

KfK 5168
März 1993

**Charakterisierung der
biologischen Stickstoffumsätze
in der ungesättigten
Bodenzone anhand der
Bildung von
Distickstoffoxid**

C. Kiefer
Institut für Radiochemie

Kernforschungszentrum Karlsruhe

Kernforschungszentrum Karlsruhe

Institut für Radiochemie

KfK 5168

**Charakterisierung der biologischen Stickstoffumsätze in der
ungesättigten Bodenzone anhand der Bildung von Distickstoffoxid**

Carolin Kiefer

Kernforschungszentrum Karlsruhe GmbH, Karlsruhe

Von der Fakultät für Chemie der Universität Karlsruhe (TH)
angenommene Dissertation

Als Manuskript gedruckt
Für diesen Bericht behalten wir uns alle Rechte vor

Kernforschungszentrum Karlsruhe GmbH
Postfach 3640, 7500 Karlsruhe 1

ISSN 0303-4003

Zusammenfassung

Für den Stickstoffhaushalt eines Bodens spielen die biologischen Umsetzungen Nitrifikation und Denitrifikation eine wesentliche Rolle. Ihre Bedeutung im Oberboden ist gründlich erforscht - Schwerpunkt dieser Arbeit war ihre Untersuchung in tieferen Bodenschichten. Wesentliches Ziel war die Aufklärung der Frage, ob die Denitrifikationskapazität eines Niedermoorbodens in einem Wassereinzugsgebiet ausreichend ist, um den Transport der dort in der oberen Bodenschicht gefundenen großen Nitratmengen wirksam zu verhindern.

Die Untersuchungen sollten anhand der Distickstoffoxidbildung von Bodenproben erfolgen, weil dadurch deren Struktur nicht zerstört werden muß. Es wird eine Apparatur vorgestellt, mit deren Hilfe man die Emission der Bodengase Distickstoffoxid und Kohlendioxid gleichzeitig mit Hilfe gaschromatographischer Analyse messen kann. Die Apparatur erlaubt die Variation der Sauerstoffkonzentration, was für die Untersuchung von nitrifizierendem und denitrifizierendem Verhalten der Bodenprobe wichtig ist. Weiterentwicklung des Analysenverfahrens und Erstellung von Programmen zur elektronischen Datenverarbeitung ermöglichte den vollautomatischen und damit kontinuierlichen Betrieb der Apparatur über mehrere Wochen.

Messungen der Distickstoffoxidemission zweier Oberflächenproben von unterschiedlichen Standorten ergaben trotz stark verschiedener Eigenschaften ähnliches Verhalten. Die Produktion von Distickstoffoxid geschieht durch die in dieser Bodenzone nitrifizierende Mikroflora nur unter anoxischen Bedingungen aufgrund des Abbaus von Nitrit.

Eine Probe aus 1,50-1,75 m Tiefe zeigte dagegen unter anoxischen Bedingungen eine über mehrere Wochen nahezu konstante N_2O -Produktion, die auf Nitratabbau, also Denitrifikation zurückzuführen ist. Mit den ermittelten Daten und dem Tiefenprofil des Nitratgehaltes ergibt eine Abschätzung, daß die Denitrifikationskapazität dieser Bodenzone ausreichend ist, um das darunterliegende Grundwasser vor Nitratreintrag zu schützen.

Die Untersuchung der Temperaturabhängigkeit dieser N_2O -Bildung ließ die Ermittlung der Aktivierungsenergien für die Denitrifikation zu. Sie lag mit 60 kJ/mol im Rahmen der auch von anderen Autoren gefundenen Aktivierungsenergien.

Interessante Effekte zeigte die N_2O -Produktionsrate der gleichen Tiefenprobe bei Wechsel der Sauerstoffversorgung. Bei Zusatz von Sauerstoff wird die Emission zwar verringert, aber keineswegs unterdrückt. Außerdem wird regelmäßig zu Beginn der Belüftung ein Peak deutlich erhöhter Distickstoffoxidemission beobachtet, der auf den Abbau einer durch bakterielle Nitratreduktion unter anoxischen Bedingungen entstandenen Zwischenstufe zurückgeführt wird. Versuche zu deren Identifikation erhärteten die Vermutung, daß es sich dabei um Hydroxylamin handelt.

Die Messung der Distickstoffoxidemission mit Hilfe der hier angewandten Apparatur ermöglicht also durch Wechsel von Argonatmosphäre auf Luft die Identifikation vorherrschend nitrifizierender oder denitrifizierender Aktivität in einer Bodenprobe.

Characterisation of the Biological Nitrogen Conversions in the Unsaturated Soil Zone by Means of the Nitrous Oxide Formation

Abstract

Nitrification and denitrification play an important part in the nitrogen balance of soil. The importance of these biological processes in the upper soil layer is thoroughly examined. Focal point of this paper was, therefore, the examination of these processes in deeper soil zones. A fundamental object was the study of a low moor soil in a region of drinking water production and the answer to the question, whether its potential of denitrification was sufficiently high, to prevent effectively the transport of the high amount of nitrate, which was measured in the upper soil layer, to the ground water.

The investigations were carried out by measuring the formation of nitrous oxide in soil samples, thus avoiding their structure to be destroyed. The emission of the soil gases nitrous oxide and carbon dioxide from a specially designed tube reactor containing the soil sample was measured simultaneously based on gaschromatographic analysis. The concentration of oxygen is adjustable, which is important for the determination of nitrifying or denitrifying characteristics of a soil sample. The apparatus was optimised in a way that it was possible to run it computer-controlled over a period of several weeks continuously.

Despite very different properties of samples from the surface of two different locations, the emission of nitrous oxide proved similar characteristics. The microflora nitrifies in this soil zone. It forms nitrous oxide only under anoxic conditions by reduction of nitrite.

On the other hand, a sample from a depth between 1.50 - 1.75 m formed nitrous oxide with constant rate under anoxic conditions, caused by reduction of nitrate that means denitrification. The data, in connection with the nitrate profile, permit the estimation, that the potential of denitrification in this soil layer is sufficient, to protect the ground water from contamination by nitrate from the upper soil layer.

The investigation of the temperature dependence of the nitrous oxide production allowed the determination of the activation energy for the denitrification. It was found to be 60 kJ/mol, thus lying within the range of the activation energies determined by other authors.

The production rate of nitrous oxide of the same sample changed in an interesting way, with respect to the oxygen concentration. With addition of oxygen the emission is reduced, but not suppressed. Furthermore, a peak indicating significantly higher emissions of nitrous oxide is periodically observed at the beginning of the aeration. This peak is attributed to the degradation of an intermediate, formed by bacterial reduction of nitrate under anoxic conditions. Additional investigations supported the supposition that the intermediate could be identified as hydroxylamine.

The automated apparatus makes it possible to characterise a soil sample with respect to nitrifying or denitrifying activity by measuring the formation of nitrous oxide depending on the oxygen concentration.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1 Problemstellung	1
1.2 Biologische Stickstoffumsätze im Boden	3
1.2.1 Mikroorganismen	3
1.2.2 Oxidationsreaktionen	4
1.2.3 Reduktionsreaktionen	4
2. Literaturübersicht	6
2.1 Untersuchungsmethoden	6
2.1.1 Glockenmethode	6
2.1.2 Inkubationsmethode	7
2.1.3 Sonstige Verfahren	8
2.2 Untersuchungsergebnisse	9
2.2.1 Allgemeines	9
2.2.2 Nährstoffverfügbarkeit und Denitrifikationsrate	9
2.2.3 Bedeutung von Wasser und Luft	10
2.2.4 Abhängigkeit von pH-Wert und Temperatur	10
2.2.5 Zusammenwirken verschiedener Parameter	11
3. Probenahme und -Aufbereitung	12
3.1 Entnahme von Bodenproben	12
3.2 Apparatur zur Gewinnung von Bodengas	13
4. Das gaschromatographische Analysenverfahren	17
4.1 Entwicklungsziel	17
4.2 Ausarbeitung des Meßverfahrens	17
4.3 Basislinienkompensation	23
4.4 Automatisierung des Analysenverfahrens	24
5. Auswertung und Datenverarbeitung	26
5.1 Peakidentifizierung	26
5.2 Kalibrierung	27
5.3 Datenverarbeitung	30
6. Distickstoffoxidemission von Bodenoberflächenproben	31
6.1 Beschreibung der untersuchten Böden	31
6.2 Waldboden	31
6.3 Niedermoorboden	35
6.3.1 Experimente und Beobachtungen	35
6.3.2 Auswertung	38
6.4 Zusammenfassung der Ergebnisse	43

6.5 Diskussion	43
7. Distickstoffoxidbildung tieferer Bodenschichten	46
7.1 Anoxische Bedingungen	46
7.1.1 Versuchsabfolge	46
7.1.2 Auswertung und Diskussion	47
7.2 Temperaturabhängigkeit	48
7.2.1 Experimentelles	48
7.2.2 Auswertung	49
7.3 Distickstoffoxidbildung bei wechselnder Sauerstoffversorgung	52
7.3.1 Einleitung	52
7.3.2 Experimente und Beobachtungen	52
7.3.3 Auswertung	55
7.3.4 Zusammenfassung	57
7.3.5 Interpretation	58
7.4 Ergänzende Untersuchungen	59
8. Identifizierung der bei der Denitrifikation entstehenden Zwischenstufe	62
8.1 Experimente	62
8.2 Auswertung und Diskussion	62
8.3 Versuche zur analytischen Bestimmung von Hydroxylamin	64
9. Übersicht der Ergebnisse	66
Anhang A: Geräte	69
Anhang B: Programme	70
Basislinienkompensation	70
Wartezeit	70
APL-Programme zur Datenübertragung	71
Literatur	72

1. Einleitung

1.1 Problemstellung

Einen wesentlichen Beitrag zum Stoffeintrag in das Porenwasser der ungesättigten Zone liefern biologische Vorgänge, bei denen entweder die Stoffe selbst, z.B. Nitrat oder Ammonium, entstehen oder deren Produkte mit den Bodenmineralien unter Auflösung reagieren.

In diesem Zusammenhang sind besonders die Stickstoffumsätze in tieferen Bereichen der ungesättigten Zone von Interesse. Über diese ist wenig bekannt, sie sind auch schwer zu untersuchen. Eine Möglichkeit ist die Messung der gasförmigen Produkte Stickstoff, Kohlendioxid und Distickstoffoxid, weil dazu der Boden bzw. die Bodenprobe nicht zerstört werden muß.

Als Hauptursache bei der Entstehung von Distickstoffoxid im Boden sind Reduktionsvorgänge höher oxidiertes Stickstoffverbindungen zu sehen, aber auch andere Prozesse spielen bei der N_2O -Bildung eine Rolle. Bei der Denitrifikation entsteht es als Zwischen- und Nebenprodukt der Reduktion von Nitrat zu Stickstoff. Die Nitrifikation, die Oxidation von Ammonium zu Nitrat, kann ebenfalls von N_2O -Bildung begleitet sein. Nach Scheffer und Schachtschabel [52] können unter bestimmten Voraussetzungen Stickstoffoxide auch durch chemische Prozesse - zum Beispiel Reaktion von Ammonium- mit Nitriten oder Zerfall von salpetriger Säure - im Boden entstehen. Firestone und Davidson [18] fassen diese Vorgänge unter dem Namen Chemodenitrifikation zusammen.

Die Ergebnisse einer Diplomarbeit zeigen, daß auch unterhalb der bislang untersuchten Oberflächenschicht Mikroorganismenaktivität nachweisbar ist [29]. Im Rahmen dieser Arbeit wurde auch eine Apparatur entwickelt, welche die kontinuierliche Untersuchung der Kohlendioxid-Bildung, die ein Maß für die Gesamtheit der biologischen Umsetzungen darstellt, erlaubt. In der Weiterentwicklung dieser Apparatur für die simultane und kontinuierliche Messung der Bodengase CO_2 , N_2O , N_2 und O_2 mit Hilfe gaschromatographischer Analyse liegt ein vielversprechender Ansatz zur direkten Untersuchung der Kinetik der Stickstoffumsetzungen in Bodenproben.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Entwicklung dieser neuartigen Methode sowie ihr Einsatz zur Aufklärung des folgenden in der Natur beobachteten Phänomens:

Tiefenmessungen an einer Niedermoorfläche in einem Wasserschutzgebiet im Donauried bei Langenau ergaben für den Nitratgehalt des Bodens das in Abbildung 1 auf Seite 2 dargestellte Profil [33]. Drei Merkmale fallen auf:

- Das Maximum der Nitratkonzentration befindet sich nicht, wie man es bei einem bewirtschafteten Boden erwartet, an der Oberfläche, sondern in 50-75 cm Tiefe.

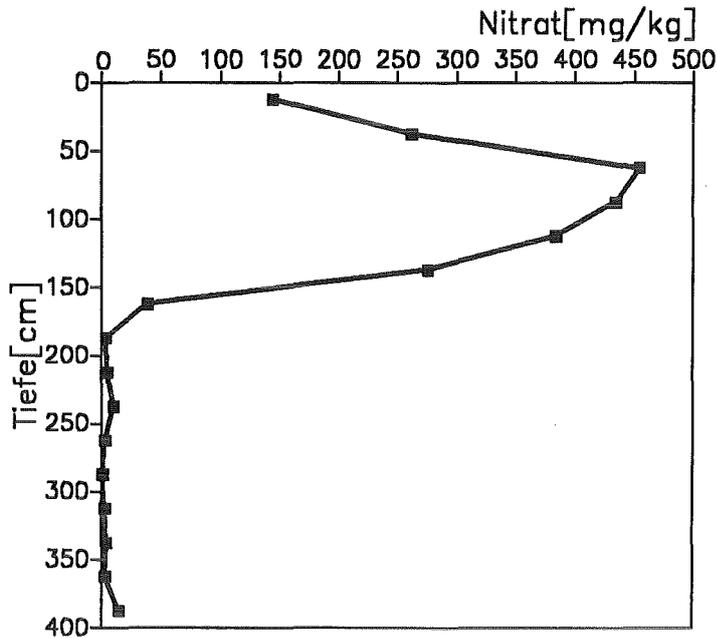


Abbildung 1. Tiefenprofil des Nitratgehaltes eines Niedermoorbodens an einer Probenahmestelle im Donauried

- Die maximale Nitratkonzentration beträgt 460 mg NO_3^-/kg Boden. Die Gesamtmenge des als Nitrat gebundenen Stickstoffs im Tiefenbereich von 0 bis 1,75 m beträgt mit über 1000 kg N/ha mehr als das fünffache einer gesamten Jahresdüngung von 200 kg N/ha.
- Zwischen 1 und 2 m Tiefe fällt die Nitratkonzentration steil ab, unterhalb von 2 m Bodentiefe wird kein Nitrat mehr gefunden.

Da so große Nitratmengen nicht durch Düngung in den Boden gelangt sein können, müssen sie durch bakterielle Mineralisation des im Moorboden reichlich vorhandenen stickstoffhaltigen organischen Materials entstanden sein. Da in der oberen Bodenschicht - der Wurzelzone - Nitrat durch Pflanzenwachstum verbraucht wird, läßt sich auch die Lage des Maximums erklären.

Für den steilen Abfall der Nitratkonzentration sind zwei mögliche Ursachen im Gespräch. Zum einen wird vermutet, daß das Grundwasser unter dieser Fläche gespannt und dadurch aufsteigende Wasserbewegung in der ungesättigten Zone vorherrschend ist. Bei Abwesenheit eines durchgehenden Wasserflusses von der Oberfläche bis in die gesättigte Zone ist auch kein Tiefentransport des Nitrats möglich; es findet Anreicherung im Boden statt.

Obwohl diese Erklärung plausibel erscheint, ist es unwahrscheinlich, daß der aufsteigende Wasserstrom das ganze Jahr über aufrecht erhalten bleibt. Je nach Witterungsverhältnissen müßte die auf- oder die absteigende Wasserbewegung dominieren, die Lage des Maximums der Nitratkonzentration sollte sich zeitlich verschieben. Ersten Untersuchungen zufolge scheint es aber immer in der gleichen Tiefe zu liegen [55].

Die andere Ursache könnte eine starke Denitrifikationsaktivität in dieser Bodenzone sein. Da die Gesamtfeuchte hier 60-80% beträgt, kann davon ausgegangen werden, daß die dazu notwendigen anoxischen Bedingungen vorliegen. Damit eine solche Denitrifikationszone den Transport des Nitrats in tiefere Bodenschichten und damit ins Grundwasser verhindern kann, muß die Abbaugeschwindigkeit in der Größenordnung der Wanderungsgeschwindigkeit liegen. Die dazu notwendige biologische Aktivität erscheint zunächst unrealistisch hoch. Da die Aufklärung der Verhältnisse aber nicht nur für die dort ansässige Trinkwasserversorgung, sondern auch ganz allgemein von großer Bedeutung ist, soll die Erforschung der Natur der Stickstoffumsätze dieses Bodens in verschiedenen Tiefen Schwerpunkt der vorliegenden Arbeit sein.

1.2 Biologische Stickstoffumsätze im Boden

Da besonders die biologischen Stickstoffumsetzungen für die vorliegende Arbeit wesentlich sind, sollen diese hier näher erläutert werden.

1.2.1 Mikroorganismen

Die Mikroflora stellt an Gewicht und Individuenzahl den größten Anteil der Bodenlebewesen [55]. Sie setzt sich aus Bakterien, Strahlenpilzen - eine Übergangsform zwischen Bakterien und Pilzen - Pilzen und Algen zusammen. Besonders der große Artenreichtum der Bakterien bewirkt, daß sie zu vielfältigen Stoffumsetzungen befähigt ist.

Heterotrophe Organismen bauen zur Energiegewinnung die im Boden vorhandene organische Substanz ab, während die autotrophen in der Lage sind, wie die Grünpflanzen organische Verbindungen aus Kohlendioxid und Wasser zu synthetisieren. Die dazu notwendige Energie gewinnen sie entweder aus dem Sonnenlicht (photoautotrophe Organismen) oder durch Oxidation anorganischer Verbindungen (chemoautotrophe Organismen), wie zum Beispiel Ammonium, Nitrit, Schwefel oder Eisen(II).

Je nachdem, welche Substanz als Elektronenakzeptor dient, teilt man die Bodenflora in Aerobier und Anaerobier. Obligat aerob lebende Mikroorganismen benötigen für die Atmung molekularen Sauerstoff, Anaerobier hingegen verwenden höher oxidierte anorganische Verbindungen, zum Beispiel Nitrat, Sulfat, Eisen(III) oder Mangan(IV) als Elektronenakzeptor. Als fakultativ anaerob bezeichnet man solche Organismen, die bei Sauerstoffentzug ebenfalls auf die genannten Stoffe zurückgreifen können.

1.2.2 Oxidationsreaktionen

Bevor der im Boden verfügbare Stickstoff mikrobiell oxidiert werden kann, muß er zunächst mineralisiert, das bedeutet in eine leicht lösliche anorganische Verbindung überführt werden. Bei diesem Prozeß, der als Ammonifikation bezeichnet wird, verwandeln heterotrophe, meist aerobe Bakterien den Stickstoff aus organischen Stickstoffverbindungen in Ammoniak, der dann normalerweise schnell in der Bodenlösung zu Ammonium weiterreagiert [52].

Die Oxidation des Ammoniums zu Nitrat durch aerobe, chemoautotrophe Bakterien wird als Nitrifikation bezeichnet. Gesicherte Zwischenstufen sind dabei Hydroxylamin und Nitrit. Stickstoffmonoxid wird als Zwischenprodukt vermutet, hin und wieder wird es als Nebenprodukt gefunden [2].

Die wichtigsten begrenzenden Faktoren dieser Reaktion sind die Verfügbarkeit von Ammonium und Sauerstoff. Bei ausreichender Sauerstoffversorgung entstehen während der Nitrifikation kleine Mengen Distickstoffoxid als Nebenprodukt aus den Zwischenstufen. Bei Sauerstoffmangel wird jedoch Nitrit als Elektronenakzeptor herangezogen, das dabei zu Distickstoffoxid reduziert wird [18]. Auf diese Weise wird eine Ansammlung des toxischen Nitrits verhindert.

Auch der pH-Wert des Bodens spielt für die Nitrifikationsrate eine Rolle. Das Optimum liegt zwischen pH=6-8, unterhalb von pH=5 kommt die bakterielle Nitrifikation zum Stillstand. In stark sauren Waldböden wurde aber auch Nitratbildung durch Pilze beobachtet [52].

1.2.3 Reduktionsreaktionen

Die Reduktion von Nitrat und Nitrit wird von vielen anaeroben und fakultativ anaeroben Bakterien durchgeführt. Nach Knowles [32] tritt dabei immer Distickstoffoxid als Zwischenstufe auf. Sie kann bei vollständigem Sauerstoffentzug Ammonium zum Endprodukt haben, im allgemeinen ist die Reduktion aber beim molekularen Stickstoff beendet. Nur dieser Prozeß wird als Denitrifikation bezeichnet, weil dabei ein Verlust an gebundenem Stickstoff im System auftritt.

Firestone und Davidson [18] diskutieren auch Stickstoffmonoxid als Zwischenstufe. Da die gasförmigen Zwischenprodukte vor der Weiterreduktion aus dem System entweichen können, gilt die Denitrifikation als Hauptquelle des in der Natur biologisch gebildeten Distickstoffoxids.

Nicht alle der genannten Mikroorganismen können den gesamten Reduktionsweg vom Nitrat bis zum Stickstoff oder Ammonium vollziehen. Manchen fehlt das Enzym N_2O -Reduktase, sie bilden Distickstoffoxid als Endprodukt, andere können kein Nitrat reduzieren,

man nennt sie nitritabhängig. Wieder andere können nur Distickstoffoxid reduzieren, dieses aber nicht aus Nitrit oder Nitrat bilden [32], [63].

Wichtigste Voraussetzung für die biologische Nitratreduktion ist eine geringe Sauerstoffkonzentration unter 1-5% [32], [46], [36], da höhere Sauerstoffverfügbarkeit die Enzyme inaktiviert. Ein weiterer wichtiger Faktor ist das Vorhandensein organischer Verbindungen, die als Nährstoff und Reduktionsmittel benötigt werden. Begrenzend wirkt natürlich auch die Konzentration der Stickstoffoxide, man findet aber auch in ihrer Abwesenheit denitrifizierende Mikroorganismen. Solche Systeme stellen eine N_2O -Senke dar [67].

2. Literaturübersicht

2.1 Untersuchungsmethoden

Zur Bestimmung der Denitrifikationsaktivität von Böden werden in der Literatur zwei grundsätzlich verschiedene Verfahren, eine Freiland- und eine Labormethode beschrieben.

2.1.1 Glockenmethode

Im Feldversuch wird die zu untersuchende Parzelle, deren Größe meist zwischen mehreren hundert cm² und einem m² gewählt wird, mit einer Glocke abgedeckt, unter der sich die von der Oberfläche emittierten Bodengase sammeln. Zur Sicherung der Gasdichtigkeit wird die Glocke 10-30 cm tief in den Boden eingeschlagen.

Die einfachste Methode der Gasentnahme erfolgt diskontinuierlich mit Hilfe einer gasdichten Spritze über ein in die Glocke eingebautes Septum [41]. Eine unter der Glocke teilweise in den Boden eingeführte Gasprobenahmesonde ermöglicht die Untersuchung der Bodengase unter- und oberhalb der Erdoberfläche [54].

Conrad et al. [13] beschreiben ein automatisches, diskontinuierliches Verfahren der Gasprobenahme. Dabei wird der Deckel der Glocke periodisch geöffnet und geschlossen mit dem Ziel, die durch die Versuchsanordnung bedingte Störung des Diffusionsprozesses zu minimieren.

Eine weitere Methode, die Anreicherung von Distickstoffoxid unter der Glocke und die damit verbundene Störung der natürlichen Prozesse zu vermeiden, ist die kontinuierliche Absaugung der Luft unter der Glocke [28], [35]. Da hierbei die Konzentration unter die Nachweisgrenze der analytischen Verfahren sinkt, wird Distickstoffoxid über ein Molekularsieb angereichert.

Alle beschriebenen Verfahren arbeiten diskontinuierlich. Die Probenahme erfolgt in Zeitabständen zwischen einigen Minuten - wodurch das Verfahren quasikontinuierlich wird - und einigen Stunden; vereinzelt wird auch nur alle 5-7 Tage beprobt.

Vorteil dieser Methode ist, daß die N₂O-Emission direkt von der Oberfläche unter den natürlichen Bedingungen ohne Zerstörung der Bodenstruktur gemessen werden kann. Bei einer Versuchsdauer von mehreren Wochen ist sie daher zur Bilanzierung der Denitrifikationsverluste an Stickstoffdüngern geeignet [35].

Da die äußeren Bedingungen wie Temperatur, Feuchtigkeit, pH-Wert oder Sauerstoffverfügbarkeit zwar mitverfolgt, aber nicht beeinflusst werden können, ist die Glockenmethode zur Klärung der Frage, wie sich Änderungen dieser Bedingungen auf die Denitrifika-

tionsaktivität auswirken, ungeeignet. Auch Untersuchungen tieferer Bodenschichten sind auf diese Weise grundsätzlich nicht möglich.

2.1.2 Inkubationsmethode

Im Inkubationsexperiment wird eine Bodenprobe unter abgeschlossener Atmosphäre thermostatisiert und die Konzentrationen der zu untersuchenden Gase in der Atmosphäre mit der Zeit verfolgt. Die einfachste Methode der Gasentnahme ist auch hier über ein in das Inkubationsgefäß eingebautes Septum [7].

In einer Weiterentwicklung werden Kohlendioxid und Ammoniak in der Apparatur adsorbiert und können so parallel bestimmt werden. Die durch die Kohlendioxidentfernung entstehende Druckdifferenz wird mit Sauerstoff ausgeglichen [17]. Die Methode eignet sich natürlich nur für Versuche unter aeroben Bedingungen.

Christensen und Tiedje [11] beschreiben ein automatisches Probenahme- und Analysenverfahren, bei dem die Atmosphäre im Kreislauf geführt wird. Ein anderes Zirkulationssystem, bei dem gleichzeitig Sauerstoffkonzentration, pH-Wert und Redoxpotential aufgezeichnet werden und das auch den Ausgleich eventueller Druckdifferenzen vorsieht, wurde von Schroeder et al. [57] entwickelt. Die besonders für anoxische Bedingungen wichtige Möglichkeit der Drucküberprüfung und des -ausgleichs bietet auch die Apparatur von Abou-Seada und Ottow [1].

Zur Inkubation sind sowohl ungestörte, von der Bodenoberfläche gestochene [11], als auch getrocknete und gesiebte [7] Bodenproben geeignet. Zur Untersuchung des Denitrifikationsverhaltens einzelner Bakterienstämme werden sterilisierte Proben verwendet, die dann mit der isolierten Kultur geimpft werden [42]. Shirey und Sexstone [59] verwenden zu diesem Zweck anstelle der Bodenprobe eine Nährlösung.

Auch diese Verfahren arbeiten diskontinuierlich, die Zeitabstände der Meßpunkte betragen einige Stunden. Der Vorteil der Inkubationsmethode besteht in der Möglichkeit, die Abhängigkeit der Denitrifikation von einzelnen Parametern zu untersuchen. Sie eignet sich daher zur Aufklärung der biochemischen Abläufe.

Für kinetische Untersuchungen ist sie nur bedingt einsetzbar, denn die Zeitabstände der Probenahme bieten nur unzureichende Auflösung. Außerdem können die ständig wachsenden Konzentrationen der emittierten Gase die Reaktionsgeschwindigkeit beeinflussen und damit die Ergebnisse verfälschen.

Tiefenmessungen wären mit der Inkubationsmethode zwar denkbar, es liegen aber noch keine Untersuchungen auf diesem Gebiet vor. Einen kritischen Vergleich der beiden Methoden bringt Christensen [10] in seiner Diskussion.

2.1.3 Sonstige Verfahren

Eine weitere Möglichkeit bieten mobile [28] oder festinstallierte [37] Sonden, mit deren Hilfe man Bodengasproben aus der Tiefe entnehmen kann. Lindström [37] beschreibt auch eine Sonde zur direkten, kontinuierlichen Verfolgung der Sauerstoffkonzentration im Bodengas.

Durch Messung des Konzentrationsgradienten an Distickstoffoxid in der bodennahen Luftschicht kann man ebenfalls auf Denitrifikationsverluste aus Stickstoffdüngern schließen [24]. Auch Untersuchung des N_2O -Gehaltes der Bodenlösung ist möglich, was sich besonders für Sedimente einsetzen läßt [15]. Diese Verfahren werden aber nur in Einzelfällen angewandt und haben untergeordnete Bedeutung.

Bei allen beschriebenen Probenahmeverfahren kann die Acetyleninhibierungsmethode angewandt werden. Geringe Mengen Acetylen in der Versuchsatmosphäre bewirken, daß die Reduktion von Distickstoffoxid zu Stickstoff unterbunden wird. Da die Analytik von Distickstoffoxid sehr viel empfindlicher ist als die von Stickstoff, kann man durch Messung der N_2O -Emission mit und ohne Acetylenzusatz die N_2O/N_2 -Verhältnisse der biologisch gebildeten Bodengase ermitteln. Auch Nitrifikation läßt sich auf diese Weise verhindern.

