

# Respiratorische Aktivitäten der Bodenmikroflora als ein Kriterium für Bodenqualität - Stufenkonzept zur Bewertung von hoch mit organischen Verbindungen belasteten Böden

Adolf Eisenträger, Gudrun Maxam, Jean-Paul Rila & Wolfgang Dott\*

## 1. Einleitung

Die metabolischen Aktivitäten von Mikroorganismen im Boden werden häufig anhand des Parameters „Bodenatmung“ erfaßt. Im Labor kommen dabei in der Regel gesiebte, in ihrer ursprünglichen Bodenstruktur stark veränderte Bodenproben zum Einsatz. Die mikrobielle Respiration hängt stark vom physiologischen Zustand der Zellen ab. Jedoch wird sie auch von der Feuchtigkeit des Bodens, der Temperatur, der Verdichtung und von der Nährstoffversorgung beeinflusst.

Trotz dieser vielen Einflußgrößen wird die Bodenatmung häufig bestimmt, da es sich um einen sehr empfindlichen und einfach zu analysierenden mikrobiologischen Parameter handelt, der mit den meisten mikrobiellen Parametern in enger Beziehung steht [Alef 1991]. Die Quantifizierung erfolgt analytisch mit sehr vielen unterschiedlichen Meßverfahren und -geräten anhand der Kohlenstoffdioxidproduktion oder des Sauerstoffverbrauchs. Viele dieser Meßverfahren wie z. B. die Bestimmung mit dem Sapro-maten der Fa. Voith, Deutschland, oder die Isermeyer-Methode basieren darauf, daß das freigesetzte CO<sub>2</sub> durch Lauge abgefangen wird (ALEF 1991). Bei Abwesenheit von CO<sub>2</sub> können jedoch keine autotrophen Stoffwechselprozesse stattfinden (Nitrifikation, Sulfurifikation).

Die „Basalatmung“ wird ohne Zugabe organischer Substanzen erfaßt, während die „Substrat-induzierte Atmung“ nach Zugabe von Substraten wie Glucose oder Aminosäuren bestimmt wird.

Die Anwendungsgebiete der Bodenatmung umfassen die Bestimmung

- der mikrobiellen Biomasse (Anteil der organischen Substanz im Boden, der aus lebenden Mikroorganismen besteht) nach ANDERSON und DOMSCH (1978),
- der Auswirkung von Nährstoffdosierung bzw. Düngung z.B. (AMADOR & JONES 1993),
- ökotoxikologischer Wirkungen von Umweltchemikalien (ALEF 1991),
- ökotoxikologischer Wirkungen in kontaminierten Böden (KLEIN 1995),
- der mikrobiologischen Sanierbarkeit kontaminierter Standorte (ALEF 1994, KREYSA und WIESNER 1992) und
- die sanierungsbegleitende Untersuchung (PALMBORG & NORDGREN 1993, HUND & SCHENK 1994)

Dabei werden zum Teil identische methodische Vorgehensweisen auf unterschiedliche Fragestellungen angewandt.

In dieser Arbeit werden Ergebnisse von Atmungsmessungen mit dem Micro-Oxymax<sup>®</sup>-Respirometer (Columbus Instruments International Corporation, Ohio) vorgestellt. Dieses Respirometer mißt gleichzeitig die Sauerstoff- und die Kohlenstoffdioxidkonzentration in den Probengefäßen der Böden in regelmäßigen Intervallen. In 20 Ansätzen können mit dem Gerät über einen O<sub>2</sub>-Sensor und einen Infrarot-CO<sub>2</sub>-Sensor die Umsatzraten bei einer Meßgenauigkeit von 0,02 Vol.-% O<sub>2</sub> und 0,01 Vol.-% CO<sub>2</sub> im Extended Range gemessen werden. Der Sauerstoffsensor arbeitet mit einer Brennstoffzelle basierend auf der Oxidation von Blei durch Sauerstoff zu Blei-(II)-oxid.

Als Bodenproben kommen hier hoch mit organischen Verbindungen (Mineralölkohlenwasserstoffe, nitroaromatische Verbindungen und PAKs) zum Einsatz, die im Rahmen des Forschungsverbundes „Ökotoxikologische Testbatterien“ des BMBF im Teilvorhaben 7: „Ermittlung optimaler Lagerungsbedingungen für Bodenrückstellproben für toxikologische Untersuchungen in Abhängigkeit von der Schadstoffbelastung, Förderkennzeichen 1491080“ untersucht worden sind. Bei diesen Untersuchungen zeigt sich, daß die Aussagekraft der Atmungsmessungen erhöht werden kann, wenn Kohlenstoff sowie Stickstoff und Phosphor als Nährstoffe jeweils schrittweise zudosiert werden.

## 2. Material und Methoden

Fünf Bodenproben, die mit unterschiedlichen organischen Verbindungen kontaminiert sind, werden chemisch-analytisch und respirometrisch charakterisiert.

