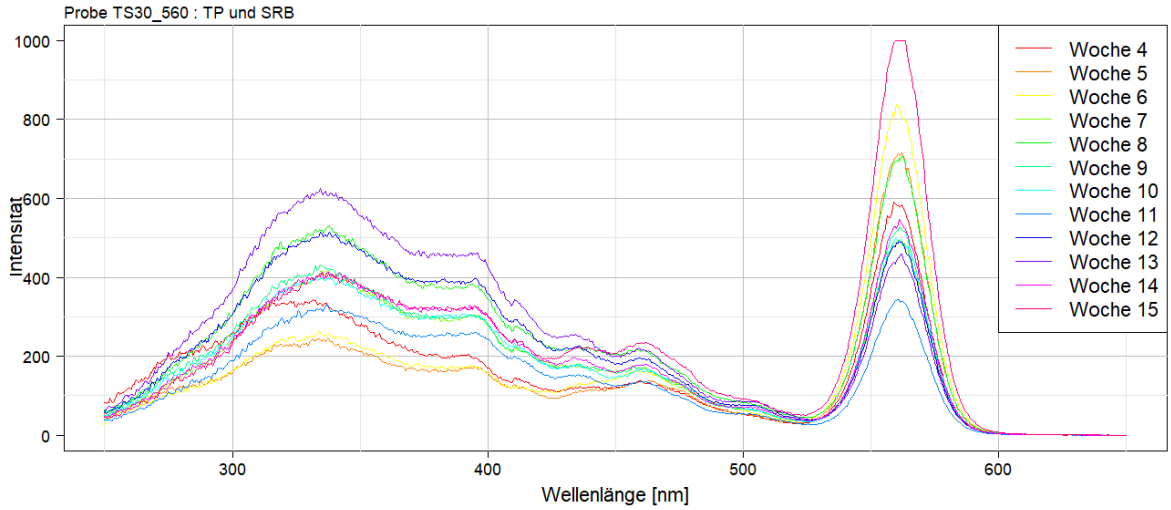

Abbildung 6.14 Absorptionsspektren TS30 im Versuchsverlauf: TP510 und SRB

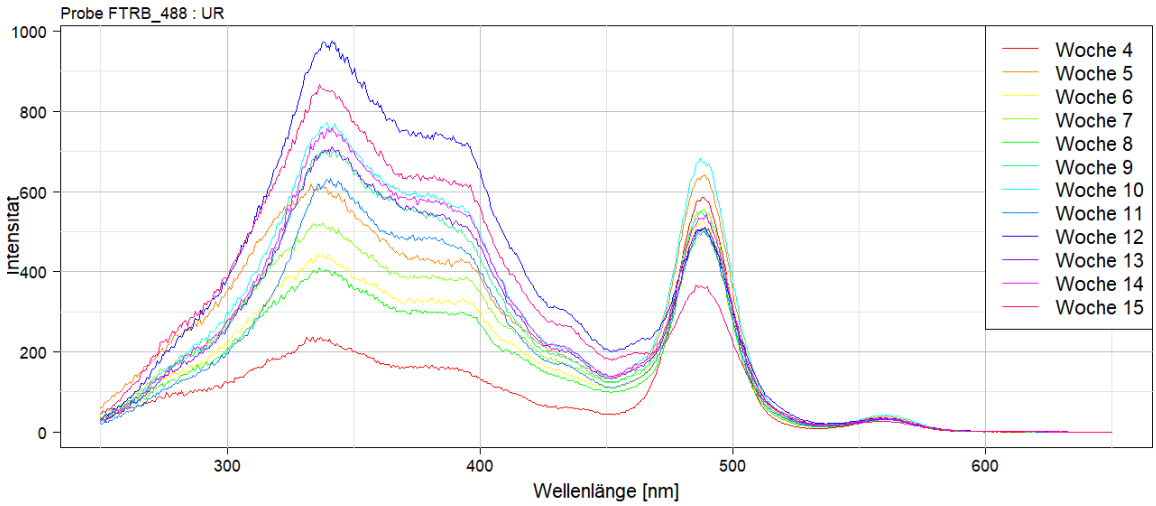

Abbildung 6.15 Absorptionsspektren FTRB im Versuchsverlauf: UR