Bei der Glockenmethode wird das Acetylen über Begasungssonden, die im Innern der Glocke [54] oder auch außerhalb [28] liegen können, in den Boden gebracht. Bei dieser Apparatur handelt es sich um ein offenes System, daher müssen Acetylenverluste regelmäßig ausgeglichen werden, um die zeitliche Konstanz der Konzentration zu sichern.

Im Inkubationsversuch spritzt man das benötigte Volumen an Acetylen in die Atmosphäre des Inkubationsgefäßes ein. Da in diesem Fall das System geschlossen ist und Acetylen nicht verbraucht wird, entstehen hier keine Probleme durch zeitliche Veränderung der Konzentration.

Markiert man den aufgebrauchten Dünger mit ^{15}N , so kann man direkt verfolgen, welcher Anteil der emittierten Denitrifikationsgase aus dem Düngemittel stammt [44]. Bei Einsatz der Massenspektrometrie kann so auch molekularer Stickstoff sehr genau bestimmt werden, wodurch die Direktmessung des emittierten N_2O/N_2 -Verhältnisses möglich wird. Die Isotopenmarkierung ist für alle Untersuchungsverfahren einsetzbar, bei denen Düngemittel angewandt werden.

Die Analyse der Gasproben erfolgt fast immer durch Gaschromatographie. Bei höheren Konzentrationen genügt ein Wärmeleitfähigkeitsdetektor für alle Komponenten, zum Beispiel bei Inkubations- oder Anreicherungsverfahren.

Sehr empfindlich für Distickstoffoxid ist der Elektroneneinfangdetektor; Mosier und Mack [40] erreichen damit eine Genauigkeit von einem ppb(v).

Focht et al. [19] beschreiben eine Analysenmethode mit der Kombination Gaschromatographie / Massenspektrometrie zur Detektion isotope markierter Denitrifikationsgase.

Ein gaschromatographisches Verfahren zur Bestimmung von Stickstoff, Sauerstoff, Argon, Methan, Kohlendioxid und Distickstoffoxid entwickelten Blackmer und Bremner [5] unter Zuhilfenahme eines Wärmeleitfähigkeits- und eines Ultraschalldetektors. Die Empfindlichkeit liegt dabei für alle Komponenten im ppm-Bereich.

2.2 Untersuchungsergebnisse

2.2.1 Allgemeines

Die mit der Glockenmethode gemessenen N_2O -Emissionen liegen bei landwirtschaftlich genutzten Böden meist im Bereich 10-100 g Stickstoff/ha Tag [41], [54], in Extremfällen können sie aber auch mehrere hundert g N/ha Tag erreichen [11], [28].

Im Inkubationsversuch kann die N_2O -Bildungsrate bis zu zehnmal höher werden, sie entspricht etwa einem kg N/ha Tag [17], [59]. Da die Daten bei Inkubationsexperimenten nicht auf die Versuchsfläche sondern auf die Masse der Bodenprobe bezogen werden, wurden sie hier zum besseren Vergleich umgerechnet. Dazu wurde angenommen, das von der Oberfläche emittierte Distickstoffoxid entstamme der oberen Bodenschicht bis maximal 50 cm Tiefe und die Dichte des Bodens sei 1,5 g/cm³.

Die verstärkte N_2O -Emission im Inkubationsversuch könnte darin begründet sein, daß hier meist optimale Bedingungen für die Denitrifikation eingestellt werden, also vollständig anaerobe Bedingungen, genügend Vorrat an leicht mineralisierbarem Kohlenstoff und Nitrat sowie hohe Temperatur zwischen 20 und 30°C. Da häufig auch mit Bakterien geimpft wird, ist vermutlich auch die Populationsdichte der Mikroorganismen größer als im natürlichen Boden. Diese Bedingungen sind im Freilandversuch nur teilweise erfüllt und schwanken außerdem sehr stark. Hinzu kommt, daß sich im Inkubationsversuch auch kurzfristig starke Emissionsereignisse beobachten lassen, während im Feldexperiment der Einfluß der Gasdiffusion nur die Beobachtung eines zeitlichen Mittelwertes erlaubt.

2.2.2 Nährstoffverfügbarkeit und Denitrifikationsrate

Die Verfügbarkeit von leicht mineralisierbarem Kohlenstoff kann für die Denitrifikationsrate ein begrenzender Faktor sein. Beck und Christensen [3] finden eine Erhöhung der N_2O -Bildung sowohl nach Aufgabe einer leicht löslichen organischen Verbindung als auch nach Schnitt des Grasbewuchses dicht an der Bodenoberfläche, wodurch die Pflanze abgetötet wird und die zurückbleibenden Wurzeln der Mineralisation zur Verfügung stehen.

Schloemer [53] stellte fest, daß nach Einarbeitung von Ernteresten in einem landwirtschaftlich genutzten Boden die N_2O -Bildung bis zum 50-fachen der vorhergehenden Emission erreichen kann, denn durch die erhöhte Nährstoffverfügbarkeit steigt der ge-

samte biologische Umsatz und damit auch die Denitrifikationsrate. Gleichzeitig tritt auch erhöhter Sauerstoffverbrauch ein, wodurch ebenfalls die Denitrifikation begünstigt wird.

Steigerung der Denitrifikationsrate tritt auch durch ein erhöhtes Angebot an Nitrat und Nitrit ein. Samson et al. [51] finden einen linearen Zusammenhang zwischen dem Nitratgehalt des Bodenwassers und der Emission an Denitrifikationsgasen. Nach Blackmer und Bremner hemmt aber auch ein erhöhter Nitratgehalt die Reduktion von Distickstoffoxid zu Stickstoff [4], so daß auch das N_2O/N_2 -Verhältnis nach Düngung ansteigt. Da nach der Einarbeitung von Ernteresten nicht nur der Kohlenstoff- sondern auch der Nitratgehalt ansteigt, lassen sich auch unter diesem Gesichtspunkt die von Schloemer [53] gemessenen hohen Emissionsraten verstehen.

2.2.3 Bedeutung von Wasser und Luft

Da die Denitrifikation ein anoxischer Prozeß ist, läuft sie in der Natur vor allem in solchen Böden ab, die regelmäßig überschwemmt werden, oder deren Feldkapazität - das ist die maximale Wassermenge, die der Boden in seinem Porenraum zurückhalten kann - durch die klimatischen Verhältnisse häufig überschritten wird. Colbourn und Harper [12] stellten fest, daß man durch Drainage die auf diese Weise verursachte Denitrifikation um die Hälfte reduzieren kann. Auch Mulvany und Kurtz [43] beobachteten regelmäßig nach starken Regenfällen erhöhte N_2O -Bildung auf gedüngten Flächen.

Anoxische Bedingungen können nicht nur durch hohen Wassergehalt, sondern auch durch Behinderung der Gasdiffusion im Boden entstehen, zum Beispiel wenn er eine sehr dichte Struktur hat. Dieser Parameter wird im Freilandexperiment durch das luftführende Porenvolumen ausgedrückt. Prade und Trolldenier stellten fest, daß mit zunehmendem luftführendem Porenvolumen die N_2O -Bildung exponentiell abnimmt, oberhalb von 10% konnten sie keine Denitrifikation mehr nachweisen [47]. Auch die Durchwurzelung des Bodens spielt dabei eine große Rolle, weil die wachsenden Pflanzenwurzeln sowohl den Boden verdichten als auch durch ihre Atmung Sauerstoff verbrauchen. Einen ebenfalls exponentiellen Abfall der N_2O -Produktionsrate mit zunehmendem Sauerstoffpartialdruck finden Lensi et al. [36] im Laborversuch, hier liegt die Grenze bei 0,1 atm.

2.2.4 Abhängigkeit von pH-Wert und Temperatur

Mit zunehmender Temperatur erhöht sich die Denitrifikationsrate. In Feldexperimenten wird hin und wieder eine lineare Korrelation zwischen den beiden Größen festgestellt [35], die meisten Arbeitsgruppen finden aber eine Temperaturabhängigkeit nach dem Gesetz von Arrhenius [13]. Der Unterschied ist in dem engen untersuchten Temperaturbereich - biologische Tätigkeit im Boden findet nur zwischen 2 und 50 °C statt - nicht leicht zu erkennen. Nõmmik und Larsson [44] finden in Inkubationsversuchen eine stärkere Temperaturabhängigkeit als nach dem Arrhenius'schen Gesetz erwartet und führen diese Beobachtung darauf zurück, daß die Temperaturabhängigkeit anderer Parameter,

wie die der Diffusionsgeschwindigkeit von Sauerstoff oder Nitrat, in die Messung miteingehen.

Der pH-Wert ist mit der Denitrifikationsrate positiv korreliert; maximale Aktivität findet man im Bereich pH=7-8. Da das Enzym N_2O -Reduktase jedoch säureempfindlich ist, steigt bei pH-Werten unterhalb pH=6 der N_2O -Anteil an [44], [65]. Bei Rückschlüssen aus der N_2O -Bildung auf die gesamte Denitrifikationsrate muß dies unbedingt beachtet werden.

Cooper und Smith [14] untersuchten in Inkubationsexperimenten die Kinetik der einzelnen Reduktionsschritte und fanden, daß im sauren Medium die Nitratreduktion geschwindigkeitsbestimmend ist, im alkalischen dagegen ist der nachfolgende Schritt, die Reduktion von Nitrit zu Distickstoffoxid, der langsamere.

2.2.5 Zusammenwirken verschiedener Parameter

Die oben beschriebenen Auswirkungen einzelner Parameter auf die Denitrifikationsrate sind Verallgemeinerungen, die sich nur bedingt auf einzelne Boden- oder Mikroorganismenarten übertragen lassen. So hängt zum Beispiel das emittierte N_2O/N_2 -Verhältnis in erster Linie von der Art der Mikroflora ab [42] und damit auch das Ausmaß, in dem sich Änderungen von pH und Sauerstoffangebot darauf auswirken [45]. Auch die gebildete Nitritmenge ist typisch für die Bakterienart und hängt weder vom Nitratangebot noch von der Inkubationszeit ab [42].

Nach Ottow et al. [45] ist es möglich, daß sich eine alleinige Erhöhung der Nitratversorgung nicht auf die Denitrifikationsrate auswirkt, wohl aber wenn gleichzeitig der Gehalt an leicht verfügbarem Kohlenstoff erhöht wird, weil dadurch die mikrobielle Aktivität zunimmt. Ein weiteres Beispiel ist der schon erwähnte Einfluß der Temperatur, der nicht allein die Denitrifikation sondern auch andere chemische, biochemische und physikalische Prozesse, die damit zusammenhängen, betrifft [18].

Was für gegenläufige Effekte ein einzelnes Phänomen im Boden verursachen kann, zeigen Firestone und Davidson [18] an einem Beispiel: Eine Pflanzenwurzel erzeugt anaerobe Bereiche im Boden, indem sie Sauerstoff verbraucht und durch Ausscheidung organischer Verbindungen die mikrobielle Atmung begünstigt. Sie liefert auch leicht mineralisierbaren Kohlenstoff für die Denitrifikation. Andererseits senkt sie durch Aufnahme von Nitrat dessen Verfügbarkeit und erhöht durch Wasserentzug die Diffusionsgeschwindigkeit von Sauerstoff. Welchen Gesamteinfluß letztendlich die Pflanzenwurzel auf die Denitrifikationsrate nimmt, kann nicht allgemein vorhergesagt werden, sondern hängt von der Bodenart und den gegebenen Bedingungen ab.

3. Probenahme und -Aufbereitung

3.1 Entnahme von Bodenproben

Zur Gewinnung von Bohrkernen wurde ein Gerät der Firma HUMAX (siehe 'Geräte') verwendet, das die Möglichkeit bietet, verschleppungsfrei ungestörte Proben bis zu 4 m Tiefe zu entnehmen. Abbildung 2 auf Seite 13 zeigt die Funktionsweise.

Die Sonde besteht aus einem Stahlrohr, welches am unteren Ende die Bohrkronen trägt. In ihrem Inneren befindet sich eine exakt eingebaute zylindrische Kartusche, die durch das Gestänge starr mit dem oberen Ende der Sonde verbunden ist. Die Kartusche wird mit einer PTFE-Hülse ausgekleidet, die den Bohrkern abschnittsweise aufnimmt und der Verpackung sowie der leichten Entnahme der Bodenprobe dient. Die gesamte Anordnung wird durch Drehung in den Boden getrieben. Dabei wird das herausgeschnittene Bodenmaterial in die Umgebung verdrängt, so daß der Bohrkern selbst nicht verdichtet wird.

Nach 250 mm Bohrstrecke ist die Hülse gefüllt. Die Kartusche wird mit Hilfe des Gestänges herausgezogen und nach Ersatz der gefüllten Hülse durch eine leere wieder herabgelassen. Da hierbei die Sonde im Erdreich stehenbleibt, ist vertikale Verschleppung von Bodenmaterial ausgeschlossen. Durch die direkte Verpackung der Probe während der Bohrung bleibt auch die Bodenatmosphäre weitgehend darin enthalten.

Der einfacheren Handhabung wegen wird die gesamte Bohrstrecke von 4 Metern in drei Abschnitte unterteilt. Nach dem ersten Bohrabschnitt von 1,25 Metern wird die Kartusche entfernt und im Innern der nunmehr vollständig in den Boden eingelassenen Sonde eine zweite von gleichem Aufbau, aber kleinerem Durchmesser und doppelter Länge herabgelassen. Damit wird der zweite Abschnitt bis 2,5 m Tiefe gebohrt. Auf gleiche Weise erfolgt die Entnahme des dritten Abschnitts bis 4,0 m Tiefe.

Bei der Entnahme von Bodenoberflächenproben wurde zunächst die Laubdeckschicht entfernt und in die darunterliegende Humusschicht 25 cm tief eingestochen. Es wurde das 3-4-fache der benötigten Menge entnommen, homogenisiert und sofort verarbeitet oder eingefroren.

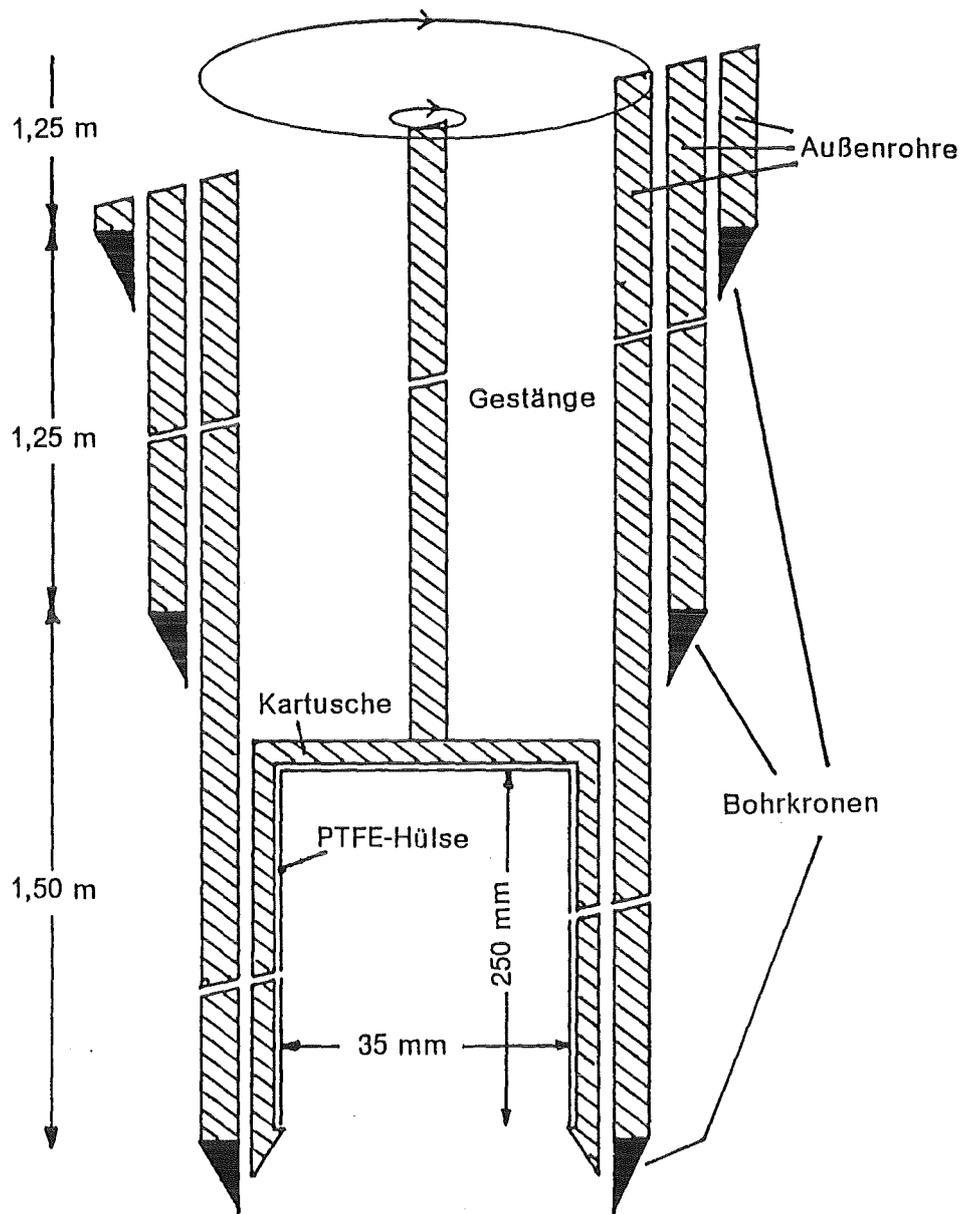


Abbildung 2. Schematische Darstellung des Bohrgerätes: Zu jedem Außenrohr existiert ein passender Einsatz mit Kartusche und PTFE-Hülse. Die Hülsen haben im oberen Abschnitt 80 mm, im mittleren 50 mm und im unteren, wie dargestellt, 35 mm Innendurchmesser. In der Abbildung wird gerade der untere Abschnitt entnommen.

3.2 Apparatur zur Gewinnung von Bodengas

Um die beschriebene Zielsetzung zu verwirklichen, werden an die Anordnung zur Gewinnung des Bodengases folgende Forderungen gestellt:

- Es sollte möglich sein, die Bodenprobe ohne Zerstörung der Struktur in die Apparatur einzubringen.
- Entnahme des entstehenden Bodengases und Aufbereitung für die Analytik sollte kontinuierlich und automatisch erfolgen.
- Auch bei Langzeitversuchen muß eine Veränderung der Bodenprobe, zum Beispiel durch Austrocknung oder Lichteinfluß vermieden werden.
- Die Apparatur sollte die Messung und Konstanthaltung von Temperatur, pH-Wert und Gaszusammensetzung in der Bodenprobe ermöglichen.

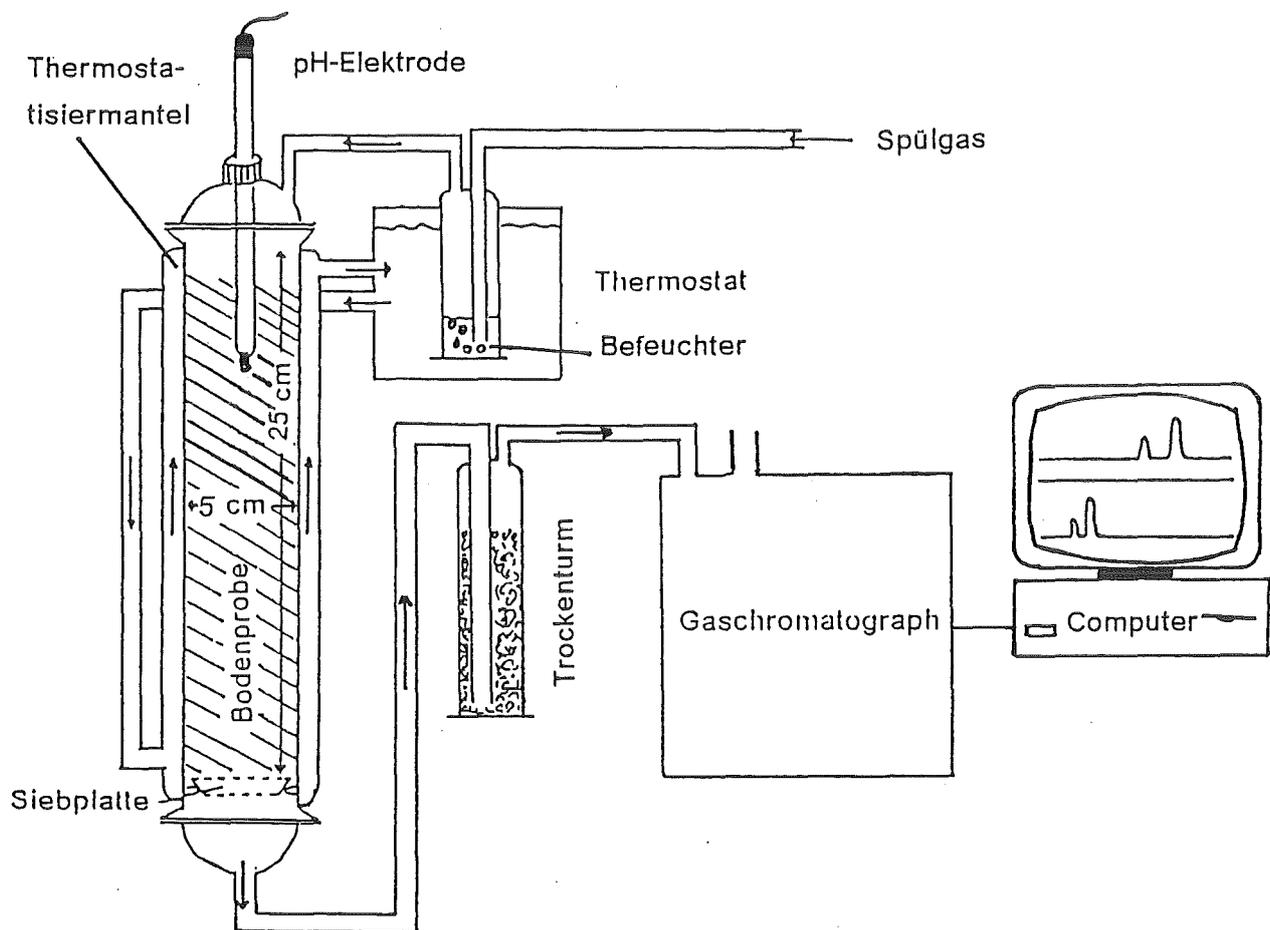


Abbildung 3. Anordnung zur Untersuchung der Gasentwicklung in Bodenproben: Die Bodenprobe wird von oben nach unten mit wassergesättigtem Trägergas durchspült, in dem nach anschließender Trocknung die durch biologische Vorgänge entstandenen gasförmigen Produkte gemessen werden.

- Absolute Dichtigkeit der Apparatur gegen Diffusion der Atmosphärgase durch Schlauchmaterialien oder -verbindungen

Die in Abbildung 3 auf Seite 14 dargestellte Versuchsanordnung erfüllt diese Bedingungen. Da die Proben für Tiefenprofiluntersuchungen als Bohrkernabschnitte vom Durchmesser 50 mm und der Länge 250 mm anfallen, wurde als Probehgefäß eine Glassäule dieser Innenabmessungen gewählt, an deren unterem Ende eine Keramiksiebplatte befestigt ist. Die Säule ist mit einem Thermostatisiermantel und an beiden Enden mit Planschliffen versehen. Als Verschluss werden Teflondeckel verwendet, durch den oberen kann eine pH-Elektrode eingeführt werden. Um Lichteinfluß auszuschließen, wird die Säule mit Aluminiumfolie umwickelt.

Die Probe wird von einem Trägergasstrom konstanter Zusammensetzung und Strömungsgeschwindigkeit durchspült. Dieser hat zum einen die Aufgabe, die zu messenden Gaskomponenten kontinuierlich aus der Probe auszuspülen, zum anderen können durch seine Zusammensetzung die Versuchsbedingungen - zum Beispiel Sauerstoff- oder Kohlendioxidkonzentration - eingestellt werden. Eine Gaskontrolleinrichtung (siehe 'Anhang A: Geräte') ermöglicht die Mischung und Konstanthaltung der Gasströme.

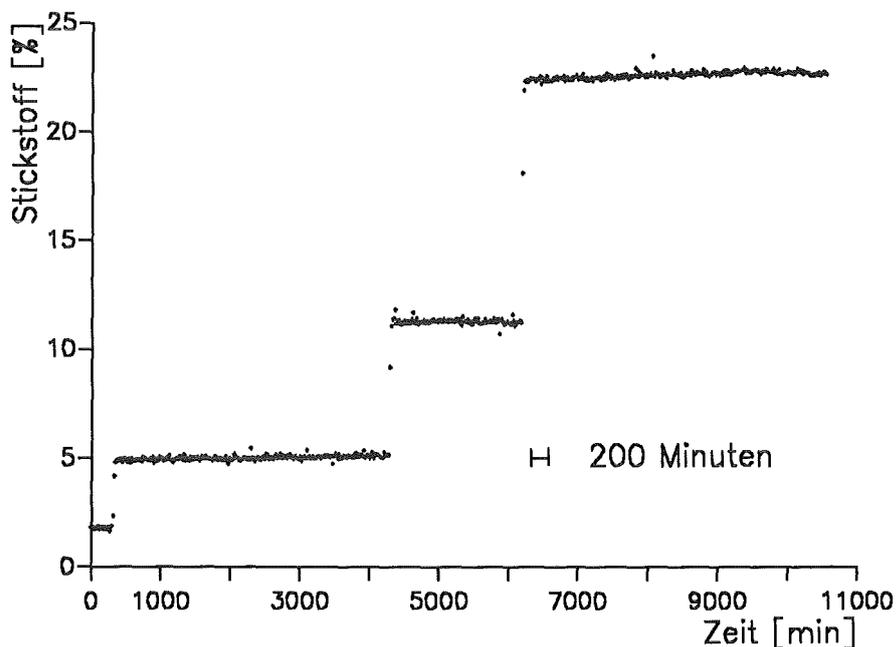


Abbildung 4. Durchströmungsverhalten der Apparatur: Es liegt näherungsweise Kolbenströmung vor, was für die direkte Verfolgung der Bodengasemission von großer Bedeutung ist.

Die Strömungsgeschwindigkeit muß einerseits groß genug gewählt werden, daß Veränderungen der Bildungsraten sicher verfolgt werden können, andererseits aber so klein, daß die Konzentrationen im gut meßbaren Bereich liegen. Es stellte sich heraus, daß eine Durchflußgeschwindigkeit von 50 ml/min - entsprechend 6,5 cm/min in der gefüllten Säule - einen guten Kompromiß zwischen diesen beiden gegensätzlichen Forderungen darstellt.

Das Durchströmungsverhalten der gesamten Apparatur mit gefüllter Säule wurde mit Stickstoff/Argon-Mischungen geprüft. Bei sprunghöförmiger Erhöhung der N₂-Konzentration wird nach maximal 30 Minuten die neue Konzentration am Detektor als konstant registriert, wie Abbildung 4 auf Seite 15 verdeutlicht. Gleichzeitig zeigt die Abbildung auch die Konstanz der Gasflußregler und des Detektors.

Um die Austrocknung der Probe weitgehend zu verhindern, wird die Gasmischung vor Eintritt in die Säule bei Meßtemperatur mit Wasser gesättigt. Nach Austritt aus der Säule wird der Gasstrom über Kieselgel getrocknet, bevor er zur Analyse in die Probeschleife eines Gaschromatographen geleitet wird.

Um den Eintritt von Luft in die Apparatur zu verhindern, wurden sämtliche Schliffverbindungen mit Hochvakuumfett abgedichtet, außerdem Schläuche und Schraubverbindungen aus Teflon verwendet. Schläuche aus Silikon erwiesen sich als ungeeignet, da durch das Schlauchmaterial Luftsauerstoff in die Apparatur eindiffundierte. Selbst bei Verwendung von Polyethylenrohren enthielt reines Spülgas nach einer Transportstrecke von 30 cm einen Sauerstoffanteil von 2 %.

4. Das gaschromatographische Analysenverfahren

4.1 Entwicklungsziel

Ziel war es zunächst, eine Meßeinrichtung zu entwickeln, mit der sich die Bodengaskomponenten N_2O , CO_2 , N_2 und O_2 simultan und kontinuierlich bestimmen lassen. Dabei sind die zu erwartenden Konzentrationen [31],[8],[21] sehr unterschiedlich: N_2O zwischen 10 und 100 ppb(v), CO_2 10 - 800 ppm(v), Sauerstoff und Stickstoff < 1 Vol% mit Argon als Hauptkomponente. Dennoch soll die Apparatur alle Komponenten simultan erfassen und noch Spielraum für die Variation der Versuchsparameter zulassen, zum Beispiel die Messung größerer Mengen Kohlendioxid oder Untersuchungen unter aeroben Bedingungen. Ferner sollte die Analysendauer 5 - 10 Minuten nicht überschreiten, da eine zeitliche Verfolgung der Bodengasentwicklung angestrebt wird, um Aufschluß über ihre Kinetik zu erhalten.