**Tab. 1:** Kurzbeschreibung der Bodenproben

Probe	Charakteristika
LMKW1	ältere Kontamination mit Mineralöl, Siebung auf 4 mm Korngröße
SPMKW1	frische Kontamination mit Heizöl, Siebung auf 4 mm Korngröße
SPAK1	Kontamination mit PAKs aus Schadensfall mit Imprägnieröl, Siebung auf 4 mm Korngröße
CTNT1a	Kontamination mit Nitroaromaten aus dem zweiten Weltkrieg, Siebung auf 8 mm Korngröße
HTNT1	starke Kontamination mit Nitroaromaten, PAKs und Schwermetallen aus dem ersten Weltkrieg, Siebung auf 4 mm Korngröße

### Begleitanalysen

Aktueller pH-Wert und Leitfähigkeit wurden mit Elektroden im Überstand einer Mischung aus 10 g gesiebttem Boden und 25 ml deionisiertem Wasser bestimmt. Der Wassergehalt wurde gravimetrisch nach Trocknung (DIN ISO 11465) ermittelt. Der organische Kohlenstoff wurde über Glühverlust erfaßt. Anionen ( $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$  und  $\text{PO}_4^{3-}$ ) wurden nach wäßriger Extraktion ionenchromatographisch (DIN 38405, Teil 20) bzw. mit der Elektrode ( $\text{NH}_4^+$ ) und der Schwermetallgehalt (von As, Cd, Cu, Cr, Hg, Ni, Pb und Zn) über Atom-Absorptions-Spektrometrie (DIN 38405 - Teil 18; DIN 38406 - Teil 6, 7, 8, 10, 11, 12-3 und 19) bestimmt. Der Gehalt polyzyklischer aromatischer Kohlenwasserstoffe (PAKs) wurde anhand von EPA-Standards über HPLC nach Toluol-Extraktion ermittelt. Die nitroaromatischen Verbindungen (2,4,6-Trinitrotoluol, 1,3,5-Trinitrobenzol, 1,3-Dinitrobenzol, Nitrobenzol, 2,4-Dinitrotoluol, 2,6-Dinitrotoluol) wurden mittels HPLC nach Ultraschall-extraktion in Anlehnung an die EPA-Methode 8330 identifiziert und quantifiziert. Die flüchtigen organischen Verbindungen wurden mittels Mehrfachgasphasenextraktion nach Thermostatisierung für 60 min bei 80 °C mit Hilfe der Gaschromatographie, gekoppelt mit Massenspektrometrie quantifiziert.

### Bestimmung der mikrobiellen Sauerstoff- und Kohlenstoffdioxidumsetzung in Böden mit dem Micro-Oxymax<sup>®</sup>-Respirometer

**Prinzip:** Das Micro-Oxymax<sup>®</sup>-Respirometer (Columbus Instruments International Corporation, Ohio) mißt in 20 Ansätzen gleichzeitig die Sauerstoff- und die Kohlenstoffdioxidumsätze in regelmäßigen Intervallen. Dabei verändern sich die Partialdrücke von Sauerstoff und Kohlenstoffdioxid während der Inkubation nur in geringem Maße gegenüber den atmosphärischen Partialdrücken.

**Probenvorbereitung:** Einen Tag vor der Messung werden 50 g (TS) Boden in Duranflaschen mit GL 45-Gewinde (250 ml- oder 1 l-Duranflaschen) eingewogen. Der Boden

wird anschließend 24 h bei Raumtemperatur vorinkubiert. Dabei werden die Flaschen mit den Deckeln verschlossen.

Nach der Vorinkubation werden dem Boden je nach Ansatz (siehe Tabelle 2) 0,1 bis 0,4 g Glucose, 30 mg  $\text{NH}_4\text{Cl}$  und/oder 3,5 mg  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  pro 50 g Trockensubstanz zugesetzt, der Wassergehalt wird auf 50 % der Wasserhaltekapazität eingestellt. Zunächst wird die Glucose trocken als Glucose-Talkum-Gemisch (Verhältnis 3:2) unter den Boden gemischt. Handelt es sich bei dem Boden um relativ homogenes, nicht zu feuchtes Material, kann das Gemisch durch leichtes Schwenken der Flasche im Boden verteilt werden. Ist dies nicht möglich, muß die Vermischung mit Hilfe eines Holzstabes erfolgen.  $\text{NH}_4\text{Cl}$  und  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  werden in wäßriger Lösung zusammen mit dem Wasser, mit dem der Wassergehalt eingestellt wird, zugegeben. Danach dürfen die Flaschen nicht mehr geschüttelt und der Boden nicht mehr gerührt werden. Danach werden die Flaschen mit den Bodenproben an das Respirometer angeschlossen.

