

„Studien zum Einfluss einer chemischen Ladung auf Sorption, Schicksal und Bildung nicht- extrahierbarer Rückstände organischer Chemikalien im Boden“

Von der Fakultät für Mathematik, Informatik und
Naturwissenschaften der RWTH Aachen University zur
Erlangung des akademischen Grades einer Doktorin der
Naturwissenschaften genehmigte Dissertation

vorgelegt von

Diplom-Biologin
Diplom-Gymnasiallehrerin

Daniela Claßen
aus Erkelenz/Nordrhein-Westfalen

Berichter: Universitätsprofessor Dr. rer. nat. Andreas Schäffer
Universitätsprofessor Dr. rer. nat. Henner Hollert

Tag der mündlichen Prüfung: 09.05.2019

Diese Dissertation ist auf den Internetseiten der Universitätsbibliothek verfügbar.

„Wer immer tut, was er schon kann,
bleibt immer das, was er schon ist.“

-Henry Ford-

Vorabveröffentlichungen

Teile dieser Arbeit wurden bereits veröffentlicht:

Poster:

Claßen, D. (2015): "Problems when assessing the persistence of ionic or ionisable organic chemicals under REACH." Poster, 15th EuCheMS International Conference on Chemistry and the Environment, September 20-23, Leipzig, Germany.

Claßen, D., K. T. Nguyen, J. Ackermann, A. Schäffer (2018): "Assessment of the persistence of ionic or ionisable organic chemicals under REACH." Abstract WE055, SETAC Europe 28rd Annual Meeting, May 13-17, Rome, Italy.

Bode, G., D. Claßen, A. Schäffer (2018): „Remobilisierung nicht-extrahierbarer Rückstände ^{14}C -markierter ionischer Chemikalien im Boden.“ Abstract Bod 9, Umwelt 2018, 09.-12. September, Münster, Deutschland.

Fachzeitschriften:

Claßen, D., J. Ackermann, S. Brendel (2016). "Bewertung persistenter, bioakkumulierender und toxischer Eigenschaften von ionischen und ionisierbaren Stoffen." Mitt Umweltchem Ökotox, 2, 33-36.

Claßen, D., M. Siedt, K. T. Nguyen, J. Ackermann, A. Schaeffer (2019): "Formation, Classification and Identification of Non-Extractable Residues of ^{14}C -Labelled Ionic Compounds in Soil." Chemosphere, 232, 164-170.

Vorträge:

Claßen, D., J. Ackermann, M. Siedt, A. Schäffer (2018): „NER-Bildung und Charakterisierung ^{14}C -markierter, ionischer Stoffe im Boden.“ Abstract VBod4, Umwelt 2018, 09.-12. September, Münster, Deutschland.

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis.....	7
Tabellenverzeichnis	10
Abkürzungsverzeichnis	13
1 Einleitung	15
1.1 Eintrag anthropogener Chemikalien in der Umwelt.....	15
1.2 Boden.....	16
1.2.1 Organische und Mineralische Bodenmatrix	17
1.3 Chemikalien im Boden	18
1.3.1 Sorption	18
1.3.2 Nicht-extrahierbare Rückstände	20
1.4 Ionische und ionisierbare Chemikalien	23
1.5 PBT-Bewertung von Chemikalien unter REACH.....	24
1.6 Ziel der Arbeit	26
1.7 Modellsubstanzen	27
1.7.1 4- <i>n</i> -Dodecylphenol	27
1.7.2 4- <i>n</i> -Dodecylbenzolsulfonat Natriumsalz	28
1.7.3 4- <i>n</i> -Dodecylbenzyltrimethylammoniumchlorid	30
2 Material	32
2.1 Messgeräte und Instrumente.....	32
2.1.1 Geräte und Zubehör	32
2.1.2 Messgeräte	32
2.2 Chemikalien.....	34
2.2.1 Radiochemikalien	34
2.2.2 Referenzsubstanzen	34
2.2.3 Organische Lösungsmittel	35
2.2.4 Sonstige Chemikalien.....	35
2.2.5 Chemikalien zur Bestimmung des ¹⁴ C-Isotops.....	36
2.2.6 Wasser	36
2.3 Verbrauchsmaterial.....	36
2.4 Versuchsboden	37
3 Methoden.....	38
3.1 Generelle Arbeitsschritte	38
3.2 Stationäre Inkubationssysteme	39
3.3 Inkubationsansätze	39
3.4 Applikation der Inkubationsansätze	40

3.5	Bestimmung der Radioaktivität	43
3.6	Bilanzierung der Radioaktivität	43
3.6.1	Flüchtige Anteile	43
3.6.2	Mineralisierte Anteile	44
3.6.3	Extrahierbare Anteile	44
3.6.4	Nicht-extrahierbare Anteile	45
3.7	Analytische Methoden	46
3.7.1	Dünnschichtchromatographie (DC)	46
3.7.2	Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC)	47
3.7.3	Flüssigchromatographie mit gekoppelter Massenspektrometrie (LC-MS/MS)	50
3.8	Aufarbeitung der nicht-extrahierbaren Rückstände	50
3.8.1	Silylierung und Analytik der nicht-extrahierbaren Rückstände	50
3.8.2	Saure Hydrolyse und Analytik der nicht-extrahierbaren Rückstände	51
3.9	Bestimmung der Halbwertszeit	53
3.10	Wasserhaltekapazität	53
3.11	Messung der mikrobiellen Aktivität (DMSO-Reduktion)	54
3.12	Sorptionsstudien	55
4	Ergebnisse und Diskussion	60
4.1	Sorption von DP, DS ⁻ und DA ⁺ im Boden	60
4.1.1	Gleichgewicht und Stabilität im Testsystem	60
4.1.2	Sorptionskinetik	65
4.2	Verteilung und Schicksal von DP, DS ⁻ und DA ⁺ im Boden	71
4.2.1	Bilanzierung der Radioaktivität	71
4.2.2	Transformation von DP, DS ⁻ und DA ⁺	79
4.3	Bildung nicht-extrahierbarer Rückstände von DP, DS ⁻ und DA ⁺	83
4.3.1	Charakterisierung der nicht-extrahierbaren Rückstände	83
4.3.2	Identifizierung der nicht-extrahierbaren Rückstände	85
4.3.3	Remobilisierung der nicht-extrahierbaren Rückstände	86
5	Zusammenführende Diskussion	89
6	Zusammenfassung und Ausblick	91
7	Summary and Outlook	94
	Anhang	97
A.1	Vorversuche ¹⁴ C-DP, ¹⁴ C-DS ⁻ und ¹⁴ C-DA ⁺	97
A.2	Wiederfindung der applizierten Radioaktivität in den Sorptionsstudien mit ¹⁴ C-DP, ¹⁴ C-DS ⁻ und ¹⁴ C-DA ⁺	98
A.3	Wiederfindung von ¹⁴ C-DP, ¹⁴ C-DS ⁻ und ¹⁴ C-DA ⁺ im nicht sterilen Boden ..	99
A.4	Wiederfindung von ¹⁴ C-DP, ¹⁴ C-DS ⁻ und ¹⁴ C-DA ⁺ im sterilen Boden	100

A.5 Stabilität $^{14}\text{C-DA}^+$ in Soxhlet-Extraktion.....	101
A.6 Wiederfindung Aufarbeitung Extrakte von $^{14}\text{C-DP}$, $^{14}\text{C-DS}^-$ und $^{14}\text{C-DA}^+$ im nicht sterilem Boden.....	102
A.7 Analytik der CaCl_2 -, MeOH -, $\text{MeOH:H}_2\text{O}$ - und ACN -Extrakte von $^{14}\text{C-DP}$, $^{14}\text{C-DS}^-$ und $^{14}\text{C-DA}^+$ im nicht sterilem Boden.....	103
A.8 LC-MS/MS-Analyse DS^-	106
A.9 Chromatogramm Silylierungsextrakt $^{14}\text{C-DP}$	107
A.10 Chromatogramm Silylierungsextrakt $^{14}\text{C-DS}^-$ und $^{14}\text{C-DA}^+$	108
A.11 Wiederfindung der Nicht-extrahierbaren Rückstände von $^{14}\text{C-DP}$, $^{14}\text{C-DS}^-$ und $^{14}\text{C-DA}^+$	110
Beiträge zu Veröffentlichungen und Kapitel.....	111
Literaturverzeichnis	113

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1.1: Verteilung und Schicksal von Chemikalien nach Eintrag in die Umwelt (verändert nach https://www.ufz.de/export/data/2/97733_Grafik_wp3.jpg).	16
Abbildung 1.2: Verteilung von Mineralen über die Korngrößenfraktionen Sand, Schluff und Ton (verändert nach Brady and Weil (1984)).	17
Abbildung 1.3: Sequestrierte (Typ I), kovalent (Typ II) und biogen gebundene (Typ III) nicht-extrahierbare Rückstände (NER) im Boden (verändert nach Jöhncke (2018)).	22
Abbildung 1.4: Änderung der Konzentration (%) der geladenen (A^-) und ungeladenen Spezies einer Säure (AH) bzw. der ungeladenen (B) und geladenen Spezies (BH^+) einer Base in Abhängigkeit vom pH-Wert (nach Kah and Brown (2006)).	24
Abbildung 1.5: Strukturformel, Summenformel, Molekulargewicht und physikochemische Eigenschaften von 4- <i>n</i> -Dodecylphenol.	28
Abbildung 1.6: Strukturformel, Summenformel, Molekulargewicht und physikochemische Eigenschaften von 4- <i>n</i> -Dodecylbenzolsulfonat Natriumsalz.	29
Abbildung 1.7: Strukturformel, Summenformel, Molekulargewicht und physikochemische Eigenschaften von 4- <i>n</i> -Dodecylbenzyltrimethylammoniumchlorid.	30
Abbildung 3.1: Generelle Arbeitsschritte zur Aufarbeitung der Proben in Simulationstests im Boden nach OECD 307 und Sorptionsstudien nach OECD 106 mit den Testsubstanzen ^{14}C -DP, ^{14}C -DS $^-$ und ^{14}C -DA $^+$.	38
Abbildung 3.2: Stationäre Systeme zur Durchführung der Simulationstests mit ^{14}C -DP, ^{14}C -DS $^-$ und ^{14}C -DA $^+$.	39
Abbildung 3.3: Testsystem zur Bestimmung der GG für die Adsorption und Desorption, sowie die Sorptions- und Desorptions-Isothermen für ^{14}C -DP, ^{14}C -DS $^-$ und ^{14}C -DA $^+$ im Boden 5M.	56
Abbildung 4.1: <i>Ati</i> % und <i>Dti</i> (%) von DP im Boden 5M in Abhängigkeit von der Zeit (min).	60
Abbildung 4.2: <i>Ati</i> % und <i>Dti</i> (%) von DS $^-$ im Boden 5M in Abhängigkeit von der Zeit (min).	61
Abbildung 4.3: <i>Ati</i> % und <i>Dti</i> (%) von DA $^+$ im Boden 5M in Abhängigkeit von der Zeit (min).	61
Abbildung 4.4: DC-Radio-Chromatogramm des $CaCl_2$ -Extrakts der Testkonzentration 2 mg/kg für die Adsorption (a) und Desorption (b). Die radioaktiven Signale konnten mit DP als Referenzsubstanz co-chromatographisch als DP, nicht weiter identifizierbare Startaktivität (1) und ein polares Abbauprodukt (2) identifiziert werden.	62
Abbildung 4.5: DC-Radio-Chromatogramm des $CaCl_2$ -Extrakts der Testkonzentration 2 mg/kg mit autoklaviertem Boden für die Adsorption (a) und Desorption (b). Die radioaktiven Signale konnten mit DP als Referenzsubstanz co-chromatographisch als DP, nicht weiter identifizierbare Startaktivität (1) und ein polares Abbauprodukt (2) identifiziert werden.	63
Abbildung 4.6: DC-Radio-Chromatogramm des $CaCl_2$ -Extrakts der Testkonzentration 2 mg/kg mit autoklaviertem, γ -bestrahlten Boden für die	

Adsorption (a) und Desorption (b). Die radioaktiven Signale konnten mit DP als Referenzsubstanz co-chromatographisch als DP, nicht weiter identifizierbare Startaktivität (1) und ein polares Abbauprodukt (2) identifiziert werden.	64
Abbildung 4.7: Adsorptions- und Desorptions-Isotherme von DP, DS ⁻ und DA ⁺ im Boden 5M (n=2) ermittelt über die Konzentration von DP, DS ⁻ und DA ⁺ im Boden ($\log c^{\text{ads}}_{\text{s}}$, µg/kg) und in der CaCl ₂ -Lösung ($\log c^{\text{ads}}_{\text{aq}}$, µg/L) im GG für die Testkonzentrationen 1, 1,6, 2, 4, 10 und 20 mg/kg.	66
Abbildung 4.8: Verteilung der AR (%) von ¹⁴ C-DP, ¹⁴ C-DS ⁻ und ¹⁴ C-DA ⁺ auf flüchtige, mineralisierte, extrahierbare und nicht-extrahierbare Rückstände nach 0, 1, 7, 14, 49, 84 und 124 Tagen Inkubation im nicht sterilem Boden. Daten sind dargestellt als Mittelwert (n=3) mit Standardabweichung (Konfidenzintervall α=0,05).	72
Abbildung 4.9: Verteilung der AR (%) von ¹⁴ C-DP, ¹⁴ C-DS ⁻ und ¹⁴ C-DA ⁺ auf flüchtige, mineralisierte, extrahierbare und nicht-extrahierbare Rückstände nach 14 Tagen Inkubation im sterilem Boden. Daten sind dargestellt als Mittelwert (n=3) mit Standardabweichung (Konfidenzintervall α=0,05).	73
Abbildung 4.10: Extrahierbare Anteile (CaCl ₂ -, MeOH-, MeOH:H ₂ O- und ACN-Extraktion) an AR (%) von ¹⁴ C-DP, ¹⁴ C-DS ⁻ und ¹⁴ C-DA ⁺ im nicht sterilem Boden nach 0, 1, 7, 14, 49, 84 und 124 Tagen Inkubation. Daten sind dargestellt als Mittelwert (n=3) mit Standardabweichung (Konfidenzintervall α=0,05).	75
Abbildung 4.11: DMSO-Reduktionsraten (ng DMS/ h*g TG) und Mineralisationsrate (% ¹⁴ C/ Tag) für nicht sterilem Boden inkubiert mit ¹⁴ C-DP, ¹⁴ C-DS ⁻ und ¹⁴ C-DA ⁺ für 0, 1, 7, 14, 49, 84 und 124 Tage. Daten sind dargestellt als Mittelwert (n=3) mit Standardabweichung (Konfidenzintervall α=0,05).	79
Abbildung 4.12: Radio-Chromatogramme aufgenommen mittels DC-Scanner (a) und HPLC (b) des MeOH-Extraktes der Probe DP1 Tag 1. Die radioaktiven Signale konnten mit DP als Referenzsubstanz co-chromatographisch als DP, nicht weiter identifizierbare Startaktivität (1) und ein polares Abbauprodukt (2) identifiziert werden.	80
Abbildung 4.13: Radio-Chromatogramme aufgenommen mittels DC-Scanner (a) und HPLC (b) des MeOH-Extraktes der Probe DS1 Tag 1. Die radioaktiven Signale konnten mit DS ⁻ als Referenzsubstanz co-chromatographisch als DS ⁻ und polare Abbauprodukte (1) identifiziert werden.	81
Abbildung 4.14: Radio-Chromatogramme aufgenommen mittels DC-Scanner (a) und HPLC (b) des MeOH-Extraktes der Probe DA1 Tag 1. Die radioaktiven Signale konnten mit DA ⁺ als Referenzsubstanz co-chromatographisch als DA ⁺ und nicht weiter identifizierbare Startaktivität (1) identifiziert werden.	81
Abbildung 4.15: Bildung von Typ I (sequestriert), Typ II (kovalent) und Typ III (biogen) NER von ¹⁴ C-DP, ¹⁴ C-DS ⁻ und ¹⁴ C-DA ⁺ im nicht sterilem Boden nach 7 und 84 Tagen Inkubation. Daten sind dargestellt als Mittelwert (n=3) mit Standardabweichung (Konfidenzintervall α=0,05).	84
Abbildung 4.16: DC-Radio-Chromatogramm der Extrakte nach Silylierung mit ¹⁴ C-DP ohne Boden (a) und extrahiertem Boden inkubiert mit ¹⁴ C-DP für 7 Tage (b) und 84 Tage (c). Die radioaktiven Signale konnten mit ¹⁴ C-DP als Referenzsubstanz co-chromatographisch als DP und nicht weiter identifizierbare Startaktivität (1) identifiziert werden.	86

- Abbildung 4.17: Verteilung der als NER applizierten Radioaktivität (%) von ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ an Tag 7 (a) und Tag 84 (b) auf flüchtige, mineralisierte, extrahierbare und nicht-extrahierbare Anteile nach 54 Tagen Inkubation mit nicht sterilem Boden. Daten sind dargestellt als Mittelwert (n=3) mit Standardabweichung (Konfidenzintervall $\alpha=0,05$)..... 87
- Abbildung 0.1: DC-Radio-Chromatogramm zur Untersuchung der Stabilität von ^{14}C -DA⁺ nach Soxhlet-Extraktion. Das radioaktive Signal konnten co-chromatographisch als DA⁺ identifiziert werden..... 101
- Abbildung 0.2: LC-MS/MS-Analyse der Referenzsubstanz ^{14}C -DS⁻..... 106
- Abbildung 0.3: LC-MS/MS-Analyse der vereinte Probe der MeOH-Extrakte DS⁻ Tag 7. 106
- Abbildung 0.4: HPLC-Radio-Chromatogramm des Extraktes nach Silylierung mit extrahiertem Boden inkubiert mit ^{14}C -DP für 7 Tage. Das radioaktive Signal konnten mit ^{14}C -DP als Referenzsubstanz co-chromatographisch als DP identifiziert werden. 107
- Abbildung 0.5: DC-Radio-Chromatogramm der Extrakte nach Silylierung mit ^{14}C -DS⁻ ohne Boden (a) und extrahiertem Boden inkubiert mit ^{14}C -DS⁻ für 7 Tage (b) und 84 Tage (c). Die radioaktiven Signale konnten mit ^{14}C -DS⁻ als Referenzsubstanz co-chromatographisch als DS⁻, zwei Abbauprodukten (2, 3) und nicht weiter identifizierbare Startaktivität (1) identifiziert werden. 108
- Abbildung 0.6: DC-Radio-Chromatogramm der Extrakte nach Silylierung mit ^{14}C -DA⁺ ohne Boden (a) und extrahiertem Boden inkubiert mit ^{14}C -DA⁺ für 7 Tage (b) und 84 Tage (c). Die radioaktiven Signale konnten mit ^{14}C -DA⁺ als Referenzsubstanz co-chromatographisch als DA⁺, drei Abbauprodukte (2, 3, 4) und nicht weiter identifizierbare Startaktivität (1) identifiziert werden. 109