4.2 Ausarbeitung des Meßverfahrens

Zur Verfügung stand ein Gaschromatograph (siehe 'Anhang A: Geräte'), ausgerüstet mit zwei gepackten Säulen vom Durchmesser 1/8 in:

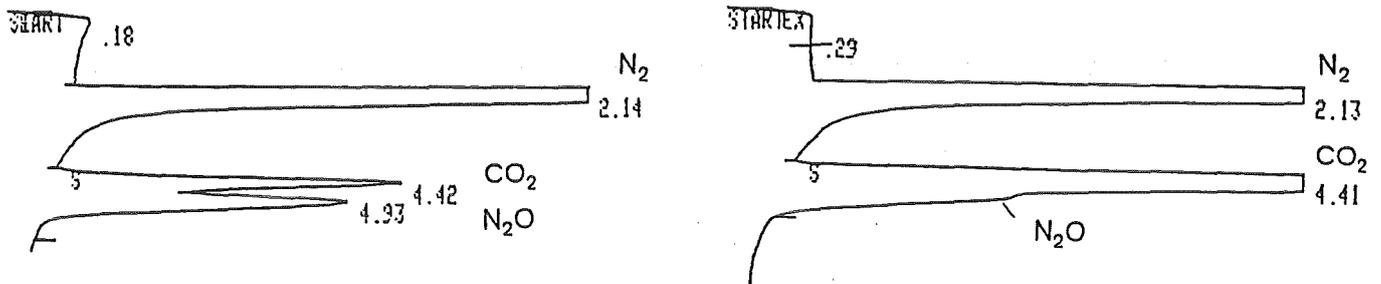
Porapak N	zur Trennung aller Komponenten außer Sauerstoff und Stickstoff, Länge 10 ft, Porengröße 80/100 mesh
-----------	---

Molecularsieve 13X	zur Trennung von Sauerstoff und Stickstoff, Länge 10 ft, Porengröße 45/60 mesh
--------------------	--

Ein Ventilschaltssystem ermöglichte den Betrieb mit der Porapak - Säule alleine oder mit beiden Säulen hintereinander. Die Detektion erfolgte mit einem Wärmeleitfähigkeitsdetektor, als Trägergas wurde Helium verwendet. Das Probegas wird kontinuierlich durch eine Probeschleife von 1 ml Inhalt geleitet. Diese wird beim Analysenstart automatisch über eine weitere Ventilschaltung in den Trägergasstrom entleert. Folgende Probleme traten auf:

- Die untere detektierbare Grenze lag für CO_2 bei etwa 10 ppm(v), für N_2O bei 50 - 100 ppm(v). Die Empfindlichkeit für CO_2 ist für die erwarteten Konzentrationen von 10-800 ppm(v) ausreichend, nicht jedoch die für N_2O . Hier liegen die erwarteten Konzentrationen im Bereich unter 100 ppb(v), so daß eine 1000 mal höhere Empfindlichkeit gefordert wird.
- Eine vollständige Trennung von CO_2 und N_2O wurde, wie Abbildung 5 auf Seite 18 zeigt, auch bei Variation des Temperaturprogrammes und der Trägergasgeschwin-

digkeit nicht erreicht. Die höhere Empfindlichkeit des Detektors für CO₂ bewirkte, daß der N₂O-Peak vom benachbarten CO₂-Peak ganz oder teilweise überdeckt wurde, wenn das Probegas - den Versuchsbedingungen entsprechend - weniger N₂O als CO₂ enthielt.



RUN # 74
WORKFILE ID: C
WORKFILE NAME:

RT	AREA	TYPE	AR/HT	AREA%
0.18	169690	BH	1.297	0.411
2.14	4.0335E+07	SBB	0.263	97.590
4.42	394510	BY	0.323	0.955
4.93	431810	VB	0.410	1.045

RUN # 76
WORKFILE ID: C
WORKFILE NAME:

RT	AREA	TYPE	AR/HT	AREA%
0.29	50607	BB	0.551	0.117
2.13	4.0096E+07	SBB	0.266	92.505
4.41	3198000	BB	0.359	7.378

Abbildung 5. Überlagerte Peaks von N₂O und CO₂: Linkes Chromatogramm: Probe enthält 10 Vol% N₂O und 1 Vol% CO₂. Rechtes Chromatogramm: Probe enthält von beiden Komponenten jeweils 5 Vol%. Die Temperatur des Säulenofens betrug 50°C.

- Die Analysendauer betrug 20 Minuten. Um eine kontinuierliche Beobachtung der Bodengasentwicklung anzunähern, sollte sie aber 5 - 10 Minuten nicht übersteigen.
- Es war nicht möglich, durch gleichzeitigen Betrieb beider Detektoren alle vier Gas-komponenten simultan zu messen, da der Säulenausgang nur an einen Detektor angeschlossen werden konnte und die Datenverarbeitungseinheit zur Auswertung nur eines Signales ausgelegt war.

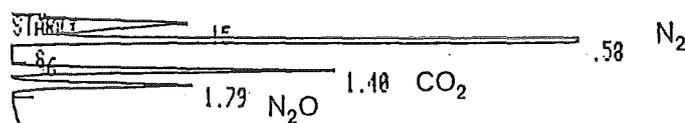
Um das Problem der Empfindlichkeit zu lösen, wurde zusätzlich zum WLD ein Elektro-neneinfangdetektor eingebaut. Nach Hinweisen in der Literatur soll er mit Helium als Trägergas bei einer Temperatur von 350°C betrieben werden [30], [66], um höchste

N₂O-Empfindlichkeit zu erreichen. Dies war jedoch mit dem vorhandenen Detektor aus technischen Gründen nicht möglich.

Weitere in Frage kommende Trägergase sind Stickstoff oder ein Gemisch aus 95% Argon und 5% Methan. Da Stickstoff als Probenkomponente gemessen werden soll, läßt er sich nicht als Trägergas verwenden, daher wird die Apparatur nun mit Ar/CH₄ betrieben. Die Nachweisgrenze für Distickstoffoxid konnte damit auf 50 ppb(v) gesenkt werden, die für Kohlendioxid blieb etwa gleich.

Es wurde festgestellt, daß mit zunehmender Detektortemperatur die Empfindlichkeit für Distickstoffoxid steigt, die für Kohlendioxid aber sinkt. Aufgrund des zu erwartenden CO₂/N₂O-Mengenverhältnisses von 100-1000 erwies sich eine Detektortemperatur von 250°C als geeignet für die folgenden Untersuchungen.

Um die Trennung von Kohlendioxid und Distickstoffoxid zu verbessern, wurde die Porapak N - Säule durch eine andere des Typs Porapak Q 6 ft 80/100 mesh ersetzt, die bei einer Trägergasgeschwindigkeit von 25 ml/min eine saubere Trennung ermöglicht (Abbildung 6).



RUN # 197
 WORKFILE ID: C
 WORKFILE NAME:

RT	AREA	TYPE	AR/HT	AREA%
0.15	119490	BH	0.240	0.479
0.58	2.4514E+07	DSHB	0.070	98.184
0.96	64476	BB	0.229	0.258
1.40	165380	PY	0.139	0.662
1.79	104000	YB	0.159	0.417

Abbildung 6. Trennung von N₂O und CO₂ auf der Porapak Q-Säule: Die Probe enthält N₂O und CO₂ im Verhältnis 1:1000.

Die Molekularsiebsäule wurde durch eine kürzere (3 ft) ersetzt, deren Trennleistung für Sauerstoff und Stickstoff gerade noch ausreicht, die Analysendauer verkürzt sich dadurch jedoch auf 6 Minuten.

Um die Simultanmessung der vier Gaskomponenten zu erreichen, mußte der gleichzeitige Betrieb beider Detektoren ermöglicht werden.

Eine Reihenschaltung der Detektoren kommt nicht in Betracht, da der ECD die Moleküle teilweise zerstört und somit die anschließende WLD-Messung keine Aussagekraft mehr hat. Außerdem ist die Nachschaltung eines weiteren Detektors im Anschluß an einen ECD in Deutschland nicht zulässig [23]. Der WLD verdünnt aber die Meßkomponenten durch das Referenzgas so stark, daß die Empfindlichkeit eines nachgeschalteten ECD zu stark herabgesetzt würde.

Parallelschaltung der Detektoren erforderte exaktes und reproduzierbares Teilen des Gasstromes, außerdem wird die Empfindlichkeit beider Detektoren auf die Hälfte herabgesetzt [23].

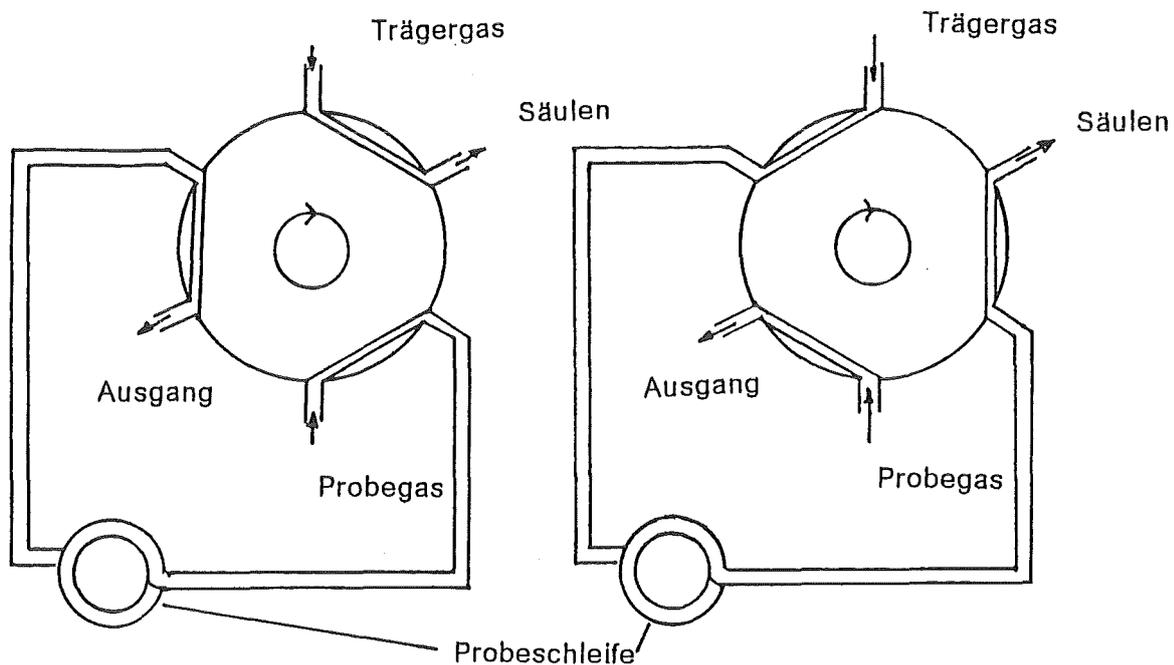


Abbildung 7. Schaltung für die Probeneinspritzung: Links: Ruhestellung, Probenschleife wird mit zu messendem Gas gefüllt, rechts: Analysenstellung, die Probe wurde auf die Säule gespült.

Die Lösung des Problems bestand in einem weiteren Ventilschaltssystem, wie es bereits für die Probeschleife und die Säulenumschaltung verwendet wird. Der Säulenausgang wird an das Ventil angeschlossen, das dann den Gasstrom wahlweise an einen der beiden Detektoren weiterleitet, während der andere mit reinem Trägergas gespeist wird. Damit die beiden Detektorsignale auch simultan verarbeitet werden können, wurde der vorhandene Integrator durch einen Rechner des Typs HP 300 ersetzt, der auch die Steuerung des Gaschromatographen übernimmt. Die Abbildungen 7 und 8 verdeutlichen die Funktionsweise der Ventilschaltungen.

In der links abgebildeten Stellung wird die Probeschleife mit dem zu untersuchenden Gas durchspült, der Gaschromatograph befindet sich in Ruhestellung. Beim Analysenstart wird auf die rechte Ventilstellung umgeschaltet, der Trägergasstrom spült den momentanen Inhalt der Probeschleife auf die Säule. Die Rückstellung erfolgt erst nach Beendigung der Analyse, die Zeit bis zum nächsten Start ist ausreichend, um die Probeschleife wieder vollständig zu füllen.

Die Trennung der Komponenten auf der Porapak Q-Säule erfolgt nach ihrer Polarität. Da Stickstoff und Sauerstoff unpolare Moleküle sind, werden sie nicht voneinander getrennt und haben auf dieser Säule die kleinste Retentionszeit. Zu ihrer Auftrennung dient die Molekularsiebsäule. Kohlendioxid und Distickstoffoxid würden auf dieser Säule aber irreversibel adsorbiert, wodurch sie ihre Trenneigenschaften verlöre. Der Kontakt dieser Komponenten mit der Molekularsiebsäule muß also unbedingt vermieden werden. Die Säulenschaltung, die dieser Bedingung genügt, ist in Abbildung 8 dargestellt.

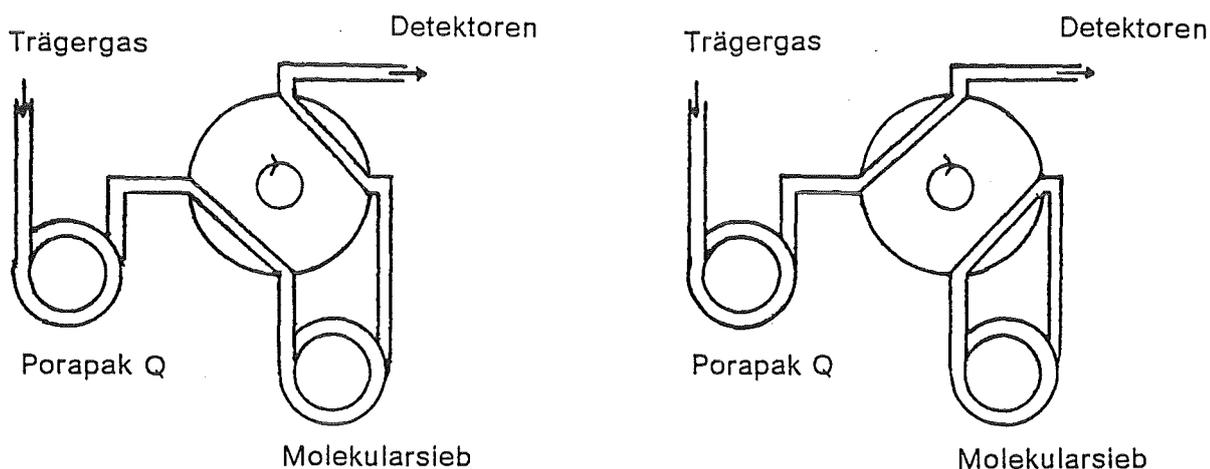


Abbildung 8. Säulenschaltung: Links: Anfangs- und Endphase der Analyse, die Säulen sind hintereinandergeschaltet. Rechts: Isolation der Molekularsiebsäule.

Bei Beginn der Analyse befindet sich das Ventil in der links dargestellten Position, beide Säulen sind hintereinandergeschaltet. Zu dem Zeitpunkt, in dem Stickstoff und Sauerstoff die Molekularsiebsäule erreicht haben, wird auf die rechte Stellung umgeschaltet, wodurch die Molekularsiebsäule isoliert und vor Zutritt von Kohlendioxid und Distickstoffoxid geschützt ist. Nachdem diese Komponenten das System verlassen haben, wird wieder in die ursprüngliche Position zurückgestellt. Gleichzeitig wird auch das Ventil für die Detektorwahl von ECD auf WLD umgeschaltet, weil die nun austretenden Komponenten Stickstoff und Sauerstoff nur mit dem WLD gemessen werden können.

Zusammenfassend die endgültigen Bedingungen des Analysenverfahrens:

Trägergas:	27,5 ml/min Ar/CH ₄ 95/5
Temperatur-Programm:	40°C konstant, 2,5 min Temperaturerhöhung bis 70°C in 1,5 min 70°C konstant, 2 min
Ventilschaltungen:	Vor Analysenbeginn geht der Weg des Trägergases an der Probeschleife vorbei, durch beide Säulen und anschließend in den ECD. Start: Probeneinspritzung 0,65 min: Isolation der Molekularsiebsäule 2,5 min: Rückstellung der Säulenschaltung, Umstellung der Detektorschaltung von ECD auf WLD 6,0 min: Analysenende, Rückstellung auf Ausgangszustand
Retentionszeiten:	CO ₂ : 1,5 min N ₂ O: 1,9 min O ₂ : 3,2 min N ₂ : 3,6 min

4.3 Basislinienkompensation

Läßt man eine Analyse mit Ventilschaltungen und Ofentemperatur-Programm, aber ohne Probeneinspritzung ablaufen, so erhält man für die beiden Detektoren folgende Basislinien:

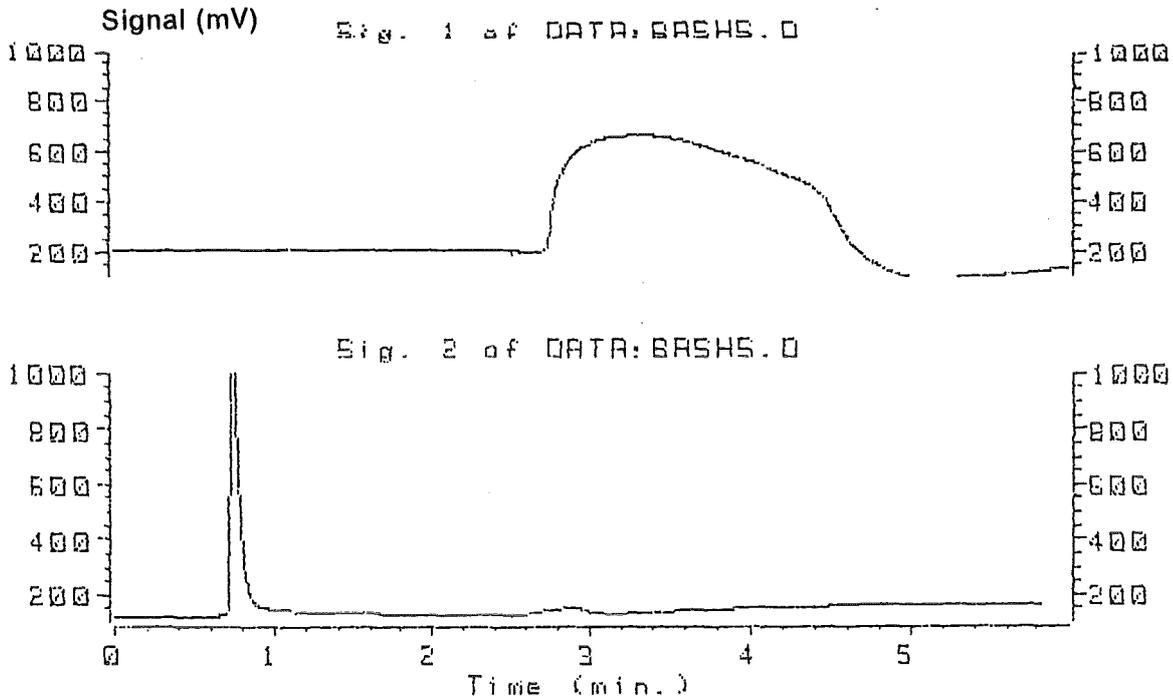


Abbildung 9. Basislinien der Detektoren: Oben: Wärmeleitfähigkeitsdetektor, unten: Elektroneneinfangdetektor.

Die starke Drift beider Detektorsignale wird durch Druckstöße im System verursacht, die beim Umschalten der Ventile entstehen. Die durch Gaskomponenten entstehenden Peaks erreichen maximal ein Zehntel der Höhe dieser Schwankungen, so daß eine Messung ohne Basislinienkompensation nicht interpretierbar wäre. Da die Basislinie aber nur durch automatische Abläufe bedingt ist, wird sie mit hoher Präzision reproduziert und kann daher einmal gespeichert und anschließend von jeder Analyse abgezogen werden. Abbildung 10 auf Seite 24 zeigt ein Beispiel eines solchen resultierenden Chromatogrammes.

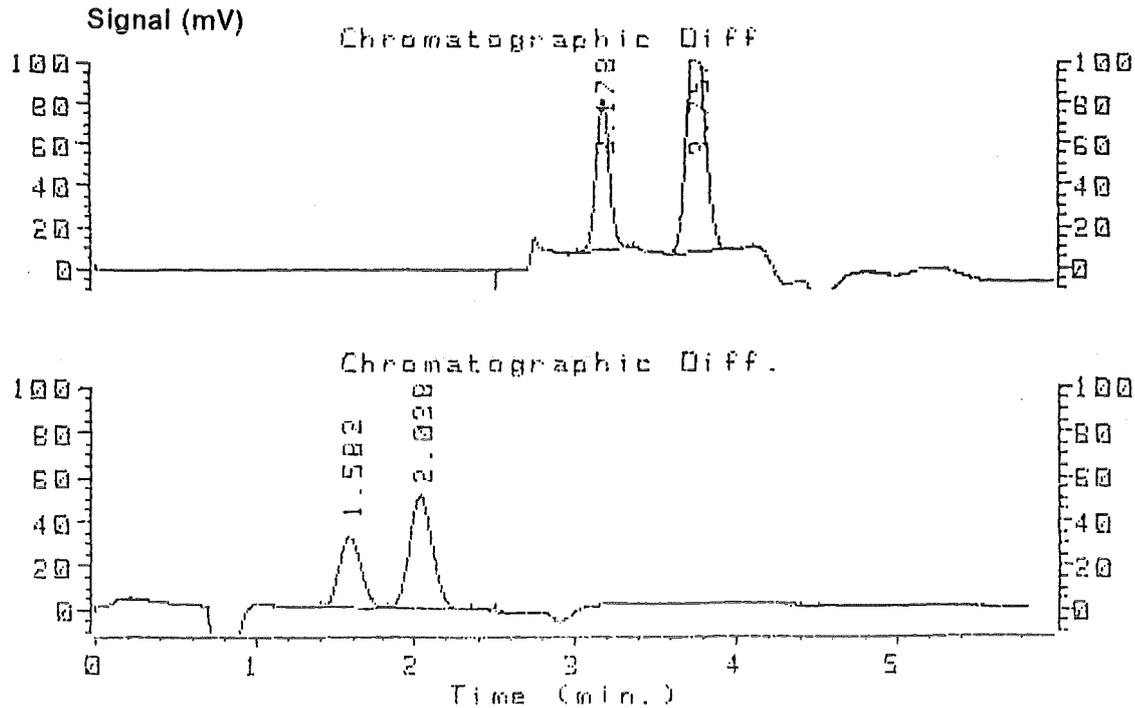


Abbildung 10. Chromatogramm nach Basislinienkompensation: Oben: 1. Peak: Sauerstoff, 2. Peak: Stickstoff; Unten: 1. Peak: Kohlendioxid, 2. Peak: Distickstoffoxid.

4.4 Automatisierung des Analysenverfahrens

Mit dieser Ausrüstung war es möglich, das Analysenverfahren zu automatisieren. Das dazu notwendige Programm wurde vom Hersteller geliefert, läßt aber auch Ergänzungen des Anwenders zu. Das Ofentemperatur-Programm und die zeitliche Abfolge der Ventil-schaltungen für Probeschleife, Säulen und Detektoren sowie die Kalibrierungstabelle können im Steuerprogramm eingegeben werden. Ebenfalls vorgesehen ist die bis zu 2000malige Wiederholung der Analyse und die Abspeicherung der Chromatogramme, Integrationsdaten und Analysenberichte auf die Festplatte, ausreichende Speicherkapazität vorausgesetzt.

Zur Durchführung der Basislinienkompensation wurde ein zusätzliches Programm erstellt, das sofort nach Beendigung jeder Analyse aufgerufen wird. Es bewirkt, daß von den gemessenen Rohdaten die Basislinien beider Detektoren abgezogen werden. Das resultierende Chromatogramm des WLD wird mit -1 multipliziert, weil die Wärmeleitfähigkeit der Komponenten Stickstoff und Sauerstoff geringer ist als die des Trägergases und deshalb negative Signale entstehen. Anschließend werden beide Chromatogramme mit Retentionszeiten und Integrationsmarken auf dem Bildschirm dargestellt, so daß sowohl das Meßergebnis mitverfolgt werden kann, als auch Störungen im Versuchsablauf schnell erkannt und beseitigt werden können.

Es stellte sich heraus, daß es genügt, alle 15 Minuten eine Probe aus dem Meßgasstrom zu analysieren, um eine quasikontinuierliche Kurve der Gasentwicklung zu erhalten. Da eine Analyse nur 6 Minuten dauert, wurde eine Wartezeit programmiert, während der die graphische Darstellung der Chromatogramme der neuesten Messung auf dem Bildschirm zu sehen ist. Nach ihrem Ablauf werden die Konzentrationen der Gaskomponenten berechnet, dann wird ein Ergebnisbericht erstellt und sofort auf Diskette kopiert, wodurch die Daten auch schon während des Versuchsablaufes zugänglich sind. Dann wird erneut eine Analyse gestartet. Die Zusatzprogramme in Anwendersprache sind im Anhang B aufgelistet.

5. Auswertung und Datenverarbeitung

5.1 Peakidentifizierung

Bei allen chromatographischen Verfahren erfolgt die Identifizierung einer Verbindung über die Retentionszeit, die von den Eigenschaften der Trennsäule und den chromatographischen Bedingungen abhängt. Findet man eine Substanz, deren Retentionszeit unter gleichen Bedingungen mit der einer unbekannteren übereinstimmt, so ist das zwar ein Indiz, aber kein endgültiger Beweis dafür, daß die beiden Substanzen identisch sind. Wenn auf einer anderen Trennsäule die Retentionszeiten ebenfalls übereinstimmen, so gilt dieses als Beweis.

Kohlendioxid konnte auf diese Weise eindeutig identifiziert werden. Sowohl Bodengas als auch Raumluft und CO_2/N_2 -Gemische lieferten bei Trennung mit der Säule des Typs Porapak N, die auch zu Beginn der Verfahrensentwicklung eingesetzt wurde, einen Peak mit der Retentionszeit 4,4 Minuten bei 50°C und 25 ml/min Helium als Trägergas. Bei Trennung über die im endgültigen Verfahren verwendete Säule des Typs Porapak Q trat bei allen Proben ein Peak mit der Retentionszeit 1,5 min auf, die Temperatur betrug hier 40°C und der Durchfluß 25 ml/min Ar/CH_4 . Zur Identifizierung von Stickstoff und Sauerstoff wurde ebenso verfahren.

Wegen der schlechten Trenneigenschaften der Porapak N-Säule für $\text{CO}_2/\text{N}_2\text{O}$ -Gemische, konnte N_2O auf diese Weise nicht identifiziert werden. Es wurde daher ein anderes analytisches Verfahren, die Infrarot-Photometrie eingesetzt¹. Abbildung 11 auf Seite 27 oben zeigt einen Ausschnitt aus dem Spektrum von Distickstoffoxid im Bereich seiner intensivsten Absorptionsbande. Der Abstand der Feinstrukturlinien ist charakteristisch für diese Verbindung. Das untere Spektrum wurde mit Bodengas, hergestellt aus einer Waldbodenprobe unter Edelgasatmosphäre, aufgenommen.

Man erkennt deutlich, daß die Feinstrukturlinien im Abstand mit denen von N_2O übereinstimmen, ihre Intensität ist jedoch zu schwach, um eine Quantifizierung vorzunehmen. Damit ist bewiesen, daß im Boden unter anaeroben Bedingungen tatsächlich N_2O entsteht; für die quantitative Bestimmung ist die IR-Photometrie aber wegen zu geringer Empfindlichkeit nicht geeignet.

¹ An dieser Stelle möchte ich mich bei der Firma Bruker für die Aufnahme der IR-Spektren bedanken.