**Messung:** Kohlenstoffdioxid und Sauerstoff werden im Extended-Range gemessen. Der Meßbereich reicht hierbei von 10 bis 21 Vol.-%  $\text{O}_2$  und 0 bis 15 Vol.-%  $\text{CO}_2$ . Zunächst werden das Volumen und die Dichtigkeit des Sensorbereiches inklusive des mit Magnesiumperchlorat gefüllten Trockners überprüft, da sich eine Undichtigkeit schon bei der Eichung der Sensoren negativ bemerkbar machen würde. Vor jedem Versuch werden die Sensoren mit einem Prüfgas für den Extended-Range geeicht. Nach der Kalibrierung der Sensoren werden die Volumina der Ansatzflaschen gemessen, und ihre Dichtigkeit wird überprüft.

Die Intervallzeit, nach der die Gaskonzentrationen in den Flaschen gemessen werden, liegt bei 20 Ansätzen und den gewählten Geräteeinstellungen bei 2,5 h. Die Inkubationstemperatur wird während des Versuchs über ein Wasserbad auf  $22\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$  eingestellt. In der Tabelle 2 ist das Untersuchungsprogramm für die Böden wiedergegeben.

**Reagenzien und Prüfgas:** Glucose-Talkum-Gemisch: 20 g Glucose werden mit 13 g Talkum durch kräftiges Schütteln gemischt. 0,33 g des Gemisches werden pro 50 g Trockensubstanz eingesetzt.  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Lösung: 3,0 g  $\text{NH}_4\text{Cl}$  in A. dest. lösen und auf 100 ml auffüllen. Pro 50 g Trockensubstanz wird 1 ml Lösung eingesetzt.  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ -Lösung: 350 mg  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  in A. dest. lösen und auf 100 ml auffüllen. Pro 50 g Trockensubstanz wird 1 ml Lösung eingesetzt. Extended-Range-Prüfgas:  $\text{CO}_2$ : 10,000 %,  $\text{O}_2$  17,000 %,  $\text{N}_2$ : Rest

**Tab. 2:** Stufenkonzept zur Bestimmung der Bodenatmung kontaminierter sanierungsbedürftiger Böden - Bodeneinwaage: 50 mg TS; Wassergehalt: 50% der max. Wasserhaltekapazität

<b>Ansatz</b>	<b>Bodenmenge [mg TS]</b>	<b>Gefäßgröße [ml]</b>	<b>Glucose [mg/100 g TS]</b>	<b>N [mg/100 g TS]</b>	<b>P [mg/100 g TS]</b>
<b>Basal</b>	50	250	-	-	-
<b>Basal + N + P</b>	50	250	-	16,98	1,245
<b>0,2 % Glucose</b>	50	1000	200	-	-
<b>0,4 % Glucose</b>	50	1000	400	-	-
<b>0,8 % Glucose</b>	50	1000	800	-	-
<b>Glucose + N</b>	50	1000	400	16,98	-
<b>Glucose + P</b>	50	1000	400	-	1,245
<b>Glucose + N + P</b>	50	1000	400	16,98	1,245
<b>Glucose + N + P</b>	50	1000	400	16,98	1,245

Insgesamt stehen für einen Meßansatz 20 Kanäle zur Verfügung. Um zwei Proben gleichzeitig testen zu können, wird daher zur Überprüfung der Probenhomogenität die Substrat-induzierte Atmung nach Zugabe von Glucose, Ammonium und Phosphat im Doppelansatz gemessen. Wenn die Parallelen nicht übereinstimmen, werden Probenhomogenität und -vorbereitung überprüft, und der Ansatz wird wiederholt.

### 3. Ergebnisse

In der Tabelle 3 sind die Meßergebnisse der Begleitanalytik der Böden zusammengefaßt.

**Tab. 3:** Physiko-chemische Eigenschaften der Böden und Koloniezahl der aeroben und fakultativ anaeroben Bakterien auf R2A-Agar