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1.1: Bindungsmechanismen ionischer und nicht ionischer organischer Chemikalien im Boden und deren relative Bindungsstärke (Kästner et al., 2018).	19
Tabelle 1.2: Kriterien der REACH-Verordnung (REACH Anhang XIII) zur Identifizierung von PBT- und vPvB-Stoffen.	25
Tabelle 2.1: Bodenkenndaten des Standardbodens 5M.	37
Tabelle 3.1: Zusammensetzung der Applikationslösung DP, DS ⁻ und DA ⁺ in den Inkubationsansätzen mit nicht sterilem Boden.	41
Tabelle 3.2: Zusammensetzung der Applikationslösung DP, DS ⁻ und DA ⁺ in den Inkubationsansätzen mit sterilem Boden.	41
Tabelle 3.3: Applikationsmengen an ¹⁴ C pro Inkubationsansatz in den Re-Inkubationsansätzen mit extrahiertem und nicht sterilem Boden.	42
Tabelle 3.4: Zeit- und Gradientenprogramm für die HPLC-Analyse von DP. Laufmittel A: H ₂ O+0,1% Essigsäure; B: ACN+0,1% Essigsäure.	48
Tabelle 3.5: Zeit- und Gradientenprogramm für die HPLC-Analyse von DS ⁻ . Laufmittel A: H ₂ O+0,1% Essigsäure; B: ACN+0,1% Essigsäure.	48
Tabelle 3.6: Zeit- und Gradientenprogramm für die HPLC-Analyse von DA ⁺ . Laufmittel A: H ₂ O+0,1% Tetrafluoressigsäure; B: ACN.	49
Tabelle 3.7: Zugabe von radioaktivmarkierter und nicht radioaktivmarkierter Testsubstanz DP, DS ⁻ und DA ⁺ zu den Testansätzen.	57
Tabelle 4.1: Verteilung von ¹⁴ C-DP in den CaCl ₂ -Extrakten nach Adsorption und Desorption sowie die Boden-Extrakte nach Desorption für die Testkonzentrationen 1, 1,6, 2, 4, 10 und 20 mg/kg. Daten sind dargestellt als Mittelwert (n=2) der AR (%) mit Standardabweichung (Konfidenzintervall $\alpha=0,05$).	67
Tabelle 4.2: Verteilungskoeffizienten für die Adsorption (logKF _{ads}) und Desorption (logKF _{des}), Freundlich-Exponent für Adsorption (n _{ads}) und Desorption (n _{des}), sowie logK _{oc} für die Adsorption von DP, DS ⁻ und DA ⁺ im Boden 5M.	68
Tabelle 0.1: Verteilung der AR von ¹⁴ C-DP auf mineralisierte, flüchtige, extrahierbare und nicht-extrahierbare Anteile nach 0, 0,16, 7 und 61 Tagen Inkubation. Daten sind dargestellt als Mittelwert (MV; n=2) der AR mit Standardabweichung (ST).	97
Tabelle 0.2: Verteilung der AR von ¹⁴ C-DS ⁻ auf mineralisierte, flüchtige, extrahierbare und nicht-extrahierbare Anteile nach 0, 0, 16, 6 und 56 Tagen Inkubation. Daten sind dargestellt als Mittelwert (MV; n=2) der AR mit Standardabweichung (ST).	97
Tabelle 0.3: Verteilung der AR von ¹⁴ C-DA ⁺ auf mineralisierte, flüchtige, extrahierbare und nicht-extrahierbare Anteile nach 0 und 7 Tagen Inkubation. Daten sind dargestellt als Mittelwert (MV; n=2) der AR mit Standardabweichung (ST).	97
Tabelle 0.4: Wiederfindung der AR in den Ansätzen mit DP in den Testkonzentrationen 1, 1,6, 2, 4, 10 und 20 mg/kg. Daten sind dargestellt als Mittelwert (n=3) der AR (%) mit Standardabweichung (Konfidenzintervall $\alpha=0,05$).	98

Tabelle 0.5: Wiederfindung der AR in den Ansätzen mit DS ⁻ in den Testkonzentrationen 1, 1,6, 2, 4, 10 und 20 mg/kg. Daten sind dargestellt als Mittelwert (n=3) der AR (%) mit Standardabweichung (Konfidenzintervall $\alpha=0,05$).	98
Tabelle 0.6: Wiederfindung der AR in den Ansätzen mit DA ⁺ in den Testkonzentrationen 1, 1,6, 2, 4, 10 und 20 mg/kg. Daten sind dargestellt als Mittelwert (n=3) mit Standardabweichung (Konfidenzintervall $\alpha=0,05$).	98
Tabelle 0.7: Verteilung der AR von ¹⁴ C-DP auf mineralisierte, flüchtige, extrahierbare und nicht-extrahierbare Anteile nach 0, 1, 7, 14, 49, 84 und 124 Tagen Inkubation. Daten sind dargestellt als Mittelwert (MV; n=3) mit Standardabweichung (ST) (Konfidenzintervall $\alpha=0,05$; - = nicht bestimmt).	99
Tabelle 0.8: Verteilung der AR von ¹⁴ C-DS ⁻ auf mineralisierte, flüchtige, extrahierbare und nicht-extrahierbare Anteile nach 0, 1, 7, 14, 49, 84 und 124 Tagen Inkubation. Daten sind dargestellt als Mittelwert (MV; n=3) mit Standardabweichung (ST) (Konfidenzintervall $\alpha=0,05$; - = nicht bestimmt).	99
Tabelle 0.9: Verteilung der AR von ¹⁴ C-DA ⁺ auf mineralisierte, flüchtige, extrahierbare und nicht-extrahierbare Anteile nach 0, 1, 7, 14, 49, 84 und 124 Tagen Inkubation. Daten sind dargestellt als Mittelwert (MV; n=3) mit Standardabweichung (ST) (Konfidenzintervall $\alpha=0,05$; - = nicht bestimmt).	99
Tabelle 0.10: Verteilung der AR von ¹⁴ C-DP, ¹⁴ C-DS ⁻ und ¹⁴ C-DA ⁺ auf mineralisierte, flüchtige, extrahierbare und nicht-extrahierbare Anteile nach 14 Tagen Inkubation. Daten sind dargestellt als Mittelwert (MV; n=3) mit Standardabweichung (ST) (Konfidenzintervall $\alpha=0,05$; - = nicht bestimmt).	100
Tabelle 0.11: Wiederfindung der CaCl ₂ -, MeOH-, MeOH:H ₂ O- und ACN-Extrakte von ¹⁴ C-DP nach Aufarbeitung für die HPLC-Analyse in % AR. Daten sind dargestellt als Mittelwert (MV; n=3) mit Standardabweichung (ST) (Konfidenzintervall $\alpha=0,05$).	102
Tabelle 0.12: Wiederfindung der CaCl ₂ -, MeOH-, MeOH:H ₂ O- und ACN-Extrakte von ¹⁴ C-DS ⁻ nach Aufarbeitung für die HPLC-Analyse in % AR. Daten sind dargestellt als Mittelwert (MV; n=3) mit Standardabweichung (ST) (Konfidenzintervall $\alpha=0,05$).	102
Tabelle 0.13: Wiederfindung der CaCl ₂ -, MeOH-, MeOH:H ₂ O-, ACN- und Soxhlet-Extrakte von ¹⁴ C-DA ⁺ nach Aufarbeitung für die HPLC-Analyse in % AR. Daten sind dargestellt als Mittelwert (MV; n=3) mit Standardabweichung (ST) (Konfidenzintervall $\alpha=0,05$).	102
Tabelle 0.14: Analyse der CaCl ₂ -, MeOH-, MeOH:H ₂ O- und ACN-Extrakte von ¹⁴ C-DP im nicht sterilen Boden. Die Verteilung der Radioaktivität wurde mittels DC-Scanner untersucht. Die Identifizierung von ¹⁴ C-DP erfolgte co-chromatographisch mittels nicht radioaktivmarkierter Referenzsubstanz DP. Die Abbauprodukte konnten auf Grund zu geringer Radioaktivitätsmengen nicht identifiziert werden. Daten sind dargestellt als Mittelwert (n=3) in Bezug auf die AR (%) (Konfidenzintervall $\alpha=0,05$; - = nicht nachweisbar).	103
Tabelle 0.15: Analyse der CaCl ₂ -, MeOH-, MeOH:H ₂ O- und ACN-Extrakte von ¹⁴ C-DS ⁻ im nicht sterilen Boden. Die Verteilung der Radioaktivität wurde mittels DC-Scanner untersucht. Die Identifizierung von ¹⁴ C-DS ⁻ erfolgte co-	

chromatographisch mittels nicht radioaktivmarkierter Referenzsubstanz DS ⁻ . Die Abbauprodukte konnten auf Grund zu geringer Radioaktivitätsmengen nicht identifiziert werden. Daten sind dargestellt als Mittelwert (n=3) in Bezug auf die AR (%). (Konfidenzintervall $\alpha=0,05$; - = nicht nachweisbar).	104
Tabelle 0.16: Analyse der CaCl ₂ -, MeOH-, MeOH:H ₂ O-, ACN- und Soxhlet-Extrakte von ¹⁴ C-DA ⁺ im nicht sterilem Boden. Die Verteilung der Radioaktivität wurde mittels DC-Scanner untersucht. Die Identifizierung von ¹⁴ C-DA ⁺ erfolgte co-chromatographisch mittels nicht radioaktivmarkierter Referenzsubstanz DA ⁺ . Daten sind dargestellt als Mittelwert (n=3) in Bezug auf die AR (%) (Konfidenzintervall $\alpha=0,05$; - = nicht nachweisbar).	105

Abkürzungsverzeichnis

AA	Aminosäuren
^{14}C -AA	^{14}C -Aminosäuren
ACN	Acetonitril
Al	Aluminium
AP	Alkylphenol
APEO	Alkylphenoethoxylat
AR	applizierte Radioaktivität
BCF	Biokonzentrationsfaktor
C_s	Konzentration im Boden
C_{aq}	Konzentration in CaCl_2 -Lösung
Ca	Calcium
CaCl_2	Calciumchlorid
CHCl_3	Chloroform
4-CP	4-Chlorphenol
2,4-D	2,4-Dichlorphenoxyessigsäure
2,4-DCP	2,4-Dichlorphenol
DT_{50}	Halbwertszeit
^{14}C -DP	4- <i>n</i> -Dodecylphenol[phenyl ring- $^{14}\text{C}(\text{U})$]
DP	4- <i>n</i> -Dodecylphenol
^{14}C -DS ⁻	4- <i>n</i> -Dodecylbenzolsulfonat Natriumsalz[phenyl ring- $^{14}\text{C}(\text{U})$]
DS ⁻	4- <i>n</i> -Dodecylbenzolsulfonat Natriumsalz
^{14}C -DA ⁺	4- <i>n</i> -Dodecylbenzyltrimethylammoniumchlorid[phenyl ring- $^{14}\text{C}(\text{U})$]
DA ⁺	4- <i>n</i> -Dodecylbenzyltrimethylammoniumchlorid
dpm	Desintegration per minute
EtOH	Ethanol
GG	Gleichgewicht
H_2O	Wasser
HCl	Salzsäure
K_H	Henry-Flüchtigkeitskonstante

LAS	Lineare Alkylbenzolsulfonate
$\log K_F^{\text{ads}}$	Adsorptionsisotherme
$\log K_F^{\text{des}}$	Desorptionsisotherme
$\log K_{\text{ow}}$	Verteilungskoeffizient <i>n</i> -Oktanol-Wasser
$\log K_{\text{oc}}$	Verteilungskoeffizient organischer Bodenkohlenstoff-Wasser
LSC	Liquid Scintillation Counting
MBq	Megabecquerel
MCPA	2-Methyl-4-chlorphenoxyessigsäure
MeOH	Methanol
n^{ads}	Freundlich-Exponent Adsorption
n^{des}	Freundlich-Exponent Desorption
NER	nicht-extrahierbare Rückstände
NaBr	Natriumbromid
NaN_3	Natriumazid
NaOH	Natriumhydroxid
NOEC	No observed effect level concentration
NP	Nonylphenol
p	Dampfdruck
pK_s	Dissoziationskonstante
QAC	quartäre Ammoniumverbindung
RT	Raumtemperatur
S_w	Wasserlöslichkeit
TMCS	Trimethylchlorsilan
THF	Tetrahydrofuran
WHK_{max}	maximale Wasserhaltekapazität

1 Einleitung

1.1 Eintrag anthropogener Chemikalien in der Umwelt

Die Produktion und Vermarktung von Chemikalien ist ein Industriezweig, der von Jahr zu Jahr an Bedeutung gewinnt. 2017 lag der weltweite Jahresumsatz der Chemischen Industrie bei 3.475.408 Mio. € (VCI, 2018). Insgesamt waren 2017 laut Chemical Abstracts Service (CAS) über 135 Mio. organische und anorganische Chemikalien bekannt. In Abhängigkeit von ihrer intendierten Wirkung können diese Chemikalien den Pflanzenschutzmitteln, Arzneimitteln oder Bioziden zugeordnet werden. Gelangen diese anthropogenen Chemikalien in die Umwelt, werden sie als Xenobiotika bezeichnet, da sie chemische Strukturen oder funktionale Gruppen aufweisen, die nicht oder nur selten in Naturstoffen vorkommen (Parvez et al., 2001). Auch Chemikalien ohne Wirkmechanismen können als Xenobiotika auftreten. Hierzu zählen Industriechemikalien, Chemikalien, die unbeabsichtigt entstehen (bspw. Dioxine und Furane) oder natürlich vorkommende Chemikalien, die durch anthropogene Einflüsse in unnatürlich hohen Konzentrationen in der Umwelt zu finden sind (bspw. Schwermetalle).

Chemikalien können gewollt oder ungewollt in die Umwelt gelangen. Unter den absichtlich ausgebrachten Chemikalien sind Pflanzenschutzmittel die quantitativ bedeutendste Stoffgruppe (Schäffer et al., 2018a). Ungewollte Einträge verlaufen über nasse und trockene Deposition luftgetragener Chemikalien, Abdrift von Pflanzenschutzmitteln, Unfälle, Leckagen sowie der Ausbringung von Klärschlamm und Abwässern. Böden und Sedimente sind daher wichtige Senken und enthalten hohe Umweltkonzentrationen an Xenobiotika (Northcott & Jones, 2000).

Nach Eintrag können Transportprozesse zwischen den Umweltkompartimenten Luft, Wasser und Boden zur ubiquitären Ausbreitung von Xenobiotika führen. Die Mobilität von Chemikalien in der Atmosphäre und dem Wasserkreislauf inklusive Grundwasser ist hoch, dem Boden ist eine geringe Transportfunktion zuzusprechen (Bliefert, 2012). Physiko-chemische Eigenschaften wie der Dampfdruck (p), die Henry-Konstante (K_H), die Wasserlöslichkeit (S_w) und der Verteilungskoeffizient n -Oktanol-Wasser ($\log K_{ow}$) sind bei der Abschätzung des Transportpotentials von Chemikalien von Bedeutung.

Die Verteilung und das Schicksal von Xenobiotika werden durch ihre chemischen Eigenschaften einerseits und durch die des umgebenden Umweltmediums andererseits bestimmt (Abb. 1.1). Nach Eintritt in den Boden können Xenobiotika sorbiert an die feste Bodenphase oder gelöst in der Bodenlösung vorliegen, wo sie direkt zugänglich für Pflanzen und Mikroorganismen sind. Neben Transportprozessen bestimmen chemische und biologische Abbauprozesse das Schicksal von Umweltchemikalien. Einige Chemikalien und deren Transformationsprodukte können vollständig zu CO_2 und H_2O mineralisiert

werden, andere können nicht biotisch und abiotisch abgebaut werden und sind daher persistent in der Umwelt. Im Boden und Sediment können Xenobiotika und ihre Transformationsprodukte nicht-extrahierbare Rückstände (NER) bilden, die in Abhängigkeit von ihrer Form (sequestriert, kovalent oder biogen gebunden) als reversible oder irreversibel gebunden gelten (Kästner et al., 2018; Schäffer et al., 2018b).

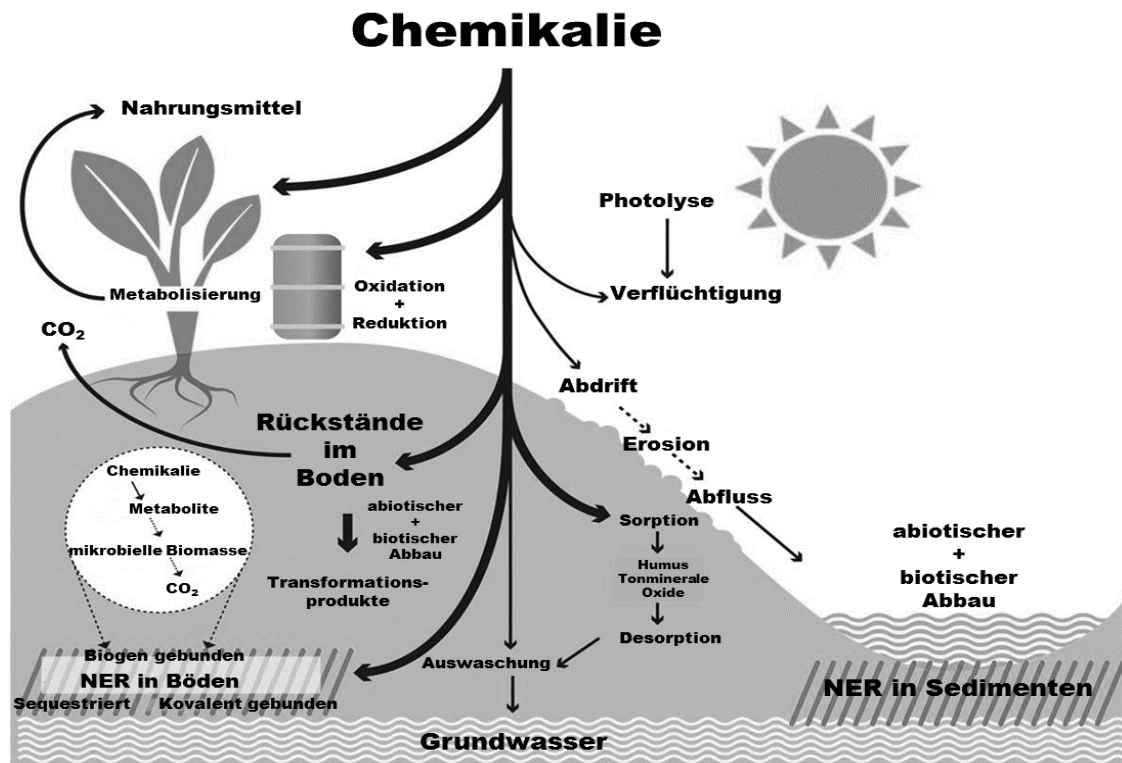


Abbildung 1.1: Verteilung und Schicksal von Chemikalien nach Eintrag in die Umwelt (verändert nach https://www.ufz.de/export/data/2/97733_Grafik_wp3.jpg).