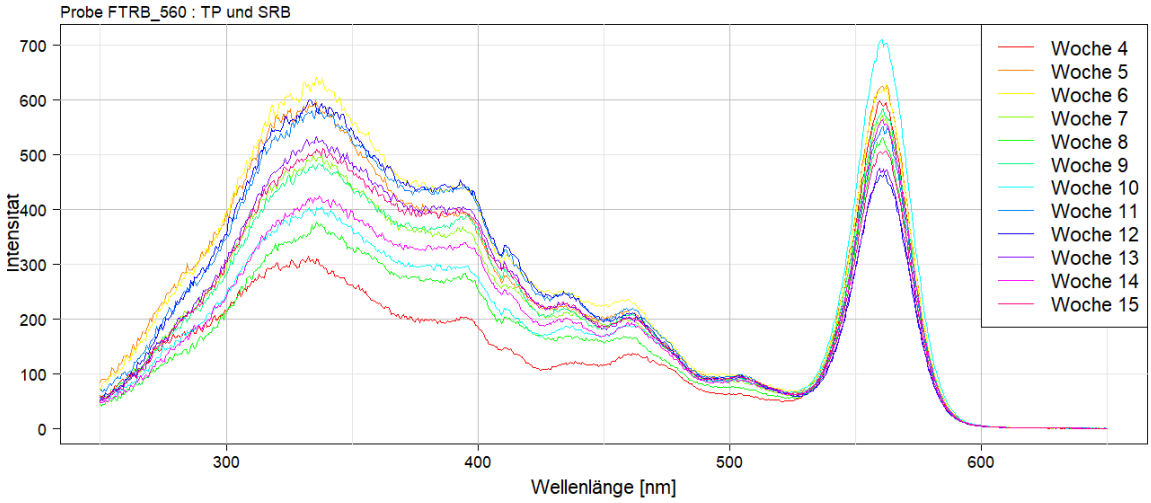

Abbildung 6.16 Absorptionsspektren FTRB im Versuchsverlauf: TP510 und SRB

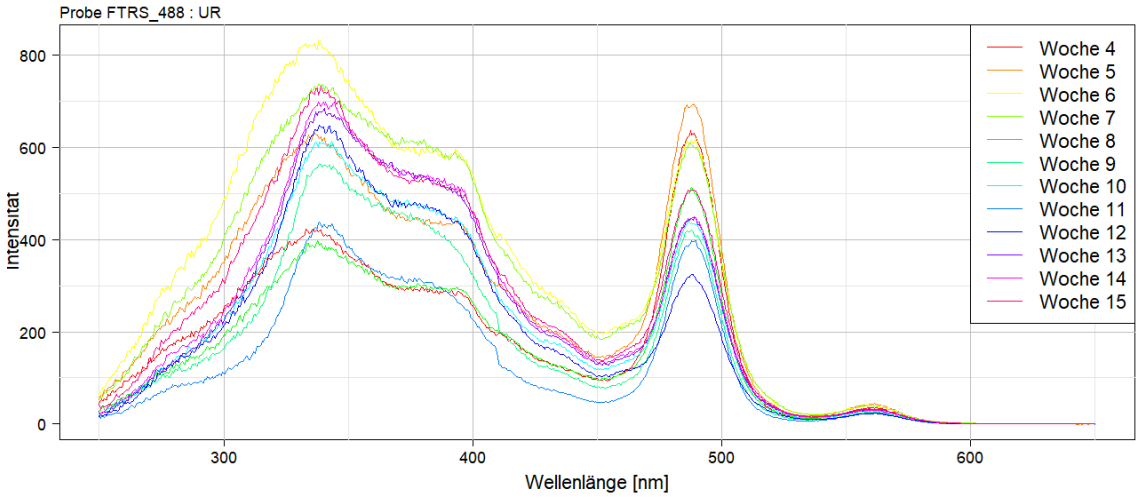

Abbildung 6.17 Absorptionsspektren FTRS im Versuchsverlauf: UR