	LMKW1	SPMKW1	SPAK1	CTNT1a	HTNT1
<b>Bodenart</b>	Sand	Sand	Sand	sandiger Lehm	Sand
<b>aktueller pH Wert</b>	7,7	7,7	7,2	5,4	5,1
<b>Wassergehalt [%]</b>	8,5	8,4	7,0	26,0	24,0
<b>Leitfähigkeit [<math>\mu\text{S} / \text{cm}^2</math>] <sup>1</sup></b>	217,0	152,0	320,0	67,0	207,0
<b>Nitrit [<math>\text{mg NO}_2^- / \text{kg TS}</math>] <sup>1</sup></b>	<1,0	<1,0	<1,0	<1,0	8,98
<b>Nitrat [<math>\text{mg NO}_3^- / \text{kg TS}</math>] <sup>1</sup></b>	55,2	<10,0	<10,0	<10,0	16,3
<b>Ammonium [<math>\text{mg NH}_4^+ / \text{kg TS}</math>] <sup>1</sup></b>	7,0	<1,0	1,0	5,0	16,0
<b>Phosphat [<math>\text{mg PO}_4^{3-} / \text{kg TS}</math>] <sup>1</sup></b>	33,2	<5,0	14,8	<5,0	<5,0
<b>Glühverlust [g / kg TS]</b>	11	14	11	81	99
<b>2,4,6-TNT [g / kg TS]</b>	n.b.	n.b.	n.b.	1,89	19,89
<b>2,4-DNT [g / kg TS]</b>	n.b.	n.b.	n.b.	0,005	6,80
<b><math>\Sigma</math> Nitroaromaten [g / kg TS]</b>	n.b.	n.b.	n.b.	1,95	29,94
<b><math>\Sigma</math> EPA-PAK (Toluol-Extraktion) [g / kg TS]</b>	8,5	29,5	960,0	16,5	816,6
<b><math>\Sigma</math> VOC (MHE mit GC-MS) [g / kg TS]</b>	687,1	n.a.	508,2	n.a.	n.a.
<b>Arsen [g / kg TS]</b>	4,404	4,908	22,59	6,45	8,429
<b>Blei [g / kg TS]</b>	137,5	737,42	8,03	129,6	2136,1
<b>Cadmium [g / kg TS]</b>	0,184	0,312	0,15	1,87	0,279
<b>Chrom [g / kg TS]</b>	10,35	4,97	578,2	271,8	53,59
<b>Kupfer [g / kg TS]</b>	54,23	35,34	9,80	66,37	15,95
<b>Nickel [g / kg TS]</b>	29,87	0,764	13,96	25,31	9,413
<b>Quecksilber [g / kg TS]</b>	0,157	0,18	0,040	0,210	0,371
<b>Zink [g / kg TS]</b>	167,42	79,8	35,24	988,4	514,3
<b>Bakterien auf R2A-Agar [KBE/g TS]</b>	$1,2 \cdot 10^8$	$2,1 \cdot 10^8$	$1,3 \cdot 10^8$	$3,7 \cdot 10^6$	$5,0 \cdot 10^3$

1: Quantifizierung aus dem wäßrigen Eluat nach DIN 38414 Teil S4; TS: Trockensubstanz; n.a.: nicht auswertbar; n.b. nicht bestimmt

Die Probe LMKW1 weist einen hohen Gehalt an flüchtigen organischen Verbindungen auf. Die mit dieser Methodik detektierbaren Substanzen reichen von den halogenierten

Methanen bis hin zu dreikernigen Aromaten wie Anthracen und Phenanthren. Die Probe ist gut mit Nitrat und Phosphat versorgt. Die Probe SPMKW1 ist frisch mit Heizöl kontaminiert. Die Kontamination mit Heizöl wurde mit dem hier angewandten Meßprogramm nicht erfaßt. Der Bleigehalt und die PAK-Belastung sind relativ hoch. Ammonium, Nitrat und Phosphat sind nicht nachweisbar.

Die mit PAKs belastete Probe SPAK1 weist einen hohen Chromgehalt und sehr niedrige Gehalte an Ammonium auf. Die von einer Sprengstoffproduktionsstätte aus dem zweiten Weltkrieg stammende Probe CTNT1a ist mit nitroaromatischen Verbindungen mit etwas weniger als 2 g/kg TS belastet. Ammonium ist gut nachweisbar, während Phosphat im wäßrigen Extrakt nicht vorhanden ist.

Sehr hoch mit nitroaromatischen Verbindungen, PAKs und Blei belastet ist die Probe HTNT1. In dieser Probe sind Nitrit, Nitrat und Ammonium in hohen Konzentrationen nachweisbar. Die Koloniezahlen auf R2A-Agar sind mit  $5 \cdot 10^3$  Bakterien/g TS sehr niedrig. Die Kontamination stammt aus der Sprengstoffproduktion während des ersten Weltkriegs und der Delaboration sowie der Explosion des Fabrikgeländes in den 20er Jahren.

Die Ergebnisse der Bodenatmungsmessungen werden anhand der verbrauchten Sauerstoffmengen dargestellt. Zunächst werden die kumulierten Werte nach 5 Tagen Inkubation in Tabelle 4 zusammengefaßt. In den Abbildungen 1 bis 3 folgen Zeitverläufe ausgewählter Ansätze.