1.2 Boden

Boden ist der schmale Grenzbereich der Erdoberfläche, in dem sich Lithosphäre, Atmosphäre und Biosphäre überlagern (Lewandowski et al., 1997; Rowell, 1994). Boden stellt ein Transformationsprodukt aus mineralischer und organischer Substanz dar und enthält neben Wasser und Luft auch lebende Organismen, das sogenannte Edaphon. Somit besteht Boden aus einer festen, flüssigen und gasförmigen Phase, die miteinander im wechselseitigen Austausch stehen. Die feste Phase, auch Bodenmatrix genannt, kann in organische (2-10%) und mineralische Bestandteile (90-98%) unterteilt werden (Gisi, 1997). Mineralische Bestandteile (Ton, Schluff und Sand) und die organische Fraktion, der Humus, bilden Bodenaggregate unterschiedlicher Größe und Stabilität. Die räumliche Anordnung der Bodenbestandteile charakterisiert die Bodenstruktur, die Zusammensetzung der Bodenmatrix im Hinblick auf Partikelgröße der mineralischen Komponenten wird durch die Bodentextur beschrieben (Gisi, 1997).

1.2.1 Organische und Mineralische Bodenmatrix

Die organische Materie stellt den kleineren Anteil der Bodenmatrix dar und umfasst lebende Organismen, Humus, abgebautes organisches und pflanzliches Material sowie deren Abbauprodukte. Humus wird durch die Anwesenheit des Edaphons beeinflusst, da dieser durch dessen metabolische Aktivität ständigen Ab- und Umbauprozessen unterliegt. Biotisch abbaubare Anteile der organischen Materie können von Mikroorganismen zu CO_2 und H_2O als anorganische Endprodukte verstoffwechselt werden und dienen diesen dadurch als Nährstoff- und Energiequelle (Gisi, 1997). Die Humifizierung von pflanzlichem oder tierischem Material durch biologische oder chemische Prozesse führt zu stabilen Transformationsprodukten. Über oxidative Kopplungsreaktionen, chemisch oder enzymatisch initiiert, können diese Transformationsprodukte aneinander gekoppelt werden (Bollag et al., 1992). Beachtliche Mengen an Huminstoffen bilden mit Ton-Mineralen sogenannte Organo-Ton-Komplexe. Es wird angenommen, dass die negativ geladenen Tonminerale über Wasserstoffbrückenbindungen oder die Adsorption multivalenter Kationen, wie Ca^{2+} und Al^{3+} , an Huminstoffe binden, was deren weiteren mikrobiellen Abbau verhindert (Gisi, 1997).

Der Hauptbestandteil der Bodenmatrix ist die mineralische Fraktion, die aus Ausgangsgestein und Mineralen besteht. Die mineralische Substanz des Bodens steht in engem Bezug zum Ausgangsgestein, muss jedoch nicht mit diesem identisch sein, da die Minerale chemisch verändert und neugebildet werden. Die Ausgangsgesteine werden nach ihrer chemischen Zusammensetzung in Kalkgesteine, Silicatgesteine und Mischgesteine unterteilt (Gisi, 1997). Während der Bodenbildung werden primäre Minerale des Ausgangsgesteins durch Verwitterung zu sekundären Mineralen umgewandelt (Hintermaier-Erhard & Zech, 1997). Neben Quarz sind Silikate die bedeutendsten Minerale des Ausgangsgesteins. Tonminerale, Hydroxide sowie Oxidhydroxide von Eisen und Aluminium sind wichtige sekundäre Minerale, die sich vor allem in der Schluff- und Tonfraktion befinden (Gisi, 1997) (Abb. 1.2).

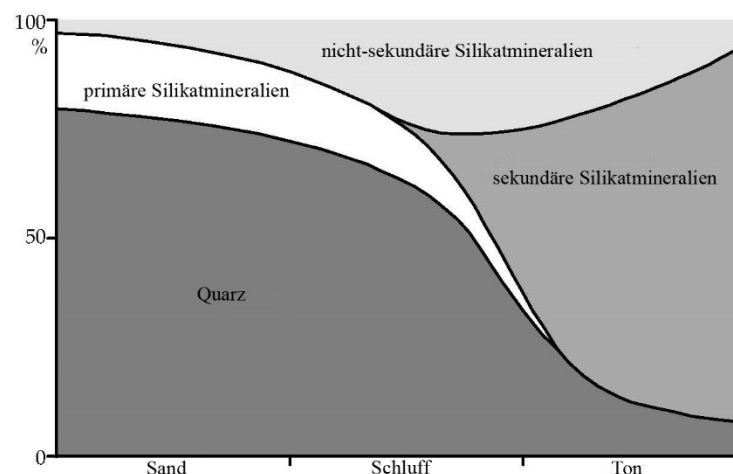


Abbildung 1.2: Verteilung von Mineralen über die Korngrößenfraktionen Sand, Schluff und Ton (verändert nach Brady and Weil (1984)).

Die Bodenmatrix kann anhand der Größe der Bodenpartikel der Mineralfraktion aufgetrennt werden. Die Verteilung der sogenannten Korngrößen bestimmt die Bodentextur und den Bodentyp. Partikel mit einem Äquivalentdurchmesser > 2 mm bilden das Bodenskelett, der Rest (< 2 mm) wird als Feinerde bezeichnet, die weiter in Sandfraktion (50 oder 63-2000 μm), Schlufffraktion (2-50 oder 63 μm) und Tonfraktion (< 2 μm) unterteilt werden können (Gisi, 1997; Hintermaier-Erhard & Zech, 1997).

1.3 Chemikalien im Boden

Nach dem Eintrag von Chemikalien in den Boden können sie durch Organismen aufgenommen werden, durch biotisch oder abiotische Mechanismen abgebaut oder in die wässrige und gasförmige Phase transportiert werden. All diese Prozesse werden größtenteils durch die Neigung der Chemikalie zur Sorption an feste Bestandteile oder zum physikalischem Einschluss (ECETOC, 2013b), der zur Bildung nicht-extrahierbarer Rückstände führen kann (Gevao et al., 2000; Senesi, 1992), kontrolliert.

1.3.1 Sorption

Viele Chemikalien und ihre Abbauprodukte sind in der Lage mit der festen Bodenphase über verschiedene Sorptionsprozesse zu wechselwirken. Unter Sorption versteht man die Anreicherung einer Chemikalie innerhalb einer Phase (Absorption) und an der Grenzfläche zweier Phasen (Adsorption). Eine Trennung zwischen Absorptions- und Adsorptionsprozessen ist im Hinblick auf Boden nicht immer möglich. Abhängig von der Art der Wechselwirkung ist die Sorption von Chemikalien an Boden reversibel oder irreversibel.

Sorption kann die Bioverfügbarkeit von Umweltchemikalien im Boden beeinflussen. Organische Chemikalien, die im Boden potentiell Bioabbauprozessen durch Mikroorganismen unterliegen können, sind oft in ihrer Verfügbarkeit durch Sorption oder Diffusion an entlegene Stellen limitiert (Scow & Hutson, 1992). Adsorbierte organische Verbindungen werden als weniger zugänglich für Mikroorganismen angesehen, da diese bevorzugt oder ausschließlich desorbierte Chemikalien in Lösung verwerten können (Boesten, 2016; Boivin et al., 2005). Grund ist, dass Chemikalien in gelöster Form vorliegen müssen, um über passive Diffusion entlang der mikrobiellen Membran in die Zelle zu gelangen (Semple et al., 2004), wo sie zugänglich für abbauende Enzyme sind (Bosma et al., 1997). Verläuft die Desorption langsam, kann dies zu einer niedrigen Abbaurate führen, die durch die verringerte Bioverfügbarkeit der sorbierten Chemikalie und nicht durch deren inhärenten Abbaubarkeit verursacht wird (Bosma et al., 1997).

Im Boden können feste Bodenbestandteile, wie Humus, Tonminerale und Oxide mit hoher spezifischer und elektrisch geladener Oberfläche Ionen und nicht ionische organische Chemikalien aus der Bodenlösung adsorbieren (Rowell, 1994). Die Sorption nicht ionischer organischer Chemikalien an Boden steht generell im Zusammenhang mit dessen

Gehalt an organischer Materie (Bollag et al., 1992; Calderbank, 1989; Sawhney & Singh, 1997). In Böden mit geringem Anteil an organischer Materie spielen Tonminerale bei der Sorption von Chemikalien eine wichtige Rolle (Hayes & Mingelgrin, 1991; Mingelgrin & Gerstl, 1983). Sorption und Desorption von Chemikalien durch natürliche Bodenpartikel sind bimodale Prozesse, die sich durch eine schnelle und langsame Phase auszeichnen (Pignatello & Xing, 1996). Zu Beginn sorbieren die Chemikalien schnell und reversibel an den Boden, gefolgt von einer Phase langsamer Sorption, die zu einer desorptions-resistenten Fraktion führt (Ball & Roberts, 1991). Der Prozess, durch den organische Chemikalien im Boden zunehmend Desorptions-resistent werden, wird als Aging bezeichnet und hat negative Auswirkungen auf die Extrahierbarkeit einer Chemikalie (Hatzinger & Alexander, 1995).

Anhand der charakteristischen Wechselwirkungen und der Anziehungskraft, die zwischen Bodenmatrix und Chemikalie als Adsorbens und Adsorbat vorherrschen, können physikalische, chemische und elektrostatische Sorptionsprozesse unterschieden werden (Weber Jr et al., 1991). Folgende Bindungsmechanismen können der Adsorption von Chemikalien an Boden zu Grunde liegen: Dipol-Dipol-Wechselwirkungen, Wasserstoffbrückenbindungen, hydrophobe Wechselwirkungen, Van der Waals-Kräfte, Ionenbindung und kovalente Bindung (Calvet, 1989; Gevaio et al., 2000; Senesi, 1992). Physikalische Adsorption weist im Vergleich zur chemischen Adsorption eine geringere Bindungsstärke auf (Bailey & White, 1964) (Tab. 1.1).

Tabelle 1.1: Bindungsmechanismen ionischer und nicht ionischer organischer Chemikalien im Boden und deren relative Bindungsstärke (Kästner et al., 2018).

	Bindungsstärke [kJ/mol]
Dipol-Dipol-Wechselwirkung	5-50
Wasserstoffbrückenbindung	4-120
Hydrophobe Wechselwirkung	5-10
Van der Waals-Kräfte	0,5-5
Ionenbindung	100-350
Kovalente Bindung	300-800

Sorptionsprozesse ionischer organischer Chemikalien an Umweltsubstrate unterscheiden sich von solchen neutraler Chemikalien. Ionenaustausch ist ein Mechanismus über den

ionische organische Chemikalien mit der geladenen Bodenoberfläche interagieren können. Er findet entweder zwischen organischen Kationen und negativ geladenen Bodenbestandteilen oder zwischen organischen Anionen und positiv geladenen Oberflächen im Boden statt (Calvet, 1989). Kationen haben eine hohe Affinität gegenüber negativ geladenen Tonmineralen (Droge & Goss, 2013; Mulder et al., 2018). Für Anionen wurde eine Sorption an Carbonate und Organo-Ton-Komplexe beschrieben (Celis et al., 1999). Trotz seiner überwiegend negativen Ladung, ist die organische Materie Hauptsorbent für Anionen im Boden (Tülp et al., 2009).

Bei der Adsorption von Ionen an geladene Bodenbestandteile unterscheidet man spezifische und unspezifische Adsorptionsprozesse: Während bei der spezifischen Adsorption Ionen durch chemische Bindung (Ionenbindung) stabil gebunden werden, sind Ionen, die unspezifisch über elektrostatische Anziehungskräfte an den Boden adsorbiert sind, frei austauschbar (Rowell, 1994). Die Oberfläche der meisten Tonminerale ist infolge des isomorphen Ersatzes ungleich geladener Zentralkationen (z.B. Al^{3+} statt Si^{4+}) mit negativen Ladungsstellen versehen (Gisi, 1997), wodurch sie austauschbare Kationen binden können (Rowell, 1994). Die Ladung anderer Tonminerale und Sesquioxide ist vom pH-Wert abhängig: Im sauren Milieu tragen sie eine positive, im basischen Bereich eine negative Ladung und binden entsprechend Anionen bzw. Kationen (Rowell, 1994). An negativ geladene phenolische und carboxylische Gruppen der Huminstoffe werden positiv geladene Ionen teilweise spezifisch teilweise auch durch unspezifische Adsorption festgehalten (Gevao et al., 2000; Rowell, 1994). Anionische Chemikalien können ebenfalls über Ionentausch an Oxide und Hydroxide sorbiert werden; jedoch stellt dies nicht den Hauptadsorptionsmechanismus dieser Ionen im Boden dar (Calvet, 1989). Es ist unwahrscheinlich, dass eine elektrostatische Sorption, die über die wenigen positiv geladenen Gruppen am Schichttrand von Tonmineralen oder portionierter Amine innerhalb der organischen Bodenmaterie erfolgt, einen signifikanten Adsorptionsmechanismus für schwache Säuren im Boden darstellt (Dubus et al., 2001).

1.3.2 Nicht-extrahierbare Rückstände

Seit den 1970er Jahren finden NER im Umweltrisikomanagement von Chemikalien Beachtung (Barriuso et al., 2008). Zu Beginn der Forschung wurden NER als „gebundene Rückstände“ bezeichnet und standen im Kontrast zu nicht-gebundenen Rückständen, die ohne Veränderung ihrer chemischen Struktur schnell aus dem Boden extrahiert werden konnten. Diese Unterscheidung ist jedoch nicht immer klar, da nicht-gebundene Rückstände nicht frei von jeglicher Bindung sind und adsorbiert an der festen Bodenphase vorliegen können (Alexander, 1994; Gevao et al., 2000). Nicht-gebundene Rückstände zeigen somit Eigenschaften, die eigentlich gebundenen Rückständen zugesprochen werden. Daher werden gebundene und nicht-gebundene Rückstände gegenwärtig über die Eigenschaft der Nicht-Extrahierbarkeit unter Laborbedingungen differenziert. Hierbei ist zu

beachten, dass die Extrahierbarkeit einer Chemikalie operational vom Extraktionsmittel und -methode, den experimentellen Bedingungen, dem Boden und der Chemikalie selbst abhängt (Barriuso et al., 2008; Boesten, 2016; Mordaunt et al., 2005). Gegenwärtig stellen gebundene Rückstände „Chemikalien in Boden, Pflanzen oder Tieren dar, die nach Extraktion in Form der Ausgangssubstanz oder seiner Transformationsprodukte in der Matrix verbleiben. Die Extraktionsmethode darf weder die Chemikalie selbst noch die Matrix wesentlich verändern“ (Führ et al., 1998). Nicht-extrahierbare Rückstände, die durch den Einbau von $^{14}\text{CO}_2$ und kleinen Molekülbruchstücken entstehen, werden in der Definition nicht berücksichtigt (ECETOC, 2013b; Klein & Scheunert, 1982).

Der Verlust der Extrahierbarkeit von Chemikalien wird vermutlich durch ihre Bindung an organisches und/oder mineralisches Material oder durch den Einbau in die organische Bodensubstanz hervorgerufen (Barracough et al., 2005). Die Bindung von Pestiziden oder anderer Chemikalien an Boden reicht von schwachen Wechselwirkungen, wie Van der Waals-Kräften, bis hin zu starken, chemischen Bindungen, die kovalenter oder ionischer Natur sein (Bollag et al., 1992; Senesi, 1992) und simultan auftreten können (Calderbank, 1989). Neben der Bindung an kann der Einschluss zwischen die Schichten von Tonmineralen (Klein & Scheunert, 1982) oder in der organischen Materie zur Bildung von NER im Boden führen (Haider et al., 2000).

Die Nicht-Extrahierbarkeit einer Chemikalie verändert ihr Verhalten im Boden maßgeblich. Die Interaktion von Chemikalien mit festen Bodenbestandteilen, die zur Bildung von NER führt, limitiert ihren vollständigen Abbau (Barriuso et al., 2008). Durch die Bindung von Chemikalien an Humusbestandteile des Bodens wird die Konzentration der Chemikalie, die zur Interaktion mit der Biota zur Verfügung steht, herabgesetzt, die Toxizität vermindert und die Mobilität der Chemikalien verändert, was sich in der Regel in einem reduzierten Versickerungs- und Transportverhalten widerspiegelt (Bollag et al., 1992).

Die Untersuchung von NER mit klassischen Analysemethoden, die eine Extraktion der Analyten aus dem Boden voraussetzt, ist auf Grund der Nicht-Extrahierbarkeit dieser Rückstände nicht möglich. Daher werden NER unter Verwendung einer Isotopen-Markierung, üblicherweise ^{14}C , untersucht. Die Verwendung ^{14}C -markierter Chemikalien in Simulationstests mit Boden ermöglicht die Quantifizierung der NER, die nach erschöpfender Lösemittelextraktion im Boden zurückbleiben (Craven, 2000; Kästner et al., 2018; Mordaunt et al., 2005; Schäffer et al., 2018b). Die Charakterisierung und Identifizierung dieser Rückstände im Boden unter Verwendung spezifischer Analyse-Methoden ist Gegenstand heutiger Forschung (Northcott & Jones, 2000).

Nach Kästner et al. (2014) können drei NER-Typen unterschieden werden (Abb. 1.3). Typ I NER umfasst die Ausgangssubstanz oder dessen Transformationsprodukte, die stark sorbiert an oder physikalisch eingeschlossen (=sequestriert) in der organischen oder mineralischen Bodenmatrix vorliegen (Berns et al., 2005; Loibner et al., 2006). Bei Typ

II NER sind Ausgangssubstanz oder dessen Transformationsprodukte kovalent an die Bodenmatrix gebunden (Tong et al., 2016). Unter Typ III NER versteht man nicht-extrahierbare Biomoleküle, z.B. Aminosäure und Fettsäuren, in die das ^{14}C -Atom durch katabolischen Abbau der Ausgangssubstanz eingebaut wurde (Kästner et al., 2016; Kästner et al., 2014; Nowak et al., 2011; Poßberg et al., 2016).

Biogene Rückstände (Typ III NER) gelten im Hinblick auf die Umwelt als unbedenklich, da sie nicht von natürlichen biogenen Rückständen der organischen Bodenmaterie unterscheidbar sind (Nowak et al., 2011; Trapp et al., 2018). Kovalent gebundenen NER (Typ II) werden eine niedrige Umweltrelevanz zugesprochen (Calderbank, 1989), da sie unter physiologischen Bedingungen als stabil gelten und ihre Freisetzung unwahrscheinlich ist (Eschenbach et al., 1998). Die Bindung sequestrierter (Typ I) NER wird jedoch als reversibel betrachtet, da es durch den Abbau der Huminstofffraktion des Bodens zur Freisetzung physikalisch eingeschlossener Rückstände kommen kann (Kästner et al., 2018; Schäffer et al., 2018b), die bioverfügbar für Bodenorganismen sind. Zudem ist die relative Bindungsstärke sorptiver Prozesse, die an der Bildung von Typ I NER beteiligt sind (u.a. Wasserstoffbrückenbindungen, Dipol-Dipol-Wechselwirkungen, Van der Waals-Kräfte) gegenüber der kovalenten Bindung als niedriger einzustufen.