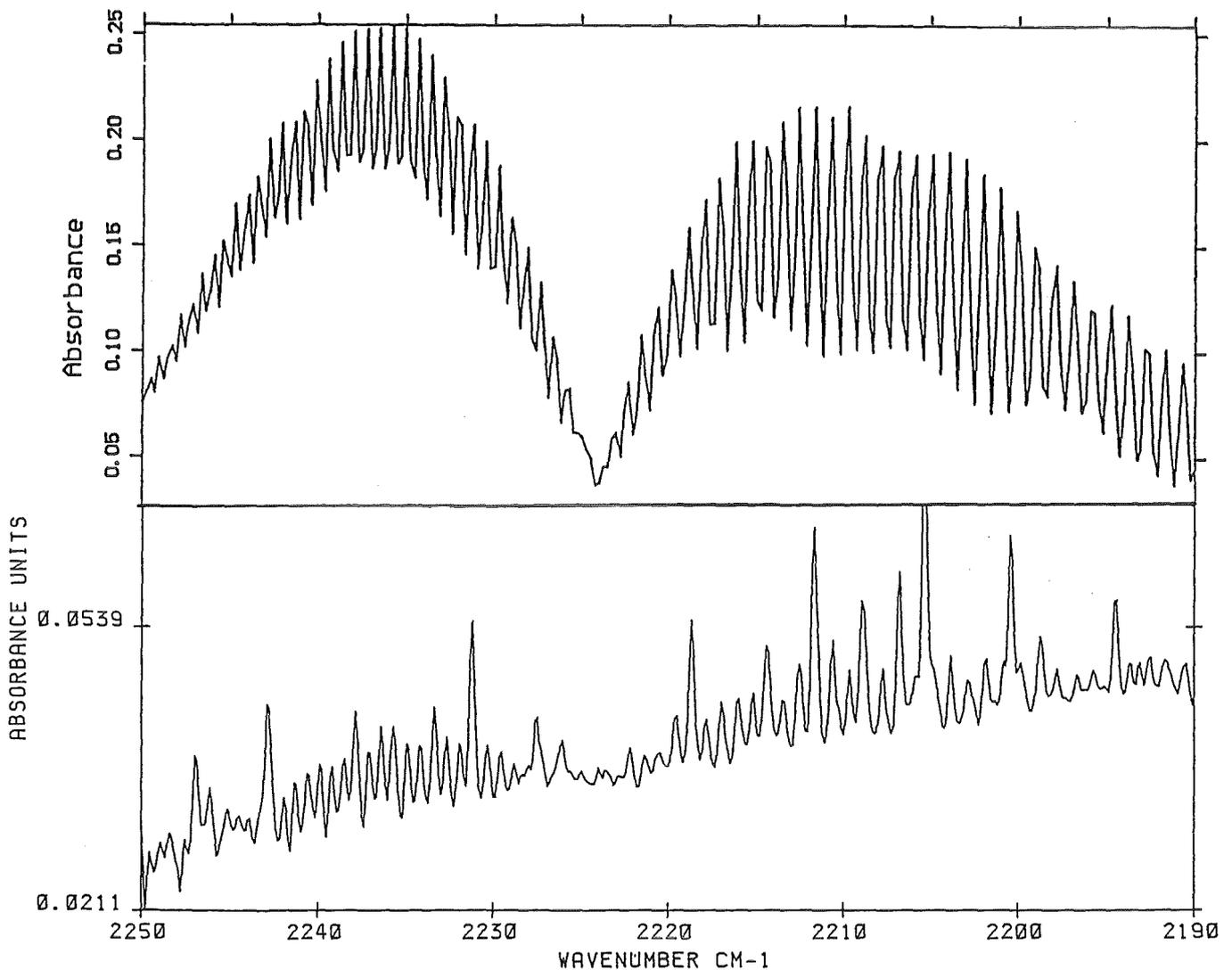


Abbildung 11. Ausschnitt aus den IR-Spektren von N_2O (oben) und Bodengas (unten): Die optische Weglänge betrug 22 m, die Konzentration von N_2O 7 ppm (oben). Im Spektrum von Bodengas (unten) sind die Feinstrukturlinien von N_2O deutlich zu erkennen, aber zu schwach für die Quantifizierung.

5.2 Kalibrierung

Die zur Kalibrierung der Detektoren notwendigen Prüfgase wurden kontinuierlich durch periodische Injektion des zu verdünnenden Gases in einen konstanten Grundgasstrom nach VDI 3490 Blatt 7 [64] hergestellt. Dazu stand eine Gasmischvorrichtung der Firma Wösthoff (siehe 'Geräte') mit zwei Verdünnungsstufen zur Verfügung, die nach Bedarf einzeln oder kombiniert verwendet werden können.

Für die Kalibrierung von Distickstoffoxid wurden in zwei Stufen 12 Mischungen im Bereich von 100-77420 ppb(v) in Argon als Grundgas hergestellt. Von jeder Mischung wurden 6 Proben analysiert.

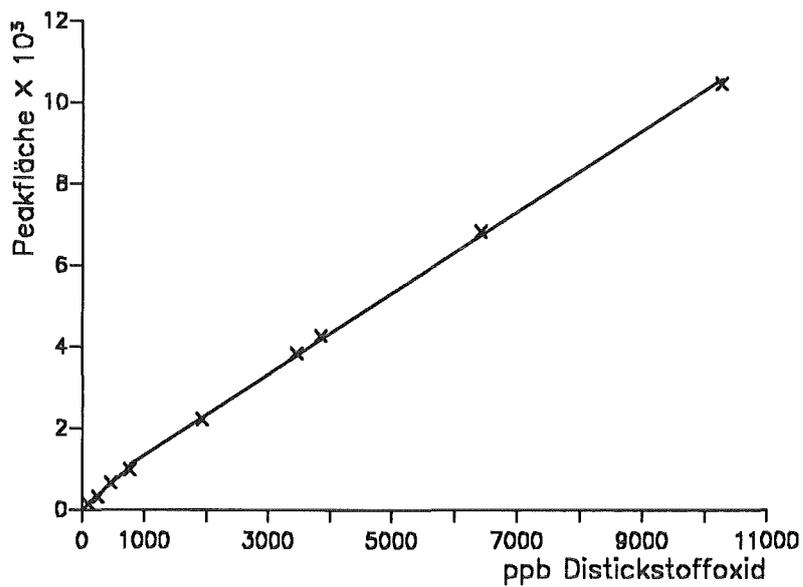
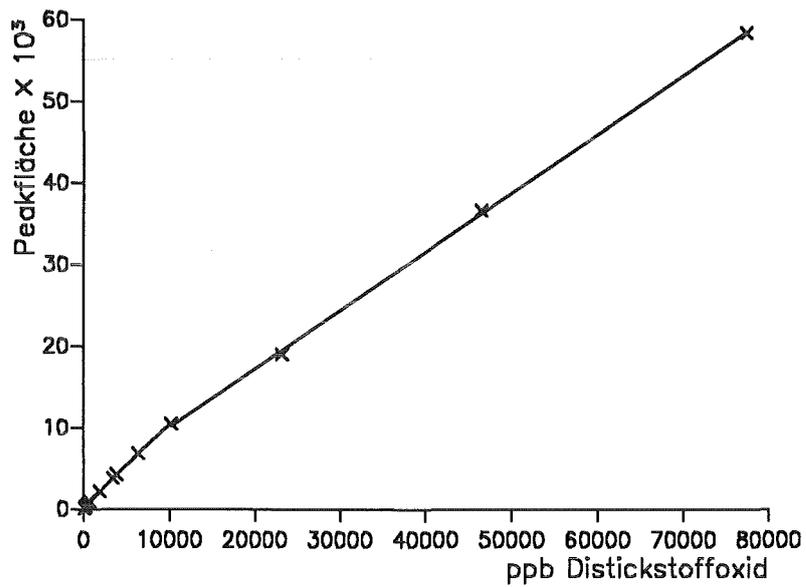


Abbildung 12. Kalibrierkurve von Distickstoffoxid: Oben: Gesamter Bereich, unten: Die zwei unteren Meßbereiche.

Zur Kalibrierung von Kohlendioxid wurden ebenfalls 12 Mischungen im Konzentrationsbereich von 39-5000 ppm(v) in Argon als Grundgas hergestellt. Von jeder Mischung wurden 6 Proben analysiert.

Sauerstoff wurde im Bereich von 0,3-20%, Stickstoff von 1-80% kalibriert. Abbildung 12 auf Seite 28 zeigt die Ergebnisse.

Die Kalibrierkurve für Distickstoffoxid wird durch drei Geraden in drei Meßbereichen beschrieben, da die Polynomannpassung einen schlechteren Angleich ergab:

$$0-1100 \text{ ppb} \quad x(\text{ppb}) = 0,800 \times y(\text{Peakfläche}) - 19,7$$

$$1100-9000 \text{ ppb} \quad x(\text{ppb}) = y(\text{Peakfläche}) - 340$$

$$9000-60000 \text{ ppb} \quad x(\text{ppb}) = 1,30 \times y(\text{Peakfläche}) - 3,95 \times 10^3$$

Die Fehlergrenze liegt für den unteren Meßbereich bei 3%, für die oberen beiden bei 1%.

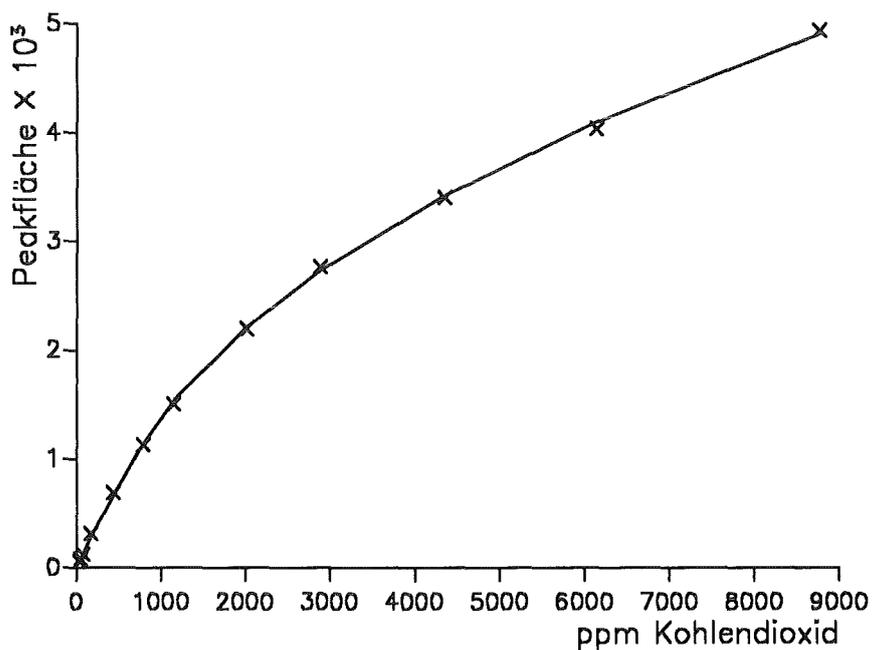


Abbildung 13. Kalibrierkurve von CO₂

Auch die Kurve für Kohlendioxid muß in zwei Meßbereiche unterteilt werden: Einen linearen, bis 500 ppm und einen nichtlinearen, für höhere Konzentrationen. Sie wird durch folgende Gleichungen beschrieben:

$$0-500 \text{ ppm} \quad x(\text{ppm}) = 0,60 \times y(\text{Peakfläche}) - 4,7$$

$$500-9000 \text{ ppm} \quad x(\text{ppm}) = (6,2 \times 10^{-3} \times y(\text{Peakfläche}) + 7,3)^{2,5}$$

Für den linearen Bereich liegt hier der Fehler bei 5%, für den anderen bei 1%.

Stickstoff und Sauerstoff sind im gesamten kalibrierten Bereich linear und können mit einer Genauigkeit von 3% bestimmt werden.

5.3 Datenverarbeitung

Für jede Analyse wird vom Steuerprogramm ein Ergebnisbericht ausgegeben, in dem die Parameter für die Analyse, Integration, Kalibrierung und Berichterstattung sowie für die vier Komponenten die Retentionszeiten, Peakflächen und die daraus errechneten Konzentrationen, außerdem Datum und Uhrzeit beim Analysenstart aufgelistet sind.

Pro Versuchstag erhält man bei 15 min Zeitabstand zwischen den Analysen 96 solcher Dateien. Um diese Daten aufzubereiten, wurden zwei APL-Programme erstellt, die unter den Namen COPY und ZEIT im Anhang zu finden sind. Das Ergebnis ist eine Matrix mit einer Zeit- und vier Konzentrationsspalten und so vielen Zeilen, wie der Versuch Meßpunkte enthält. Daraus lassen sich dann Tabellen oder Graphiken erstellen.

Durch Multiplikation der Konzentrationen mit der Gasdurchflußgeschwindigkeit in der Säule - meist 50 ml/min - errechnet sich die Austragsrate in ml/min. Unter der Annahme, daß die hier betrachteten Gase nach ihrer Entstehung keine weiteren Reaktionen im Boden eingehen, erhält man durch Division durch das Molvolumen idealer Gase und durch das Gewicht der Bodenprobe nach Umrechnung der Zeiteinheit die Bildungsrate in mol/kg·h.

6. Distickstoffoxidemission von Bodenoberflächenproben

6.1 Beschreibung der untersuchten Böden

Die Untersuchungen befaßten sich mit zwei Böden von unterschiedlichen Standorten:

1. Waldboden vom Gelände des Kernforschungszentrums Karlsruhe, als Sand und Kies mit niedrigem Gehalt an organisch gebundenem Kohlenstoff zu charakterisieren.
2. Sogenannter Niedermoorboden aus dem Wassereinzugsgebiet des Zweckverbandes Landeswasserversorgung im Donauried bei Langenau, gekennzeichnet durch einen hohen Gehalt an organisch gebundenem Kohlenstoff.

An beiden Standorten ist die untersuchte oberste Schicht nitrifizierend und praktisch immer aerob. Dementsprechend sind die Nitratgehalte hoch, besonders in dem landwirtschaftlich genutzten Niedermoorboden, wie Tabelle 1 zeigt. Dieser Boden hat auch einen recht hohen Wassergehalt, wodurch gute Voraussetzungen für intensive biologische Umsetzungen gegeben sind.

Man erwartet von beiden Bodenproben das Verhalten einer vorherrschend oder sogar ausschließlich nitrifizierenden Bodenflora; denitrifizierende Mikroorganismen sollten von nur untergeordneter Bedeutung sein.

Tabelle 1. Eigenschaften der untersuchten Bodenproben und Versuchsbedingungen

	Waldboden	Niedermoorboden
Feuchte	8 %	68 %
Einwaage	568 g	452 g
Nitrat	32 mg/kg	190 mg/kg
Nitrit	nicht nachweisbar	9 mg/kg
Temperatur	10°C	10°C
Gasstrom	50 ml/min Ar	50 ml/min Ar/CO ₂ -Gemische

6.2 Waldboden

Zunächst wurde das Verhalten der Waldbodenprobe untersucht. Dazu wurde die Säule mit frisch entnommenem Bodenmaterial gefüllt, auf 10°C thermostatisiert und mit 50 ml/min Argon durchspült. Abbildung 14 auf Seite 32 stellt den Verlauf der N₂O- bzw. CO₂-Emission aus der Bodenprobe als Funktion der Zeit dar.

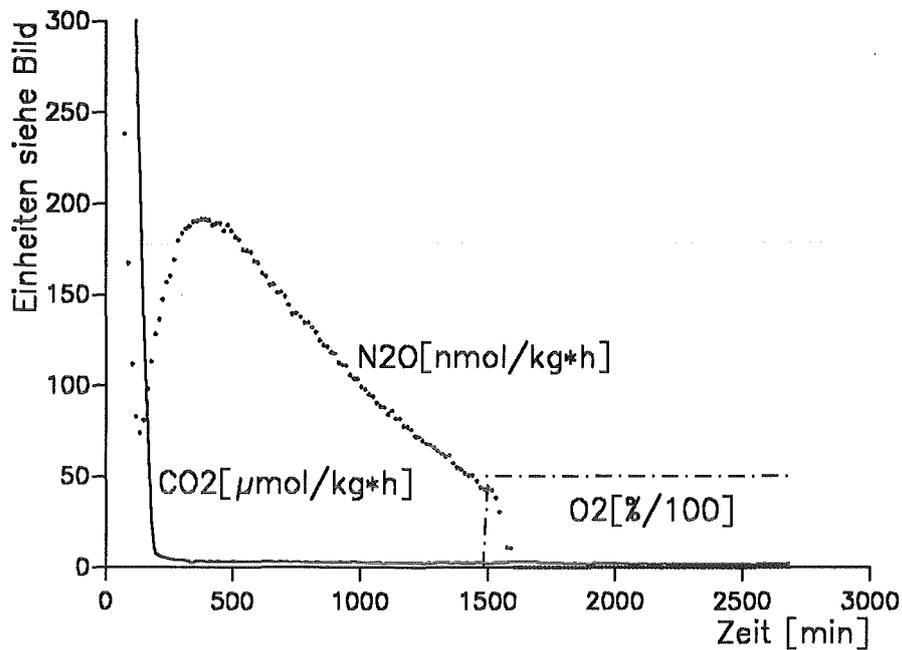


Abbildung 14. N_2O -Emission einer Waldbodenprobe: Schon bei Zusatz von 0,5 % Sauerstoff kommt die N_2O -Bildung sofort zum Stillstand

Zunächst wird die in der Probe enthaltene N_2O - und CO_2 -haltige Bodenluft ausgespült, ein Zeichen, daß in diesem Boden auch unter natürlichen Bedingungen N_2O -bildende Prozesse ablaufen. Dieser Vorgang dauerte etwa 200 Minuten. Dabei wird auch der Sauerstoff entfernt, so daß sich anoxische Bedingungen einstellen. Danach setzt eine stetig wachsende N_2O -Bildung ein, die etwa nach weiteren 4 Stunden ein Maximum erreicht und dann exponentiell wieder abfällt. Während des gesamten Versuches beträgt die CO_2 -Emission konstant $2,3 \mu\text{mol}/\text{kg}\cdot\text{h}$.

Nach 25 Stunden wurde dem Gasstrom 0,5% Sauerstoff zugesetzt, was die N_2O -Bildung sofort zum Stillstand brachte. Daraus ist zu schließen, daß das hier gefundene Distickstoffoxid tatsächlich durch Denitrifikation entsteht und nicht durch andere biologische oder chemische Prozesse.

Der anfängliche Anstieg der N_2O -Bildung wird als Anstieg der biologischen Aktivität interpretiert, der dadurch zustande kommt, daß die Bakterien ihr Verhalten den veränderten äußeren Bedingungen anpassen, was innerhalb dieser 4 Stunden geschieht.

Der exponentielle Abfall könnte dadurch hervorgerufen werden, daß sich eine Zwischenstufe der Denitrifikation, beispielsweise Nitrit, wesentlich schneller verbraucht, als sie nachgeliefert wird [14]. Um dies zu überprüfen, wurde die Probe aus der Säule ge-

nommen, mit einer Lösung von 3 mg NaNO_2 in 10 ml Wasser (entsprechend $77 \mu\text{mol NO}_2/\text{kg Boden}$) gründlich vermischt und wieder eingefüllt.

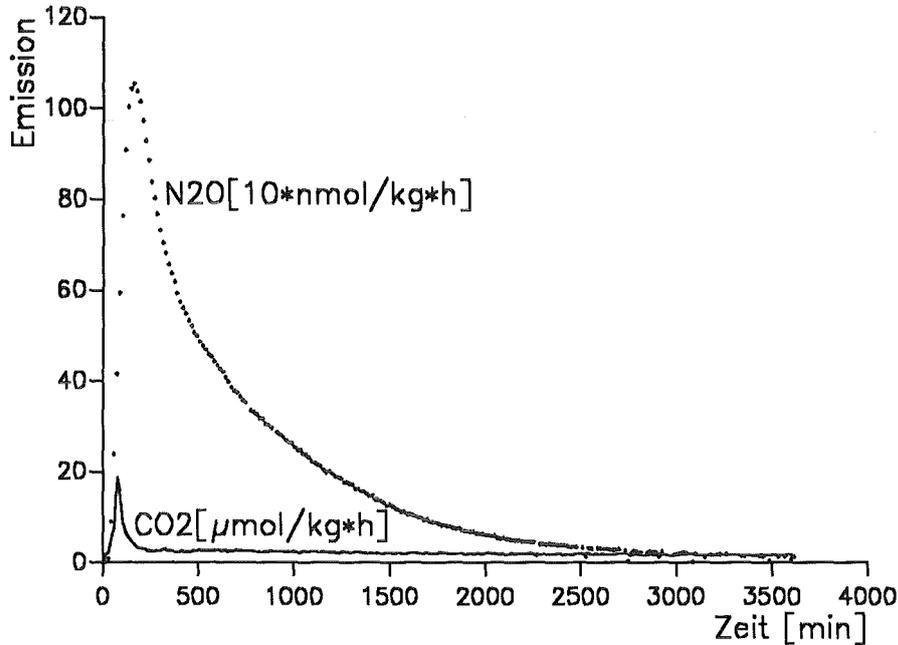


Abbildung 15. N_2O -Emission nach Zugabe von Nitrit

Nach Ausspülen der bei diesem Vorgang eingetragenen Luft beobachtet man wieder einen ähnlichen Verlauf der N_2O - und CO_2 -Bildung, nur wird dieses Mal die mehr als 5-fache N_2O -Produktionsrate erreicht. Das Maximum ist bei diesem Versuch schon nach 3 Stunden erreicht, was auf eine - verglichen mit dem vorhergehenden Versuch - erhöhte biologische Aktivität hinweist. Auch hier zeigt sich wieder der exponentielle Abfall und die nahezu konstante CO_2 -Bildung von $2,3 \mu\text{mol/kg h}$.

Nach Zugabe von 30 mg Nitrat je kg Boden setzte keine erneute Distickstoffoxidbildung ein. Aus diesem Resultat kann man schließen, daß die Bodenprobe anfänglich Nitrit enthielt, das unter Sauerstoffmangel zu Distickstoffoxid reduziert wird. Da unter den angewandten Bedingungen offensichtlich kein oder nur sehr wenig Nitrit entsteht, wird es bei diesem Vorgang verbraucht, so daß die N_2O -Bildungskurve direkt die Nitritabbaukurve widerspiegelt.

Der anfängliche Nitritgehalt der Bodenprobe läßt sich ermitteln, indem man den jeweils abfallenden Ast beider N_2O -Bildungskurven logarithmiert, wie Abbildung 16 auf Seite 34 zeigt.

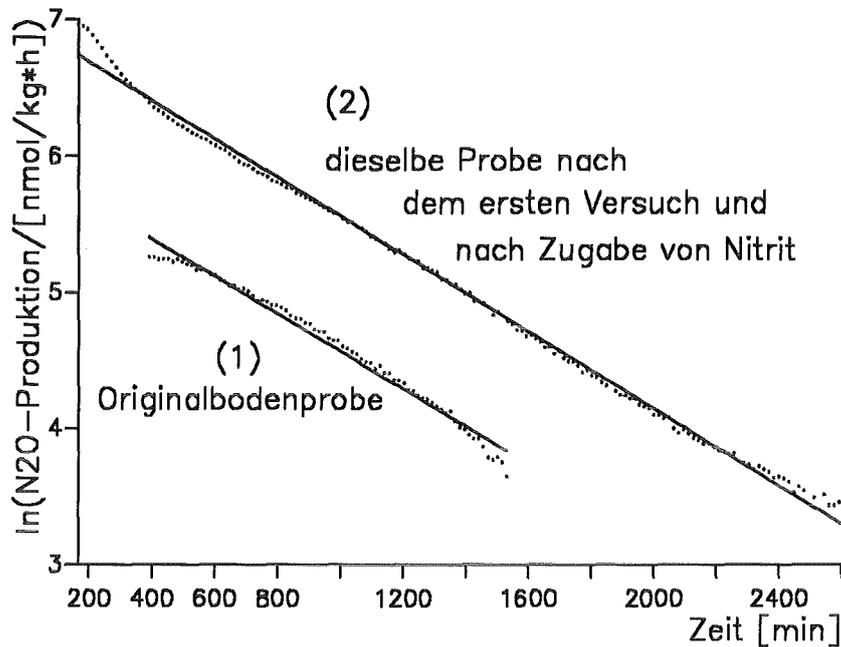


Abbildung 16. Logarithmierte N₂O-Bildungskurve: Die linearen Teile der Kurven lassen auf eine Reaktion 1. Ordnung in diesem Bereich schließen. Die Steigung ist $-1,3 \times 10^{-3}/\text{min}$.

Die resultierenden Funktionen lassen sich in einem größeren Zeitabschnitt durch Geraden beschreiben, woraus sich schließen läßt, daß die Reaktion in diesem Zeitraum nach einem Geschwindigkeitsgesetz 1. Ordnung abläuft. Die Geraden sind parallel, mit der Steigung $-1,3 \times 10^{-3}/\text{min}$ für beide Versuche, was man damit interpretieren kann, daß es sich in beiden Fällen um die gleiche Reaktion handelt. Im Anfangs- und Endbereich weichen beide Kurven von der Geraden ab. Zu Beginn der Reaktion ist dies mit der Umstellungsphase der Bakterien zu begründen. In der Endphase könnte die Abweichung durch die Überlagerung einer weiteren mikrobiellen Reaktion, die mit geringerer Geschwindigkeit abläuft, hervorgerufen werden. Dies wird in Abschnitt 6.3.2. auf Seite 38 besonders deutlich. Da aber dennoch die Gleichartigkeit der beiden Reaktionen gut zu erkennen ist, sollte dieser ohnehin nur kleine Effekt nicht weiter untersucht werden.

Aus dem Abstand der Geraden errechnet sich das Verhältnis der Ausgangskonzentrationen folgendermaßen:

Setzt man den gesuchten Nitritgehalt der Originalbodenprobe gleich x , so ist die Summe aus $\ln x$ und dem Geradenabstand - dieser beträgt hier zufällig genau 1 - gleich dem Logarithmus der Ausgangskonzentration im zweiten Versuch. Diese entspricht der auf-

gegebenen Nitritmenge von 77 $\mu\text{mol/kg}$, da die Probe vor dem Versuch an Nitrit abgereichert war. Aus

$\ln x + 1 = \ln 77$ ergibt sich

$$x = \frac{77}{e},$$

womit sich der anfängliche Nitritgehalt der Bodenprobe zu etwa 30 $\mu\text{mol/kg}$ berechnet. Integriert man die N_2O -Bildungskurven beider Versuche - beim ersten Versuch wurde die Integration wegen des Ausspüleffekts erst zum Zeitpunkt des Minimums begonnen - erhält man die Gesamtmenge an emittiertem Distickstoffoxid. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 den anfänglichen Nitritgehalten der Bodenprobe gegenübergestellt.

Tabelle 2. Ergebnisse der Integration der N_2O -Bildungskurven: Gegenübergestellt sind die anfänglichen Nitritgehalte der Bodenprobe und die Gesamtmenge an emittiertem Distickstoffoxid bzw. Stickstoff. Etwa 1/4 des vorhandenen Nitrits werden unter anoxischen Bedingungen zu Distickstoffoxid reduziert.

	Nitrit / μmol	Gesamt- N_2O / μl	Stickstoff / μmol	Als N_2O emittierter Nitritanteil
Originalprobe	16	36	3,2	20%
nach Nitritzugabe	43	145	13	30%

Man erhält nach Zugabe von Nitrit etwa die 4-fache Menge an Distickstoffoxid als bei der Originalbodenprobe, obwohl sich die Nitritanfangsgehalte nur etwa um den Faktor 3 unterscheiden. Eine mögliche Erklärung dafür ist, daß bei der Originalbodenprobe der Versuch durch Zugabe von Sauerstoff abgebrochen wurde, wodurch zum einen weniger Distickstoffoxid entstand, zum anderen restliches Nitrit in der Bodenprobe verblieb, was dem Anfangsgehalt beim zweiten Versuch zugerechnet werden müßte. Trotzdem lassen die Versuche erkennen, daß etwa 1/4 des Nitritgehaltes der Bodenprobe unter anoxischen Bedingungen als Distickstoffoxid erscheint.

6.3 Niedermoorboden

6.3.1 Experimente und Beobachtungen

Die ersten Versuche an dem Niedermoorboden wurden, genau wie beim Waldboden, an der frischen, unveränderten Probe durchgeführt. Dem Gasstrom wurde Kohlendioxid zugesetzt, um zu untersuchen, ob sich auf diese Weise der pH-Wert konstant halten läßt beziehungsweise ob die Denitrifikationsrate davon abhängt. Der Kohlendioxid-Gehalt des Spülgases wurde während der ersten 3000 Minuten auf 1,6 % eingestellt, dann auf

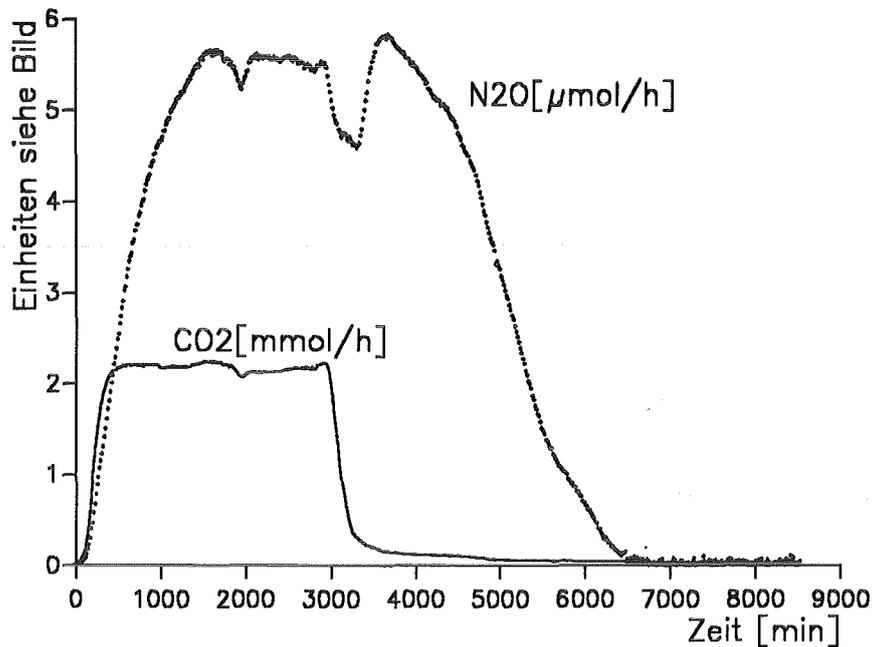


Abbildung 17. N₂O-Bildungskurve einer Moorbodenoberflächenprobe: Geringe Schwankungen des CO₂-Gehaltes wirken sich stark auf die N₂O-Emission aus.