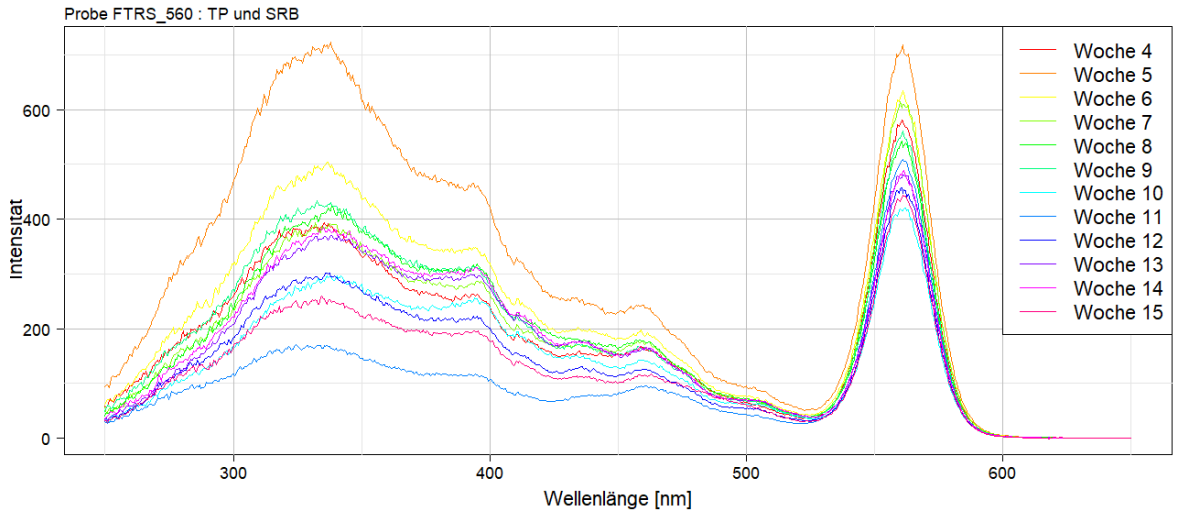

Abbildung 6.18 Absorptionsspektren FTRS im Versuchsverlauf: TP510 und SRB

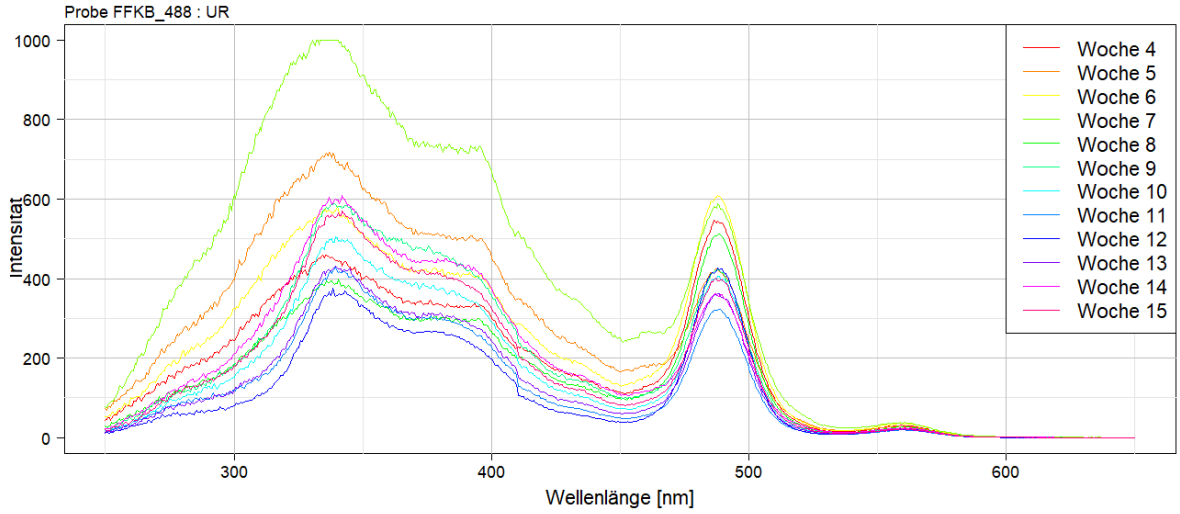

Abbildung 6.19 Absorptionsspektren FFKB im Versuchsverlauf: UR