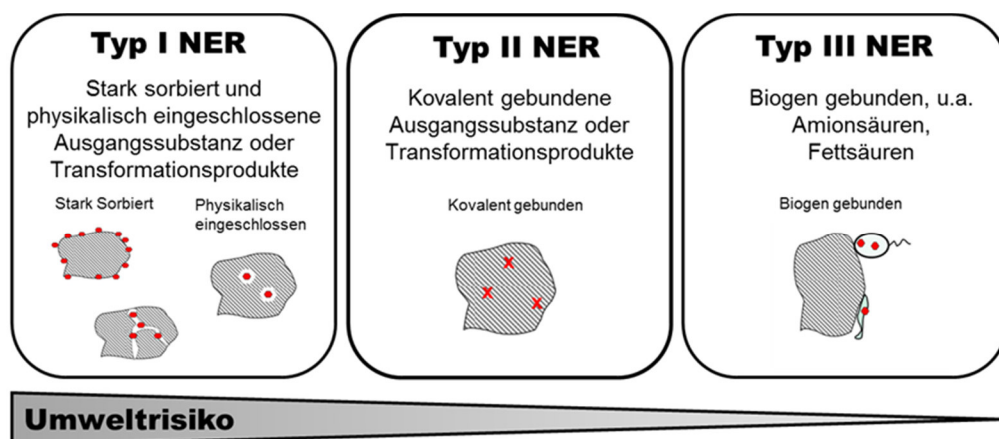


Abbildung 1.3: Sequestrierte (Typ I), kovalent (Typ II) und biogen gebundene (Typ III) nicht-extrahierbare Rückstände (NER) im Boden (verändert nach Jöhncke (2018)).

NER haben Relevanz für die Umweltbewertung von Chemikalien, da durchschnittlich ein Drittel der applizierten Chemikalienkonzentration in Simulationsstudien nicht-extrahierbar sind (Barriuso et al., 2008; Boesten, 2016). Jedoch ist die Anwendung einer klassischen Umweltrisikobewertung für diese Rückstände kompliziert, da es schwierig ist die Identität der gebundenen Rückstände im Hinblick auf die Chemikalie und potentieller Transformationsprodukte zu klären (Barracough et al., 2005) um sie bei der Ableitung von Halbwertszeiten zu berücksichtigen. Auf EU-Ebene existieren daher wenige Leitlinien zur Umweltrisikobewertung von NER trotz 50 Jähriger Forschung (Boesten, 2016). So wird in der EU kein Pflanzenschutzmittelwirkstoff zugelassen, wenn 100 Tage nach

Applikation die NER-Bildung $\geq 70\%$ beträgt bei einer Mineralisationsrate $\leq 5\%$ (CEC, 1997).

1.4 Ionische und ionisierbare Chemikalien

Ionische und ionisierbare Chemikalien zeichnen sich durch eine oder mehrere funktionelle Gruppen in ihrer Molekülstruktur aus, die eine negative oder positive Ladung tragen. In Abhängigkeit von der chemischen Ladung werden diese Chemikalien als Kation (positive Ladung), Anion (negative Ladung) und amphotere Verbindungen (positive und negative Ladung) bezeichnet. Funktionelle Gruppen, wie z.B. alkoholische und phenolische Hydroxylgruppen, Carboxyl-, Sulfonsäure- und Thiolgruppen, sowie Amine sind kennzeichnend für ionische und ionisierbare Chemikalien.

Die Ionisation einer Chemikalie hängt von deren elektronischer Struktur, also von dessen Atomen und funktionellen Gruppen, ab (Calvet, 1989). So sind quartäre Ammoniumverbindung permanent geladen, während die Ionisation schwacher Basen und Säuren von pH-Wert der wässrigen Phase des Umweltkompartiments abhängt (Calvet, 1989). Ionisierbare Chemikalien besitzen entweder schwache saure und/oder basische funktionelle Gruppen (Kah & Brown, 2006). Permanent geladene Chemikalien und solche, die saure, funktionelle Gruppen mit $pK_s < 0$ oder basische, funktionelle Gruppen mit $pK_s > 12$ enthalten, werden als ionische Chemikalien bezeichnet (Manallack, 2009).

Die Dissoziationskonstante (pK_s) beschreibt den pH-Wert, bei dem die Konzentration der ungeladenen und ionischen Spezies einer Chemikalie identisch ist (Abb. 1.4). Anhand der pK_s schwacher Säuren und Basen kann die Ionisation solcher Chemikalien in Abhängigkeit vom pH-Wert ermittelt werden. Da die pK_s ionisierbarer Chemikalien oft im umweltrelevanten pH-Bereich liegt, dominiert die ungeladene oder ionische Spezies der Chemikalien in Abhängigkeit vom pH-Wert des umgebenden Umweltkompartiments. Starke organische Säuren mit einer pK_s unterhalb des umweltrelevanten pH-Bereichs (5-9) kommen hauptsächlich als Anion vor, starke Basen mit einer $pK_s > 9$ liegen vornehmlich als Kation vor (ECETOC, 2013a). Gilt $|\text{pH} - pK_s| > 2$, so ist eine Spezies vernachlässigbar, da ihr Anteil $< 1\%$ beträgt (Schaffer & Licha, 2014).

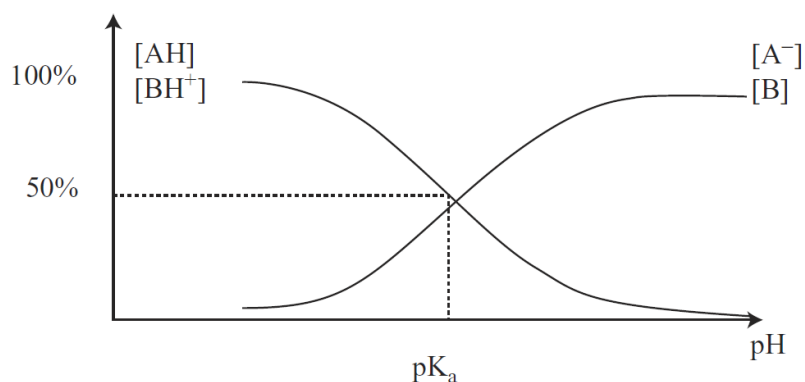


Abbildung 1.4: Änderung der Konzentration (%) der geladenen (A^-) und ungeladenen Spezies einer Säure (AH) bzw. der ungeladenen (B) und geladenen Spezies (BH^+) einer Base in Abhängigkeit vom pH-Wert (nach Kah and Brown (2006)).

Die neutrale und ionische Spezies einer Chemikalie verhalten und verteilen sich durchaus unterschiedlich, weshalb der pH-Wert und die Anwesenheit anderer Ionen das Schicksal ionischer und ionisierbarer Chemikalien hochgradig beeinflusst (Mackay et al., 2006).

1.5 PBT-Bewertung von Chemikalien unter REACH

REACH (EC No 1907/2006) ist die europäische Chemikalienverordnung zur Registrierung (Registration), Bewertung (Evaluation) und Zulassung (Authorisation) von Chemikalien (Chemicals). Sie ist 2006 in Kraft getreten und hat die alten Regularien des Chemikalienrechts abgelöst. Zu den Zielen von REACH zählt u.a. die Sicherstellung eines hohen Schutzniveaus für Mensch und Umwelt. Dies soll durch die Identifizierung und Regulierung von Chemikalien mit besonders besorgniserregenden Eigenschaften (SVHC – substances of very high concern) erreicht werden. Hierzu zählen Chemikalien mit kanzerogenen, mutagenen und reproduktionsschädigenden Eigenschaften (CMR-Stoffe), Chemikalien mit endokriner Wirkung (ED-Stoffe) und Chemikalien mit persistenten, bioakkumulierenden und toxischen (PBT-Stoffe) bzw. sehr persistenten und sehr bioakkumulierenden Eigenschaften (vPvB-Stoffe). Werden Chemikalien solche Eigenschaften nachgewiesen, werden sie in die Kandidatenliste aufgenommen und für eine Zulassung priorisiert (Rauert et al., 2014). Durch die Zulassung soll die Produktion, Import und Nutzung der SVHC geregelt werden (van Wijk et al., 2009).

PBT-Stoffe werden auf Grund ihrer längerfristig schädlichen Wirkung als gefährlich für die Umwelt angesehen (Rauert et al., 2014). Die Identifizierung von PBT-/vPvB-Stoffen erfolgt über definierte Kriterien der REACH-Verordnung (REACH Anhang XIII) (Tab. 1.2). Diese PBT-/vPvB-Kriterien finden auch in anderen Stoffvollzügen (Pflanzenschutzverordnung, EC No 1107/2009; Arzneimittelverordnung, 2001/83/EC und 2001/82/EC; Biozidverordnung; EC No 528/2012) Anwendung (Rauert et al., 2014). Die Kriterien zur Identifizierung von PBT-Stoffen wurden anhand einer spezifischen Auswahl an Referenzchemikalien abgeleitet, bei denen erkannt wurde, dass sie ein großes Gefährdungspotential für die Umwelt haben. Dabei handelte es sich um hydrophobe,

nicht ionische Chemikalien, wie z.B. chlorierte Pestizide, polychlorierte Biphenyle und polychlorierte Dibenzodioxine und –Furane (Matthies et al., 2016).

Tabelle 1.2: Kriterien der REACH-Verordnung (REACH Anhang XIII) zur Identifizierung von PBT- und vPvB-Stoffen.

Kriterium	PBT- Kriterien		vPvB- Kriterien	
Persistenz	DT ₅₀ (Süßwasser)	≥ 40 Tage	DT ₅₀ (Süßwasser)	≥ 60 Tage
	DT ₅₀ (Meerwasser)	≥ 60 Tage	DT ₅₀ (Meerwasser)	≥ 60 Tage
	DT ₅₀ (Süßwassersediment)	≥ 120 Tage	DT ₅₀ (Süßwassersediment)	≥ 180 Tage
	DT ₅₀ (Meerwassersediment)	≥ 180 Tage	DT ₅₀ (Meerwassersediment)	≥ 180 Tage
	DT ₅₀ (Boden)	≥ 120 Tage	DT ₅₀ (Boden)	≥ 180 Tage
Bioakkumulation	BCF	≥ 2000 L/kg	BCF	≥ 5000 L/kg
Toxizität	NOEC	≤ 0,01 mg/L	-	

Die Kriterien zur Bewertung der Abbaubarkeit von Chemikalien basieren auf kompartiment-spezifischen Halbwertszeiten (DT₅₀) für die Umweltmedien Süßwasser, Meerwasser, Süßwassersediment, Meerwassersediment und Boden (Tab.1.2). Im Sinne der REACH-Verordnung wird unter der Halbwertszeit die Zeit verstanden, in der die Konzentration des Stoffes durch Abbau um 50% herabgesetzt wird. Für die Bewertung der Persistenz von Chemikalien stehen standardisierte Simulationstests mit Boden, Sediment und Oberflächenwasser zur Verfügung (OECD 307 - *Aerobic and Anaerobic Transformation in Soil*; OECD 308 - *Aerobic and Anaerobic Transformation in Aquatic Sediment Systems*; OECD 309 - *Aerobic Mineralization in Surface Water*). Welches Umweltkompartiment für eine experimentelle Prüfung des Abbaus und der Ermittlung der DT₅₀ gewählt wird, hängt u.a. stark vom Adsorptionsverhalten einer Chemikalie ab (REACH Anhang VIII, 9.3.1). So ist für Stoffe mit hohem Adsorptionspotential neben der Durchführung eines Simulationstest mit Oberflächenwasser die Untersuchung des Abbaus in Boden oder Sediment vorgesehen (REACH Anhang IX, 9.2.1.).

Die Adsorption, also die Verteilung von Stoffen zwischen fester und flüssiger Bodenphase im Gleichgewichtszustand, wird experimentell über die Batch-Equilibrium-Methode (OECD 106 - *Adsorption- Desorption Using a Batch Equilibrium Method*) (OECD, 2000) bestimmt und als Adsorptionskoeffizient K_d ausgedrückt. Die Adsorption einer Chemikalie im Boden ist ein komplexer Prozess, da sich der Boden aus verschiedenen Fraktionen (Wasser, Mineralien, organische Materie) zusammensetzt. Der K_d spiegelt somit nicht nur die Eigenschaften der Chemikalie wieder, sondern ist eine Kombination aus Boden- und Moleküleigenschaften. Um den Einfluss der organischen Bodenbestandteile auf die Adsorption zu eliminieren, wird der K_d normiert auf den Anteil an organischen Kohlenstoff im Boden (K_{oc}) angegeben (OECD, 2000).

Für Stoffe mit einem Produktions- oder Importvolumen ≥ 10 t/a ist mit einer Registrierung eine Adsorptionsstudie obligatorisch vorzulegen (REACH Anhang VIII, 9.3.1.). Auf die experimentelle Untersuchung der Adsorption von Stoffen an mineralische und organische Bodenbestandteile kann verzichtet werden, wenn die physikochemischen Stoffeigenschaften (z.B. niedriger $\log K_{ow}$) auf ein geringes Adsorptionspotential hinweisen (REACH Anhang VIII, 9.3.1.).

Durch den Vergleich der, in Simulationstests ermittelten Halbwertszeit mit den kompartiment-spezifischen Grenzwerten kann eine Chemikalie als Persistent in der Umwelt bewertet oder als nicht Persistent entlastet werden.

1.6 Ziel der Arbeit

Das Bewertungskonzept zur Identifizierung persistenter, bioakkumulierender und toxischer (PBT-) Stoffe wurde auf Grundlage neutraler, organischer Chemikalien entwickelt (Matthies et al., 2016). Jedoch sind nach einer Auswertung von Franco et al. (2010) 49% der unter REACH registrierten Stoffe im umweltrelevanten pH-Bereich (pH-Wert 4-10) ionisch. Manallack (2009) berichten, dass mehr als 68% aller untersuchten, pharmazeutischen Wirkstoffe ionisierbar bzw. permanent ionisch vorliegen. Auch die in Europa zugelassenen Pestizide umfassen signifikante und steigende Mengen ionisierbarer Wirkstoffe (Kah & Brown, 2007). Eine chemische Ladung beeinflusst die physikochemischen Eigenschaften organischer Chemikalien. So haben ionisierbare Chemikalien im dissoziierten Zustand oft eine höhere Wasserlöslichkeit (TGD, 2003) und somit einen niedrigeren $\log K_{ow}$. Diese Umstände führen dazu, dass ionische und ionisierbare Chemikalien ein, im Vergleich zu neutralen Chemikalien, abweichendes Umweltverhalten zeigen können. In welchem Maße eine chemische Ladung die physikochemischen Eigenschaften und das Verhalten in der Umwelt beeinflusst, hängt jedoch auch von der übrigen Molekülstruktur und der Molekülgröße ab. So konnte Kah et al. (2007) zeigen, dass die beiden Herbizide Metsulfuron-Methyl und Flupyrsulfuron-Methyl, die eine Sulfonsäuregruppe in ihrer Molekülstruktur tragen und zur Gruppe der Sulfonylharstoff-Pestizide gehören, ein unterschiedliches Abbauverhalten im Boden zeigen. Auch der Abbau des Anions 2,4-D unterscheidet sich deutlich von den Strukturanalogen 2,4-DCP und 4-CP (Benoit & Barriuso, 1997). Es fehlen somit Studien zur isolierten Betrachtung des Einflusses einer chemischen Ladung auf das Schicksal organischer Chemikalien in der Umwelt.

In diesem, durch das Umweltbundesamt geförderten Projekt soll untersucht werden, in wie fern eine chemische Ladung Sorption, Schicksal und Bildung von NER organischer Chemikalien im Boden beeinflusst. Dazu wurden anhand ausgewählten Modellsubstanzen Simulationstests mit Boden nach OECD 307 und Sorptionsstudien nach OECD 106

durchgeführt. Hinsichtlich der Untersuchung der NER wurde das Augenmerk auf die Bestimmung der Typ I, II und III NER gelegt, die, wie oben dargestellt, für die regulatorische Bewertung von NER von Bedeutung sind. Folgende Hypothesen wurden aufgestellt:

- I. Eine chemische Ladung hat Einfluss auf die Sorption organischer Chemikalien im Boden.
- II. Eine chemische Ladung beeinflusst das Schicksal organischer Chemikalien im Boden.
- III. Eine chemische Ladung hat Einfluss auf die Bildung nicht-extrahierbarer Rückstände organischer Chemikalien im Boden.

Unter Berücksichtigung der Ergebnisse soll diskutiert werden, ob das Konzept zur Bewertung der Persistenz für ionische und ionisierbare Chemikalien einer Anpassung bedarf.

1.7 Modellsubstanzen

Zur Untersuchung des Einflusses einer chemischen Ladung auf das Umweltverhalten organischer Chemikalien im Boden wurden die drei Modellsubstanzen 4-*n*-Dodecylphenol, 4-*n*-Dodecylbenzolsulfonat Natriumsalz und 4-*n*-Dodecyltrimethylammoniumchlorid ausgewählt, da i) sie eine hohe strukturelle Ähnlichkeit aufweisen, ii) die chemische Ladung im Molekül permanent vorhanden ist bzw. nicht durch den pH-Bereich der verwendeten Testsysteme beeinflusst wird, iii) sie inhärent abbaubar sind und iv) durch ihre Verwendung Relevanz für die Umwelt haben.

1.7.1 4-*n*-Dodecylphenol

4-*n*-Dodecylphenol (DP) besteht aus einem alkylierten Phenolring (Abb. 1.5) und gehört zur Gruppe der Alkylphenole (AP). AP bestehen aus einem Phenolring, der mit Alkylketten variabler Länge mono- bzw. polysubstituiert ist (Corvini et al., 2006). Die Dissoziation von DP mit einem $pK_s = 10,31$ ist im umweltrelevanten pH-Bereich nicht zu erwarten, weshalb DP ungeladen vorliegt.

In der Umwelt entstehen AP u.a. durch den Primärabbau von Alkylphenolethoxylaten (APEO), die als nicht ionische Tenside eingesetzt werden (Giger et al., 1984; Ying et al., 2002). Neben ihrer Rolle als Ausgangsmaterial für APEO werden AP bei der Herstellung von Phenolharzen, Polymeren, Hitzestabilisatoren, Antioxidantien und Härtungsmitteln eingesetzt (Ying et al., 2002). DP findet Anwendung bei der Herstellung von Öl- und Schmiermittelzusätzen und wird nur vereinzelt für die Produktion von Phenol- und Formaldehydharzen eingesetzt (Brooke et al., 2007). Der primäre Eintrag von AP und APEO in die Umwelt erfolgt über Abwässer und Klärschlamm sowie über direkte Ausbringung bspw. in Form von Pestizidapplikationen (Ying et al., 2002). Unter den AP ist Nonylphenol (NP) der kommerziell bedeutendste Vertreter (Corvini et al., 2006). NP gilt

unter aeroben Bedingungen als abbaubar. Für Boden liegen die Halbwertszeiten zwischen 4 und 30 Tagen (Chang et al., 2007; Dubroca et al., 2005; Nielsen et al., 2000; Topp & Starratt, 2000). Zu DP sind keine Studien zum Umweltverhalten bekannt. In Studien mit den Abbauprodukten verschiedener APEO konnte deren hormonähnliche Wirkungen nachgewiesen werden. DP zeigte eine vergleichbar hohe Affinität zum Östrogenrezeptor wie 4-NP (Blair et al., 2000), dass auf Grund seiner endokrinen Wirkung auf der Kandidatenliste als SVHC gelistet ist.