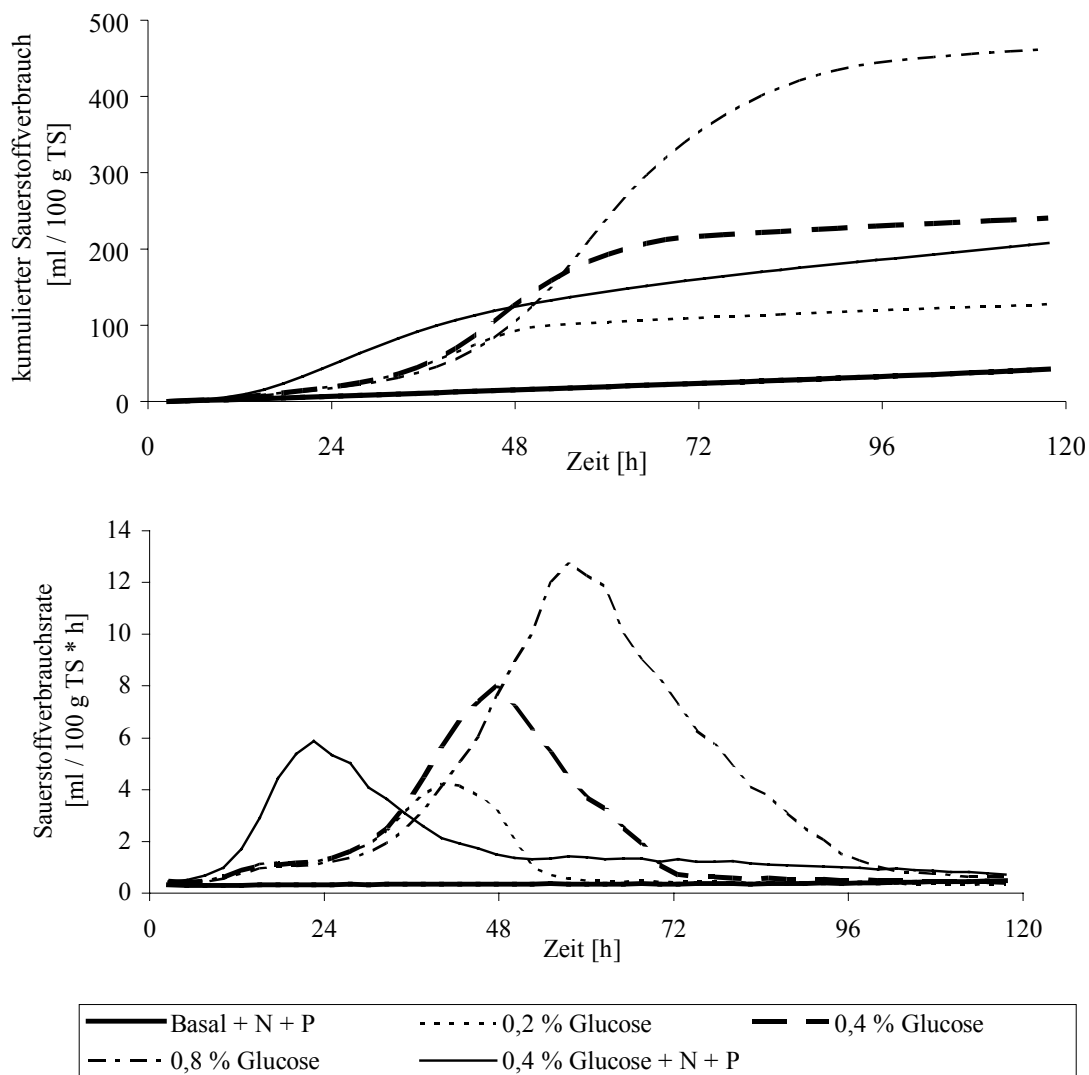
**Tab. 4:** Kumulierter mikrobieller Sauerstoffverbrauch der Böden nach stufenweiser Zudosierung von Nährstoffen [ml O<sub>2</sub>/100 g TS \* 120 h]

	<b>Böden</b>				
	<b>LMKW1</b>	<b>SPMKW1</b>	<b>SPAK1</b>	<b>CTNT1a</b>	<b>HTNT1</b>
<b>Basalatmung</b>	35,7	44,2	32,1	3,3	0,9
<b>Basalatmung + N + P</b>	44,9	43,1	74,3	2,2	0,9
<b>stimulierte Atmung (0,2 % Glucose)</b>	130,5	111,0	42,2	57,1	31,4
<b>stimulierte Atmung (0,4 % Glucose)</b>	243,6	203,5	42,4	67,9	42,7
<b>stimulierte Atmung (0,8 % Glucose)</b>	465,8	157,9	33,2	79,8	35,5
<b>stimulierte Atmung (0,4 % Glucose + N)</b>	213,6	272,1	208,3	126,1	21,9
<b>stimulierte Atmung (0,4 % Glucose + P)</b>	245,2	144,3	43,7	77,8	60,3
<b>stimulierte Atmung, Ansatz 1 (0,4 % Glucose + N + P)</b>	212,4	338,3	230,4	142,4	27,0
<b>stimulierte Atmung, Ansatz 2 (0,4 % Glucose + N + P)</b>	216,2	321,4	236,9	145,6	27,0

Die Meßdaten der Parallelansätze der stimulierten Atmung nach Zudosierung von Glucose, Ammonium und Phosphat belegen, daß die Proben hinreichend homogen sind. Die größte Differenz liegt mit 5 % bei Boden SPMKW1 vor.

Die Böden LMKW1, SPMKW1 und SPAK1 zeichnen sich durch eine starke Basalatumung aus. Die Basalatumung von SPAK1 ist durch Zugabe von Ammonium und Phosphat weiter zu steigern. Die mit nitroaromatischen Verbindungen kontaminierten Böden verbrauchen dagegen nur einen Bruchteil dieser Sauerstoffmenge.