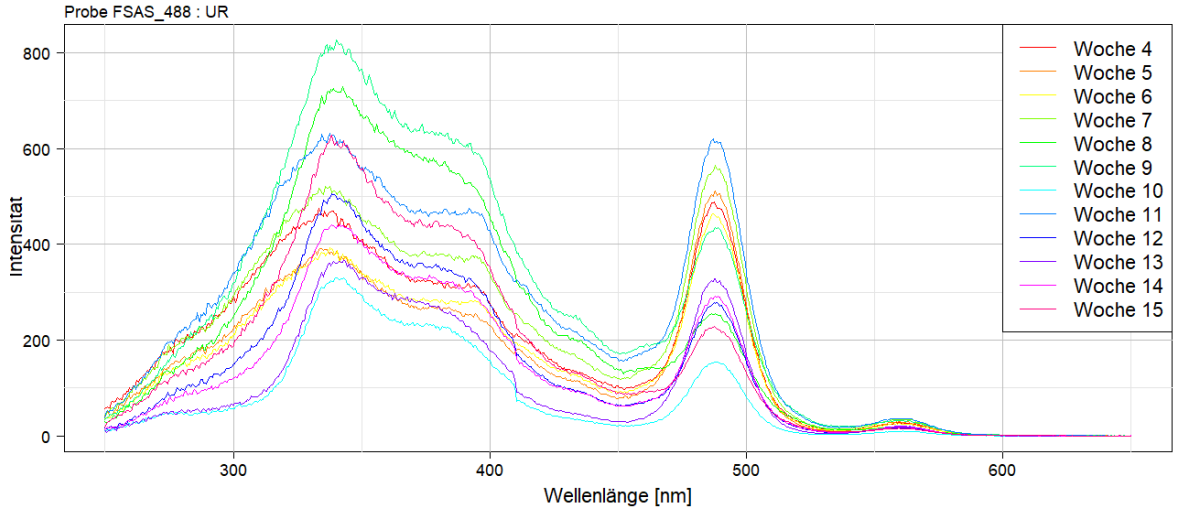

Abbildung 6.20 Absorptionsspektren FTRS im Versuchsverlauf: TP510 und SRB

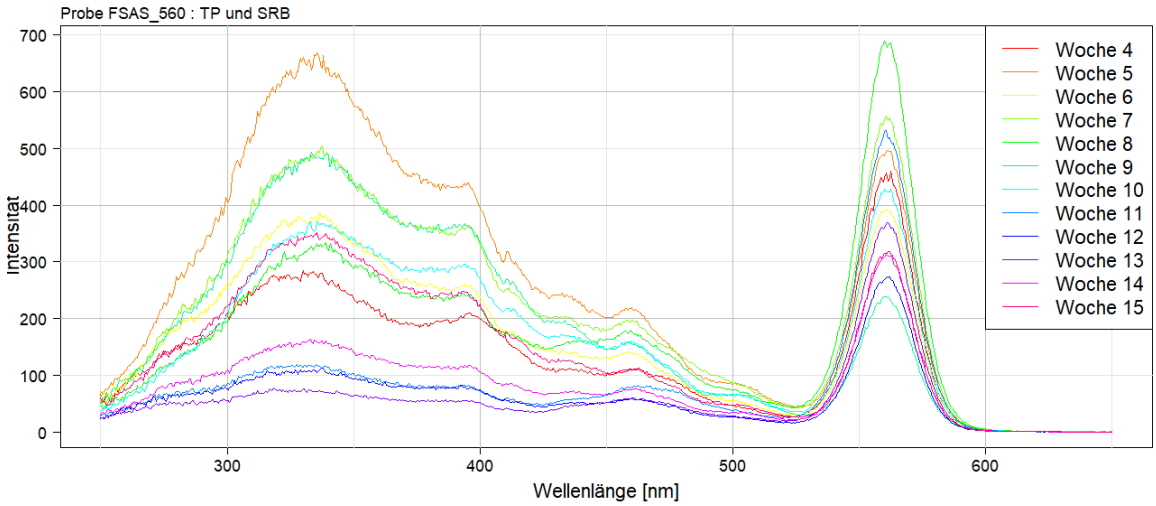

Abbildung 6.21 Absorptionsspektren FSAS im Versuchsverlauf: TP510 und SRB