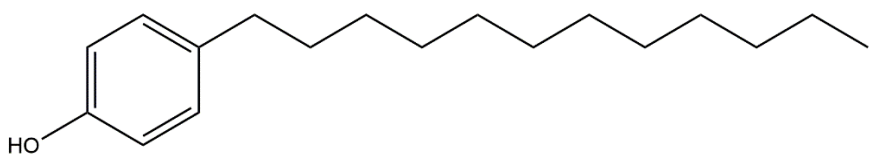
Name	4- <i>n</i> - Dodecylphenol
Summenformel	C ₁₈ H ₃₀ O ₁
Molekulargewicht	262,44 g/mol
Strukturformel	
S _w (pH 7,4)	< 0,01 mg/L ^a
logK _{ow}	6,6 ^a
logK _{oc}	5,5 ^b
pK _s	10,3 ^a
<i>p</i> (25°C)	0,3*10 ⁻³ Pa ^b
K _H (25°C)	3,5 Pa*m ³ /mol ^b
^a Berechnet mit MarvinBeans Software (Marvin Suite Version 16.3.7.0 ChemAxon)	
^b Berechnet mit EPISuite Software (EPIWEB Version 4.1)	

Abbildung 1.5: Strukturformel, Summenformel, Molekulargewicht und physikochemische Eigenschaften von 4-*n*-Dodecylphenol.

1.7.2 4-*n*-Dodecylbenzolsulfonat Natriumsalz

4-*n*-Dodecylbenzolsulfonat Natriumsalz (DS⁻) ist ein Sulfonsäuresalz; die entsprechende 4-*n*-Dodecylbenzolsulfonsäure hat einen pK_s= -1,84 (Abb. 1.6). Starke Säure mit pK_s<3 liegen unter Umweltbedingungen fast vollständig als Anion vor (Sixt, 1998). Aus diesem Grund ist die Sulfonsäuregruppe von DS⁻ im umweltrelevanten pH-Bereich fast vollständig dissoziiert und trägt eine negative Ladung.

DS⁻ gehört zur Gruppe der linearen Alkylbenzolsulfonate (LAS⁻). LAS⁻ bestehen aus einem Benzolring mit polarer Sulfonatgruppe und lipophiler Alkylkette unterschiedlicher Länge. Es handelt sich um komplexe Gemische aus Homologen mit einer Alkylketten-

länge von 10-14 Kohlenstoffatomen. Die durchschnittliche Kohlenstoffkettenlänge kommerzieller LAS⁻ beträgt ungefähr 11,8 (Holysh et al., 1986). Durch die variable Position des Phenylrings in der Alkylkette besteht jedes Homolog aus 5-7 Stellungsisomeren (Ying, 2006).

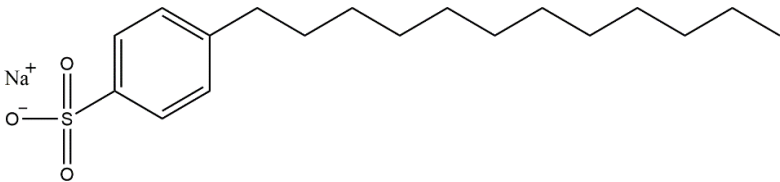
Name	4- <i>n</i> -Dodecylbenzolsulfonat Natriumsalz
Summenformel	C ₁₈ H ₂₉ NaO ₃ S ₁
Molekulargewicht	348,48 g/mol
Strukturformel	
S _w (pH 7,4)	325,5 mg/L ^a
logK _{ow} (nicht ionisch)	5,7 ^a
logK _{ow} (ionisch)	3,4 ^a
logK _{oc} (nicht ionisch)	3,6 ^b
pK _s	-1,8 ^a
<i>p</i> (25°C) (nicht ionisch)	1,1*10 ⁻⁸ Pa ^b
K _H (25°C) (nicht ionisch)	0,01 Pa*m ³ /mol ^b
^a Berechnet mit MarvinBeans Software (Marvin Suite Version 16.3.7.0 ChemAxon)	
^b Berechnet mit EPISuite Software (EPIWEB Version 4.1)	

Abbildung 1.6: Strukturformel, Summenformel, Molekulargewicht und physikochemische Eigenschaften von 4-*n*-Dodecylbenzolsulfonat Natriumsalz.

In gewerblichen Erzeugnissen werden LAS⁻ als Homolog-Gemisch eingesetzt (Jensen, 1999). LAS⁻ sind auf Grund ihrer Molekülstruktur anionische Tenside. Anwendung finden sie im Bereich von Wasch- und Reinigungsmittel (Ahmed & Ishiguro, 2015; Jensen, 1999; Marcomini et al., 1987), schaubildenden Polymerpräparaten (Holysh et al., 1986) und Emulgiermitteln in Pflanzenschutzmitteln (Ahmed & Ishiguro, 2015). Nach Nutzung und Entsorgung können LAS⁻ über verschiedene Eintragspfade in die Umwelt gelangen. LAS⁻ werden direkt oder indirekt, über die Kläranlage, in Oberflächengewässer eingetragen. Den Boden erreichen LAS⁻ direkt, als Bestandteil in Pflanzenschutzmitteln, oder indirekt, über die Behandlung von Böden mit Abwasser oder Klärschlamm (Ying, 2006). Typische Konzentrationen klärschlammgedüngter Böden liegen zwischen 1 und 5 mgLAS⁻/kg (Jensen, 1999). Eine Verteilung in die Atmosphäre ist auf Grund des niedrigen Dampfdrucks nicht zu erwarten (Holysh et al., 1986).

Viele Studien behandeln den Abbau kommerzieller LAS⁻. Studien zum Abbau der individuellen LAS⁻-Homologe und -Isomere sind nicht bekannt. Die Halbwertszeit von LAS⁻ in Klärschlamm gedüngten Böden liegt zwischen 7 und 33 Tagen (Ward & Larson, 1989; Ying, 2006). Die Abbaurate der LAS⁻-Homologe nimmt mit Länge der Alkylkette zu und der Abbau der Isomere eines Homologes steigt mit zunehmender Entfernung der Sulfonatgruppe von der terminalen Methylgruppe der Alkylkette (Terzić et al., 1992). Unter anaeroben Bedingungen gelten LAS⁻ in der Umwelt als persistent und werden nicht oder nur kaum abgebaut (Jensen, 1999; Scott & Jones, 2000).

1.7.3 4-*n*-Dodecylbenzyltrimethylammoniumchlorid

4-*n*-Dodecylbenzyltrimethylammoniumchlorid gehört zur Gruppe der quartären Ammoniumverbindungen (quaternary ammonia compounds – QAC⁺) (Abb. 1.7). Es handelt sich um organische Ammoniumverbindungen, bei denen das Stickstoffatom vier kovalente Bindungen aufweist und somit permanent als Kation vorliegt. QAC⁺ bestehen aus mindestens einer hydrophoben Kohlenwasserstoffkette verknüpft mit einem positiv geladenem Stickstoffatom und anderen Alkylgruppen wie Methyl- oder Benzolgruppen (Ying, 2006; Zhang et al., 2015).

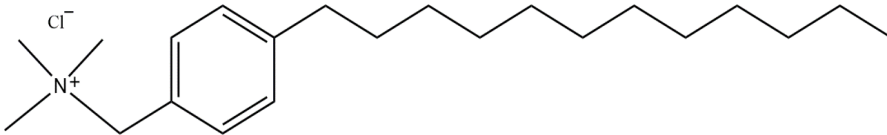
Name	4- <i>n</i> -Dodecylbenzyltrimethylammoniumchlorid
Summenformel	C ₂₂ H ₄₀ Cl ₁ N ₁
Molekulargewicht	354,02 g/mol
Strukturformel	
S _w (pH 7,4)	318,6 mg/L ^a
logK _{ow} (ionisch)	-1,7 ^a
logK _{oc} (nicht ionisch)	3,9 ^b
pK _s	-
<i>p</i> (25°C) (nicht ionisch)	3,5*10 ⁻⁹ Pa ^b
K _H (25°C) (nicht ionisch)	5,7*10 ⁻⁶ Pa*m ³ /mol ^b
^a Berechnet mit MarvinBeans Software (Marvin Suite Version 16.3.7.0 ChemAxon)	
^b Berechnet mit EPISuite Software (EPIWEB Version 4.1)	

Abbildung 1.7: Strukturformel, Summenformel, Molekulargewicht und physikochemische Eigenschaften von 4-*n*-Dodecylbenzyltrimethylammoniumchlorid.

Aufgrund ihrer Oberflächenaktivität, Interaktion mit negativ geladenen Oberflächen, Beteiligung an Ionenaustauschphänomenen sowie ihrer bioziden Wirkung werden QAC⁺ häufig in Waschmitteln, Reinigern, Deodorants, Befeuchtungsmitteln, Weichmachern, Emulgierungsmitteln und Bioziden genutzt (Sarkar et al., 2010). Tensidische QAC⁺ werden als Desinfektionsmitteln und Weichspüler in Waschmitteln eingesetzt (Ying, 2006). Auf Grund ihrer Verwendung gelangen QAC⁺ in Abwasseraufbereitungsanlagen (Zhang et al., 2015), wo sie wegen ihre positive Ladung schnell an Klärschlamm, der vornehmlich negativ geladen ist, sorbieren (Ying, 2006). Die Haupteintragsquelle von QAC⁺ in die Umwelt ist die Ausbringung von Abwässern oder Schlamm aus Kläranlagen (Li et al., 2014). Die Konzentration von QAC⁺ in klärschlammgedüngten Böden liegt bei 25 µg/kg (Mulder et al., 2018). QAC⁺ gelten generell als biologisch abbaubar unter aeroben Bedingungen (Zhang et al., 2015). Mit steigender Alkylkettenlänge und Substitution von Methyl- mit Benzolgruppen sinkt die biotische Abbaurate von QAC⁺ (Garcia et al., 2001). Unter anaeroben Bedingungen werden QAC⁺ normalerweise nicht oder nur in geringen Mengen abgebaut (García et al., 1999). Studien zum Abbau von DA⁺ sind nicht bekannt.

2 Material

2.1 Messgeräte und Instrumente

2.1.1 Geräte und Zubehör

Probenspritze Microlita R 10, 25, 100 µL	Camag, Berlin
Hamilton Auftragsspritze 100, 500 µl	Camag, Berlin
Ultraschallbad Transsonic T460	Elma, Singen
Magnetrührer mit Heizplatte RCTbasic	Ika Labortechnik, Staufen
Rotationsverdampfer Rotavapor EL 130	Büchi, Essen
Membran-Vakuumpumpe	Vacuumbrand, Wertheim
Feinwaage	Sartorius, Goettingen
Laborwaage	Sartorius, Goettingen
Ultraschallstab UW 200	Bendelin electronic, Berlin
Zentrifuge Avanti I20 XPI	Beckman Coulter, Krefeld
Zentrifuge 2 K 15	Sigma, Osterode am Harz
Wasserbad mit Schüttler (Julabo SW, Julabo U3)	Julabo, Seelbach
Trockenschrank	Memmert, Schwabach
Gefriertrocknungsanlage	Alpha 1-2 Christ, Osterode am Harz
UV-Lampe (254 nm / 336 nm)	Camag, Berlin
Ultraschall-Desintegrator Sonoplus HD200	Bandelin, Berlin
Horizontalschüttler GFL 3017	Gesellschaft für Labortechnik, Burgwedel
Zentrifugenbecher 200 mL	VWR, Darmstadt
Schottflaschen 500 mL	VWR, Darmstadt
Rundkolben 250 mL	VWR, Darmstadt
Messzylinder 250 mL	VWR, Darmstadt
Schott-Zentrifugengläser 80 mL	VWR, Darmstadt

2.1.2 Messgeräte

Szintillationszähler HIDEX SL 600/ SL 300	Hidex, Finnland
Biological Oxidizer OX-500	Zinser Analytic, Frankfurt a.M.
pH-Meter CG 818	Schott Geräte, Mainz
DC-Auftragsmaschine Linomat IV	Camag, Berlin

Radio-DC-Scanner:

Software: Gina Star Version	Raytest, Straubenhard
-----------------------------	-----------------------

Radio-DC-Scanner Elysia Raytest Rita Star

Raytest, Berlin

Bioimager:

Software: PC-BAS Version 2.09

Bioimager BAS-1000

Fujifilm/Raytest, Straubenhardt

Eraser

Raytest, Straubenhardt

BAS-Kassette 2040

Fujifilm/Raytest, Straubenhardt

Fuji Imaging Plate

Fujifilm/Raytest, Straubenhardt

TYPE BAS-MS (508) 20 x 40 cm

GC:

Software: MSD ChemStation

GC Agilent Technologies 6890N

Agilent, Böblingen

Agilent Mass spectrometer 5973 MSD

Agilent, Böblingen

GC-Säulen:

HP5 5% Methyl Silicone Gum,

Agilent, Böblingen

30 m x 0,2 mm x 0,33 μ m Filmdicke

HPLC:

Software: Gina Star

Raytest, Straubenhardt

HP Agilent 1100 HPLC

HP, Bad Homburg

Degasser G1322A

Quat Pump G1311A

ALS Autosampler G1313A

Col Comp G1316A

DAD G1315A

Ramona Star Radiodetector mit Flüssigmesszelle

Raytest, Straubenhardt

HPLC-LS-Pumpe

Raytest, Straubenhardt

HPLC-Säule:

Synergi Polar-RP 80A, 4 μ , 250 x 4,60 mm

Phenomenex, Aaschaffenburg

LC-MS:

Software: Xcalibur 2.0.7

HP Agilent 1200 HPLC

Agilent, Böblingen

Micro-Vakuum Degasser G1379B

Binäre Pumpe SL G1312B

Autosampler SL G1367C

Autosamplerthermostat G1330B

Säulenthermostat SL G1316B

LTQ Orbitrap XL

Thermo Fisher, Dreieich

H-ESI II Quelle

Chiller TF9 B A 230/50 P

LC-MS-Säule:

Synergi Polar-RP 80A, 4 μ , 250 x 4,60 mm

Phenomenex, Aaschaffenburg

2.2 Chemikalien

2.2.1 Radiochemikalien

4-*n*-Dodecylphenol[phenyl ring-¹⁴C(U)]

ARC, Inc., USA

Spezifische Aktivität: 2849 MBq/mmol

radioanalytische Reinheit: > 99%

4-*n*-Dodecylbenzolsulfonat Natriumsalz[phenyl ring-¹⁴C(U)]

ARC, Inc., USA

Spezifische Aktivität: 5180 MBq/mmol

radioanalytische Reinheit: > 98%

4-*n*-Dodecylbenzyltrimethylammoniumchlorid

Bly Chem, England

[phenyl ring-¹⁴C(U)]

Spezifische Aktivität: 3293 MBq/mmol

radioanalytische Reinheit: > 98%

2.2.2 Referenzsubstanzen

4-*n*-Dodecylphenol > 99%

ARC, Inc., USA

HPLC: Säule: Synergi Polar-RP 80A, 4 μ , 250 x 4,60 mm; Mobile Phase: H₂O+0,1% Essigsäure (A), ACN+0,1% Essigsäure (B), Gradient 100% (B) zu 0% (A) in 25 min; Flussrate: 1 mL/min; Detektor: UV/ 220 nm und 280 nm

4-*n*-Dodecylbenzolsulfonat Natriumsalz > 98%

ARC, Inc., USA

HPLC: Säule: Synergi Polar-RP 80A, 4 μ , 250 x 4,60 mm; Mobile Phase: H₂O+0,1% Essigsäure (A), ACN+0,1% Essigsäure (B), Gradient 100% (B) zu 0% (A) in 35 min; Flussrate: 0,8 mL/min; Detektor: UV/ 220 nm und 280 nm

4-*n*-Dodecylbenzyltrimethylammoniumchlorid > 98%

Bly Chem, England

HPLC: Säule: Synergi Polar-RP 80A, 4 μ , 250 x 4,60 mm; Mobile Phase: H₂O+0,1% Trifluoressigsäure (A), ACN+0,1% Trifluoressigsäure (B), Gradient 100% (B) zu 0% (A) in 35min; Flussrate: 1 mL/min; Detektor: UV/ 220 nm und 280 nm

2.2.3 Organische Lösungsmittel

Methanol, HPLC Gradient grade	Merck, Darmstadt
Acetonitril, Ultra gradient HPLC grade	Merck, Darmstadt
Chloroform	VWR, Darmstadt
Aceton	VWR, Darmstadt
Ethanol	VWR, Darmstadt
1-Butanol	VWR, Darmstadt
Isopropanol	VWR, Darmstadt

2.2.4 Sonstige Chemikalien

Ammoniaklösung 25%	VWR, Darmstadt
Ammoniumacetat	AppliChem, Darmstadt
Ameinsensäure reinst	Merck, Darmstadt
Calciumchloriddihydrate	Merck, Darmstadt
Dimethylsulfoxid $\geq 99\%$	Merck, Darmstadt
DOWEX 50 W X8	Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
Essigsäure 99,8%	Riedel-de Haën, Seelze
Natronkalk (gekörnt 3-5 mm)	Carl Roth, Karlsruhe
Natriumazid	Merck, Darmstadt
Natriumhydroxid	Merck, Darmstadt
Salzsäure 37%	Carl Roth, Karlsruhe
Trichloromethylsilan	Sigma Aldrich Chemie GmbH, Steinheim
Oxalsäure	Merck, Darmstadt
Kieselgel 60 (0,035-0,070 mm)	Carl Roth, Karlsruhe
Wasserstoff 5.0	Praxair, Düsseldorf
Helium 5.0	Praxair, Düsseldorf
Stickstoff 5.0	Westfalen, Münster
Sauerstoff	Praxair, Düsseldorf

Argon Westfalen, Münster

2,5 M Ammoniumlösung:

34,13 g einer 25%igen Ammoniaklösung wurde unter Berücksichtigung der Dichte auf 200 mL mit Wasser aufgefüllt.

Ammoniumacetatpuffer:

30 mM, pH 5,6 (mit Essigsäure eingestellt)

2.2.5 Chemikalien zur Bestimmung des ^{14}C -Isotops

Spec-Chec-14C for sample Oxidizer (9,56*105 dpm/mL) Perkin Elmer, Rodgau

Oxysolve C-400 Szintillations-Cocktail Zinsser Analytic, Frankfurt a.M.

LumasafeTM plus Szintillations-Cocktail Perkin Elmer, Rodgau

Quicksafe Flow 2 Szintillations-Cocktail Zinsser Analytic, Frankfurt a.M.

2.2.6 Wasser

Sofern nicht anders angegeben wurde für die Experimente Reinstwasser (Reinstwasseranlage MembraPure, Hennigsdorf) mit nachgeschaltetem Sterilfilter (22 µm; MembraPure, Hennigsdorf) verwendet.

2.3 Verbrauchsmaterial

Membranfilter Polyamid Schleicher und Schuell, Dassel

0,2 µm, 25 mm ø NL 16

Einmalfilter Chromafil[®] Macherey-Nagel, Düren

(CA-45/25 ø Pore 0,45 µm ø Filter 25 mm)

Polyamid Siebgewebe, 60 µm Maschenweite VWR, Darmstadt

DC-Fertigplatten (SiL G-25 UV 245; 20 x 20) Macherey-Nagel, Düren

Cellulose-Fertigplatte (0,25 mm, 200 x 200 mm) Macherey-Nagel, Düren

Zellulose Merck, Darmstadt

Verbrennungshütchen Perkin Elmer, Rodgau

Einwegspritzen (2 mL) B. Braun, Melsungen

Einmal-Injektionskanülen Sterican B. Braun, Melsungen

Super Polyethylene Vial TM (20 mL) Perkin Elmer, Rodgau

Pocto-VialT M ISC (6 mL) Lumac LSC, NL

Parafilm Pechiny Plastic Packaging, USA

HPLC-Probengläser (2 mL) Chromatographie Service GmbH, Eschweiler

2.4 Versuchsboden

Bei dem in dieser Arbeit verwendeten Boden 5M handelt es sich um einen Standardboden der Landwirtschaftlichen Untersuchungs- und Forschungsanstalt Speyer (LUFA). Die Bodenkenndaten wurden dem Analysedatenblatt für Standardböden und dem Datenblatt (LUFA, 2015) entnommen (Tab. 2.1).