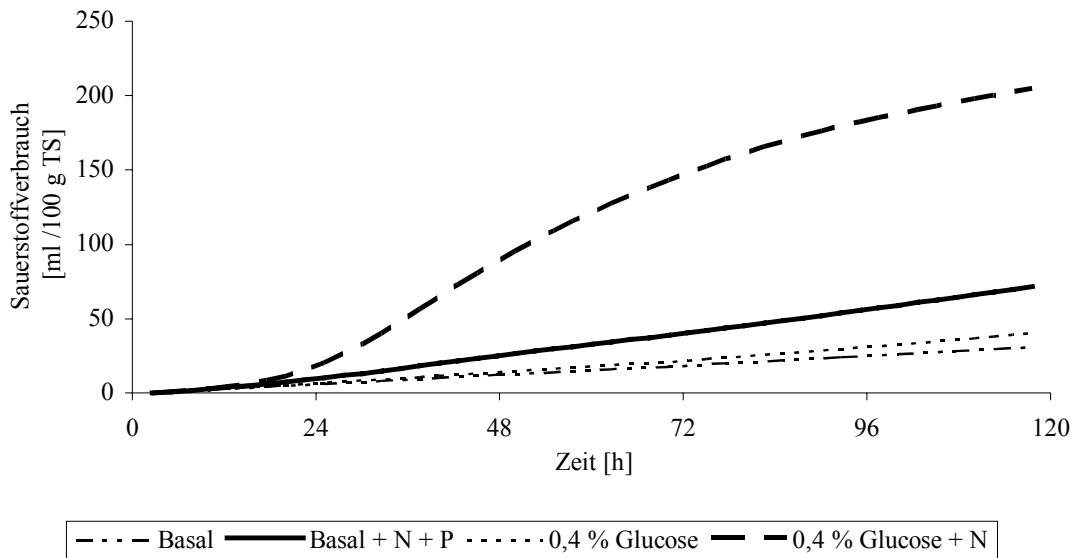
Die Meßergebnisse der stimulierten Atmung belegen, daß der Boden LMKW1 kohlenstofflimitiert und die Proben SPAK1 und CTNT1a stickstofflimitiert sind. Die Meßdaten der Probe SPMKW1 sind uneinheitlich. Der höchste Sauerstoffverbrauch läßt sich jedoch nach Aufhebung der C- und N-Limitierung nachweisen. Während die Bodenatmung dieser vier Proben durch Nährstoffzugabe stark zu stimulieren ist, liegt bei Probe HTNT1 eine starke Beeinträchtigung der Bodenmikroflora vor.



**Abb. 1:** Kumulierter Sauerstoffverbrauch und Sauerstoffverbrauchsrate des Bodens LMKW1 nach Zugabe von Glucose (0,2 g, 0,4 g, 0,8 g bezogen auf 100 g TS) Ammonium und Phosphat (N = Zugabe von 60 mg  $\text{NH}_4\text{Cl}/100$  g TS; P = Zugabe von 7 mg  $\text{K}_2\text{HPO}_4/100$  g TS) in unterschiedlichen Kombinationen; Basal = Basalatumung