0,1 % gesenkt, nach 5000 Minuten wurde kein Kohlendioxid mehr eingespeist. Der pH-Wert betrug 7,5 bei einem CO₂-Gehalt von 1,6 %. Drosselung der CO₂-Zufuhr auf 0,1 % führte zu einem pH-Anstieg auf 7,7.

Abbildung 17 zeigt die N₂O-Bildungskurve. Da der Kohlendioxid-Gehalt hier eingestellt wurde, wurde die Emission nicht auf das Gewicht der Bodenprobe bezogen.

Auch in diesem Fall beobachtet man nach Einstellung anoxischer Bedingungen einen steilen Anstieg der N₂O-Produktion, der nach etwa 27 Stunden beendet ist. Über die folgenden 24 Stunden blieb die N₂O-Bildung konstant. Vergleicht man dieses Ergebnis mit denen der Waldbodenprobe, so kommt man zu dem Schluß, daß diese Probe so viel Nitrit enthält, daß eine maximale Produktionsrate, nur noch begrenzt durch die biologische Aktivität, erreicht wird. Tatsächlich enthielt dieser Boden anfangs 190 μ mol/kg Nitrit, etwa das 2,5-fache dessen, was im vorhergehenden Versuch auf die Waldbodenprobe gegeben wurde.

Diese konstante Emission wird nach 3000 Minuten unterbrochen, weil die CO₂-Konzentration im Spülgas auf 0,1 % gesenkt wurde. Die Änderung wurde vorgenommen, um die Auswirkungen des Kohlendioxid-Gehaltes auf die N₂O-Bildung zu untersuchen. Anlaß war

die Feststellung, daß eine kurzzeitig geringe Schwankung des CO_2 -Zuflusses bei etwa 2000 Minuten mit einem deutlichen Einbruch der N_2O -Konzentration einherging.

Der durch die Drosselung der Kohlendioxidzufuhr um 0,2 ansteigende pH-Wert führte zunächst zum Rückgang, dann aber zu erneutem steilen Anstieg der N_2O -Bildung - ein Beispiel dafür, welche unterschiedlichen Auswirkungen die Änderung eines einzelnen Parameters auf ein solches komplexes biologisches System haben kann.

Nach Blackmer und Bremner [4] hemmt ein hoher Nitratgehalt - diese Voraussetzung ist hier erfüllt - die Reduktion von Distickstoffoxid zu Stickstoff, und zwar zunehmend mit fallendem pH-Wert. Ein höherer pH-Wert führte demnach zu einer schnelleren Weiterreduktion und damit zu einer geringeren Emission von Distickstoffoxid. Gleichzeitig führt ein pH-Anstieg aber auch zu einer höheren Denitrifikationsaktivität, womit die erneut zunehmende N_2O -Bildung zu erklären wäre.

Nach weiteren 50 Stunden wird keine N_2O -Entwicklung mehr beobachtet, was wieder auf den Verbrauch der Ausgangsverbindung zurückgeführt werden kann. Wenn es sich dabei ebenfalls um Nitrit handelt, sollte es möglich sein, dieses durch den umgekehrten Prozeß, die Nitrifikation, unter Sauerstoffzufuhr in der Probe entstehen zu lassen und anschließend unter anoxischen Bedingungen eine weitere Abbaukurve zu erhalten. Daher wurden folgende Versuche durchgeführt:

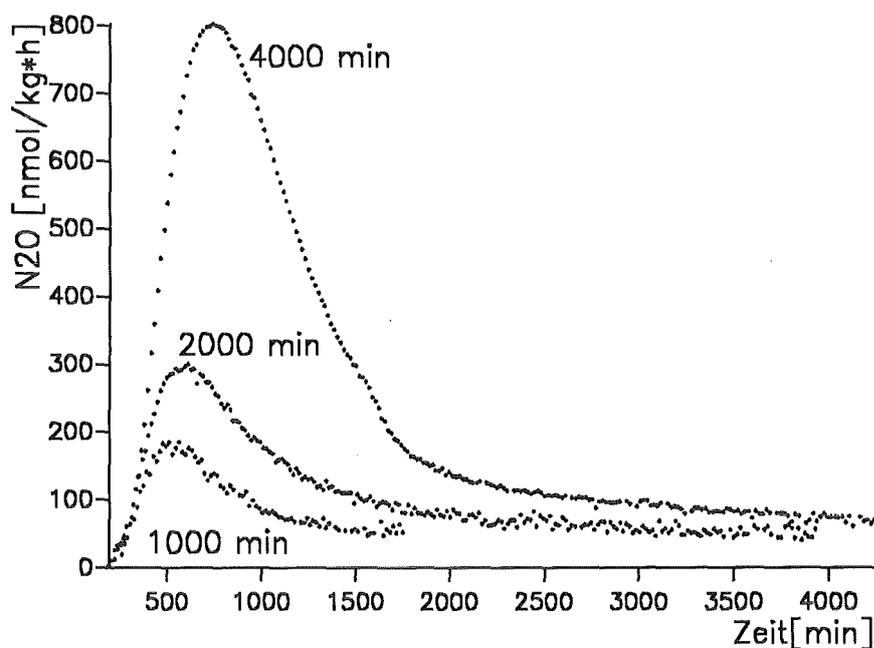


Abbildung 18. Zeitlicher Verlauf der N_2O -Emission nach vorangegangener Belüftung

Die bereits 9000 Minuten in der Apparatur befindliche Probe, die keine N_2O -Emission mehr zeigte, wurde bei 10°C mit 35 ml/min synthetischer Luft gespült. Während dieser Zeit entstanden keine nachweisbaren Mengen Distickstoffoxid. Anschließend wurde mit 50 ml/min Argon die N_2O -Bildungskurve aufgenommen. Es wurden nacheinander Versuche mit drei verschiedenen Belüftungszeiten, die in Abbildung 18 auf Seite 37 angegeben sind, durchgeführt.

In allen Fällen beobachtet man nach der oxischen Periode einen Anstieg und Wiederabfall der N_2O -Emission. Die gebildete N_2O -Menge hängt deutlich von der Belüftungszeit ab, was bedeutet, daß die zu Distickstoffoxid reduzierte Substanz während dieser Zeit gebildet wird. Weiterhin fällt auf, daß die Kurven innerhalb der Meßzeit nicht auf Null zurückgehen, sondern sich einer niedrigen, leicht abfallenden N_2O -Produktion zu nähern scheinen. Beim Waldboden dagegen fiel die Emission in diesem Zeitraum unter die Nachweisgrenze.

6.3.2 Auswertung

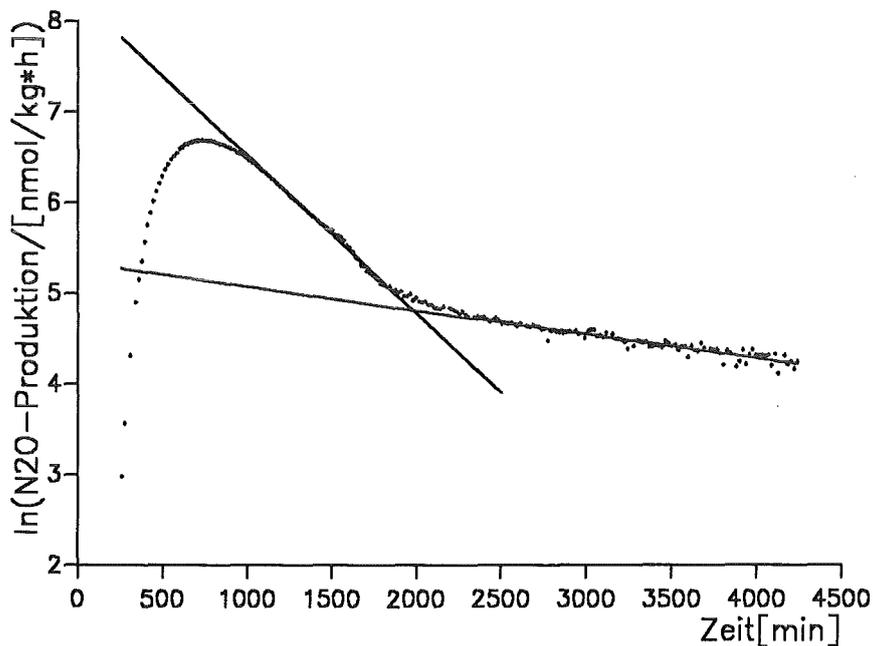


Abbildung 19. Logarithmierte N_2O -Emissionskurve nach 4000 min Belüftungsdauer: Der abfallende Ast läßt sich durch zwei Geraden annähern, deren Steigungen sich etwa um den Faktor 6 unterscheiden.

Trägt man die N_2O -Bildungskurven logarithmisch gegen die Zeit auf, läßt sich der abfallende Ast durch zwei Geraden beschreiben, wie Abbildung 19 am Beispiel der Emissionskurve nach 4000 Minuten Belüftungzeit zeigt.

Es scheint sich um zwei verschiedene, voneinander unabhängige N_2O -Bildungsreaktionen zu handeln, von denen eine sehr viel langsamer verläuft als die andere. Die Halbwertszeiten betragen etwa 403 ± 3 Minuten für die schnelle und 2560 ± 60 Minuten für die langsame Reaktion. In der Anfangsphase ist die durch die schnelle Reaktion verursachte N_2O -Bildung viel intensiver als die langsame, daher wird die Kurve sehr gut durch die steilere Gerade angenähert. In der Endphase dagegen ist die schnellere Reaktion abgeklungen und es tritt nur noch die langsame zutage, die Kurve nähert sich der flachen Geraden. In Tabelle 3 sind die Geradensteigungen für die drei Versuche zusammengestellt.

Tabelle 3. Geradensteigungen der logarithmierten N_2O -Emissionskurven: Zwei Geraden unterschiedlicher Steigungen weisen auf zwei verschiedene biologische Prozesse hin.

*) Die Standardabweichungen errechnen sich zu $0,01 \times 10^{-3}/\text{min}$

Belüftungsdauer	1000 min	2000 min	4000 min
Geradensteigung steil *)	$- 1,7 \times 10^{-3}/\text{min}$	$- 1,3 \times 10^{-3}/\text{min}$	$- 1,7 \times 10^{-3}/\text{min}$
Geradensteigung flach	$- 3,0 \pm 0,1 \times 10^{-4}/\text{min}$	$- 2,3 \pm 0,1 \times 10^{-4}/\text{min}$	$- 2,7 \pm 0,1 \times 10^{-4}/\text{min}$

Die Steigungen der steilen Geraden entsprechen sehr gut den Steigungen, die bei den Versuchen mit der Waldbodenprobe erhalten wurden - sie betragen $- 1,3 \times 10^{-3}/\text{min}$. Da die Versuche auch unter äquivalenten Bedingungen abliefen, kann davon ausgegangen werden, daß es sich in beiden Fällen um den gleichen biologischen Vorgang, nämlich die Reduktion von anfangs vorhandenem Nitrit handelt. Die starke, aber kurzfristige N_2O -Bildung wird durch im Oberboden lebende Nitrifikanten verursacht, die unter Sauerstoffmangel Nitrit abbauen, aber kein Nitrat reduzieren können. Dieser Prozeß ist, je nach vorhergehender Belüftungsdauer, nach 1500-2000 Minuten weitestgehend abgeschlossen.

Die Fähigkeit der Nitrifikanten, bei Sauerstoffmangel Nitrit zu reduzieren, ist auch in der Literatur beschrieben [67], [18]. Es gibt aber auch denitrifizierende Mikroorganismen, vor allem Pilze, die nur Nitrit und niedriger oxidierte Stickstoffverbindungen, nicht aber Nitrat reduzieren können. Dies kommt daher, daß für jeden Reduktionsschritt ein eigenes Enzym benötigt wird und nicht jeder Organismus in der Lage ist, alle Enzyme zu synthetisieren [63], [61], [59].

Um die Gesamtmenge an durch Nitritabbau gebildetem Distickstoffoxid zu erhalten, wird die flachere Gerade delogarithmiert, von der gemessenen Kurve abgezogen und die resultierende Kurve im positiven Wertebereich integriert. Am Beispiel der nach 4000 min Belüftungsdauer gefundenen N_2O -Emissionskurve veranschaulicht Abbildung 20 auf Seite 40 dieses Vorgehen.

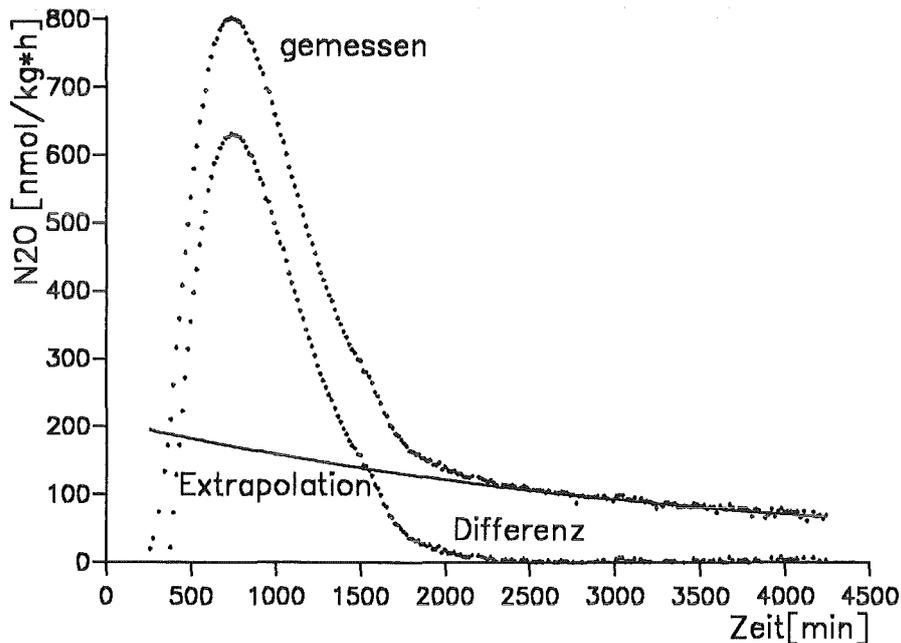


Abbildung 20. Bestimmung des gesamten emittierten N_2O -Volumens: Die mit 'Extrapolation' bezeichnete Kurve entsteht durch Delogarithmieren der flacheren Geraden.

Trägt man das auf diese Weise berechnete Gesamtvolumen an N_2O gegen die Belüftungsdauer auf, so erhält man die in Abbildung 21 auf Seite 41 dargestellte Kurve.

Offensichtlich besteht in diesem Zeitbereich kein linearer Zusammenhang zwischen der Nitritbildung und der Belüftungszeit, da in der Anfangsphase noch die Umstellung der Mikroorganismen auf die veränderten Lebensbedingungen eine Rolle spielt. Dieses Verhalten wird auch von anderen Arbeitsgruppen mit Hilfe von Inkubationsexperimenten gefunden [14], [42], [57]. Cooper und Smith [14] haben die Nitritbildung an verschiedenen Bodenarten zwischen 20 und 35 °C untersucht. Im Inkubationsversuch nimmt sie in den ersten 10-20 Stunden den gleichen Verlauf wie hier beobachtet und erreicht nach 15-50 Stunden ein Maximum. Da die Versuche in der vorliegenden Arbeit bei 10°C durchgeführt wurden, erscheint eine 3-4 mal längere Inkubationsphase verständlich.

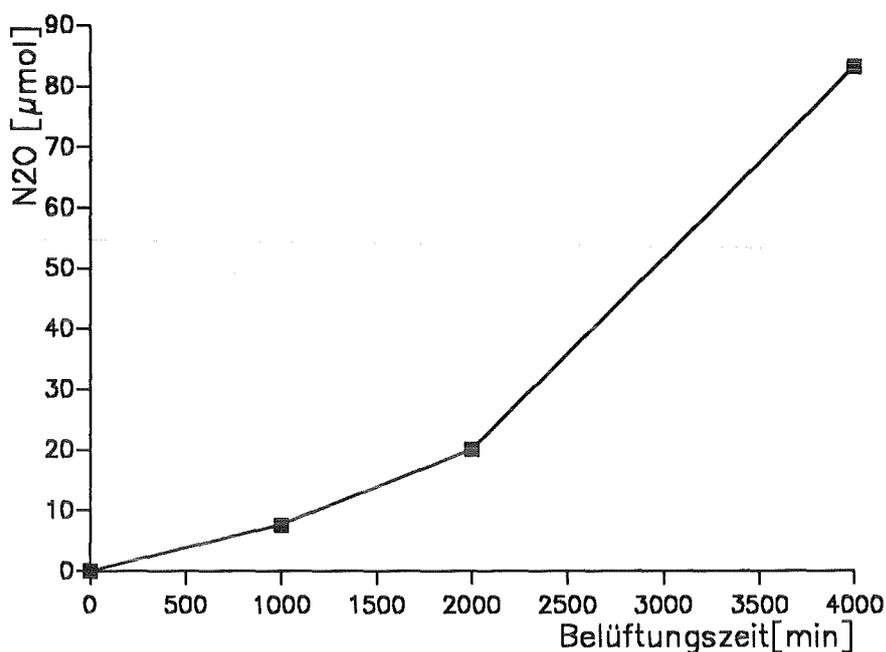


Abbildung 21. Gesamte N₂O-Emission der schnellen Abbaureaktion in Abhängigkeit der Dauer der vorangegangenen Belüftung

- Wiederholungsversuche

Bei der Wiederholung der drei Versuche zeigte sich, daß die vorher in der Endphase beobachtete flache Gerade nicht mehr vorhanden war, die Kurve strebte der Nulllinie zu. Man kann vermuten, daß durch die häufig wechselnden Bedingungen die biologische Aktivität stark zurückgegangen ist, die Intensität der N₂O-Bildung ist deutlich geringer als während der ersten drei Versuche. Dies könnte auf die geringere Verfügbarkeit von Ammonium zurückgeführt werden, welches während der Belüftungsphasen ständig verbraucht, aber nicht nachgeliefert wird.

In den logarithmischen Auftragungen werden die steileren Geraden mit den gleichen Steigungen wiedergefunden. Zur Auswertung wurden die Kurven hier unverändert integriert. Tabelle 4 auf Seite 42 stellt die Ergebnisse der beiden Versuchsreihen gegenüber.

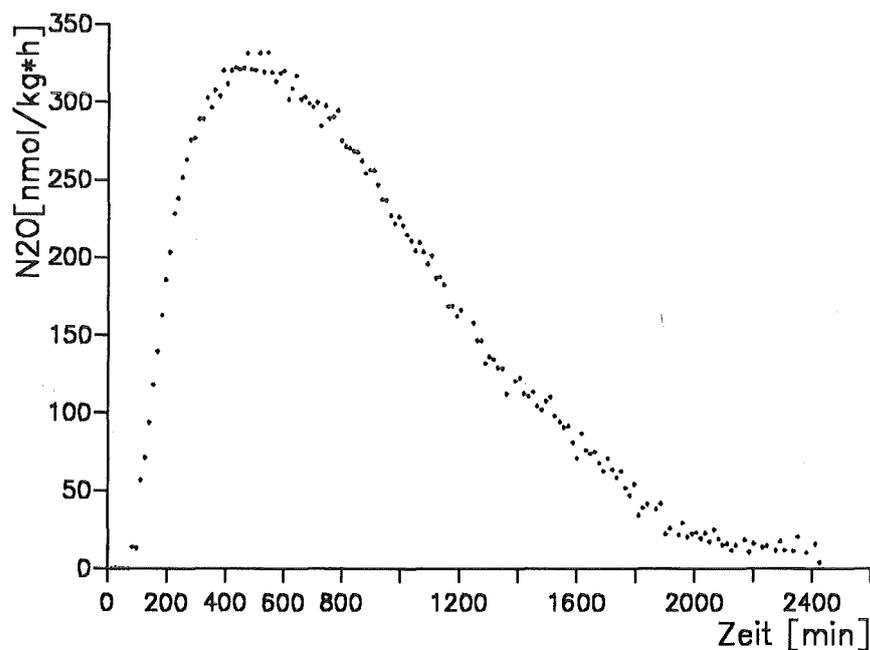
Tabelle 4. Geradensteigung und gesamte N₂O-Emission der schnellen Abbaureaktion

Belüftungsdauer	1. Versuch		2. Versuch	
	N ₂ O in μ l	Geradensteigung	N ₂ O in μ l	Geradensteigung
1000 min	7,6	$-1,7 \times 10^{-3}/ \text{min}$	7,3	$-1,2 \times 10^{-3}/ \text{min}$
2000 min	20,1	$-1,3 \times 10^{-3}/ \text{min}$	12,7	$-1,6 \times 10^{-3}/ \text{min}$
4000 min	83,2	$-1,7 \times 10^{-3}/ \text{min}$	14,3	$-1,7 \times 10^{-3}/ \text{min}$

Die Abhängigkeit des entstandenen N₂O-Volumens von der vorangegangenen Belüftungszeit ist auch beim zweiten Versuch deutlich zu erkennen, wenn auch die Gesamtaktivität stark zurückgegangen ist. Aus den übereinstimmenden Geradensteigungen läßt sich schließen, daß es sich um den gleichen biologischen Vorgang handelt.

- Kontrollversuch

Zum letzten Beweis der Vermutung, es handele sich bei den beobachteten Vorgängen um Auf- und Abbau von Nitrit, wurde der Bodenprobe eine Lösung von 1,5 mg NaNO₂ in 5 ml Wasser, entsprechend 46 μ mol/kg Boden, zugesetzt und unter gleichen Bedingungen wie in den vorhergehenden Versuchen die N₂O-Bildungskurve aufgenommen.

Abbildung 22. N₂O-Bildungskurve nach Zugabe von Nitrit

Logarithmiert man den abfallenden Ast dieser Kurve, so erhält man eine Gerade mit der Steigung $-1,6 \times 10^{-3} / \text{min}$. Auch hier zeigt sich an der Lage des Maximums, daß die biologische Aktivität stark zurückgegangen ist. Dennoch wird sowohl durch den gleichen Verlauf der Kurve als auch durch die übereinstimmende Geradensteigung bestätigt, daß die beschriebenen Ergebnisse auf Nitritumsatz zurückzuführen sind.

6.4 Zusammenfassung der Ergebnisse

Ergebnis der vorliegenden Untersuchungen waren die folgenden wesentlichen Sachverhalte:

1. Bringt man eine Bodenoberflächenprobe in eine Säule und leitet durch diese Argon, stellt also anoxische Bedingungen ein, so werden zunächst Kohlendioxid und Distickstoffoxid ausgespült, die nach Lage der Dinge bereits in situ vorhanden gewesen sein müssen.
2. Danach steigt die Distickstoffoxidkonzentration im Abgas steil an, durchläuft dann aber ein Maximum und fällt anschließend exponentiell wieder ab.
3. Die gleiche Erscheinung tritt auf, wenn man dem Boden nach Abklingen dieser Reaktion Natriumnitrit zusetzt.
4. Ebenfalls die gleiche Erscheinung tritt auf, wenn man nach Beendigung der N_2O -Emission den Boden einige Zeit belüftet und anschließend wieder anoxische Bedingungen einstellt.
5. Der abfallende Kurvenast der N_2O -Konzentration im Abgas läßt sich durch ein Zeitgesetz erster Ordnung beschreiben. Alle zuvor genannten Reaktionen ergeben dabei die gleiche Halbwertszeit. Man darf daraus schließen, daß es sich in allen Fällen um dieselbe Reaktion handelt, nämlich den Abbau von Nitrit, der bei vorübergehendem Sauerstoffmangel durch Nitrifikanten verursacht wird.

6.5 Diskussion

Das trotz der unterschiedlichen Eigenschaften beider Bodenproben ähnliche N_2O -Bildungsverhalten weist darauf hin, daß die Mikroflora in beiden Böden zu vergleichbaren Stickstoffumsetzungen befähigt ist.

Im Oberboden leben nitrifizierende Bakterien, die Sauerstoff atmen und Ammonium über das Zwischenprodukt Nitrit zu Nitrat oxidieren. Die dazu notwendige Bedingung, nämlich ausreichende Sauerstoffversorgung, ist in den oberen Bodenschichten erfüllt. Entzieht man solchen Mikroorganismen den Sauerstoff, so sind sie in der Lage, Nitrit - jedoch

nicht Nitrat - als Sauerstoffquelle zu verwerten und damit ihre Lebensfunktionen aufrecht zu erhalten. Ist der Nitritvorrat verbraucht, so erlischt auch die Atmung.

Diese auch in Punkt 5. angeführte Schlußfolgerung wird durch verschiedene Literaturangaben [44], [42] gestützt, in denen der Nitrifikationsvorgang im Boden auf andere Weise untersucht wurde. Das in beiden Bodenproben beobachtete Auftreten eines N_2O -Maximums nach Ausspülen der bei dem jeweiligen Versuchsbeginn vorhandenen Gase ist als Anspringen eines Nitritabbaus durch die Nitrifikanten anzusehen. Auch die Entstehung von Nitrit während einer länger andauernden Belüftungsperiode kann als Anzeichen für das Vorliegen von Nitrifikanten gesehen werden.

Eine Reduktion von Nitrat zu Nitrit hätte bei der sehr hohen Nitratkonzentration des Niedermoorbodens eine über lange Zeit konstante Nachlieferung von Nitrit und damit anhaltende N_2O -Bildung zur Folge. Eine solche trat aber nur bei wenigen Versuchen auf, war von sehr geringer Intensität und hatte abnehmende Tendenz.

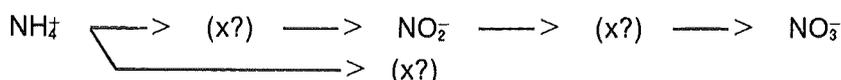
Es stellt sich nun die Frage, durch welchen natürlichen Vorgang diese N_2O -Bildung verursacht wird. Man könnte sie durch Denitrifikanten erklären, die im Oberboden aber nur schwach vertreten sind, weil die für sie notwendigen Lebensbedingungen, besonders die geringe Sauerstoffkonzentration, erst in tieferen Schichten zu finden sind. Dagegen spricht aber die konstante Abnahme der Emission, denn sowohl der Nitrat- als auch der DOC-Gehalt von 300 mg/kg Boden ist so hoch, daß er auf solch eine langsame Reaktion nicht geschwindigkeitsbestimmend wirken kann.

Eine weitere Möglichkeit wäre die Entstehung einer schwer abbaubaren Stickstoffverbindung während der Belüftungsphase. Dafür spräche, daß die Intensität der langsamen N_2O -Produktion mit zunehmender Belüftungsdauer ebenfalls zunimmt. Es wäre aber auch denkbar, daß Distickstoffoxid auf chemischem Wege durch Disproportionierungsreaktionen im Boden entsteht.

Interessant ist die Beobachtung, daß die geringe langanhaltende N_2O -Emission weder bei der Waldbodenprobe, noch bei der Moorbodenprobe im Originalzustand auftrat, sondern erst nach Behandlung mit Luft. Es liegt nahe, die Ursache des Phänomens auf diese Vorgehensweise zurückzuführen. Damit erhält die Vermutung, es handele sich um Entstehung und Abbau einer weiteren Zwischenstufe der Denitrifikation, mehr Gewicht. Es könnte sein, daß die unbekannte Verbindung nur bei großem Sauerstoffüberschuß entsteht, der im natürlichen Boden nicht vorhanden war.

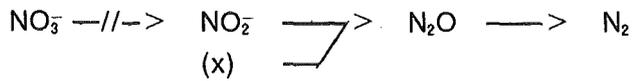
Mit diesen Ergebnissen kann man für die Stickstoffumsätze im Oberboden folgende Reaktionsschemata aufstellen:

1) Oxische Bedingungen



Die unbekannte Zwischenstufe (x) muß höher oxidiert sein als Distickstoffoxid, also mindestens in der Oxidationsstufe +II vorliegen. Sie könnte auf dem Nitrifikationsweg vor oder nach dem Nitrit liegen, aber auch parallel als Nebenprodukt entstehen.

2) Anoxische Bedingungen



Bei Abwesenheit von Sauerstoff reagieren sowohl Nitrit als auch die unbekannte Zwischenstufe zu Distickstoffoxid, welches teilweise zu Stickstoff weiterreduziert wird. Da die Identifizierung der Zwischenstufe im Hinblick auf die Charakterisierung der Stickstoffumsätze voraussichtlich keine zusätzliche Information geliefert hätte, wurde auf weitere Untersuchungen zu ihrer Bestätigung verzichtet.