Tabelle 2.1: Bodenkenndaten des Standardbodens 5M.

Boden 5M	
Organischer Kohlenstoffgehalt (%)	1,02±0,08
Stickstoffgehalt (%)	0,13±0,01
pH-Wert (0,01 M CaCl ₂)	7,3±0,1
Kationenaustauschkapazität (meq/100g)	17,4±3,6
WHK _{max}	40,0±2,3
Bodenart (Deutsche DIN4220)	lehmiger Sand
Ton (%)	11,1±0,7
Schluff (%)	35,3±2,3
Sand (%)	53,5±3,2

Der Boden 5M wurde der Parzelle „In der Speyerer Hohl“ in Mechttersheim, Deutschland in einer Tiefe von 0 bis 20 cm entnommen. Zum Probenahmezeitpunkt war der Boden mit Wiese bewachsen. Nach Entnahme im Juli 2015 wurde der Boden bei Raumtemperatur für zwei Tage getrocknet und anschließend gesiebt (2 mm). Nach Erhalt des Bodens wurden diese bei 4°C im Dunkeln gelagert.

3 Methoden

3.1 Generelle Arbeitsschritte

Die Simulationstests zur Untersuchung des aeroben Abbaus von ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ im Boden 5M wurden entsprechend der Testrichtlinie OECD 307 (*Aerobic and Anaerobic Transformation in Soil*) (OECD, 2002) durchgeführt. Zusätzlich wurde mit Sterilkontrollen der abiotische Abbau der Modellschubstanzen im Boden 5M untersucht. Nach Inkubation der Ansätze mit nicht sterilem Boden wurde an jedem Aufarbeitungszeitpunkt ein Aliquot des Bodes zur Bestimmung der mikrobiellen Aktivität (DMSO-Reduktion) entnommen (Kapitel 3.11). Der restliche Boden wurde sequentiell extrahiert. Die Verteilung der applizierten Radioaktivität (AR) auf flüchtige, mineralisierte, extrahierbare und nicht-extrahierbare Anteile wurde bestimmt (Kapitel 3.6). Die extrahierbaren Anteile wurden analytisch mittels Dünnschichtchromatographie (DC), Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) und Flüssigkeitschromatographie mit gekoppelter Massenspektrometrie (LC-MS/MS) untersucht (Kapitel 3.7).

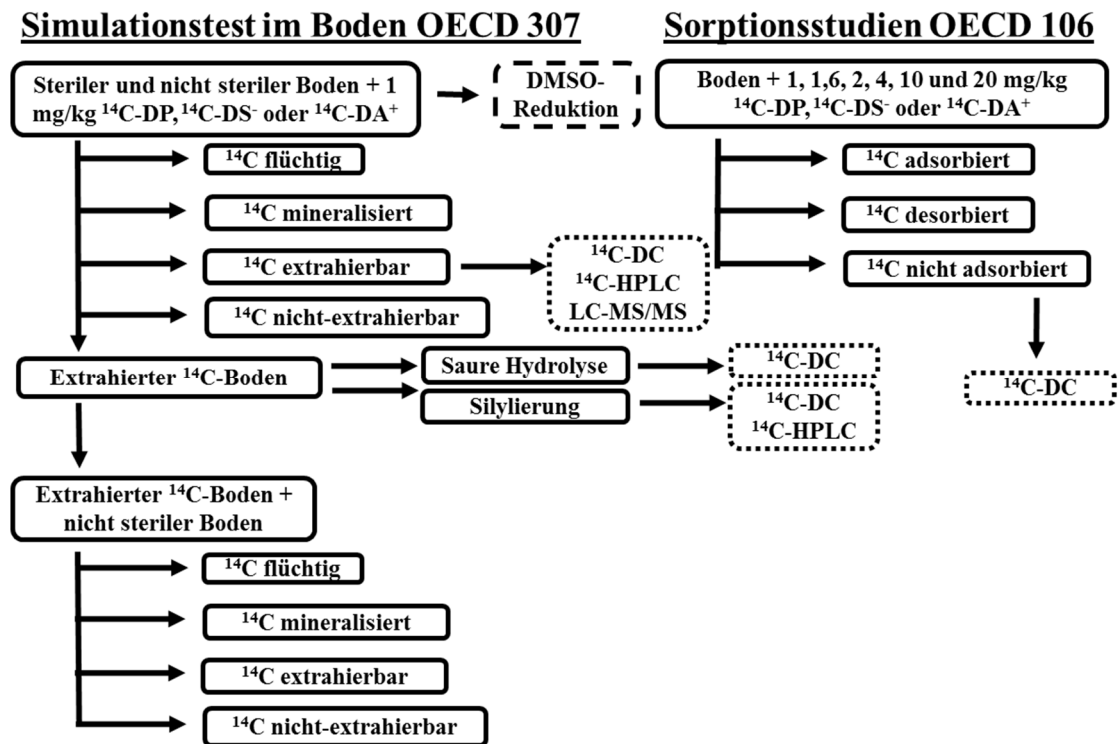


Abbildung 3.1: Generelle Arbeitsschritte zur Aufarbeitung der Proben in Simulationstests mit Boden nach OECD 307 und Sorptionsstudien nach OECD 106 mit den Testsubstanzen ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺.

Die Bodenproben wurden nach der Extraktion für weitere Untersuchungen verwendet: Eine Hälfte diente der Analyse der gebildeten, nicht-extrahierbaren Rückstände von ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ im Boden (Kapitel 3.8); die andere Hälfte des Bodens wurde mit nicht sterilem Boden versetzt und in Anlehnung an die Testrichtlinie

OECD 307 zur Untersuchung der möglichen Remobilisierung der nicht-extrahierbaren Rückstände von ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ re-inkubiert.

Studien zur Untersuchung der Adsorption und Desorption von ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ am Boden 5M wurden Sorptionsstudien in Anlehnung an die Testrichtlinie OECD 106 (*Adsorption – Desorption using a Batch-Equilibrium Method*) (OECD, 2000) durchgeführt (Kapitel 3.12). Es wurde die adsorbierten, desorbierten und nicht adsorbierten Anteile an Radioaktivität bestimmt. Die nicht adsorbierten Anteile wurden aufgearbeitet und mittels DC analysiert (Kapitel 3.7).

3.2 Stationäre Inkubationssysteme

Für die Durchführung der Simulationstests mit ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ wurden stationäre Systeme verwendet (Abb.3.2). Diese bestanden aus einer 500 mL Schottflasche mit einem Schornstein, der paraffingetränkte Glaswolle zur Fixierung flüchtiger Anteile, sowie 15 g Natronkalk (NaOH/Ca(OH)₂) zur $^{14}\text{CO}_2$ -Fixierung enthielt. Durch eine Öffnung des Schornsteins, die während der Inkubation mit Parafilm verschlossen war, konnten die Bodenansätze vor der Aufarbeitung mittels Gaswasserflasche gespült werden. Dies diente der Fixierung des im Gasraum befindlichen $^{14}\text{CO}_2$ sowie flüchtiger Anteile.

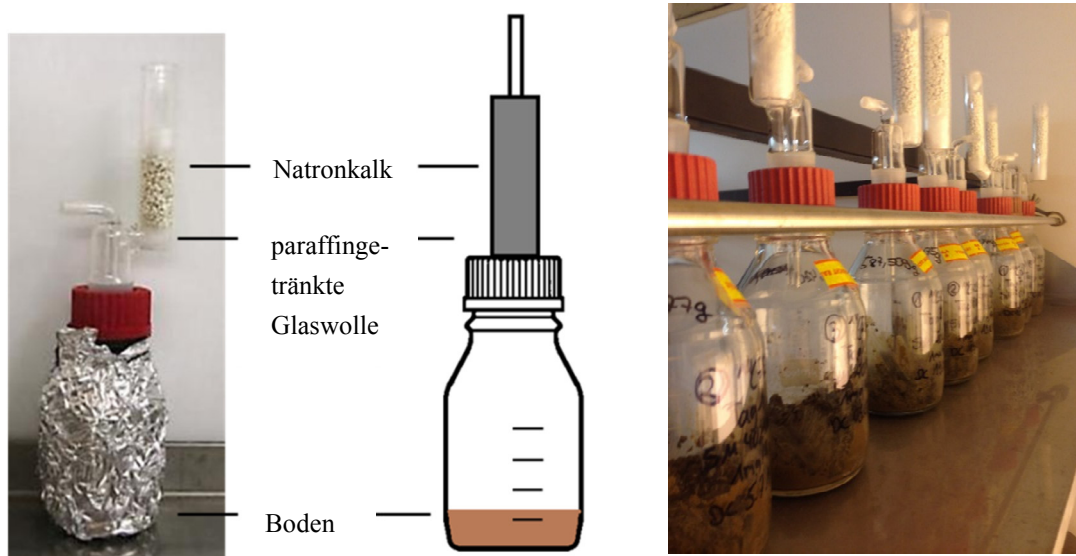


Abbildung 3.2: Stationäre Systeme zur Durchführung der Simulationstests mit ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺.

3.3 Inkubationsansätze

In Anlehnung an Vorversuche mit ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ mit nicht sterilem Boden (Anhang A.1) wurden die Inkubationsdauer und die Aufarbeitungszeitpunkte für alle Inkubationsansätze der Simulationstests mit Boden festgelegt.

i) Inkubationsansätze mit nicht sterilem Boden

Es wurden Inkubationsansätze von jeweils ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ in Triplikaten angesetzt und nach 0, 1, 7, 14, 49, 84 und 124 Tagen Inkubation im Dunkeln bei $18\pm 2^\circ\text{C}$ aufgearbeitet (Kapitel 3.6). Alle 14 Tage wurde die Bodenfeuchte über das Gewicht des Bodens kontrolliert und ggf. nachjustiert. Der Natronkalk wurde gewechselt und das enthaltene $^{14}\text{CO}_2$ quantifiziert (Kapitel 3.6.2). Ziel der Inkubationsansätze mit nicht sterilem Boden war die Untersuchung des biotischen Abbaus von ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ im Boden 5M.

ii) Inkubationsansätze mit sterilem Boden

Zur Untersuchung des abiotischen Abbaus wurden Inkubationsansätze von ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ mit autoklaviertem (feuchte Hitze, 2h, 121°C), γ -bestrahltem (30 kGy, ^{60}Co) Boden 5M in Triplikaten angesetzt und nach 14 Tagen Inkubation im Dunkeln bei $18\pm 2^\circ\text{C}$ aufgearbeitet (Kapitel 3.6). Ziel der Inkubationsansätze mit sterilem Boden war die Untersuchung des abiotischen Abbaus von ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ im Boden 5M.

iii) Re-Inkubationsansätze mit extrahiertem und nicht sterilem Boden

Für die Re-Inkubationsansätze wurde extrahierter Boden der ii) Inkubationsansätze mit nicht sterilem Boden an Tag 7 und 84 von ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ mit nicht sterilem Boden im Verhältnis 1:2 vermischt (Breitschwerdt, 2004). Dies diente der Regeneration der biologischen Aktivität des Bodens nach Extraktion mit organischen Lösungsmitteln. Die Re-Inkubationsansätze wurden in Triplikaten angesetzt und nach 54 Tagen Inkubation im Dunkeln bei $18\pm 2^\circ\text{C}$ aufgearbeitet (Kapitel 3.6). Alle 14 Tage wurde die Bodenfeuchte über das Gewicht des Bodens kontrolliert und ggf. nachjustiert. Der Natronkalk wurde gewechselt und das enthaltene $^{14}\text{CO}_2$ quantifiziert (Kapitel 3.6.2). Ziel der Re-Inkubationsansätze mit extrahiertem Boden war die Untersuchung der potentiellen Remobilisierung nicht-extrahierbarer Rückstände von ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ im Boden 5M.

3.4 Applikation der Inkubationsansätze

Vor der Applikation der Inkubationsansätze wurde die radiochemische Reinheit und Stabilität ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ mittels DC überprüft. Die Reinheit betrug jeweils 99, 98 und 98% für ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺.

i) Inkubationsansätze mit nicht sterilem Boden

Vor Applikation aller Inkubationsansätze wurde der bei 4°C gelagerte Boden für 2 Wochen bei $18\pm 2^\circ\text{C}$ inkubiert. Für die Inkubationsansätze mit nicht sterilem Boden wurden 100 g luftgetrockneter Boden mit jeweils 0,5 MBq ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ und

entsprechender Menge an Referenzsubstanz appliziert (Tab. 3.1). Die applizierte Substanzmenge für DP, DS⁻ und DA⁺ pro Inkubationsansatz betrug 1 mg/kg und richtete sich nach durchschnittlichen Konzentration an LAS⁻ in nicht klärschlammbehandelten Böden (Jensen, 1999).

Tabelle 3.1: Zusammensetzung der Applikationslösung DP, DS⁻ und DA⁺ in den Inkubationsansätzen mit nicht sterilem Boden.

Ansatz	Substanzmenge (mg)			Radioaktivität (MBq)
	Gesamt	¹⁴ C-Substanz	Referenzsubstanz	
DP	0,1	0,047	0,053	0,5
DS ⁻	0,1	0,034	0,066	0,5
DA ⁺	0,1	0,054	0,046	0,5

Die ¹⁴C-Substanzen und die Referenzsubstanzen waren in abs. EtOH (¹⁴C-DP, DP, ¹⁴C-DA⁺, DA⁺) und abs. EtOH:dest. H₂O (1:1, w/w) (¹⁴C-DS⁻, DS⁻) gelöst. Nach Verdampfen des Lösungsmittels der Applikationslösung wurde der Boden homogenisiert, 100 g Bodentrockengewicht pro Inkubationsansatz in 500 mL Schottflaschen abgefüllt, die Bodenfeuchte mit Leitungswasser auf 40% WHK_{max} eingestellt und die Flaschen mit Schraubdeckeln samt Schornsteinen verschlossen.

ii) Inkubationsansätze mit sterilem Boden

Für die Inkubationsansätze mit sterilem Boden wurde luftgetrockneter Boden durch die Firma BGS (Beta-Gamma Service Wiehl) mit einer Strahlendosis von 30 kGy (⁶⁰Co) für 60 min γ -bestrahlt. Da Bakterien und Pilze weitaus sensibler gegenüber γ -Bestrahlung sind als Enzyme (McNamara et al., 2003), konnte nicht davon ausgegangen werden, dass eine vollständige Inaktivierung der Bodenenzyme stattgefunden hat. Aus diesem Grund wurde der γ -bestrahlte Boden anschließend autoklaviert (feuchte Hitze, 2 h, 121°C). Die Gefäße wurden anschließend luftdicht verschlossen und der Boden bei -20°C gelagert. Für die Inkubationsansätze mit sterilem Boden wurde der γ -bestrahlte, autoklavierte Boden bei 18±2°C aufgetaut und 100 g mit jeweils 0,03 MBq ¹⁴C-DP, ¹⁴C-DS⁻ und ¹⁴C-DA⁺ und entsprechender Menge an Referenzsubstanz appliziert (Tab. 3.2). Die applizierte Substanzmenge für DP, DS⁻ und DA⁺ pro Inkubationsansatz betrug ebenfalls 1 mg/kg.

Tabelle 3.2: Zusammensetzung der Applikationslösung DP, DS⁻ und DA⁺ in den Inkubationsansätzen mit sterilem Boden.

Ansatz	Substanzmenge (mg)			Radioaktivität (MBq)
	Gesamt	¹⁴ C-Substanz	Referenzsubstanz	
DP	0,1	0,003	0,097	0,03
DS ⁻	0,1	0,002	0,098	0,03
DA ⁺	0,1	0,002	0,098	0,03

Die ^{14}C -Substanzen und die Referenzsubstanzen waren in abs. EtOH (^{14}C -DP, DP, ^{14}C -DA⁺, DA⁺) und abs. EtOH:dest. H₂O (1:1, w/w) (^{14}C -DS⁻, DS⁻) gelöst. Nach Verdampfen des Lösungsmittels der Applikationslösung wurde der Boden homogenisiert, 100 g Bodentrockengewicht pro Inkubationsansatz in 500 mL Schottflaschen abgefüllt, die Bodenfeuchte mit Leitungswasser auf 40% WHK_{max} eingestellt und die Flaschen mit Schraubdeckeln samt Schornsteinen verschlossen.

iii) Re-Inkubationsansätze mit extrahiertem und nicht sterilem Boden

Vor Applikation der Re-Inkubationsansätze mit extrahiertem und nicht sterilem Boden wurde der bei 4°C gelagerte, nicht sterile Boden für 2 Wochen bei 18±2°C inkubiert. Der extrahierte Boden stammte aus der zuvor beschriebenen Versuchsreihe i) Inkubationsansätze mit nicht sterilem Boden und wurde wie in Kapitel 3.6 aufgearbeitet. Der extrahierte, bei -20°C gelagerte Boden wurde bei 18±2°C aufgetaut und sofort verarbeitet. Für die Re-Inkubationsansätze mit extrahiertem und nicht sterilem Boden wurde der extrahierte Boden an Tag 7 und 84 mit nicht sterilem, luftgetrocknetem Boden versetzt (Tab. 3.3). Die, durch die Zugabe von extrahiertem Boden applizierte Menge an ^{14}C lag für ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ zwischen 0,068 und 0,102 MBq, 0,053 und 0,080 MBq und 0,056 und 0,061 MBq pro Ansatz. Der Boden wurde homogenisiert, in 500 mL Schottflaschen abgefüllt, die Bodenfeuchte mit Leitungswasser auf 40% WHK_{max} eingestellt und die Flaschen mit Schraubdeckel samt Schornsteinen verschlossen.

Tabelle 3.3: Applikationsmengen an ^{14}C pro Inkubationsansatz in den Re-Inkubationsansätzen mit extrahiertem und nicht sterilem Boden.

Ansatz	Parallele	Radioaktivität (MBq)	Extrahierter Boden (g)	Nicht steriler Boden (g)
DP Tag7	1	0,084	50	100
DP Tag 7	2	0,100	50	100
DP Tag 7	3	0,102	50	100
DP Tag 84	1	0,074	50	100
DP Tag 84	2	0,068	50	100
DP Tag 84	3	0,076	50	100
DS ⁻ Tag 7	1	0,080	50	100
DS ⁻ Tag 7	2	0,080	50	100
DS ⁻ Tag 7	3	0,080	50	100
DS ⁻ Tag 84	1	0,053	50	100
DS ⁻ Tag 84	2	0,070	50	100

DS ⁻ Tag 84	3	0,068	50	100
DA ⁺ Tag 7	1	0,058	50	100
DA ⁺ Tag 7	2	0,056	50	100
DA ⁺ Tag 7	3	0,061	50	100
DA ⁺ Tag 84	1	0,054	50	100
DA ⁺ Tag 84	2	0,054	50	100
DA ⁺ Tag 84	3	0,059	50	100

3.5 Bestimmung der Radioaktivität

In flüssigen Proben wurde die Radioaktivität mittels Flüssig-Szintillationszähler (LSC) quantifiziert. Die Detektion der Radioaktivität basiert auf der Reaktion von β -Strahlern mit den, im Szintillations-Cocktail enthaltenen Szintillatoren, die zu einer Lichtemission führt. Die emittierten Photonen werden durch einen Photomultiplier (counts per minute, cpm) erfasst und nach Korrektur mit dem Quench-Faktor als Zerfälle pro Minute (disintegrations per minute, dpm) ausgedrückt.