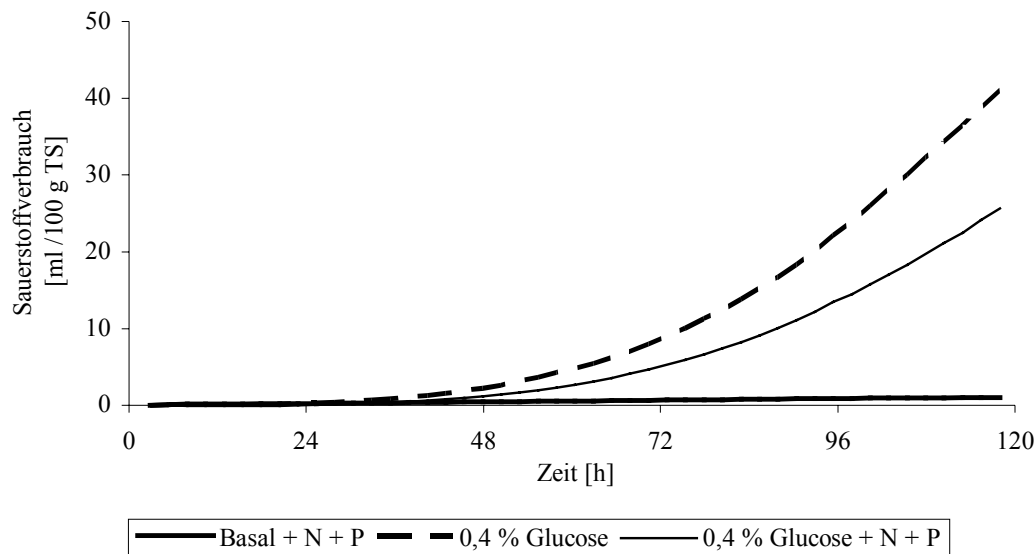


Die graphische Darstellung der Atmung des Bodens LMKW1 belegt, daß der kumulierte Sauerstoffverbrauch durch Glucose limitiert ist. Bei Betrachtung der Raten zeigt sich jedoch darüber hinaus, daß nach Zudosierung von Ammonium die Wachstumsphase ca. 24 h früher beginnt. Hieraus ist zu schließen, daß bei der Interpretation der Bodenatmung auch die Kinetik des Sauerstoffverbrauchs (Dauer der lag-Phase, maximale Sauerstoffverbrauchsrate, Steigung der Sauerstoffverbrauchsrate) berücksichtigt werden sollte.



**Abb. 2:** Kumulierter Sauerstoffverbrauch des Bodens SPAK1 nach Zugabe von Glucose (0,2 g, 0,4 g, 0,8 g bezogen auf 100 g TS) Ammonium und Phosphat (N = Zugabe von 60 mg  $\text{NH}_4\text{Cl}/100$  g TS; P = Zugabe von 7 mg  $\text{K}_2\text{HPO}_4/100$  g TS) in unterschiedlichen Kombinationen; Basal = Basalatmung

Die Atmung von Probe SPAK1 (Abbildung 2) ist so stark stickstofflimitiert, daß die stimulierte Atmung mit Glucose geringer ist als die Basalatmung nach Ammonium- und Phosphatzudosierung. Bei Aufhebung dieser Limitierung ist die mikrobielle Aktivität hoch.



**Abb. 3:** Kumulierter Sauerstoffverbrauch des Bodens HTNT1 nach Zugabe von Glucose (0,2 g, 0,4 g, 0,8 g bezogen auf 100 g TS) Ammonium und Phosphat (N = Zugabe von 60 mg  $\text{NH}_4\text{Cl}/100$  g TS; P = Zugabe von 7 mg  $\text{K}_2\text{HPO}_4/100$  g TS) in unterschiedlichen Kombinationen; Basal = Basalatmung

Bei dem Standort, von dem die Probe HTNT1 stammt (Abbildung 3), handelt es sich um eine ca. 80 Jahre alte Kontamination, die trotz hinreichend guter Versorgung mit stickstoff- und phosphathaltigen Verbindungen (Tabelle 2) noch sehr hohe Konzentrationen von 2,4,6 TNT und anderen nitroaromatischen Verbindungen sowie PAKs aufweist. Die praktisch nicht vorhandene mikrobielle Aktivität dieser Probe wird durch die Bodenatmungsmessungen bestätigt.

**Tab. 5:** Zusammenfassende Bewertung der Böden

Boden	
LMKW1	Kohlenstofflimitierung, lag-Phase kürzer bei Ammoniumzugabe, mikrobiologisch aktivierbar
SPMKW1	Kohlenstofflimitierung, mikrobiologisch aktivierbar
SPAK1	Stickstofflimitierung, mikrobiologisch aktivierbar
CTNT1a	Stickstofflimitierung, geringe mikrobiologische Aktivität
HTNT1	Kohlenstofflimitierung, sehr geringe mikrobiologische Aktivität, toxisch

#### 4. Diskussion und Zusammenfassung

Die DECHEMA-Ad-hoc-Arbeitsgruppe „Labormethoden zur Beurteilung der biologischen Bodensanierung“ (1992) hat Methoden zusammengestellt, anhand derer die mikrobielle Sanierbarkeit von Altstandorten überprüft werden kann. Die darin verwendete Methode zur Bodenatmungsmessung ist auch im Methodenhandbuch von ALEF (1994) beschrieben. Nach ALEF ist die mikrobielle Population beeinträchtigt und die mikrobielle Sanierbarkeit eingeschränkt, wenn keine eindeutige Atmungsaktivität nachweisbar ist. Als

Richtwerte werden dabei für die Basalatmung ca. 0,4 mg O<sub>2</sub>/100 g Boden/Tag und für die substratabhängige Atmung ca. 4,0 mg O<sub>2</sub>/100 g Boden/Tag angegeben. Die DECHEMA-Arbeitsgruppe hat darüber hinaus an diese Aussage die Bedingung geknüpft, daß die Koloniezahl der aeroben und fakultativ anaeroben Mikroorganismen niedriger als 10<sup>3</sup> Koloniebildende Einheiten pro g Trockengewicht Boden ist. In beiden Anweisungen ist angegeben, daß die Versuchszeit bis zu 7 Tage betragen kann.