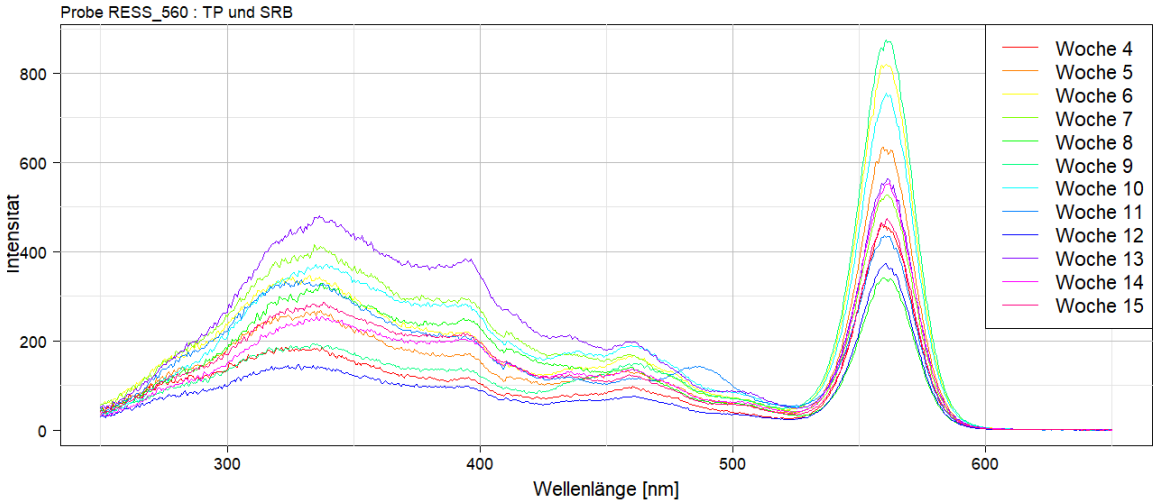

Abbildung 6.22 Absorptionsspektren RESS im Versuchsverlauf: TP510 und SRB

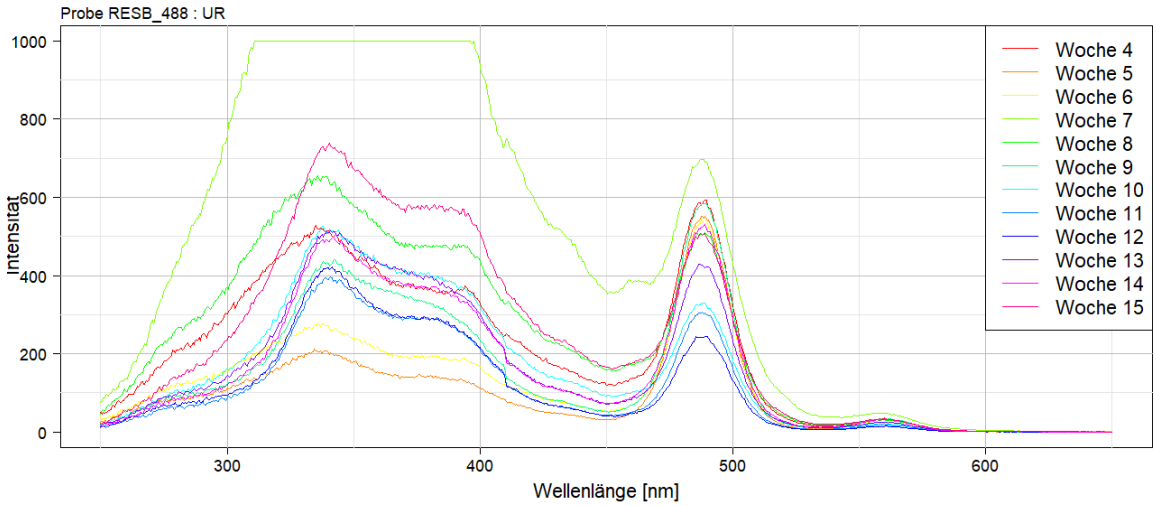

Abbildung 6.23 Absorptionsspektren RESB im Versuchsverlauf: UR