Zur Quantifizierung der Radioaktivität in festen Proben, bspw. Boden oder Pflanzen, wird das Material in Sauerstoff-Atmosphäre verbrannt, das entstandene $^{14}\text{CO}_2$ in einem entsprechenden Szintillations-Cocktail gebunden und die Radioaktivität mittels LSC bestimmt.

3.6 Bilanzierung der Radioaktivität

Nach Applikation von ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ zum Boden 5M in den i) Inkubationsansätzen mit nicht sterilem Boden, ii) Inkubationsansätzen mit sterilem Boden und iii) Re-Inkubationsansätzen mit extrahiertem und nicht sterilem Boden und anschließender Inkubation wurde das Schicksal und die Verteilung der AR in flüchtige, mineralisierte, extrahierbare und nicht-extrahierbare Anteile untersucht. Die Wiederfindung der AR in den Inkubationsansätzen wurde über die Addition der flüchtigen, mineralisierten, extrahierbaren und nicht-extrahierbaren Anteile an Radioaktivität bestimmt. In den Ansätzen, in denen die Wiederfindung der AR $\leq 90\%$ lag, wurde die Schottflaschen mit jeweils 100 mL MeOH gewaschen und ein Aliquot von 1 mL am LSC vermessen.

3.6.1 Flüchtige Anteile

Flüchtige Chemikalien gehen auf Grund ihres hohen Dampfdrucks (p) vom festen oder flüssigen in den gasförmigen Aggregatzustand über oder verteilen sich auf Grund einer hohen Henry-Flüchtigkeitskonstante (K_H) aus der wässrigen in die gasförmige Phase.

Flüchtige Stoffanteile von DP, DS⁻ und DA⁺ wurden in den vorliegenden Studien quantitativ erfasst. Dazu wurde die paraffingetränkte Glaswolle der stationären Inkubationssysteme der jeweiligen Inkubationsansätze mit 20 mL *n*-Hexan für 10 min im Ultraschallbad extrahiert und ein Aliquot zur Quantifizierung der enthaltenen Radioaktivität am LSC vermessen. Flüchtige Anteile (%) an Radioaktivität in den Inkubationsansätzen mit ¹⁴C-DP, ¹⁴C-DS⁻ und ¹⁴C-DA⁺ wurden mittels der gemessenen Radioaktivität dividiert durch den Mittelwert der AR ermittelt.

3.6.2 Mineralisierte Anteile

Mineralisation bezeichnet die mikrobielle Transformation komplexer, organischer Substanzen in niedermolekulare, anorganische Endprodukte, u.a. CO₂. Im Falle der radioaktiven und nicht radioaktiven Modellschubstanzen DP, DS⁻ und DA⁺ entsteht bei deren vollständiger Mineralisation ¹⁴CO₂ und CO₂, das durch den Natronkalk der stationären Inkubationssysteme der jeweiligen Inkubationsansätze gebunden wird. Zur quantitativen Bestimmung des gebildeten ¹⁴CO₂ in den Inkubationsansätzen mit ¹⁴C-DP, ¹⁴C-DS⁻ und ¹⁴C-DA⁺ wurde der Natronkalk in einem Zweihalskolben gefüllt und tropfenweise in 25% HCl (60 mL) gelöst. Das freigesetzte CO₂ und ¹⁴CO₂ wurde mittels Stickstoffstrom in acht hintereinander geschaltete Gefäße mit jeweils 16 mL Oxyolve Szintillations-Cocktail überführt, der das ¹⁴CO₂ und CO₂ absorbiert. Die Proben wurden zur Quantifizierung der enthaltenen Radioaktivität am LSC vermessen. Mineralisierte Anteile (%) an Radioaktivität in den Inkubationsansätzen mit ¹⁴C-DP, ¹⁴C-DS⁻ und ¹⁴C-DA⁺ wurden mittels der Summe der in den acht Gefäßen gemessenen Radioaktivität dividiert durch den Mittelwert der AR ermittelt.

3.6.3 Extrahierbare Anteile

Der Boden der Inkubationsansätze mit ¹⁴C-DP, ¹⁴C-DS⁻ und ¹⁴C-DA⁺ wurde zur Bestimmung der extrahierbaren Anteile an Radioaktivität mittels sequenzieller Schüttelextraktion ohne Energiezufuhr extrahiert. Hierzu wurden 90 g feuchter Boden (Inkubationsansätze mit nicht sterilem und sterilem Boden) bzw. 130 g feuchter Boden (Re-Inkubationsansätze) in einen 250 mL Zentrifugenbecher gefüllt, mit 70 mL bzw. 100 mL 0,01 M CaCl₂-Lösung versetzt und für 15 min bei 170 rpm auf dem Horizontalschüttler geschüttelt. Die Bodensuspension wurde bei 1800 g 5 min zentrifugiert, der wässrige Überstand dekantiert und ein Aliquot zur Bestimmung der bioverfügbaren Anteile an Radioaktivität am LSC vermessen. Der verbliebene Boden wurde anschließend zur Bestimmung der potentiell bioverfügbaren Anteile an extrahierbarer Radioaktivität sequentiell mit jeweils 3 mal 70 mL (Inkubationsansätze i und ii) bzw. 100 mL (Inkubationsansätze iii) MeOH, MeOH:H₂O(1:1, v/v) und ACN für 15 min bei 170 rpm auf dem Horizontalschüttler geschüttelt. Zur Trennung von Boden und Lösungsmittel wurde die Bodensuspension 5 min bei 1800 g zentrifugiert. Das jeweilige Lösemittel wurde dekantiert und ein Aliquot zur Quantifizierung der Radioaktivität im MeOH-, MeOH:H₂O(1:1, v/v)- und ACN-Extrakt

am LSC vermessen. Die CaCl_2 -, MeOH-, MeOH:H₂O(1:1, v/v)- und ACN-Extrakte wurden anschließend bis zur Analyse bei 4°C gelagert. Der verbliebene Boden wurde bei 105°C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und zur Bestimmung der nicht-extrahierbaren Anteile an Radioaktivität verwendet (Kapitel 3.6.4). Extrahierbare Anteile (%) an Radioaktivität in den Inkubationsansätzen mit ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ wurden mittels der Summe der CaCl_2 -, MeOH-, MeOH:H₂O(1:1, v/v)- und ACN-extrahierbaren Anteile an Radioaktivität in 90 g bzw. 130 g feuchten Boden multipliziert mit dem Gesamtrockengewicht des Bodens, dividiert durch den Mittelwert der AR ermittelt.

3.6.4 Nicht-extrahierbare Anteile

Nicht-extrahierbare Rückstände (NER) sind definiert als der Anteil an Radioaktivität, der nach erschöpfender Lösungsmittelextraktion im Boden zurückbleibt. Zur Bestimmung der nicht-extrahierbaren Anteile an Radioaktivität der Inkubationsansätze mit ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ wurde der extrahierte, getrocknete Boden homogenisiert. Fünf Aliquote zwischen 0,2 - 0,5 g wurden in Verbrennungshütchen eingewogen und in einem Verbrennungsautomat unter Sauerstoffatmosphäre (350 mL/min) für 4 min verbrannt (900°C Verbrennungsraum; 680°C Katalysator). Das entstandene $^{14}\text{CO}_2$ wurde mittels N₂-Strom (350 mL/min) in ein Gefäß mit Oxysolve Szintillations-Cocktail überführt und die enthaltene Radioaktivität am LSC quantifiziert. Zur Kalibration und Dichtigkeitsprüfung des Verbrennungsautomaten wurden folgende Standards in Triplikaten verwendet:

Leerverbrennung (LV):	Verbrennung ohne Probe; dient der Reinigung.
Blindverbrennung (BV):	Verbrennung von Zelltuch; dient als Nullwert.
Standard (ST):	10 µL radioaktiver Standard wird direkt in das LSC-Gefäß pipettiert; während der Verbrennung ohne Probe wird das LSC-Gefäß mit Oxysolve Szintillations-Cocktail gefüllt.
Standardverbrennung (STV):	10µL radioaktiver Standard werden in Verbrennungshütchen, gefüllt mit Zellulose, pipettiert und verbrannt.

Mit Hilfe der Mittelwerte der Standards (ST) und Standardverbrennungen (STV) abzüglich des Mittelwerts der Blindverbrennung (BV) wurde der Kalibrationsfaktor (F) über folgende Formel berechnet:

$$F = \frac{\overline{\text{ST}} - \overline{\text{BV}}}{\overline{\text{STV}} - \overline{\text{BV}}} \quad (3.1)$$

Die gemessenen Werte der Proben wurden anschließend mit dem resultierenden Kalibrationsfaktor (0,9-1,1) multipliziert und mit dem Trockengewicht der Probe dividiert. Für alle 12 Proben wurde eine weitere Standardverbrennung zur Prüfung der Dichtigkeit des Verbrennungsautomaten durchgeführt. Nicht-Extrahierbare Anteile (%) an Radioaktivität

in den Inkubationsansätzen mit ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ wurden anhand der Mittelwerte der in den Boden aliquoten enthaltenen Radioaktivität pro Gramm trockenen Boden multipliziert mit dem Gesamtrockengewicht des Bodens dividiert durch den Mittelwert der AR ermittelt.

3.7 Analytische Methoden

Zur Analyse der extrahierbaren Anteile an Radioaktivität in den i) Inkubationsansätzen mit nicht sterilem Boden mit ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ wurden die CaCl₂-, MeOH-, MeOH:H₂O(1:1, v/v)- und ACN-Extrakte mittels Dünnschichtchromatographie (DC), Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC) und Flüssigchromatographie mit gekoppelter Massenspektrometrie (LC-MS/MS) untersucht. Für die dünnschichtchromatographische Analyse wurden die Rohextrakte verwendet. Waren die enthaltenen Mengen an Radioaktivität in den Rohextrakten für die dünnschichtchromatographische Analyse zu gering (<10.000 dpm/mL), wurden diese Extrakte mittels Rotationsverdampfer aufkonzentriert und die Wiederfindung der Radioaktivität in den aufkonzentrierten Extrakten mittels LSC bestimmt.

Für die HPLC- und LC-MS/MS-Analyse wurden die CaCl₂-, MeOH-, MeOH:H₂O (1:1 v/v)- und ACN-Extrakte mittels Rotationsverdampfer aufkonzentriert und die Wiederfindung der Radioaktivität in den aufkonzentrierten Extrakten mittels LSC quantifiziert. Anschließend wurden die Extrakte gefiltert (0,45 µm), bis zur Trocknung am Rotationsverdampfer eingengt und der Rückstand in MeOH zurückgelöst bis eine Konzentration von 500.000 dpm/mL erreicht wurde. Lag die enthaltene Radioaktivität in den Triplikaten einer Probe <500.000 dpm/mL, wurden die Triplikate einer Probe zur HPLC-Analyse vereinigt.

3.7.1 Dünnschichtchromatographie (DC)

Chromatographie ist ein Verfahren zur Auftrennung von Stoffgemischen durch die unterschiedliche Verteilung der Analyten zwischen einer mobilen und stationären Phase. Bei der Dünnschichtchromatographie (DC) werden die Analyten eines Stoffgemisches durch ein Lösungsmittel (mobile Phase) über eine Kieselgelplatte (stationäre Phase) transportiert. Unterscheidet sich die Wechselwirkung der Analyten mit dem Kieselgel, werden Analyten unterschiedlich weit über die Platte transportiert und voneinander getrennt. Dies wird durch den Retentionsfaktor (R_f) beschrieben, der wie folgt bestimmt wird:

$$R_f = \frac{a}{c} \quad (3.2)$$

R_f : Retentionsfaktor

a: Laufstrecke der Substanz (cm)

b: Laufstrecke des Lösungsmittels (cm)

Mit Hilfe entsprechender Referenzsubstanzen können die Analyten co-chromatographisch identifiziert werden.

Für die DC-Analytik der CaCl_2^- , MeOH-, MeOH:H₂O(1:1, v/v)- und ACN-Extrakte wurden die Proben mittels Auftragsmaschine in 1 cm breiten Banden auf Kieselgel-Fertigplatten (Schichtdicke: 0,25 mm) mit Fluoreszenz-Indikator aufgetragen. Die nicht radioaktiven Referenzsubstanzen wurden per Hand (20-30 µg) auf die Platte aufgetragen. Die Platten wurde bei RT und Kammersättigung in folgenden Laufmitteln entwickelt: DP: *n*-Hexan:Diethylether:Essigsäure, (50:50:1, v/v/v); DS⁻: MeOH:CHCl₃:H₂O:Ameisensäure, (50:50:3:1, v/v/v/v); DA⁺: 0,5 M NaBr in MeOH (w/v). Die Laufmittelfront betrug 13 cm. Die nicht radioaktiven Referenzsubstanzen wurden unter UV-Licht (254 nm) durch Fluoreszenzlöschung detektiert. Die Identifizierung und Quantifizierung der Radioaktivität auf der Platte erfolgte mittels Radio-DC-Scanner. Die Chromatogramme wurden mit einer Computersoftware ausgewertet.

3.7.2 Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC)

Zur Bestätigung der Ergebnisse der DC-Analytik wurden ausgewählte Proben mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) untersucht. Dabei handelt es sich um eine Flüssigchromatographie, bei der die stationäre Phase aus feinkörnigem Säulenmaterial besteht, was zu einer hohen Trennleistung führt. In der Regel besteht das Säulenmaterial aus mit C₁₈-Silylalkylketten modifiziertem Kieselgel (RP -reversed phase), die zur Erhöhung der Trennleistung mit funktionellen Gruppen modifiziert sein kann. Auf Grund der feinkörnigen, stationären Phase muss die mobile Phase unter hohem Druck (2-4 bar) durch die Säule transportiert werden. Durch chemische und physikalische Wechselwirkung eines Analyten mit der stationären Phase ergibt sich eine für ihn typische Retentionszeit. Unter Retentionszeit versteht man die Zeit zwischen der Injektion und Detektion. Unter Verwendung entsprechender Referenzsubstanzen können die über ihre Retentionszeit aufgetrennten Analyten identifiziert und quantifiziert werden.

Für die HPLC-Analytik der CaCl_2^- , MeOH-, MeOH:H₂O(1:1, v/v)- und ACN-Extrakte wurden in Abhängigkeit von der enthaltenen Radioaktivitätsmenge zwischen 10 und 100 µL der Probe mit der HPLC Agilent vermessen. Für alle Modellsubstanzen wurde die Säule Synergi Polar-RP 80A, 4µ, 250 x 4,60 mm verwendet. Für DP und DS⁻ wurde das Laufmittel H₂O+0,1% Essigsäure und ACN+0,1% Essigsäure bei unterschiedlichen Gradienten genutzt (Tab.3.4 und Tab.3.5), für DA⁺ wurde H₂O+0,1% Tetrafluoressigsäure und ACN als mobile Phase verwendet (Tab. 3.6).

DP:

Tabelle 3.4: Zeit- und Gradientenprogramm für die HPLC-Analyse von DP. Laufmittel A: H₂O+0,1% Essigsäure; B: ACN+0,1% Essigsäure.

Zeit	% A	% B	Dauer
0 min	95,0	5,0	5 min
5 min	0	100,0	20 min
25 min	0	100,0	15 min
40 min	95,0	5,0	5 min
45 min	95,0	5,0	5 min

Die Messung erfolgte bei einer Flussrate von 1,0 mL/min. Ab Minute 10 wurde mit einer Flussrate von 2 mL/min Quicksafe Flow 2 Szintillations-Cocktail zugesetzt. Die Säulentemperatur betrug 25°C. Im UV-Bereich erfolgte die Detektion bei einer Wellenlänge von 220 nm und 280 nm. Als Standard wurde ¹⁴C-DP genutzt. Für die HPLC wurden folgende Parameter gewählt:

Gerät:	HP Agilent 1100 HPLC
Software:	Gina Star
Säule:	Synergi Polar-RP 80A, 4μ, 250 x 4,60 mm
Säulentemperatur:	25°C
Pumpe:	HPLC-LS-Pumpe
Fluss:	1,0 mL/min
Detektor:	DAD G1315A
Radiodetektor:	Ramona Star Radiodetektor mit Flüssigmesszelle

DS⁻:Tabelle 3.5: Zeit- und Gradientenprogramm für die HPLC-Analyse von DS⁻. Laufmittel A: H₂O+0,1% Essigsäure; B: ACN+0,1% Essigsäure.

Zeit	% A	% B	Dauer
0 min	95,0	5,0	5 min
5 min	0	100,0	30 min
35 min	0	100,0	5 min
40 min	95,0	5,0	5 min
45 min	95,0	5,0	5 min

Die Messung erfolgte bei einer Flussrate von 0,8 mL/min. Ab Minute 10 wurde mit einer Flussrate von 2 mL/min Quicksafe Flow 2 Szintillations-Cocktail zugesetzt. Die Säulentemperatur betrug 25°C. Im UV-Bereich erfolgte die Detektion bei einer Wellenlänge von

220 nm und 280 nm. Als Standard wurde ^{14}C -DS⁻ genutzt. Für die HPLC wurden folgende Parameter gewählt:

Gerät:	HP Agilent 1100 HPLC
Software:	Gina Star
Säule:	Synergi Polar-RP 80A, 4 μ , 250 x 4,60 mm
Säulentemperatur:	25°C
Pumpe:	HPLC-LS-Pumpe
Fluss:	0,8 mL/min
Detektor:	DAD G1315A
Radiodetektor:	Ramona Star Radiodetektor mit Flüssigmesszelle

DA⁺:

Tabelle 3.6: Zeit- und Gradientenprogramm für die HPLC-Analyse von DA⁺. Laufmittel A: H₂O+0,1% Trifluoressigsäure; B: ACN+0,1% Trifluoressigsäure.