7. Distickstoffoxidbildung tieferer Bodenschichten

7.1 Anoxische Bedingungen

7.1.1 Versuchsabfolge

Für die Untersuchung der N_2O -Bildung eines Bodens, in dem zumindest zeitweise Denitrifikation abläuft, wurde eine Probe aus größeren Tiefen der zuvor verwendeten Niedermoorfläche untersucht. Die Vermutung, daß diese Schicht denitrifizierend ist, folgt aus dem Tiefenprofil der Nitratkonzentration im Boden (Abbildung 1 auf Seite 2), welche bei etwa 75 cm Tiefe mit 460 mg/kg sehr hoch ist und darunter schnell auf fast Null abfällt. Die Probe stammt aus der Übergangszone von hohem zu niedrigem Nitratgehalt.

Hier die Daten der Bodenprobe und die Versuchsbedingungen:

Tiefe	1,50 - 1,75 m
Einwaage:	547 g
Feuchte:	62 %
Nitrat:	38 mg/kg Boden
Nitrit:	nicht nachweisbar
Temperatur:	10°C
Gasstrom:	50 ml/min Argon

Der Bohrkern war mehrere Wochen in der Original-Verpackungshülse des Bohrgerätes tiefgefroren gelagert. Er wurde langsam im Kühlschrank aufgetaut und ohne Zerstörung seiner Struktur in die Säule gebracht, um die darin enthaltene Atmosphäre möglichst weitgehend zu erhalten. Abbildung 23 auf Seite 47 zeigt den Verlauf der N_2O - und CO_2 -Emission.

Zunächst wird in der Bodenluft vorhandenes Distickstoffoxid ausgespült, was darauf hinweist, daß Stickstoffumsätze in dieser Tiefe ablaufen. Kohlendioxid wird ebenfalls ausgespült. Dieser Prozeß dauert etwa 30 Stunden, der pH-Wert steigt dabei von 6,8 auf 7,8. Während sich die CO_2 -Emission auf 6 $\mu\text{mol/kg h}$ konstant einstellte, wurde nach einem Tag keine N_2O -Entwicklung mehr festgestellt.

Nach 6 Tagen Standzeit unter Argon ohne Durchströmung konnte man jedoch durch erneutes Einschalten des Argonstromes wieder Distickstoffoxid und Kohlendioxid aus der Säule ausspülen, wie der zweite 'Peak' in Abbildung 23 auf Seite 47 zeigt.

Offensichtlich hatte während der Standzeit die N_2O -Bildung wieder eingesetzt, ebenfalls eine begleitende CO_2 -Bildung. Nach Beendigung des Ausspülens der während der Standzeit angesammelten Gase beobachtet man, daß die N_2O -Bildung ansteigt und nach 40 Stunden eine konstante Produktionsrate von 600 nmol $N_2O/kg h$ erreicht, was einer

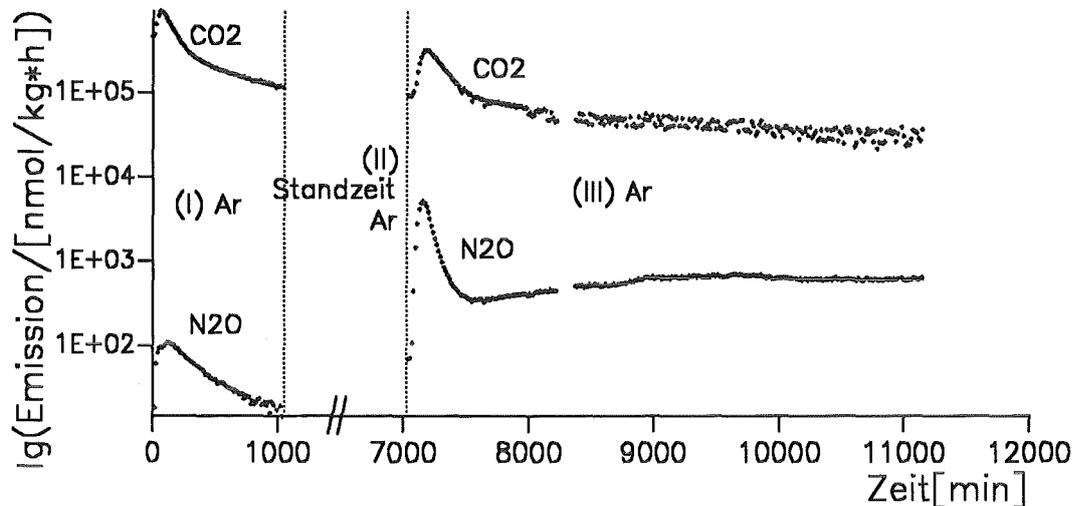


Abbildung 23. N₂O- und CO₂-Emission einer Bodenprobe der Tiefe 1,5-1,75 m in halblogarithmischer Auftragung: Nach Ausspülen der in der Standzeit gebildeten Gase stellt sich nach einigen Tagen eine konstante N₂O-Produktion ein.

Nitratabbaugeschwindigkeit von $80 \mu\text{g NO}_3/\text{kg h}$ entspricht. Diese Emission ist über mehrere Wochen nur schwach rückläufig, was man auf den Nitratverbrauch oder auf biologische Veränderungen in der Bodenprobe zurückführen könnte. Auch leichte Austrocknung der Bodenprobe bei Langzeitversuchen könnte die Ursache sein.

Die lange Umstellungsphase von 8 Tagen bis zum Erreichen einer konstanten Distickstoffoxidemission läßt sich damit verstehen, daß die Probe zuvor eingefroren war. Durch diese Behandlung wird zunächst jede biologische Aktivität vollkommen unterdrückt - dementsprechend lange dauert ihr erneutes Anspringen.

7.1.2 Auswertung und Diskussion

Mit diesem Ergebnis kann die in der Einleitung gestellte Frage, ob es möglich ist, daß der Tiefentransport von Nitrat in das Grundwasser durch eine Denitrifikationszone verhindert wird, beantwortet werden.

Untersuchungen des 25 cm höher liegenden Bohrkernabschnittes, also im Tiefenbereich 1,25-1,50 m (siehe Abschnitt 7.4) ergaben eine konstante N₂O-Emission von 540 nmol/kg h. Obwohl der Nitratgehalt dort noch wesentlich höher ist als in der hier untersuchten Tiefe von 1,50-1,75 m, erhält man nahezu die gleiche Produktionsrate. Daher wird zur Auswertung über die gesamte Nitratabfallstrecke von 75 cm bis 2 m Tiefe die gleiche Aktivität angenommen, womit sich die Denitrifikationskapazität dieser Bodenzone wie folgt bestimmen läßt:

Der durchschnittliche Nitratgehalt des Oberbodens bis 75 cm Tiefe beträgt 320 mg/kg, seine Dichte 1 kg/l. Danach errechnet sich die gesamte abzubauenende Nitratmenge zu 240 g/m².

Dem gegenüber steht eine 1,25 m mächtige Denitrifikationszone mit einer Abbaukapazität von 100 mg NO₃⁻ je Stunde und m². Somit würde es 100 Tage dauern, bis die im Oberboden enthaltene Nitratmenge beim Durchwandern der Denitrifikationsschicht abgebaut ist. Da aber bei starken Regenfällen der Tiefentransport oft schneller erfolgen kann, bestünde die Gefahr von Nitratreintrag ins Grundwasser dennoch.

Bei dieser Abschätzung ist nicht berücksichtigt, daß bei der Denitrifikation hauptsächlich Stickstoff entsteht, während das hier gemessene Distickstoffoxid nur ein in geringem Ausmaß auftretendes Nebenprodukt darstellt. In der Literatur findet man N₂O/N₂-Verhältnisse von 1:5 bis 1:50 [12], [39], [43], [45].

Die Ergebnisse wurden teils an Freilandexperimenten an der Bodenoberfläche, teils an Inkubationsversuchen mit isolierten Bakterienstämmen gewonnen. Untersuchungen an natürlichen Böden in dieser Tiefe liegen noch nicht vor. Dennoch kann von der Übertragbarkeit der Ergebnisse ausgegangen werden, denn das N₂O/N₂-Verhältnis hängt hauptsächlich vom verwendeten Bakterienstamm ab und nicht so stark von den äußeren Bedingungen [42], [45].

Mosier et al. [41] finden in Freilandversuchen in den ersten Tagen nach Düngung ein N₂O/N₂-Verhältnis von 1:5, allerdings hält nach Abklingen der N₂O-Produktion die Stickstoff-Bildung noch 14 Tage an. Weier et al. [65] untersuchten auch die pH-Abhängigkeit des N₂O/N₂-Verhältnisses und fanden im pH-Bereich oberhalb 6, in dem auch der hier untersuchte Boden liegt, weniger als 1% Distickstoffoxid im emittierten Gasgemisch. Bei saureren Böden kann der Anteil an Distickstoffoxid aber 80% überschreiten.

Mit diesen Daten errechnet sich die Abbaupzeit des Nitrats auf 2-20 Tage, was auch der Wanderungszeit des Bodenwassers durch die Denitrifikationszone entspricht.

7.2 Temperaturabhängigkeit

7.2.1 Experimentelles

Obwohl in dieser Bodentiefe keine großen Temperaturschwankungen zu erwarten sind, wurde die Temperaturabhängigkeit der CO₂- und N₂O-Bildung im Bereich 5-30 °C untersucht. Beginnend bei 5°C wurde die Temperatur nach Einstellung konstanter Gasemission stufenweise um jeweils 5°C erhöht.

Abbildung 24 auf Seite 49 zeigt die Original-Kurve: Bei 5°C lag die CO₂-Bildung noch unterhalb der detektierbaren Grenze. Auffallend ist, daß sich die konstante CO₂-Bildung innerhalb von maximal 30 Minuten einstellt, während dies bei der N₂O-Bildung einige

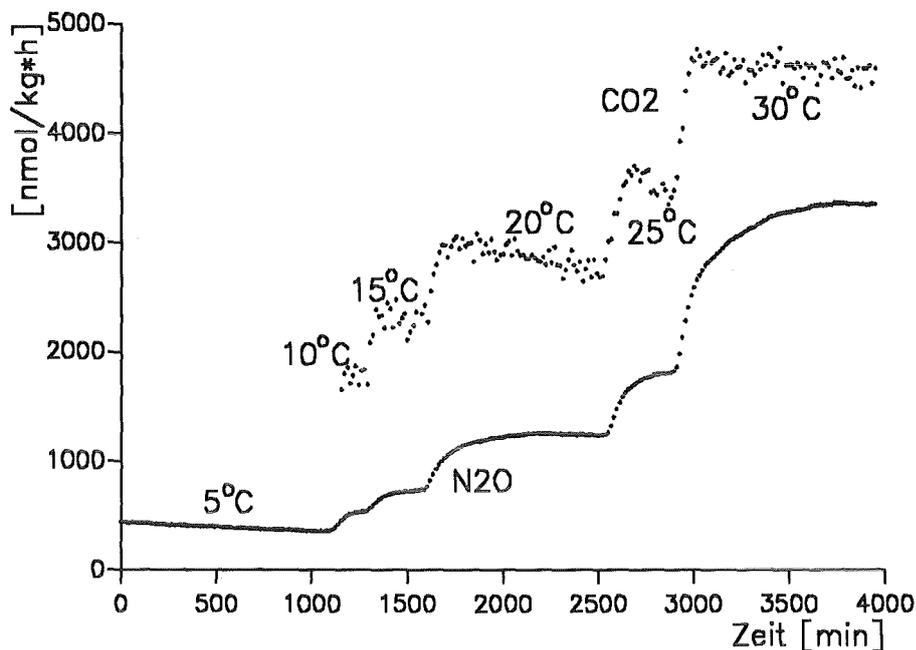


Abbildung 24. Temperaturabhängigkeit der CO₂- und N₂O-Bildung: Die Neueinstellung konstanter Emission nach Temperaturerhöhung ist bei N₂O viel langsamer als bei CO₂.

Stunden dauern kann. Wenn diese Verzögerung durch die Umstellung der Bakterien auf die veränderten Bedingungen zustande kommt, würde das bedeuten, daß das gleichzeitige Entstehen von Kohlendioxid auf eine andere Reaktion zurückzuführen ist, sonst wäre hier auch eine Verzögerung zu beobachten.

7.2.2 Auswertung

Trägt man die Logarithmen der Produktionsraten gegen die reziproke Temperatur auf, so erhält man für jedes Gas eine Gerade, aus deren Steigung man auf die Aktivierungsenergie der Reaktion schließen kann.

Die unterschiedlichen Steigungen der beiden Geraden weisen ebenfalls darauf hin, daß die N₂O-Bildung und die Atmung unabhängig voneinander verlaufen. So könnte es zum Beispiel möglich sein, daß der N₂O-Anteil der Denitrifikation mit zunehmender Temperatur ansteigt, während die CO₂-Bildung die Temperaturabhängigkeit der gesamten Reaktion widerspiegelt.

Die Aktivierungsenergien der beiden Reaktionen lassen sich über die Arrheniusgleichung berechnen:

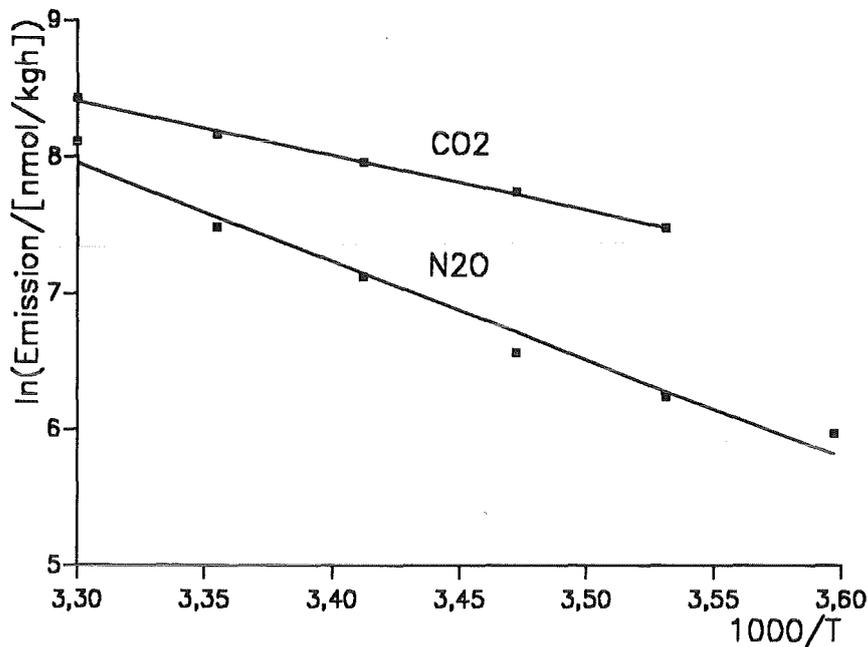


Abbildung 25. Logarithmierte Temperaturkurven: An den unterschiedlichen Steigungen der Geraden ist zu erkennen, daß die gleichzeitig entstehenden Gase nicht derselben Reaktion entstammen.

$$\ln(k)_T = \frac{-\Delta E^x}{R T} + A$$

Es bedeuten:

$(k)_T$ temperaturabhängige Geschwindigkeitskonstante

ΔE^x Aktivierungsenergie der Abbaureaktion

A Konstante

T Temperatur

R universelle Gaskonstante

Im vorliegenden Fall ist die Geschwindigkeitskonstante nicht direkt gemessen worden. Man kann jedoch, auch wenn das Geschwindigkeitsgesetz der Reaktion nicht bekannt ist, nach J.W. Hamaker [22] die Aktivierungsenergie folgendermaßen ermitteln:

Ausgehend von einem allgemeinen Geschwindigkeitsgesetz

$$r = (k)_T \times f(c)$$

erhält man durch Logarithmieren:

$$\ln r = \ln(k)_T + \ln f(c)$$

Dabei ist $f(c)$ eine unbekannte Funktion der Konzentrationen aller an der Reaktion beteiligten Substanzen. Nun kann die Arrhenius-Gleichung eingesetzt werden:

$$\ln r = \frac{-\Delta E^x}{R T} + A + \ln f(c)$$

Ist die Funktion $f(c)$ temperaturunabhängig und wurden die Messungen der Reaktionsgeschwindigkeit bei konstanten Konzentrationen durchgeführt, so kann der Term $\ln f(c)$ in die Konstante A einbezogen werden:

$$\ln r = \frac{-\Delta E^x}{R T} + A'$$

Multipliziert man die negative Steigung der Arrhenius-Geraden mit der Gaskonstanten, so erhält man die Aktivierungsenergie.

Die nach diesem Verfahren berechneten Aktivierungsenergien ergeben

für die CO_2 -Bildung: 33 ± 1 kJ/mol

und für die N_2O -Bildung: 60 ± 4 kJ/mol.

In der Literatur finden sich nur wenige Vergleichsdaten zu Aktivierungsenergien. In Freilandexperimenten wird zwar die Bodentemperatur meist parallel aufgezeichnet, aber nur selten eine Korrelation gefunden, weil andere Boden- und Witterungsparameter die N_2O -Bildung stärker beeinflussen.

Mit Hilfe von Inkubationsversuchen finden Conrad et al. [13] 61-76 kJ/mol als Aktivierungsenergie für die N_2O -Produktion, Denmead et al. [16] 76-83 kJ/mol. Focht und Verstraete [20] ermitteln Aktivierungsenergien zwischen 28 und 166 kJ/mol in Abhängigkeit der äußeren Bedingungen. Slemr et al. [60] finden an andalusischen Böden 36-55 kJ/mol. Aus der Übereinstimmung der in dieser Arbeit gefundenen Aktivierungsenergien mit den Literaturdaten kann geschlossen werden, daß die beobachtete Kohlendioxid- und Distickstoffoxid-Bildung auf biochemische Reaktionen zurückzuführen ist.

In den wenigsten Arbeiten zum Thema Denitrifikation wird die CO_2 -Bildung parallel verfolgt. In der Arbeit von Fine et al. [17] werden Geschwindigkeitskonstanten für CO_2 -Produktion bei 35°C angegeben, daraus errechnet sich eine Aktivierungsenergie von 22 kJ/mol. Der Versuch wurde allerdings unter aeroben Bedingungen durchgeführt. Im Rahmen einer Diplomarbeit [29] wurden Aktivierungsenergien der CO_2 -Bildung bei Belüftung zu 38-52 kJ/mol ermittelt. Es scheint, als hinge die Kinetik der Kohlenstoffmine-

realisation nicht von der Verfügbarkeit von molekularem Sauerstoff ab. Wie schon aufgrund zweier weiterer Beobachtungen - sowohl die Temperaturabhängigkeit als auch die Umstellungsgeschwindigkeit nach Temperaturerhöhung ist bei CO_2 - und N_2O -Bildung verschieden - vermutet, ist auch dies ein Hinweis, daß die Reduktion von Nitrat und die Bildung von Kohlendioxid als unabhängige Prozesse zu betrachten sind.

7.3 Distickstoffoxidbildung bei wechselnder Sauerstoffversorgung

7.3.1 Einleitung

Die Ergebnisse an der Tiefenprobe unter anoxischen Bedingungen haben gezeigt, daß der Boden in der vermuteten Denitrifikationszone völlig anderes Verhalten zeigt, als an der Oberfläche. Während die Mikroorganismen in der gut durchlüfteten oberen Bodenzone nur Nitrit, nicht aber Nitrat reduzieren können, sind die in 1-2 m Tiefe lebenden Denitrifikanten in der Lage, große Mengen Nitrat in kurzen Zeiträumen abzubauen und dabei eine konstante N_2O -Entwicklung aufrecht zu erhalten.

Nachdem die Stickstoffumsetzungen von Oberflächenproben unter wechselnden Belüftungsverhältnissen untersucht worden sind, ist es nun interessant, auch eine Probe des Tiefenprofils in dieser Hinsicht zu untersuchen.

7.3.2 Experimente und Beobachtungen

Verwendet wurde wieder derselbe Bohrkernabschnitt aus dem Donauried bei Langenau mit folgenden Daten:

Tiefe:	1,50 - 1,75 m
Gewicht:	547 g
Temperatur:	10°C
Feuchte:	62 %
Nitrat:	38 mg/kg Boden
Nitrit:	nicht nachweisbar

Es wurden hintereinander Versuche mit abwechselnd Argon und Luft als Spülgas durchgeführt. Die zeitliche Abfolge der Bedingungen und die dabei gemessenen N_2O -Bildungskurven sind in Abbildung 26 auf Seite 53 halblogarithmisch dargestellt.

Ausgangssituation war die schon in Abbildung 23 auf Seite 47 gezeigte konstante N_2O -Emission der Probe unter Argon, die in Abbildung 26 auf Seite 53 nochmals als zweite Versuchsphase eingetragen ist. Die Probe wurde nun einige Stunden mit Luft durchspült und anschließend 4 Tage lang unter Luft undurchspült stehen gelassen. Die bei erneuter Spülung mit Argon kurzzeitig auftretende hohe N_2O -Konzentration wird zu-

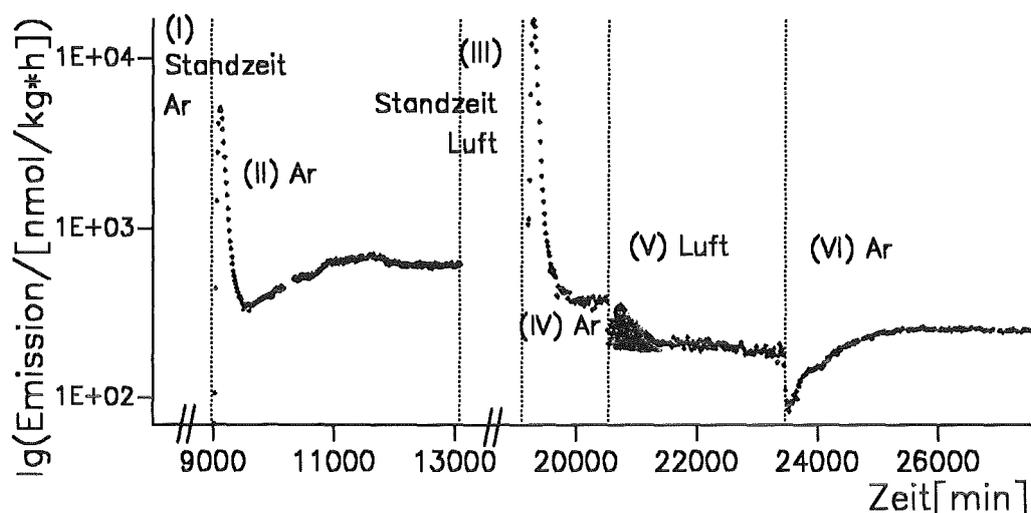


Abbildung 26. N₂O-Bildungskurven bei wechselnder Atmosphäre in halblogarithmischer Auftragung: Auch unter sauerstoffhaltiger Atmosphäre ist noch deutliche Distickstoffoxidbildung zu erkennen.

nächst als Ausspülen des während der Standzeit gebildeten Distickstoffoxids interpretiert. Diese Beobachtung steht im Gegensatz zu den Ergebnissen an Oberflächenproben, bei denen unter sauerstoffhaltiger Atmosphäre keine N₂O-Bildung beobachtet wurde.

Im Anschluß an die Ausspülzeit stellt sich wieder eine konstante Emission ein, wie man es unter anoxischen Bedingungen von dieser Probe erwartet. Die Emission ist allerdings gegenüber der vorherigen anoxischen Versuchsphase etwas zurückgegangen. Man könnte vermuten, daß durch die Behandlung der Probe mit Luft die vorwiegend anaerob lebende Denitrifikantenpopulation geschädigt wird. Auch Austrocknung der Bodenprobe könnte die Ursache sein, ist aber in diesem Fall unwahrscheinlich, da während der Belüftungszeit keine Durchspülung stattfand.

Die Beobachtung, daß in dieser Probe auch unter Sauerstoff Distickstoffoxid entsteht, führte zu der Idee, auch die Belüftungsphase kontinuierlich aufzuzeichnen. Das Ergebnis zeigt Abschnitt (V) in Abbildung 26. In den ersten Stunden ist ein Peak erhöhter N₂O-Entwicklung von etwa 8 Stunden Dauer zu erkennen. Dies kann kein Ausspüleffekt sein, da dem Versuch keine Standzeit vorausging.

Die Frage war nun, ob es sich dabei um einen einmaligen Effekt handelt, oder ob er sich reproduzieren läßt. Daher wurde die Versuchsfolge Argon - Luft noch zweimal wiederholt. Abbildung 27 auf Seite 54 zeigt die zeitliche Abfolge und die Ergebnisse der Wiederholungsversuche.

Deutlich zu erkennen ist die Wiederholbarkeit der Erscheinung, sie tritt sogar mit größerer Intensität auf, als beim ersten Versuch. Man kann dies auf eine längere Dauer der

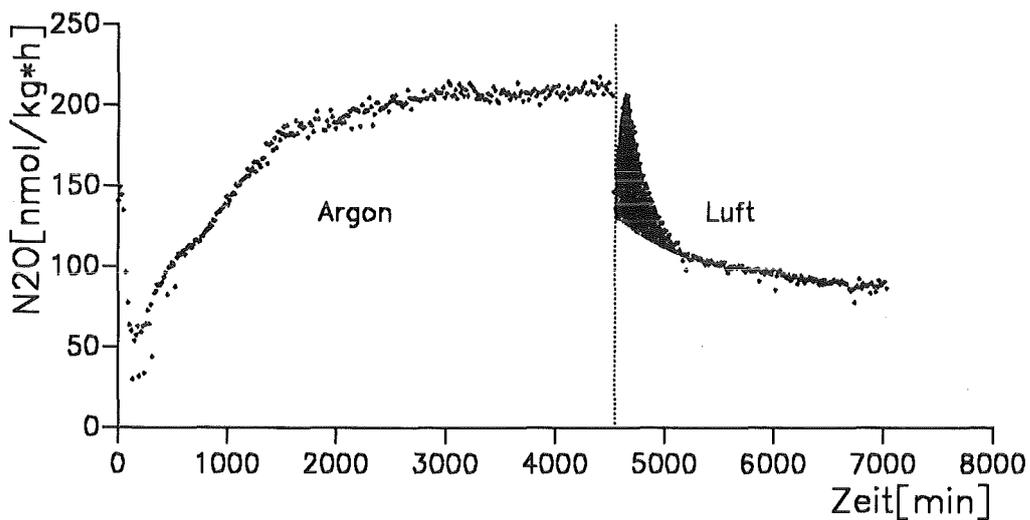
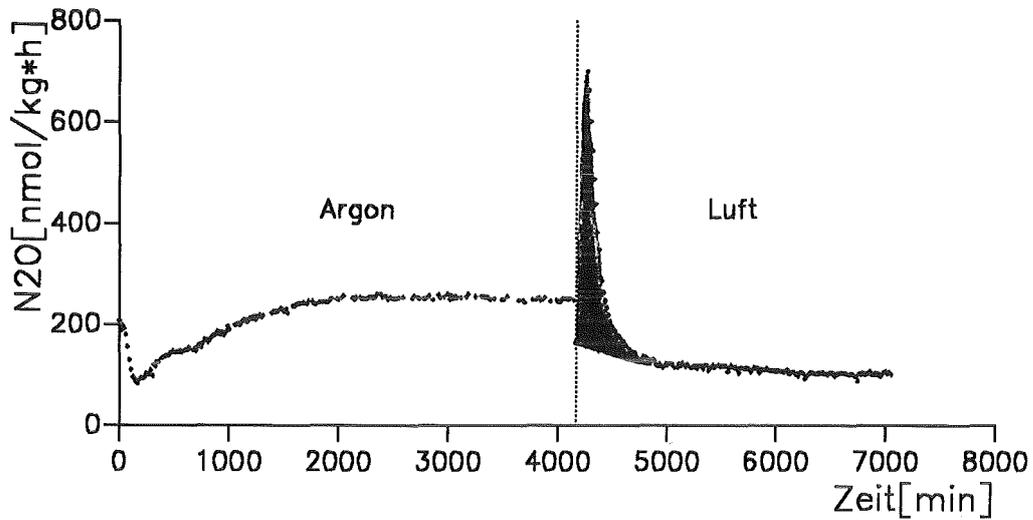


Abbildung 27. N_2O -Bildungskurven bei wechselnder Atmosphäre: Zu Beginn der Belüftungsphasen ist ein Peak erhöhter N_2O -Bildung zu erkennen. Bei Begasung mit Argon dagegen geht die Produktion zunächst stark zurück, bevor sie sich wieder konstant einstellt.

anoxischen Periode zurückführen, allerdings ist anhand der drei Versuche die Abhängigkeit von diesem Zeitraum noch nicht sicher zu erkennen.