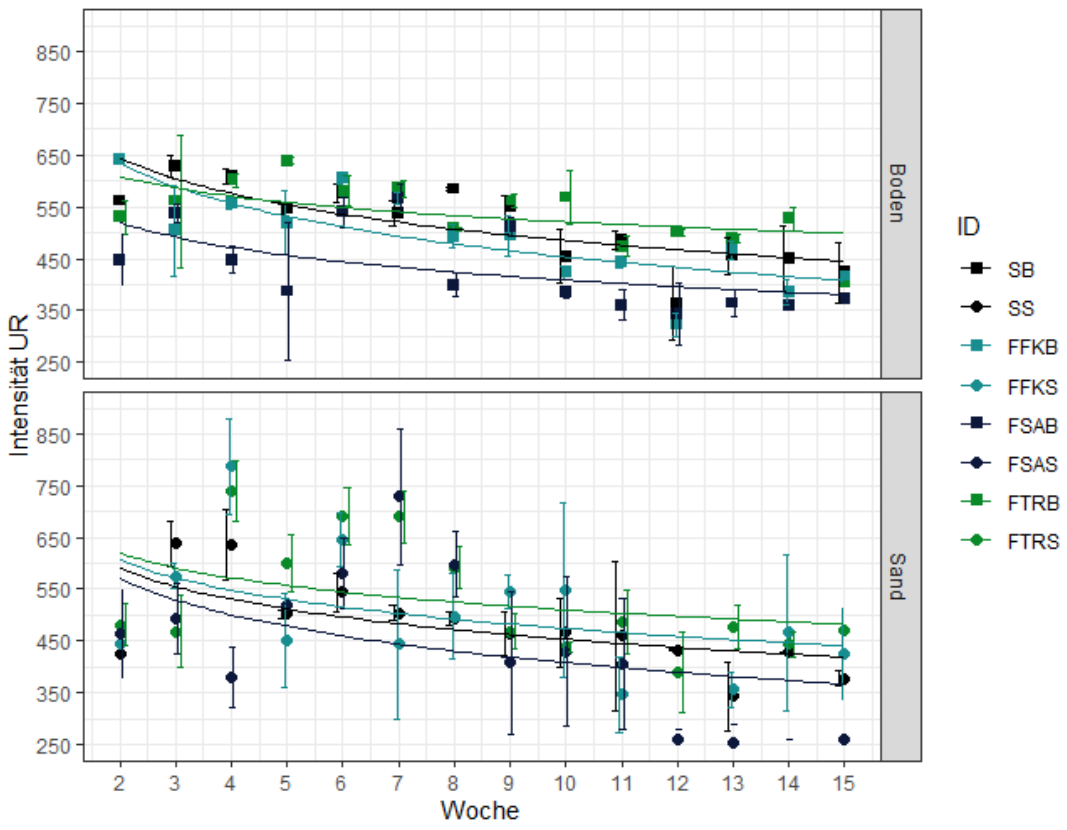

Abbildung 6.24 - Feuchteproben über den Probenzeitraum mit UR

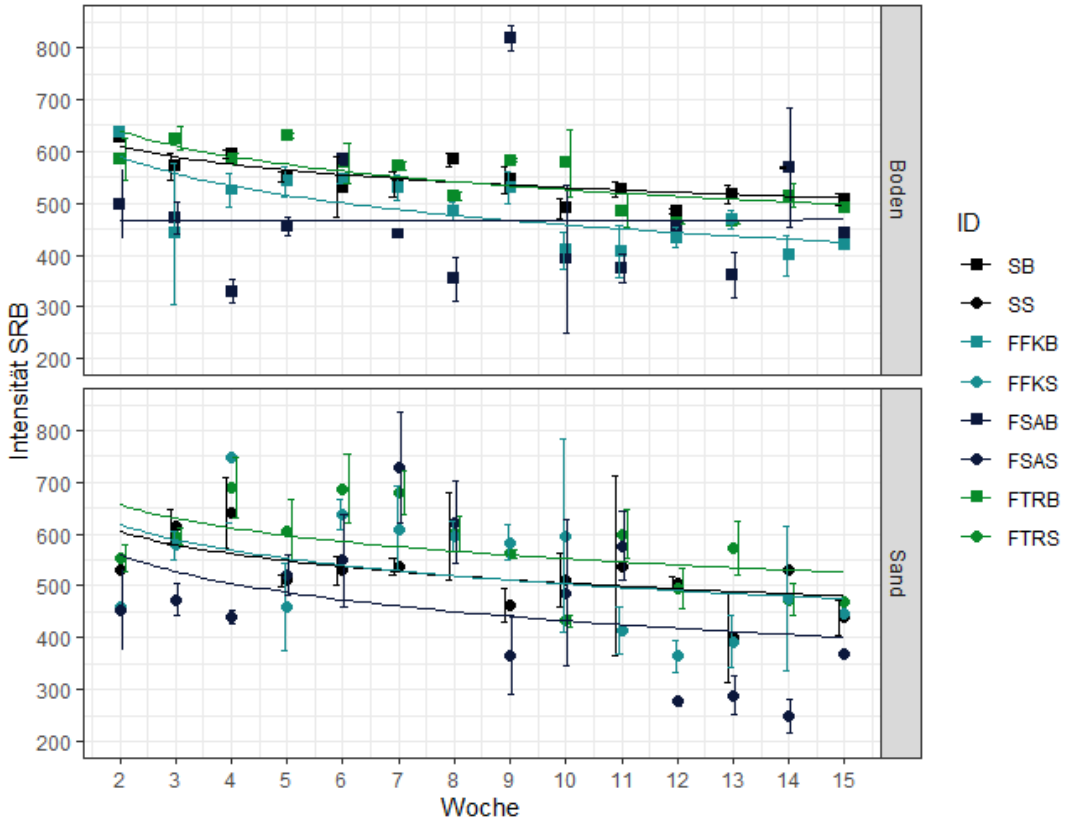

Abbildung 6.25 - Feuchteproben über den Probenzeitraum mit SRB

Anhang C Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass die Arbeit selbständig und nur unter Verwendung der angegebenen Hilfsmittel angefertigt wurde.

_____ _____

Ort, Datum Sebastian Spieler