Die Anwendung dieser Methodik auf die hier charakterisierten Bodenproben führt zu dem Schluß, daß alle Altstandorte mikrobiologisch sanierbar sind. Dies ist jedoch im Fall des Bodens HTNT1 fragwürdig. Bei Auswertung nach 2 oder 3 Tagen Inkubation wäre danach der Altstandort nicht mikrobiologisch sanierbar. Bei Extrapolation der in Abbildung 3 dargestellten Ergebnisse liegt dagegen der Schluß nahe, daß auch dieser extrem hoch belastete Standort mikrobiologisch sanierbar ist. Der Ansatz zur Bewertung kontaminierter Standorte mit dieser Methodik sollte daher weiter validiert werden. Außerdem sollte der Einfluß der Versuchsdauer auf die Meßergebnisse untersucht werden, um die Interpretation der Ergebnisse abzusichern.

Ein weiteres differenziertes Konzept zur Bestimmung der Bodenatmung wird von PALMBORG & NORDGREN (1993) vorgestellt. Die ursprünglich für die Bewertung von Waldböden entwickelte Methode ist nach deren Aussage auch sanierungsbegleitend einsetzbar. Hierbei wird zunächst die Basalatmung als Maß für die „gesamte mikrobielle Aktivität“ des Bodens erfaßt. Anschließend werden Glucose, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> und KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> zugegeben, und die stimulierte Atmung als Maß für die „mikrobielle Biomasse“ nach ANDERSON & DOMSCH (1978) wird erfaßt. Als Maß für die „Vitalität“ der wachsenden Mikroorganismen wird die Dauer der lag-Phase nach Zudosierung von Glucose bis zum Beginn des exponentiellen Wachstums erfaßt. Auch dieser Ansatz sollte anhand kontaminierter Böden validiert werden. Fraglich ist, ob die Bestimmung der mikrobiellen Biomasse mit Böden durchgeführt werden darf, die mit verwertbaren organischen Verbindungen belastet sind. In der Testanweisung ist angegeben, daß die Methode nicht auf Böden mit „frischer organischer Substanz“ anwendbar ist (ANDERSON & DOMSCH 1978).

Mit dem hier vorgestellten Stufenkonzept zur Bewertung von Böden, die mit organischen Verbindungen kontaminiert sind, können diese Böden differenziert bewertet werden, da die Meßergebnisse nach allen hier beschriebenen Methoden ausgewertet werden können, und da Kohlenstoff-, Stickstoff- und Phosphorlimitierungen sowie toxische Effekte erfaßt werden können.

### **Danksagung**

Die hier vorgestellten Forschungsergebnisse wurden im Rahmen des vom BMBF finanzierten Forschungsprojekts „Ermittlung optimaler Lagerungsbedingungen für Bodenrückstellproben für toxikologische Untersuchungen in Abhängigkeit von der Schadstoffbelastung, Förderkennzeichen 1491080“ erhalten.

Für die Mitarbeit bei den Analysen danken wir K. Hund, J. Hollender, N. Jakobi, C. Lutermann, M. Möller und N. Mende.

### Literatur

- Alef, K. (1991): Methodenhandbuch Bodenmikrobiologie - Aktivitäten, Biomasse, Differenzierung. Landsberg/Lech, ecomed
- Alef, K. [Hrsg.] (1994): Biologische Bodensanierung - ein Methodenbuch. Weinheim, New York, Basel...
- Amador, J.A. & Jones, R.D. (1993): Nutrient limitations on microbial respiration in peat soils with different total phosphorus content. In: Soil Biology and Biochemistry, **25/6**: 793-801
- Anderson, J.P.E. & Domsch, K.H. (1978): A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. Soil Biology and Biochemistry **10**: 215-221.
- Hund, K. & Schenk, B. (1994): The microbial respiration quotient as indicator for bioremediation processes. Chemosphere **28/3**: 477-490.
- Klein, J. [Hrsg.]: Dechema ad-hoc-Arbeitsgruppe Labormethoden zur Beurteilung der biologischen Bodensanierung (Leitung W. Dott) (1992): Labormethoden zur Beurteilung der biologischen Bodensanierung. Deutsche Gesellschaft für Chemisches Apparateswesen, Chemische Technik und Biotechnologie e.V. (DECHEMA), Frankfurt am Main, ISBN 3-926959-37-1
- Kreysa, G. & Wiesner, J. [Hrsg.]: DECHEMA ad-hoc-Committee - Methods for toxicological/ecotoxicological assessment of soils (headed by W. Dott) (1995): Bioassays for soils. 4th Report of the interdisciplinary DECHEMA committee - Environmental biotechnology - Soil (headed by J. Klein): Deutsche Gesellschaft für Chemisches Apparateswesen, Chemische Technik und Biotechnologie e.V. (DECHEMA), Frankfurt am Main, ISBN 3-926959-52-5.
- Palmborg, C. & Nordgren, A (1993): MATS Guideline - Test 16: Soil respiration curves, a method to test the abundance, activity, and vitality of the microflora in forest soils. In: Torstensson, L. (Hrsg.): Soil Biological Variables in Environmental Hazard Assessment. MATS Guidelines, Swedish Environmental Protection Agency, Uppsala, 149-155