Erneuter Wechsel zu anoxischer Atmosphäre führt zunächst zu einem steilen Abfall der N_2O -Emission, innerhalb von 24 Stunden stellt sich aber wieder eine konstante Produktion ein. Auch diese ist, wie schon besprochen, gegenüber der vorhergehenden anoxischen Emission (IV) etwas geringer.

Neben dem oben beschriebenen Maximum der N_2O -Produktion bei Belüftung beobachtet man einen Einbruch derselben beim Wechsel der Atmosphäre von Luft nach Argon, welcher sich über mehrere 100 Minuten erstreckt, obwohl der Umschaltvorgang in 2 Minuten abgeschlossen ist. Dies weist darauf hin, daß die Emission von Distickstoffoxid bei An- und Abwesenheit von Sauerstoff auf zwei verschiedene biologische Prozesse zurückzuführen ist. Bei Umstellung von Luft auf Argon benötigt die Bodenflora etwa 24 Stunden, um eine konstante Produktionsrate zu erreichen. Beim Wechsel von Argon nach Luft findet man auch eine solche Umstellungsphase, die allerdings hier schnell durch den Abbaupik der unbekannt Substanz überlagert wird.

7.3.3 Auswertung

Logarithmiert man die N_2O -Bildungskurven der Belüftungsphasen ab dem Zeitpunkt maximaler Emission, so läßt sich die entstehende Funktion wieder durch zwei Geraden beschreiben:

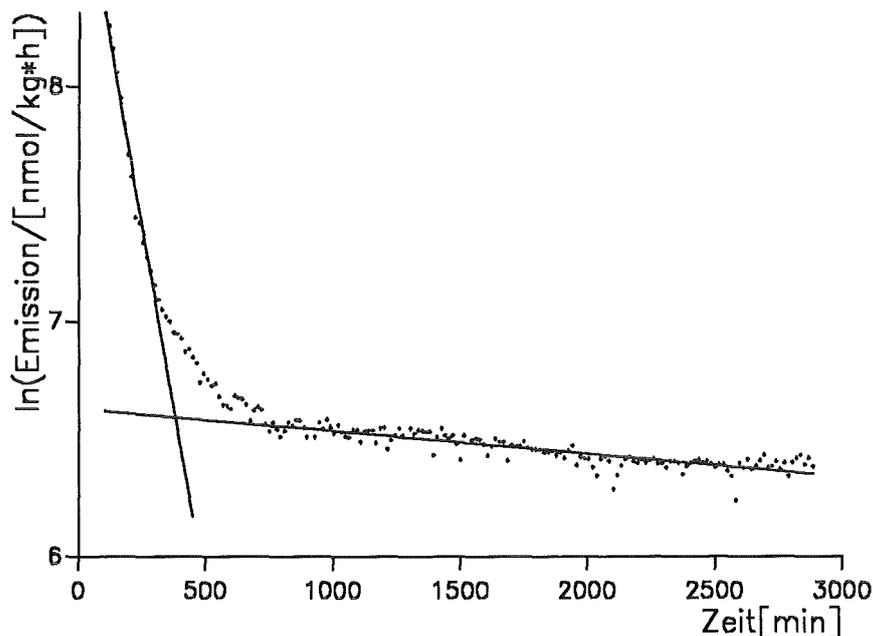


Abbildung 28. Logarithmierte N_2O -Emissionskurve unter aeroben Bedingungen: Die Gesamtemission setzt sich aus zwei unabhängig voneinander ablaufenden Vorgängen zusammen, die durch die beiden Geraden beschrieben werden.

Ähnlich den Ergebnissen an Oberflächenproben kann man auch hier vermuten, daß in der vorangegangenen anoxischen Phase eine Substanz entstanden ist, die unter Einwir-

kung von Luft leicht zu Distickstoffoxid oxidiert werden kann, aber nur in begrenzten Mengen zur Verfügung steht. Untersuchungen zu deren Identifizierung sind in Kapitel 8 ausgeführt.

Der gemessenen N_2O -Bildungskurve liegen also zwei Reaktionen der Kinetik erster Ordnung zugrunde, die stark unterschiedliche Geschwindigkeitskonstanten haben müssen. Die steile Gerade beschreibt den Abbau der unbekanntes Substanz, während die zuvor als nahezu konstant betrachtete N_2O -Bildung durch die flach abfallende Gerade dargestellt wird.

Zur Auswertung muß die gemessene gesamte N_2O -Bildung in die beiden Einzelprozesse aufgetrennt werden. Dazu wird die flachere Gerade auf den Zeitpunkt Null extrapoliert, entlogarithmiert und die Resultierende von der gemessenen Kurve abgezogen. Die Differenz stellt dann die schnelle Abbaureaktion der unbekanntes Substanz dar. Abbildung 29 verdeutlicht dieses Vorgehen.

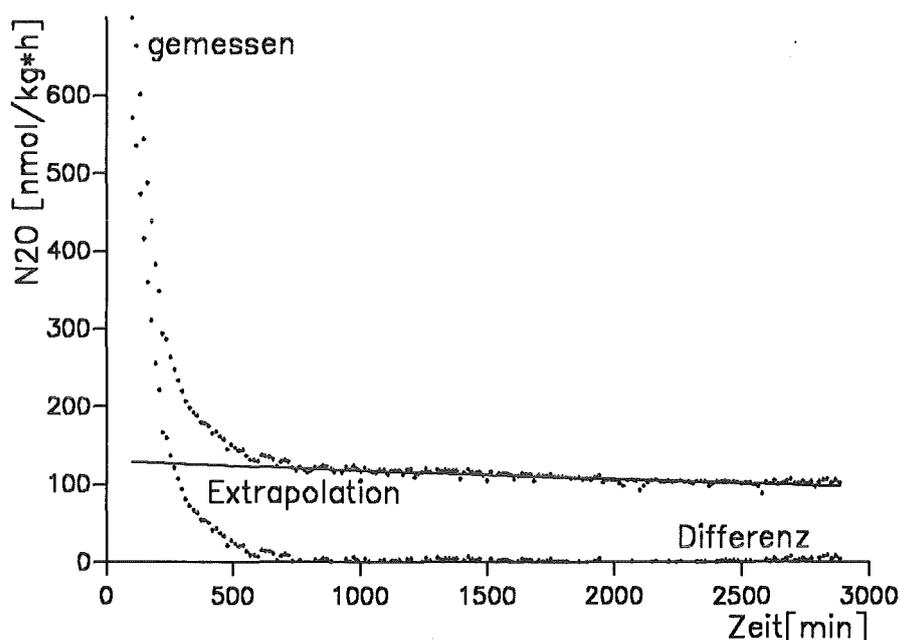


Abbildung 29. Auftrennung der N_2O -Bildung in Einzelprozesse: Logarithmiert man die mit 'Differenz' bezeichnete Kurve, kann man aus der Steigung der entstehenden Geraden die Geschwindigkeitskonstante der Reaktion bestimmen.

Aus der halblogarithmischen Auftragung dieser Kurve läßt sich die für die Reaktion charakteristische Steigung, die für eine irreversible Reaktion erster Ordnung gleich der negativen Geschwindigkeitskonstanten bei der Versuchstemperatur ist, bestimmen. In Ta-

belle 5 auf Seite 57 sind die auf diese Weise ermittelten Geradensteigungen für die drei Versuche zusammengefaßt:

Tabelle 5. Steigungen der logarithmierten N₂O-Emissionskurven während der Belüftungsphase: Die Steigungen spiegeln die Geschwindigkeitskonstanten der zwei N₂O-Bildungsreaktionen wider.

*) Die Standardabweichungen errechnen sich zu $0,02 \times 10^{-4}/\text{min}$

	Steigung der steilen Geraden	Steigung der flachen Geraden *)
1. Versuch	$-6,1 \pm 0,1 \times 10^{-3}/\text{min}$	$-1,1 \times 10^{-4}/\text{min}$
2. Versuch	$-6,9 \pm 0,1 \times 10^{-3}/\text{min}$	$-1,0 \times 10^{-4}/\text{min}$
3. Versuch	$-6,0 \pm 0,1 \times 10^{-3}/\text{min}$	$-1,1 \times 10^{-4}/\text{min}$

Man erhält, trotz unterschiedlicher Intensität der N₂O-Emission bei den drei Versuchen, sehr gut reproduzierbare Geradensteigungen. Daraus läßt sich schließen, daß es sich in allen drei Fällen um das gleiche Phänomen handelt.

7.3.4 Zusammenfassung

Die wichtigsten Ergebnisse der Untersuchungen an der Probe des Niedermoorbodens aus der Tiefe 1,50-1,75 m sind im folgenden nochmals zusammengestellt:

1. Stellt man in der Probe anoxische Bedingungen ein, indem man sie mit Argon durchspült, so beobachtet man zunächst ein Ausspülen der darin enthaltenen Gase Distickstoffoxid und Kohlendioxid, die demnach auch unter natürlichen Bedingungen in dieser Tiefe entstehen.
2. Nach einigen Tagen scheinbarer Inaktivität der Mikroflora setzt eine stetig steigende Distickstoffoxidemission ein, die nach weiteren 3-4 Tagen konstant wird. Sie beträgt etwa 600 nmol/kg/h und ist über mehrere Wochen nur schwach rückläufig.
3. Setzt man nach 3-4 Tagen anoxischer Begasung Luft als Spülgas ein, so wird die N₂O-Bildung nicht wie erwartet unterdrückt. Statt dessen beobachtet man einen steilen Anstieg und Wiederabfall über etwa 8 Stunden. Auch im Anschluß an diesen Vorgang ist die Emission mit etwa 100 nmol/kg/h noch deutlich meßbar.
4. Wechselt man nach dem in Punkt 3. beschriebenen Versuch wieder auf Argonatmosphäre, so geht die Distickstoffoxidkonzentration plötzlich stark zurück, steigt dann aber wieder an und erreicht nach etwa 24 Stunden erneut einen konstanten Wert.

7.3.5 Interpretation

Die in Punkt 2. angeführte Beobachtung konstanter N_2O -Produktion unter anoxischen Bedingungen bestätigt die Vermutung, daß in dieser Tiefe vorwiegend denitrifizierende Mikroflora vorhanden ist. Die wochenlang anhaltende Emission weist auf Abbau von Nitrat hin, das in ausreichenden Mengen vorliegt, um nicht begrenzend auf die Reaktionsgeschwindigkeit zu wirken. Der Boden verhält sich also genau gegensätzlich zu den Oberflächenböden, bei denen sich dieser Befund wegen fehlender Denitrifikanten nicht ergab. Ausführliche vergleichende Betrachtungen der beiden Böden sind in der abschließenden Diskussion wiedergegeben.

Überraschend sind die in Punkt 3. beschriebenen Ergebnisse. Der zu Beginn der Belüftungsphase auftretende Distickstoffoxidpeak muß vom Abbau einer Substanz herrühren, die nur während der anoxischen Phase entstanden sein kann. Da sie durch Oxidation Distickstoffoxid bildet, muß sie in einer kleineren Oxidationsstufe als dieses vorliegen. In Frage kämen Ammonium, Hydroxylamin oder Hydrazin bzw. deren organische Derivate. Nähere Untersuchungen zur Identifikation dieser Substanz finden sich in Kapitel 8.

Interessant ist auch, daß selbst nach Abklingen der Abbaureaktion eine anhaltende N_2O -Bildung zurückbleibt. Diese könnte durch aerobe Denitrifikation hervorgerufen werden, ein Phänomen, das auch schon in der Literatur beschrieben ist. Dabei handelt es sich um die Fähigkeit mancher Bakterien, gleichzeitig Sauerstoff und Nitrat als Oxidationsmittel für die Atmung einzusetzen. In solchen Mikroorganismen findet man nitrat- und nitritreduzierende Enzyme, obwohl sie unter aeroben Bedingungen und ohne Zusatz von Nitrat angezüchtet wurden [50].

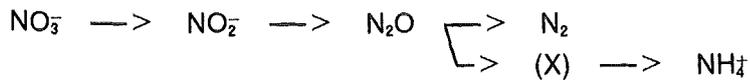
Auch das in Böden weit verbreitete Bakterium 'Paracoccus denitrificans' ist zu aerober Denitrifikation befähigt [34]. Die hier gefundenen Ergebnisse stellen also keinen Ausnahmefall dar, sondern eher das übliche Verhalten denitrifizierender Bakterien.

Dies bedeutet aber für die Denitrifikationszone in dem untersuchten Boden, daß es keine notwendige Voraussetzung ist, daß dort ständig anaerobe Verhältnisse herrschen. auch bei Zutritt von Luft - zum Beispiel bei länger anhaltender Trockenheit - kommt die Nitratreduktion nicht zum Stillstand, sondern wird, wenn auch mit verminderter Geschwindigkeit, fortgesetzt.

Beim erneuten Wechsel von Luft nach Argon tritt - im Gegensatz zu den Oberflächenproben - keine Abbaureaktion von Nitrit auf. Auch Aufgabe von $NaNO_2$ führt zu keiner auffälligen Änderung der konstanten N_2O -Bildung. Auch diese Ergebnisse zeigen, daß die Mikroflora des Tiefenbodens völlig anderes Verhalten zeigt, als die des Oberbodens. Nitrat- und nitritreduzierende Enzyme, die an der Oberfläche anhand des Auf- und Abbaus von Nitrit nachgewiesen werden konnten, fehlen im Tiefenboden gänzlich.

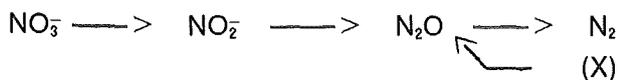
Anhand der beschriebenen Ergebnisse kann man für die Stickstoffumsätze in 1,50-1,75 m Tiefe folgende Reaktionsschemata aufstellen:

1) Anoxische Bedingungen



Der größte Teil des bei der Denitrifikation entstehenden Distickstoffoxid wird zu Stickstoff weiterreduziert, aber auch Ammonium als Endprodukt ist möglich. Die noch unbekannte Zwischenstufe (X) kann nur auf dem Weg der Reduktion zu Ammonium entstehen, da sie eine Oxidationsstufe zwischen -1 und -3 haben muß.

2) Oxische Bedingungen



Der Abbau der Substanz (X) muß eine Oxidationsreaktion sein, sonst würde man ihn nicht nur unter sauerstoffhaltiger Atmosphäre beobachten. Dagegen wird die anhaltende langsamere N_2O -Bildung durch aerobe Denitrifikation hervorgerufen, bei der es sich - trotz oxischer Bedingungen - um eine Reduktionsreaktion handelt. Die Denitrifikationsaktivität von Bakterien, die dazu in der Lage sind, wird durch Sauerstoff nicht vollkommen unterdrückt, sondern nur abgeschwächt.

7.4 Ergänzende Untersuchungen

Um Aufschluß über den Verlauf der Denitrifikationsaktivität in Abhängigkeit von der Bodentiefe zu gewinnen, wurden noch zwei weitere Abschnitte desselben Bohrkernes untersucht. In Tabelle 6 sind die Daten der Proben und die Versuchsbedingungen aufgelistet, zum leichteren Vergleich wurden auch die der zuvor untersuchten Probe - hier mit 7) bezeichnet - nochmals hinzugefügt.

Tabelle 6. Eigenschaften der untersuchten Bodenproben und Versuchsbedingungen Abbaureaktion

	Probe 6)	Probe 7)	Probe 8)
Tiefe	1,25-1,50 m	1,50-1,75 m	1,75-2,00 m
Feuchte	73 %	62 %	70 %
Einwaage	485 g	547 g	432 g
Nitrat	272 mg/kg	38 mg/kg	nicht nachweisbar
Temperatur	10 °C	10 °C	10 °C
Gasstrom	50 ml/min Ar	50 ml/min Ar	50 ml/min Ar bzw. 35 ml/min Luft

- Probe 6)

Bei Begasung mit Argon zeigte die Probe 6), die noch deutlich in der Denitrifikationszone liegen sollte, das gleiche Verhalten wie die zuvor ausgiebig untersuchte Probe 7). Zunächst wurde vorhandenes Distickstoffoxid und Kohlendioxid ausgespült. Die folgenden 4 Tage war keine Bildung von Distickstoffoxid zu beobachten, danach stieg dessen Produktionsrate stetig an, bis sie nach weiteren 3 Tagen bei 540 nmol/kg h konstant blieb.

Obwohl der Nitratgehalt dieser Probe etwa siebenmal größer ist als der der darunterliegenden Schicht, findet man bei beiden die gleiche Distickstoffoxidemission. Dieser Befund zeigt deutlich, daß hier die Denitrifikationsrate nicht von der Nitratkonzentration abhängt, sondern von der Populationsdichte der Mikroorganismen, bzw. ihrer Aktivität. Ein weiterer Beweis dafür ist die Tatsache, daß Aufgabe von Nitrat auf die Bodenprobe keinen Einfluß auf deren N_2O -Emission hatte.

- Probe 8)

Ganz anders verhielt sich die Probe 8): Schon das Fehlen eines Ausspülpeaks von Distickstoffoxid wies darauf hin, daß in dieser Tiefe keine starke N_2O -Bildung mehr stattfindet. Eine solche konnte auch nach mehreren Tagen Argonbegasungszeit nicht gefunden werden.

Um zu erkennen, ob die Probe keine N_2O -Produktion zeigt, oder ob diese nur zu schwach ist, um kontinuierlich meßbar zu sein, wurde die Säule 3 Tage lang unter Argon stehen gelassen. Anschließend ließ sich zwar ein schwacher N_2O -Peak ausspülen, aber immer noch keine kontinuierliche Produktion messen. Die Probe emittiert offensichtlich nur sehr wenig Distickstoffoxid.

Bei anschließender Begasung mit Luft entstand weder der an Probe 7) mehrmals beobachtete Abbaupik der während der Denitrifikation entstehenden unbekanntes Zwischenverbindung, noch die typische anhaltende N_2O -Produktion. Auch dies weist darauf hin, daß die biologische Aktivität dieser Probe gegenüber der der beiden anderen stark reduziert ist.

Da in der Probe kein Nitrat mehr gefunden wurde, liegt die Vermutung nahe, daß dies die Ursache für die geringe Denitrifikationsaktivität ist. Daher wurden während Begasung mit Argon 44 mg/kg NO_3^- aufgegeben. Wie Abbildung 30 auf Seite 61 zeigt, setzte sofort eine 2000 Minuten lang ansteigende und anschließend wieder abfallende N_2O -Bildung ein.

Der Abfall der Emission gab Anlaß zu der Annahme, die aufgegebene Nitratmenge sei nicht ausreichend, um eine konstante Produktion aufrecht zu erhalten. Daher wurde nochmals die gleiche Menge an Nitrat zugesetzt, worauf die Emission zwar erneut anstieg, dann aber bei nur 180 nmol/kg h konstant blieb.

Man erkennt aus dem Versuch, daß fehlendes Nitrat zwar eine Ursache für die geringe biologische Aktivität war, daß aber auch bei ausreichender Versorgung lange nicht die

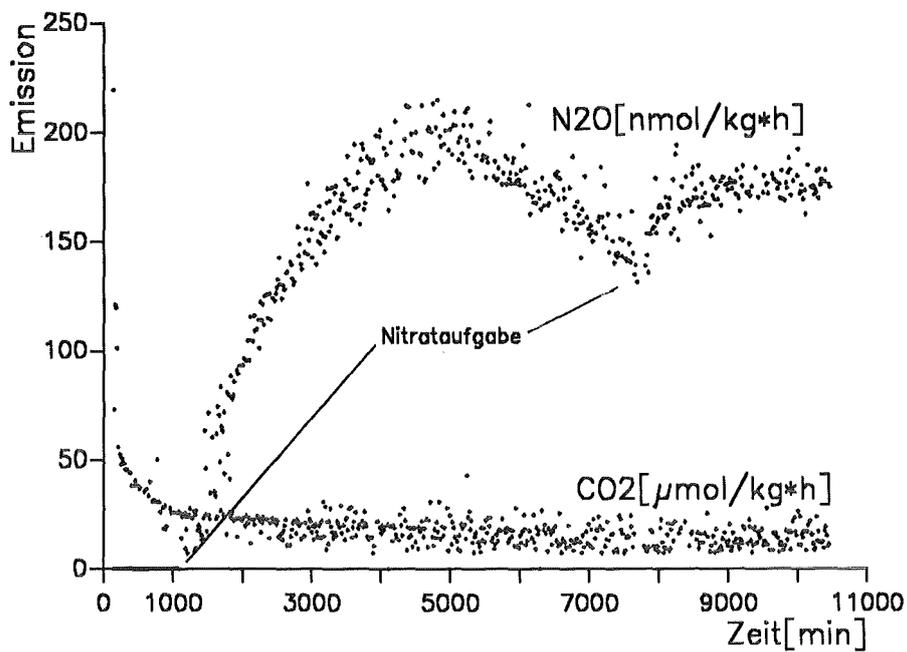


Abbildung 30. N₂O-Bildungskurve nach Aufgabe von Nitrat

Produktionsraten der darüberliegenden Proben erreicht wurden. Die Populationsdichte der Denitrifikanten muß in diesem Tiefenbereich deutlich abgenommen haben, was dadurch verständlich wird, daß die Mikroorganismen in der Natur hier keine ausreichende Versorgung an Nitrat und leicht mineralisierbarem Kohlenstoff mehr vorfinden.

8. Identifizierung der bei der Denitrifikation entstehenden Zwischenstufe

8.1 Experimente

Die Substanz, die die während der Belüftungsphase anfänglich hohe N_2O -Emission verursacht, muß im Verlauf der Nitratreduktion als Neben- oder Endprodukt entstehen. Ihre Oxidationsstufe muß kleiner sein als die von Distickstoffoxid, das durch Oxidation wieder daraus gebildet wird. In der Literatur wird erwähnt, daß manche Bakterienarten die Reduktion bis zum Ammonium und nicht nur bis zum Stickstoff durchführen. Nur auf diesem Weg kann die gesuchte Substanz gebildet werden.

Am wahrscheinlichsten schien es zunächst, daß es sich um das Endprodukt selbst, nämlich Ammonium handelt. Um dies zu prüfen, wurden 5 ml einer an Ammoniumionen 1 mmolaren Lösung während der Belüftungsphase bei konstanter N_2O -Produktion auf die in Kapitel 7 untersuchte Bodenprobe, an welcher der Effekt beobachtet worden war, aufgegeben. Innerhalb der nächsten 24 Stunden war keine erhöhte N_2O -Bildung festzustellen.

Daraufhin wurde die Abbaubarkeit von Hydrazin untersucht: Aufgabe von 10 μmol Hydrazin in 5 ml Wasser hatte keinen Einfluß auf die Emission von Distickstoffoxid.

Nach Zugabe einer Lösung von 20 μmol Hydroxylamin in 5 ml Wasser nimmt die N_2O -Produktion in der Bodenprobe den in Abbildung 31 auf Seite 63 dargestellten Verlauf. Um sicherzustellen, daß das zusätzlich entstandene Distickstoffoxid nicht durch chemische Reaktion mit den vorher aufgegebenen Stickstoffverbindungen entstanden ist, wurde der Versuch an einer neuen Bodenprobe aus dem gleichen Tiefenbereich 1,50-1,75 m zweimal wiederholt. Gleiche Voraussetzungen zu der anderen Probe wurden dadurch geschaffen, daß die neue Probe vor der Aufgabe von Hydroxylamin zuerst einige Tage - bis zu konstanter Distickstoffoxidbildung - mit Argon gespült wurde, anschließend, ebenfalls bis zur gleichbleibenden Emission, mit Luft. Es zeigte sich der gleiche Befund.

8.2 Auswertung und Diskussion

Zur Auswertung wurde wie in Kapitel 7 beschrieben die Steigung des jeweils abfallenden Astes aus der logarithmischen Auftragung bestimmt. Außerdem wurden von den drei Versuchen die N_2O -Peaks integriert und die Gesamtmenge an als Distickstoffoxid emittiertem Stickstoff mit der aufgegebenen Menge Hydroxylamin verglichen. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 7.

Tabelle 7. Steigungen der logarithmischen Auftragung und N₂O-Gesamtemission nach Aufgabe von Hydroxylamin: Die Standardabweichungen der Steigungen betragen $0,1 \times 10^{-3}/\text{min}$

	Steigung	Aufgabe Hydroxylamin	Gesamter als N ₂ O emittierter Stickstoff	als N ₂ O emittierter Hydroxylaminanteil
'alte' Probe	$-8,4 \times 10^{-3}/\text{min}$	20 μmol	7,8 μmol	39 %
1. Wiederholung	$-6,5 \times 10^{-3}/\text{min}$	15 μmol	7,9 μmol	53 %
2. Wiederholung	$-6,5 \times 10^{-3}/\text{min}$	15 μmol	8,6 μmol	57 %

Beim Versuch an der zuvor verwendeten Bodenprobe ergibt sich eine steiler abfallende Gerade; der als Distickstoffoxid emittierte Anteil des aufgegebenen Hydroxylamin ist geringer als bei den Wiederholungsversuchen. Da dieser Probe zuvor einige andere Stickstoffverbindungen, die nicht unter N₂O-Emission abgebaut wurden, aufgegeben worden waren, könnte der biologischen Abbaureaktion eine chemische überlagert sein, die das

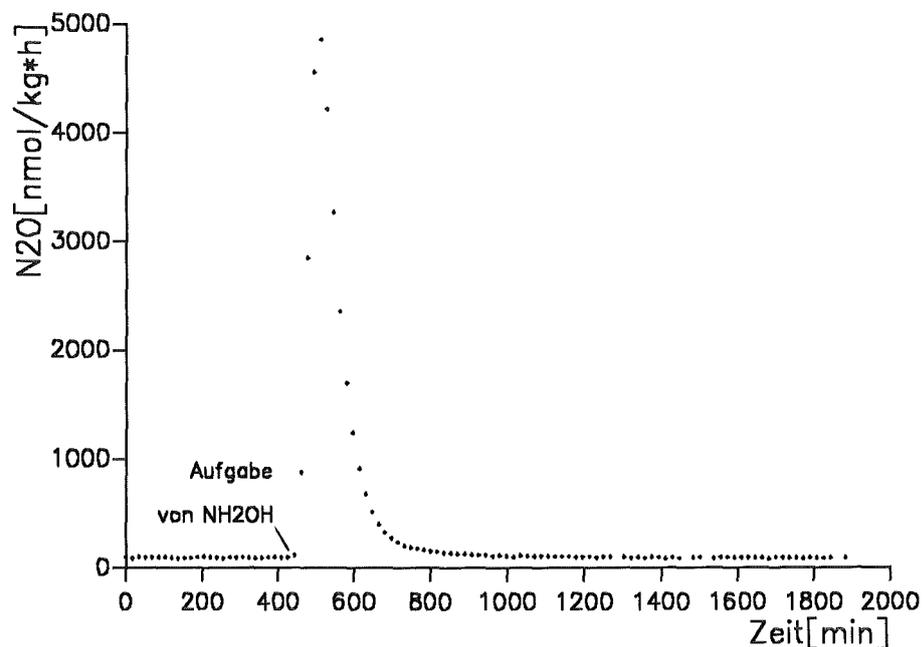


Abbildung 31. N₂O-Emission nach Zugabe von Hydroxylamin: Die sofort nach der Zugabe steil ansteigende und wieder abfallende N₂O-Bildung zeigt, daß Hydroxylamin eine für die Mikroorganismen sehr leicht verfügbare und daher schnell abbaubare Substanz ist.

Ergebnis verfälscht. Auch eine Veränderung der Bodenflora durch diese Behandlung ist denkbar.

Besonders die Steigungen, die sich aus den Versuchen mit der neuen Bodenprobe ergeben, stimmen sehr gut mit denen des durch Begasung mit Argon erzeugten Effektes in Abschnitt 7.3.2 überein. Zusammen mit der Tatsache, daß Hydroxylamin als einzige der in Frage kommenden Stickstoffverbindungen unter Sauerstoff Distickstoffoxid bildete, wird dies als hinreichender Beweis angesehen, daß es sich bei der gesuchten Zwischenstufe der Denitrifikation um Hydroxylamin handelt.

Auch die in Abschnitt 7.4 beschriebene Probe 8) aus dem darunter liegenden Tiefenbereich zeigt eine schwache Reaktion auf Zugabe von Hydroxylamin. Dies zeigt ebenfalls, daß sich die Mikroflora dieses Bodenabschnitts vergleichbar zu der der Denitrifikationszone verhält, ihre Aktivität ist allerdings viel geringer.

In der Literatur wird auch auf die biologische Entstehung von Nitrosaminen während der Denitrifikation hingewiesen. Die Untersuchungen wurden an isolierten Bakterienstämmen oder Enzymen bei hohen Gehalten an Nitrat, Nitrit, löslichen organischen Verbindungen und Aminen durchgeführt [9], [26]. Weder bei der Abwasserbehandlung [25] noch in der Trinkwasseraufbereitung [49] konnte bisher die Entstehung von Nitrosaminen nachgewiesen werden. Untersuchungen zu ihrer Bildung in Böden liegen noch nicht vor.

8.3 Versuche zur analytischen Bestimmung von Hydroxylamin

Mit dem Ergebnis, daß etwa die Hälfte des Hydroxylamins bei der Belüftung in Distickstoffoxid umgewandelt wird, läßt sich aus der Fläche der Peaks in Abschnitt 7.3.2 die gesamte während der Durchspülung mit Argon entstandene Menge an Hydroxylamin abschätzen. Sie beträgt für die beiden Wiederholungsversuche (siehe Abbildung 27 auf Seite 54) etwa 40 bzw. 180 μg . Beim Zentrifugieren einer Bodenprobe von 500 g Gewicht und 60 % Feuchte erhält man maximal 300 ml Bodenlösung. Enthielte diese Lösung das gesamte im Boden vorhandene Hydroxylamin, so betrüge die nachzuweisende Konzentration höchstens 600 $\mu\text{g/l}$. Die sichere Quantifizierung solch kleiner Mengen erfordert eine analytische Methode, deren Nachweisempfindlichkeit um 50 $\mu\text{g/l}$ liegt. Da im Boden außerdem mit weiteren organischen und anorganischen Stickstoffverbindungen in viel höheren Konzentrationen zu rechnen ist, muß das Verfahren auch sehr selektiv sein.

-Photometrische Methoden

Die meisten in der Literatur beschriebenen Methoden zur photometrischen Bestimmung von Hydroxylamin basieren auf dessen reduzierenden Eigenschaften. Ihre Selektivität ist für die Untersuchung von Böden nicht ausreichend, da andere in der Lösung enthaltene Amine die gleiche Reaktion eingehen können.

Bei anderen Autoren wird Hydroxylamin zu Nitrit oxidiert und dieses - z.B. durch eine Diazotierungsreaktion - in eine farbige Verbindung überführt. Obwohl begleitendes Nitrit hier störend wirkt, wurde eine solche Methode getestet [62], der Nitritgehalt könnte separat bestimmt und abgezogen werden. Die angegebene Empfindlichkeit von 1 mg/l wurde zwar erreicht, konnte jedoch nicht überschritten werden.

Bei einer weiteren photometrischen Methode [48], bei der Hydroxylamin mit Picrylchlorid zu einem roten Komplex umgesetzt wird, konnte die angegebene Empfindlichkeit von 500 $\mu\text{g/l}$ nicht erreicht werden, die Nachweisgrenze lag bei 2 mg/l.

- Gaschromatographische Methode

Bei allen photometrischen Methoden stellt sich das Problem, daß die Messung durch die Eigenfärbung der Bodenlösung gestört wird. Daher wurde eine gaschromatographische Methode [38] untersucht. Dabei wird Hydroxylamin mit Cyclohexanon zum Oxim umgesetzt, dieses auf einer Kapillarsäule vom Reaktionsgemisch abgetrennt und in einem Stickstoff-Phosphor-Flammenionisationsdetektor gemessen. Trotz Verwendung unterschiedlicher Säulen und Temperaturprogramme gelang es nicht, das Oxim vom überschüssigen Cyclohexanon abzutrennen, eventuell weil der in der Zitatstelle verwendete cool on-column-injector nicht zur Verfügung stand.

Mit keiner der Methoden konnte die zum Nachweis von Hydroxylamin in der Bodenlösung notwendige Empfindlichkeit erreicht werden. Der zur Ausarbeitung einer neuen Methode notwendige Aufwand erschien, verglichen mit der Bedeutung des Problems für das vorliegende Thema, zu groß. Die Schwierigkeiten, die bei den Versuchen zur analytischen Bestimmung von Hydroxylamin mit anderen Verfahren auftraten, zeigen deutlich, wie empfindlich und selektiv die in dieser Arbeit vorgestellte Methode des Nachweises von Hydroxylamin über die Distickstoffoxidbestimmung ist.

9. Übersicht der Ergebnisse

Die sowohl an Oberflächen- als auch an Tiefenproben gewonnenen Ergebnisse zeigen, daß es mit der vorgestellten Apparatur gelingt, die Bildungsgeschwindigkeit von Distickstoffoxid und Kohlendioxid in Bodenproben durch kontinuierliche Austreibung der Gase direkt zu verfolgen. Die Automatisierung des Verfahrens von der Messung bis zur Datenverarbeitung erlaubt Untersuchungen über mehrere Wochen an derselben Bodenprobe - unerwünschte Veränderungen der Bedingungen können dabei durch Thermostatisierung und Anfeuchtung des Spülgases weitgehend vermieden werden.

Durch Untersuchung der Distickstoffoxidbildung unter sauerstoffhaltiger und -freier Atmosphäre können Aussagen über nitrifizierendes oder denitrifizierendes Verhalten einer Bodenprobe getroffen werden. Dabei ist nitrifizierendes Verhalten dadurch gekennzeichnet, daß bei Herstellung anoxischer Bedingungen die zunächst starke N_2O -Bildung exponentiell abfällt. Sie kann danach nur durch einige Tage Belüftung - während dieser Zeit entwickelt sich kein Distickstoffoxid - oder durch Nitritzusatz wieder zum Anspringen gebracht werden.

Denitrifizierendes Verhalten erkennt man am besten daran, daß die unter anoxischen Bedingungen anfänglich geringe Distickstoffoxidproduktion über etwa 24 Stunden ansteigt, um dann einen konstanten Wert zu erreichen. Hier kann auch unter sauerstoffhaltiger Atmosphäre noch eine anhaltende N_2O -Emission beobachtet werden - ob dies allerdings allgemein für denitrifizierende Böden gilt, bleibt zu überprüfen.

Durch logarithmische Auswertung der N_2O -Bildungskurven ist es auch möglich, gemischtes Verhalten einer Bodenprobe zu erkennen und die Einzelprozesse voneinander zu trennen. Zusammen mit Tiefenprofilen der Nitratkonzentration und Feuchtigkeit können auf diese Weise Übergangsbereiche vom einen zum anderen Verhalten im Boden lokalisiert werden.

Am Beispiel eines Niedermoorbodens konnte eindrucksvoll demonstriert werden, wie sich am gleichen Standort das N_2O -Emissionsverhalten aufgrund unterschiedlicher Bodenflora in Abhängigkeit der Tiefe verändert. Die Ergebnisse sind in Tabelle 8 auf Seite 67 zusammengefaßt.

Von besonderer Bedeutung für die Trinkwasserversorgung dieses Gebietes ist die Abbaupazität der Denitrifikationszone. Anhand der konstanten Distickstoffoxidbildung läßt sich abschätzen, daß die Abbaupazität des im Oberboden vorhandenen Nitrats in der Größenordnung der Wanderungszeit durch die ungesättigte Bodenzone liegt. Damit besteht trotz hoher Konzentration im Oberboden keine akute Gefahr von Nitratreintrag in das Grundwasser. Das von der Landeswasserversorgung Stuttgart im Donauried entnommene Wasser enthält jedoch etwa 20 mg/l Nitrat. Dieses kann, wie die Untersuchung zeigt, nicht aus dem Donauried selbst stammen; wahrscheinlicher ist, daß aus anderen Gebie-

ten Wasser mit höherem Nitratgehalt zufließt. Die Durchführung dieser Abschätzung ist in Abschnitt 7.1.2 beschrieben.

Tabelle 8. N₂O-Bildungsverhalten in Abhängigkeit von der Tiefe und vom Nitratgehalt eines Niedermoorbodens

Bodentiefe	Nitratgehalt	anoxische N ₂ O-Bildung	oxische N ₂ O-Bildung
Oberboden 0-0,75 m	zunehmend von 140 bis 460 mg/kg	keine konstante, sondern exponentiell abfallende N ₂ O-Produktion aufgrund von Nitritabbau durch Ni- trifikanten; läßt sich durch Sauerstoffzusatz sofort un- terbinden, durch NO ₂ ⁻ -Zu- satz wieder initiieren. NO ₃ ⁻ -Zusatz hat keinen Einfluß.	keine N ₂ O-Bildung
Denitrifika- tionszone 0,75-1,75 m	abnehmend von 460 bis 40 mg/kg	langsam steigende, dann konstante N ₂ O-Produktion von ca. 600 nmol/kg; un- abhängig von NO ₂ ⁻ - oder NO ₃ ⁻ -Zusatz.	zunächst schnell steigen- de und wieder abfallende N ₂ O-Bildung durch Abbau von Hydroxylamin. Zurück bleibt anhaltende Produk- tion von ca. 50 nmol/kg N ₂ O; ebenfalls unabhängig von NO ₃ ⁻ - oder NO ₂ ⁻ -Zusatz.
Zone ab- klingender biologi- scher Akti- vität 1,75-2,0 m	nicht nach- weisbar	minimale N ₂ O-Produktion, nur nach Anreicherung über Standzeit nachweis- bar. NO ₃ ⁻ -Zusatz führt zu konstanter Produktion, die aber nur etwa ein Drittel der in der Denitrifikations- zone gemessenen er- reicht.	keine nachweisbare N ₂ O-Bildung, aber schwa- che Reaktion auf Zusatz von Hydroxylamin, was auf sehr schwache Deni- trifikationsaktivität hin- weist.

Im Verlauf der Untersuchungen zum N₂O-Bildungsverhalten der Tiefenprobe unter wechselnder Sauerstoffversorgung wurde eine bisher noch nicht beschriebene Zwischenstufe auf dem Weg der Reduktion von Nitrat zu Ammonium entdeckt. Aufgrund vergleichender Untersuchungen mit in Frage kommenden Stickstoffverbindungen verschiedener Oxidationsstufen handelt es sich dabei aller Wahrscheinlichkeit nach um Hydroxylamin. Die endgültige Identifikation gelang wegen zu kleiner Mengen der auf biologischem Wege

entstandenen Substanz mit den zur Verfügung stehenden Methoden nicht. Hydroxylamin gilt aber als gesicherte Zwischenstufe der Nitrifikation - es erscheint daher plausibel, daß auch der umgekehrte Prozeß über diese Verbindung abläuft.

Anhang A: Geräte

Probenahme	HUMAX Teleskop-Bohrsystem bis 4 m HUMAX-Windax-Ziehgerät Typ 1000
Gasflußregelung	tylan RO 7020 mit 3 Einschüben RO 7021 mass flow controller FC-260 10 sccm ² O ₂ mass flow controller FC-260 100 sccm He
Thermostat	LAUDA RM 20
Gaschromatograph	Hewlett Packard HP 5890
Integrator	Hewlett Packard HP 3392A
Rechner	Hewlett Packard HP 300 Diskettenlaufwerk HP 9153C Festplatte HP 7958B 150 MB GC Workstation Software HP 19270A Revision 4.00
Kalibrierung	H. Wösthoff KG Bochum Gasmischstation mit 2 Dosiervorrichtungen DK3
Infrarot-Spektrometer	Bruker IFS 66 mit Gasküvette 22 m

² sccm: "standard cubic centimeter", cm³ bei 0°C und 1013 mbar

Anhang B: Programme

Basislinienkompensation

```

NAME BASCOMP
GETKEYSET *DESEQKEY
SOFTKEYS TOP
PROMPT DE (SEQ)
SEQINF
CHROMATOGRAM
EXTRACT
FILE BASHS.D
CHROMATOGRAM
EXTRACT 2
ROLL -1

SUBTRACT
MULTIPLY -1
EXCHANGE Z
SUBTRACT
MERGE
FILE DATA_FILE$
STARTSET
INTEGRATE X
DR 3,X,,-20:50
WARTE
QUIT

```

Wartezeit

```

NAME WARTE
SYSDATE
M = MINUTES + 7
H = HOURS
D = DAY
L = MONTH
IF M >= 60 THEN
M = M-60
H = H + 1
ENDIF
IF H >= 24 THEN
H = H-24
D = D + 1
ENDIF
IF D > 30 THEN
D = D-30
L = L + 1

ENDIF
WHILE L > MONTH
ZEIT
ENDWHILE
WHILE D > DAY
ZEIT
ENDWHILE
WHILE H > HOURS
ZEIT
ENDWHILE
WHILE M > MINUTES
ZEIT
ENDWHILE
RETURN NAME ZEIT
SYSDATE
PROM SYS_TIME$
RETURN

```

APL-Programme zur Datenübertragung

```

[A]V COPY.3  ρ: 18  1992-10-08 08.25.48
[ 0]      F←E COPY MEM;I;MEMZ;C;ZW;M;S
[ 1]      F←1 5ρ0
[ 2]      I←E[1]-1
[ 3]      L1:I←I+1
[ 4]      ZW←(I<10)/'0'
[ 5]      MEMZ←MEM,ZW,(F I), 'A'
[ 6]      C←25 80ρ(MEMZ READ_ 'RCH511.GCDAT.TEXT')
[ 7]      M←(3↓[1]61↓[2]C)[1;]
[ 8]      M←M[15 16]
[ 9]      C←66↓[2]8↓[2]21↓[1]C
[10]      C←4 6ρC
[11]      +((+/[1]+/[2]'u'εC)=0)/L2
[12]      S←(+/[2]'u'εC)/14
[13]      C[S;]←47*(ρS)ρ0
[14]      L2:C←M,[2]1 4ρ((ε'')c[2]C)
[15]      F←F,[1]C
[16]      +(I<E[2])/L1
[17]      F←1↓[1]F

```

```

[A]V ZEIT.3  ρ: 15  1991-07-09 14.24.23
[ 0]      F←ZEIT M;I;J;G
[ 1]      I←1
[ 2]      F←(ρM)ρ0
[ 3]      J←0
[ 4]      L1:I←I+1
[ 5]      J←J,(M[I-1]>M[I])
[ 6]      +(I<ρM)/L1
[ 7]      I←0
[ 8]      G←0
[ 9]      L2:I←I+1
[10]      +(J[I]=0)/L3
[11]      G←G+1
[12]      L3:F[I]←M[I]+60×G
[13]      +(I<ρM)/L2
[14]      F←F-M[1]

```

Literatur

- [1] Abou-Seada M.N.I., Ottow J.G.C.: Einfluß chemischer Bodeneigenschaften auf Ausmaß und Zusammensetzung der Denitrifikationsverluste drei verschiedener Bakterien
Z. Pflanzenernähr. Bodenkd., Bd. 151, 1988, S. 109-115
- [2] Anderson J.C., Levine J.S.: Relative Rates of Nitric Oxide and Nitrous Oxide Production by Nitrifiers, Denitrifiers and Nitrate Respirers
Appl. and Environm. Microbiology, Bd. 51(5), 1986, S. 938-945
- [3] Beck H., Christensen S.: The Effect of Grass Maturing and Root Decay on N₂O Production in Soil
Plant and Soil, Bd. 103, 1987, S. 269-273
- [4] Blackmer A.M., Bremner J.M.: Inhibitory Effect of Nitrate on Reduction of N₂O to N₂ by Soil Microorganisms
Soil Biol. Biochem., Bd. 10, 1987, S. 187-191
- [5] Blackmer A.M., Bremner J.M.: Gas-chromatographic Analysis of Soil Atmospheres
Soil Sci. Soc. Am. J., Bd. 41, 1977, S. 908-912
- [6] Böck H., Postel G.: Simultananalyse von Abgaskomponenten an Rauchgasentschwefelungsanlagen mittels FTIR-Meßtechnik
VDI Berichte Nr. 838, 1990, S. 371-388
- [7] Boyle M., Paul E.A.: Nitrogen Transformations in Soils Previously Amended with Sewage Sludge
Soil Sci. Am. J., Bd. 53(3), 1989, S. 740-744
- [8] Burton D.L., Beauchamp E.G.: Denitrification Rate Relationships with Soil Parameters in the Field
Commun. in Soil Sci. Plant Anal., Bd. 16(5), 1985, S. 539-549
- [9] Calmels S., Ohshima H., Bartsch H.: Nitrosamine Formation by Denitrifying and Non-denitrifying Bacteria: Implication of Nitrite Reductase and Nitrate Reductase in Nitrosation Catalysis
J. Gen. Microbiol., Bd. 134(1), 1988, S. 221-226
- [10] Christensen S.: Denitrification in a Sandy Loam Soil as Influenced by Climatic and Soil Conditions
Tidsskr. Planteavl., Bd. 89, 1985, S. 351-365
- [11] Christensen S., Tiedje J.M.: Brief and Vigorous N₂O Production by Soil at Spring Thaw
Journal of Soil Sci., Bd. 41(1), 1990, S. 1-4
- [12] Colbourn P., Harper I.W.: Denitrification in Drained and Undrained Arable Clay Soil
J. of Soil Sci., Bd. 38, 1987, S. 531-539
- [13] Conrad R., Seiler W., Bunse G.: Factors Influencing the Loss of Fertilizer Nitrogen Into the Atmosphere as N₂O
Journal of Geophysical Research, Bd. 88, No. C11, 1983, S.6709-6718
- [14] Cooper G.S., Smith R.L.: Sequence of Products Formed During Denitrification in Some Diverse Western Soils
Soil Sci. Soc. Amer. Proc., Bd. 27, 1963, S. 659-662
- [15] Davidson E.A., Swank T.W.: Nitrous Oxide Dissolved in Soil Solution: An Insignificant Pathway of Nitrogen Loss from a Southeastern Hardwood Forest
Water Resources Research, Bd. 26(7), 1990, S. 1687-1690
- [16] Denmead O.T., Freney J.R., Simpson J.R.: Studies of Nitrous Oxide Emissions from a Grass Sward
Soil Sci. Soc. Am. J., Bd. 43, 1979, S. 726-728
- [17] Fine P., Feigin A., Waisel Y.: A Closed, Well-oxygenated System for the Determination of the Emission of Carbon Dioxide, Nitrous Oxide, and Ammonia
Soil Sci. Soc. Am. J., Bd. 50(6), 1986, S. 1489-1493
- [18] Firestone M.K., Davidson E.A.: Microbiological Basis of NO and N₂O Production and Consumption in Soil

- Life Sci. Res. Rep., Bd. 47, 1989, S. 7-21
- [19] Focht D.D., Valoras N., Letey J.: Use of Interfaced Gas Chromatography - Mass Spectrometry for Detection of Concurrent Mineralization and Denitrification in Soil J. Envir. Qual., Bd. 9(2), 1980, S. 218-223
- [20] Focht D.D., Verstraete W.: Biochemical Ecology of Nitrification and Denitrification Advan. Microbiol Ecol., Bd. 1, 1977, S. 135-214
- [21] Goodroad L.L., Keeney D.R.: Nitrous Oxide Production in Aerobic Soils under Varying pH, Temperature and Water Content Soil Biol. Biochem., Bd. 16(1), 1984, S. 39-43
- [22] Hamaker J.W.: Organic Chemicals in the Soil Environment Bd. 1, Chapter 4: Decomposition: Quantitative Aspects Marcel Dekker, New York, 1972
- [23] Fa. Hewlett Packard: Persönliche Mitteilung
- [24] Hutchinson G.L., Mosier A.R.: Nitrous Oxide emissions from an Irrigated Corn Field Science, Bd. 205, 1979, S. 1125-1127
- [25] Jacobson S., Alexander M.: Preliminary Investigations of the Kinetics of Nitrogen Transformation and Nitrosamine Formation in Land Treatment of Waste Water Report, CRREL-SR-79-4, Order No. AD-A086169, 1979
- [26] Kaplan D.L., Cowburn S., Kaplan A.M.: Formation of Nitrosamines under Denitrification Conditions Report, NATICK/TR-83/030, Order No. AD-A135541, 1983
- [27] Kaplan W.A., Wofsy S.C.: Emissions of N₂O, CH₄ and CO₂ from Tropical Forest Soils Journal of Geophysical Research, Bd. 91, No. D11, 1986, S. 11791-11802
- [28] Kapp M., Schwarz J., Benckiser G., Ottow J.C.G., Daniel P., Opitz von Boberfeld W.: Einsatz der Acetyleninhibierungstechnik zur Quantifizierung von Denitrifikationsverlusten in unterschiedlich gedüngten Weidelgrasbeständen Forum Städte-Hygiene, Bd. 41, 1990, S. 168-172
- [29] Kiefer C.: Aufbau und Untersuchung einer Apparatur zur Messung des biologischen Stoffumsatzes in Bodenproben Diplomarbeit Universität Karlsruhe (TH), 1989
- [30] Klemendtsson L., Simkins S., Svensson B.H.: Tandem Thermal-Conductivity and Electron-Capture Detectors and Non-Linear Calibration Curves in Quantitative Nitrous Oxide Analysis Journal of Chromatography, Bd. 361, 1986, S. 107-116
- [31] Klemendtsson L., Svensson B.H., Rosswall T.: Dinitrogen and Nitrous Oxide Produced by Denitrification and Nitrification in Soil with and without Barley Plants Plant and Soil, Bd. 99, 1987, S. 303-319
- [32] Knowles R.: Denitrification Microbiological Reviews, 1982, S. 43-70
- [33] Kollenz P.: Persönliche Mitteilung
- [34] Kucera I., Kozák L., Dadák V.: Aerobic Dissimilatory Reduction of Nitrite by Cells of 'Paracoccus denitrificans': The Role of Nitric Oxide Biochim. et Biophys. Acta, Bd. 894, 1987, S. 120-126
- [35] Lehn-Reiser M., Munch J.C., Chapot J.Y., Ottow J.C.G.: In-situ-Messung von Denitrifikationsverlusten einer kalkhaltigen Braunerde nach Einarbeitung verschiedener Gründüngungspflanzen Forum Städte-Hygiene, Bd. 41, 1990, S. 164-167
- [36] Lensi R., Chalamet A., Corman A.: Utilisation d'un système à atmosphère circulante pour contrôler l'oxygène dans l'étude de la dénitrification dans un sol Rev. Écol Biol. Sol, Bd. 23(2), 1986, S. 155-165
- [37] Lindström J.: A Note on Measuring the Oxygen Content of Soil Air

- Swedish J. agric. Res., Bd. 20, 1990, S. 77-79
- [38] Lombardi F., Crolla T.: Determination of Hydroxylamine Traces in Propionohydroxamic Acid Bulk Drug and Pharmaceutical Preparations by Capillary Gas Chromatography Journal of Pharmaceutical Sciences, Bd. 77(8), 1988, S. 711-714
- [39] Magalhas A.M.T., Nelson D.W., Chalk P.: Nitrogen Transformations During Hydrolysis and Nitrification of Urea Fertil. Res., Bd. 11, 1987, S. 161-184
- [40] Mosier A.R., Mack L.: Gaschromatographic System for Precise, Rapid Analysis of Nitrous Oxide Soil Sci. Soc. Am. J., Bd. 44, 1980, S. 1121-1123
- [41] Mosier A.R., Mohanty S.K., Bhadruchalam A., Chakravorti S.P.: Evolution of Dinitrogen and Nitrous Oxide from the Soil to the Atmosphere through Rice Plants Biol. Fertil. Soils, Bd. 9(1), 1990, S. 61-67
- [42] Munch J.C.: Organism Specific Denitrification in Samples of an Udifluent with Different Nitrate Concentrations Z. Pflanzenernähr. Bodenk., Bd. 152, 1989, S. 395-400
- [43] Mulvaney R.L., Kurtz L.T.: Evolution of Dinitrogen and Nitrous Oxide from Nitrogen-15 Fertilized Soil Cores Subjected to Wetting and Drying Cycles Soil Sci. Soc. Am. J., Bd. 48, 1984, S. 596-602
- [44] Nõmmik H., Larsson K.: Measurement of Denitrification Rate in Undisturbed Soil Cores under Different Temperature and Moisture Conditions Using ¹⁵N Tracer Technique Swedish J. Agric. Res., Bd. 19(1), 1989, S. 35-44
- [45] Ottow J.C.G., Burth-Gebauer I., El-Demerdash M.E.: Influence of pH and Partial Oxygen Pressure on the N₂O-N to N₂ Ratio of Denitrification NATO conf. Ser. 1 (Denitrif. Nitrogen Cycle), Bd. 9, 1985, S. 101-120
- [46] Parkin T.B., Tiedje J.M.: Application of a Soil Core Method to Investigate the Effect of Oxygen Concentration on Denitrification Soil Biol. Biochem., Bd.16(4), 1984, S. 331-334
- [47] Prade K., Trollidenier G.: Further Evidence Concerning the Importance of Soil Air-filled Porosity, Soil Organic Matter and Plants for Denitrification Z. Pflanzenernähr. Bodenk., Bd. 152, 1989, S. 391-393
- [48] Rawat J.P., Singh O.: A Sensitive Spectrophotometric Determination of Hydroxylamine with Picryl Chloride Indian Journal of Technology, Bd. 24, 1986, S. 157-158
- [49] Richard Y., Partos J.: Biological Nitrate Removal for the Production of Drinking Water. Operating Results of two Industrial Plants Techn., Sci., Methodes: Genie Urbain--Genie Rural, (3), 1986, S. 141-147
- [50] Robertson L.A., Kuenen J.G.: Aerobic Denitrification: A Controversy Revived Arch. Microbiol, Bd. 139, 1984, S. 351-354
- [51] Samson M.I., Buresh R.J., De Datta S.K.: Evolution and Soil Entrapment of Nitrogen Gases Formed by Denitrification in Flooded Soil Soil Sci. Plant Nutr., Bd. 36(2), 1990, S. 299-307
- [52] Scheffer F., Schachtschabel P.: Lehrbuch der Bodenkunde Verlag Enke, Stuttgart, 12. Auflage 1989
- [53] Schloemer S.: Denitrifikationsverluste eines gemüsebaulich genutzten Bodens in Abhängigkeit von der Einarbeitung frischer Erntereste Z. Pflanzenernähr. Bodenk., Bd. 154, 1991, S. 265-269
- [54] Schloemer S.: Denitrifikationsverluste eines gemüsebaulich genutzten Bodens in Abhängigkeit von der mineralischen N-Düngung Z. Pflanzenernähr. Bodenk., Bd. 153, 1990, S. 439-444

- [55] Schmid G., Zweckverband Landeswasserversorgung Stuttgart: Persönliche Mitteilung
- [56] Schmidt J., Seiler W., Conrad R.: Emission of Nitrous Oxide from Temperate Forest Soils into the Atmosphere
Journal of Atmospheric Chemistry, Bd. 6, 1988, S. 95-115
- [57] Schroeder F., Blöcker G., Knauth H.-D.: Apparatus for the Investigation of Microbial Reaction Rates in Sediment Suspensions
Analytical Chimica Acta, Bd. 213, 1988, S. 221-225
- [58] Seiler W., Conrad R.: Field Measurements of Natural and Fertilizer-Induced N_2O Release Rates from Soils
JAPCA, Bd. 31, No. 7, 1981, S. 767-772
- [59] Shirey J.J., Sexstone A.J.: Denitrification and Nitrate-reducing Bacterial Populations in Abandoned and Reclaimed Minesoils
FEMS Microbiology Ecology, Bd. 62, 1989, S. 59-70
- [60] Slemr F., Conrad R., Seiler W.: Nitrous Oxide Emissions from Fertilized and Unfertilized Soils in a Subtropical Region (Andalusia, Spain)
Journal of Atmospheric Chemistry, Bd. 1, 1984, S. 159-169
- [61] Smith M.S.: Dissimilatory Reduction of NO_2^- to NH_4^+ and N_2O by a Soil *Citrobacter* sp.
Appl. and Environm. Microbiology, Bd. 43(4), 1982, S. 854-860
- [62] Upadhyay S., Gupta V.K.: Extractive Photometric Determination of Hydroxylamine
J. Indian Chem. Soc., Bd. 63, 1986, S. 769-771
- [63] Smith M.S., Zimmermann K.: Nitrous Oxide Production by Nondenitrifying Soil Nitrate Reducers
Soil Sci. Soc. Am. J., Bd. 45, 1981, S. 865-871
- [64] VDI-Richtlinie 3490 Blatt 7
VDI-Handbuch Reinhaltung der Luft, Bd. 5, 1980
- [65] Weier K.L., Gilliam J.W.: Effect of Acidity on Denitrification and Nitrous Oxide Evolution from Atlantic Coastal Plain Soils
Soil Sci. Soc. Am. J., Bd. 50, 1986, S. 1202-1205
- [66] Wentworth W.E., Freeman R.R.: Measurement of Atmospheric Nitrous Oxide Using an Electron Capture Detector in Conjunction with Gas Chromatography
Journal of Chromatography, Bd. 79, 1973, S. 322-324
- [67] Zehnder A.J.B.: Biology of Anaerobic Microorganisms
John Wiley & Sons 1988

Herrn Prof. Dr. S. H. Eberle danke ich für die aktuelle und praxisnahe Aufgabe sowie viele interessante und richtungsweisende Gespräche.

Der Kernforschungszentrum Karlsruhe GmbH gilt mein Dank für die Bereitstellung der Arbeitsmittel und die Förderung durch ein Doktorandenstipendium.

Besonders möchte ich den Mitarbeitern des Zweckverbandes Landeswasserversorgung Stuttgart, die mich bei der Probenahme unterstützten danken, sowie Herrn Peter Kollenz, Herrn Thomas Wanke und der Firma Hewlett Packard, die mir stets Hilfsbereitschaft bei Problemen mit der Technik der Gaschromatographie entgegenbrachten.

Schließlich bedanke ich mich herzlich bei allen Mitarbeitern der Abteilung Wassertechnologie, die durch ihre ständige Diskussionsbereitschaft wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.