Zeit	% A	% B	Dauer
0 min	95,0	5,0	5 min
5 min	0	100,0	30 min
35 min	0	100,0	5 min
40 min	95,0	5,0	5 min
45 min	95,0	5,0	5 min

Die Messung erfolgte bei einer Flussrate von 1 mL/min. Ab Minute 10 wurde mit einer Flussrate von 2 mL/min Quicksafe Flow 2 Szintillations-Cocktail zugesetzt. Die Säulentemperatur betrug 25°C. Im UV-Bereich erfolgte die Detektion bei einer Wellenlänge von 220 nm und 280 nm. Als Standard wurde ^{14}C -DA⁺ genutzt. Für die HPLC wurden folgende Parameter gewählt:

Gerät:	HP Agilent 1100 HPLC
Software:	Gina Star
Säule:	Synergi Polar-RP 80A, 4 μ , 250 x 4,60 mm
Säulentemperatur:	25°C
Pumpe:	HPLC-LS-Pumpe
Fluss:	1 mL/min
Detektor:	DAD G1315A
Radiodetektor:	Ramona Star Radiodetektor mit Flüssigmesszelle

3.7.3 Flüssigchromatographie mit gekoppelter Massenspektrometrie (LC-MS/MS)

Zur Bestätigung der Ergebnisse der HPLC-Analytik wurde der vereinte MeOH-Extrakt an Tag 7 für DS⁻ mittels Flüssigchromatographie mit gekoppelter Massenspektrometrie (LC-MS/MS) untersucht. Die Trennung erfolgte unter Verwendung einer RP-Säule (Synergi Polar-RP 80A). Das Zeit- und Gradientenprogramm entsprach dem der HPLC-Analyse. Für die LC-MS/MS wurden folgende Parameter gewählt

Gerät:	HP Agilent 1200 HPLC
Software:	Xcalibur 2.0.7
Säule:	Synergi Polar-RP 80A, 4 μ , 250 x 4,60 mm
Säulentemperatur:	25°C
Pumpe:	Binäre Pumpe SL G1312B
Fluss:	0,8 mL/min
Massenspektrometer:	LTQ Orbitrap XL

3.8 Aufarbeitung der nicht-extrahierbaren Rückstände

Nicht-extrahierbare Anteile an Radioaktivität im extrahierten Boden der i) Inkubationsansätze mit nicht sterilem Boden mit ¹⁴C-DP, ¹⁴C-DS⁻ und ¹⁴C-DA⁺ an Tag 7 und Tag 84 wurden mittels Silylierung und saurer Hydrolyse weiter untersucht.

3.8.1 Silylierung und Analytik der nicht-extrahierbaren Rückstände

Zur Identifizierung und Quantifizierung der Typ I NER (sequestriert) wurde eine Silylierung mit anschließender Analytik der nicht-extrahierbaren Rückstände (NER) durchgeführt. Bei der Silylierung werden Wasserstoffatome polarer Gruppen der Bodenmatrix (u.a. Hydroxylgruppen, Thiolgruppen sowie primäre und sekundäre Amine) durch Silylgruppen belegt. Bestehende Wasserstoffbrückenbindungen werden auf diese Weise aufgebrochen und physikalisch eingeschlossene Anteile an NER freigesetzt. Die Silylierung der nicht-extrahierbaren Rückstände im Boden sowie die Aufreinigung und Analyse der Extrakte erfolgte nach Kästner et al. (2018). Der Aufschluss der NER mit Trimethylchlorsilan (TMCS) wurde unter Ausschluss von Feuchtigkeit und Luft durchgeführt. Dafür wurde der Rundkolben vor der Reaktion evakuiert und ständig mit Argon begast. Für die Silylierung wurde etwa 6 g trockener, extrahierter Boden mit 30 mL wasserfreiem CHCl₃, 15 mL TMCS und 15 g NaOH-Plätzchen (zur Neutralisation des gebildeten HCl) versetzt und unter Argon-Atmosphäre bei RT gerührt. Nach 3 h wurden weitere 15 g NaOH-Plätzchen und 10 mL TMCS zugegeben und über Nacht unter Argon-Atmosphäre bei RT gerührt. Der Überstand wurde in einen 250 mL Zentrifugenbecher überführt und der Rückstand mit 30 mL CHCl₃ und dreimal mit jeweils 10 mL wasserfreiem Aceton gewaschen. Die vereinte Lösung wurde 5 min bei 2800 g zentrifugiert. Der Überstand

wurde in einen Rundkolben dekantiert und das Lösemittel am Rotationsverdampfer entfernt. Zur Entfernung des Nebenprodukts Hexamethylsilan wurde der Druck auf 4 kPa reduziert. Der trockene Rückstand wurde in 8 mL wasserfreiem CHCl_3 rückgelöst. Zur Bestimmung der Typ I NER wurde ein Aliquot am LSC vermessen und die enthaltene Radioaktivität quantifiziert. Die nach Silylierung im Boden verbliebene Radioaktivität wurde berechnet und als Typ II NER (kovalent gebunden) identifiziert (Kästner et al., 2018; Schäffer et al., 2018b).

Die im Rückstand enthaltene Radioaktivität wurde mittels DC analysiert. Bei Proben mit einer Konzentration <10.000 dpm/mL wurden die Triplikate einer Probe vereint, die Proben am Rotationsverdampfer aufkonzentriert und die Wiederfindung der Radioaktivität in den aufkonzentrierten Extrakten mittels LSC bestimmt. Anschließend wurden die Extrakte gefiltert ($0,45 \mu\text{m}$) und die Wiederfindung der Radioaktivität in den aufkonzentrierten Extrakten erneut mittels LSC bestimmt. Als Referenzsubstanzen für die DC diente jeweils DP, DS^- und DA^+ . Zur Überprüfung, ob DP, DS^- und DA^+ im Zuge der Silylierung mit den eingesetzten Reagenzien reagiert, wurde jeweils ^{14}C -DP, ^{14}C - DS^- und ^{14}C - DA^+ ohne Zugabe von Boden silyliert. Das Lösemittel und Hexamethylsilan wurden am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand in 8 mL CHCl_3 rückgelöst. Die DC wurde entsprechend Kapitel 3.7.1 durchgeführt.

Für die HPLC-Analyse der Proben mit DP wurden die vereinten Proben über Kieselgel 60 ($0,035$ - $0,070$ mm)) aufgereinigt. Die Elutionsmittel war *n*-Hexan:Diethylether:Essigsäure ($50:50:1$, v/v/v). Das Lösemittel wurde am Rotationsverdampfer entfernt, der Rückstand in 1 mL MeOH rückgelöst und die Probe gefiltert ($0,45 \mu\text{m}$).

3.8.2 Saure Hydrolyse und Analytik der nicht-extrahierbaren Rückstände

Zur Identifizierung und Quantifizierung der Typ III NER (biogen gebunden) wurde eine saure Hydrolyse mit anschließender Analytik der ^{14}C -Aminosäuren durchgeführt. Die saure Hydrolyse der NER im Boden sowie die Aufreinigung und Analyse der Aminosäuren (AA) erfolgte nach Poßberg et al. (2016). Für die saure Hydrolyse wurde etwa 1 g trockener, extrahierter Boden mit 5 mL 6 M HCl versetzt und für 22 Stunden bei 110°C im Trockenschrank hydrolysiert. Das Hydrolysat wurde gefiltert ($45 \mu\text{m}$) und in einen Spitzkolben überführt. Der Bodenrückstand wurde zweimal mit ca. 2 mL H_2O gespült, der Überstand gefiltert und mit dem Hydrolysat kombiniert. Ein Aliquot des vereinigten Hydrolysats wurde am LSC quantifiziert. Die Probe wurde am Rotationsverdampfer bis zur Trocknung eingengt und der Rückstand in 4 mL 0,1 M HCl gelöst und über ein Kationenaustauschharz (DOWEX 50 W X8) gereinigt. Hierfür wurden 5 mL des in H_2O suspendierten Harzes in SPE-Röhrchen pipettiert und das überstehende H_2O abgelassen. Die Probe wurde tropfenweise auf die Säule gegeben. Das Harz wurde nacheinander mit 20 mL 0,1 M Oxalsäure ($\text{pH } 1,7 \pm 0,1$), mit 5 mL 0,01 M HCl und mit 5 mL H_2O gespült.

Die enthaltene Radioaktivität in der Spüllösung wurde am LSC quantifiziert und verworfen. Die Probe wurde mit 20 mL 2,5 M Ammoniumlösung eluiert. Das Eluat wurde LSC quantifiziert, am Rotationsverdampfer bis zur Trocknung eingeeengt und der Rückstand in 2 mL MeOH:AAc (MeOH: Ammoniumacetatpuffer, 1:1, v/v) gelöst.

Die im Eluat enthaltenen AA wurden mittels zweidimensionaler Dünnschicht-Chromatographie (2D-DC) getrennt und quantifiziert. Hierzu wurden 10.000 dpm der Probe 3 cm vom unteren und linken Rand auf eine Cellulose-Fertigplatte (Schichtdicke 0,25 mm) aufgetragen. Die DC-Platte wurde in Laufmittel 1 entwickelt (Butanol:Aceton:Ammoniak:H₂O, 10:10:5:2, v/v/v/v, bei RT und Kammersättigung) und getrocknet. Im Anschluss wurde die Platte ein zweites Mal mit dem gleichen Laufmittel in die gleiche Richtung entwickelt und wieder getrocknet. Anschließend wurde die DC-Platte um 90° gedreht und in Laufmittel 2 (Isoropanol:H₂O:Ameisensäure, 20:5:1, v/v/v) in die zweite Richtung entwickelt. Nach Trocknung der Platte wurde diese mittels Phosphor-Imaging mit einem BioImager ausgewertet. Dabei wurden die DC-Platten in einer Kassette mit einer Fotoplatte für eine Woche inkubiert. Diese enthält mit Europiumionen (Eu²⁺) dotiertes BaFBr. Durch radioaktive Strahlung (sowie andere hochenergetische Strahlung) werden Eu²⁺-AußenElektronen angeregt. Die Lichtemission der, in den energieärmeren Zustand zurückkehrenden Elektronen wird mit einem Multiplier quantifiziert und ist proportional zur Verteilung der Radioaktivität auf der DC-Platte. Die einzelnen Regionen auf der DC-Platte wurden integriert. So konnte für die Spots eine prozentuale Verteilung der aufgetragenen Radioaktivität angegeben und die Mengen der ¹⁴C-AA quantifiziert werden. Die Identifizierung der ¹⁴C-AA erfolgte über Co-Chromatographie mit nicht radioaktiven AA-Standards. Dazu wurde parallel zu jeder DC-Platte mit ¹⁴C-AA eine DC-Platte mit nicht radioaktiven AA-Standards angefertigt. Nach dem Lauf wurden die AA mit 0,5% Ninhydrin in EtOH angefärbt.

Zur Berechnung der Typ III NER wurde die Radioaktivität, die in den Proben als ¹⁴C-Phenylalanin und ¹⁴C-Valin identifiziert werden konnte, quantifiziert. Mit folgender Formel wurde die prozentuale Menge der NER, die aus ¹⁴C-AA bestehen, in Bezug auf die AR berechnet:

$$AA_{NER} = E_{EXS} * \frac{(P,V \text{ in Eluat})}{(P,V \text{ im Boden})} (\%) \quad (3.3)$$

AA_{NER} : Menge an NER die aus AA besteht (% AR)

E_{EXS} : Radioaktivität im Eluat im Bezug zur applizierten Radioaktivität (%)

P, V in Eluat: relativer Gehalt an ¹⁴C-Phenylalanin und ¹⁴C-Valin im Eluat (%)

P, V in Boden: relativer Gehalt an hydrolysierbaren Phenylalanin und Valin im Boden (%) (in Anlehnung an (Friedel & Scheller, 2002))

3.9 Bestimmung der Halbwertszeit

Die Halbwertszeit (DT_{50}) von ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ in den i) Inkubationsansätzen mit nicht sterilem Boden 5M wurde in Anlehnung an FOCUS (2006) “Guidance Document on Estimating Persistence and Degradation Kinetics from Environmental Fate Studies on Pesticides in EU Registration” und mit der Software CAKE (Computer Assisted Kinetic Evaluation, Tessella, Version 3.1) ermittelt. Zur Bestimmung der DT_{50} stehen vier kinetische Modell zur Verfügung: Single First Order (SFO), First-Order Multi-Compartment (FOMC) sowie die biphasischen Modelle Double-First-Order in Parallel (DFOP) und Hockey-Stick (HS). Bei SFO wird angenommen, dass die Abnahme der Konzentration der Chemikalie im Testsystem über die Zeit unabhängig von der anfänglichen Konzentration ist. FOMC spiegelt wieder, dass der Boden ein heterogenes Gebilde ist und die Abbaugeschwindigkeit in verschiedenen Abschnitten des zu testenden Bodens voneinander abweichen kann. DFOP wird zur Beschreibung der Abbaukinetik in einem Zweiphasensystem (bspw. Wasser-Sediment) mit jeweiliger Abbaukonstante (k_1 und k_2) für ein Kompartiment genutzt. Bei HS werden zwei sequenzielle First-Order Kinetiken mit ihren jeweiligen Abbaukonstante (k_1 und k_2) zu Grunde gelegt. Diese Kinetik berücksichtigt u.a. die Phase der Adaptation von Mikroorganismen an das Substrat, wodurch k_1 meist niedrig ist, k_2 hingegen hoch.

Die DT_{50} beschreibt die Zeit nach der sich die Konzentration einer Chemikalie im System halbiert hat. Zur Berechnung DT_{50} von ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ wurden die Anteile an Radioaktivität, die in den extrahierbaren Rückständen als DP, DS⁻ und DA⁺ identifiziert werden konnten, herangezogen. Dabei wurde angenommen, dass die mineralisierten, flüchtigen und nicht-extrahierbaren Anteile an Radioaktivität kein ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ enthielten.

3.10 Wasserhaltekapazität

Die maximale Wasserhaltekapazität ($WHK_{\max}$) beschreibt die Menge an Wasser, die im Boden zurückbleibt, nachdem das durch die Erdanziehungskraft bewegbare Wasser abgeflossen ist. Zur Bestimmung der $WHK_{\max}$ wurden 4 g gesiebter Boden in einen Trichter mit angefeuchtetem Filter gefüllt und mit 5 mL Leitungswasser geflutet. Nachdem das überschüssige Wasser abgeflossen war, wurde das Gewicht bestimmt und der Boden bei 105°C bis zum Trocknungsgleichgewicht getrocknet. Die Bestimmung der $WHC_{\max}$ erfolgte über folgende Formel:

$$WHK_{\max} = \frac{a}{b} * 100 \quad (3.4)$$

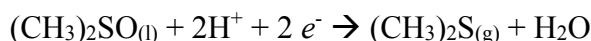
$WHK_{\max}$: maximale Wasserhaltekapazität (%)

a: Wassergehalt im wassergesättigten Boden (g)

b: Bodentrockengewicht (g)

3.11 Messung der mikrobiellen Aktivität (DMSO-Reduktion)

Die mikrobielle Aktivität des Bodens in den i) Inkubationsansätzen mit nicht sterilem Boden mit ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ wurde nach einer Methode von Alef and Kleiner (1989) bestimmt. Die Methode basiert auf der enzymatischen Reduktion von flüssigem Dimethylsulfoxid (DMSO) zu gasförmigem Dimethylsulfid (DMS) durch einen 2 e^- -Transfer:



Die Fähigkeit zur DMSO-Reduktion ist unter Bodenmikroorganismen (Bakterien und Pilzen) stark verbreitet. Die DMSO-Reduktaseaktivität korreliert mit der Arginin-Ammonifikation, der Wärmeabgabe sowie dem organischen Anteil im Boden (Alef & Kleiner, 1989).

Zur Bestimmung der DMSO-Reduktion der Parallelen 1 und 2 aller Inkubationsansätze wurden jeweils fünf Parallelen mit je 1 g feuchten Boden in 20 mL Schraubdeckelgläser eingewogen und mit 200 μL 5% DMSO-Lösung versetzt. Die Schraubdeckelgläser wurden mit einem Septum luftdicht verschlossen und für 24 h bei 23°C im Dunkeln inkubiert. Nach 24 h wurde ein Aliquot von 100 μL aus der Gasphase der Schraubdeckelgläser entnommen und mittels Gaschromatographie mit Massenspektrometrie (GC-MS) analysiert. Zur Quantifizierung der in den Proben gebildeten Menge an DMS wurde der Gaschromatograph täglich kalibriert. Hierzu wurden 20 μL gekühltes, flüssiges DMS in ein 100 mL Schraubdeckelglas pipettiert, luftdicht mit Septum verschlossen und langsam auf 37°C erhitzt bis DMS vollständig in die Gasphase übergegangen ist. Aus der Gasphase des 100 mL Schraubdeckelglases wurden jeweils 25, 50, 100 und 200 μL entnommen und in separate, mit Septum luftdichtverschlossene 20 mL Schraubdeckelgläser überführt. Aus den 20 mL Schraubdeckelgläsern mit unterschiedlich hohen Konzentrationen an DMS wurde jeweils ein Aliquot von 100 μL entnommen und gaschromatographisch untersucht. Zur Quantifizierung der in den Proben enthaltenen Menge DMS wurden die erhaltenen Signal-Flächen gegen die Masse an injiziertem DMS aufgetragen. Für die GC-MS-Analyse wurden folgende Parameter gewählt:

GC-MS:	Agilent Technologies 6890N
Software:	MSD ChemStation (Agilent)
Injektor:	250°C, Injektion im Split mode
Split-ratio:	16,4:1
Druck:	0,524 bar
Fluss:	20,1 mL/min
Gas:	Helium
Säule:	Optima-35MS; Länge: 30,0 m, Innendurchmesser: 0,25 mm, Dicke: 0,25 μm (Macherey und Nagel).
Temperaturprogramm:	Isotherm, 50°C

MS:	5973 MSD, 150°C (Agilent)
Resulting EM voltage:	1294,1
Scan:	niedrigste Masse: 40,0 g/mol; höchste Masse: 100,0 g/mol
Injektion:	Manuelle Injektion in Abstand von 1 min

Nach der Messung wurden die Proben zur Bestimmung des Bodentrockengewichts für 105°C bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Die DMSO-Reduktionsrate in mg DMS/g TG*h wurde mittels folgender Formel berechnet:

$$DMSO - Reduktionsrate = \frac{m_{DMS} * V_{Gas}}{t * V_{GC} * TG} \quad (3.5)$$

m_{DMS} : Masse an gebildeten DMS (ng)

V_{Gas} : Volumen der Gasphase im Probengefäß (mL)

V_{GC} : Volumen des injizierten Aliquots (mL)

TG: Bodentrockengewicht (g)

t: Inkubationszeit (h)

3.12 Sorptionsstudien

Zur Bestimmung des Sorptionsverhaltens von ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ im Boden 5M wurden Sorptionsstudien in Anlehnung an die Testrichtlinie OECD 106 (*Adsorption-Desorption using a Batch-Equilibrium Method*) (OECD, 2000) durchgeführt. Im Rahmen der Studie wurde die Zeit bis zur Gleichgewichtseinstellung (GG) für die Adsorption und Desorption sowie die Adsorptions- und Desorptions-Isothermen für ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ im Boden 5M ermittelt.

In Vorversuchen wurde das optimale Verhältnis von Boden und CaCl₂-Lösung, die Adsorption der Testsubstanz an die Gefäßwand und die Stabilität der Testsubstanzen in CaCl₂-Lösung mit Zusatz von NaN₃ untersucht. Für alle Experimente wurden 0,5 g luftgetrockneter Boden in 80 mL Zentrifugengläser eingewogen und mit 50 mL 0,01 M CaCl₂-Lösung (Verhältnis 1:100, w/w) vermischt (Abb. 3.3).



Abbildung 3.3: Testsystem zur Bestimmung der GG für die Adsorption und Desorption, sowie die Sorptions- und Desorptions-Isothermen für ^{14}C -DP, ^{14}C -DS $^{-}$ und ^{14}C -DA $^{+}$ im Boden 5M.

Um den biotischen Abbau der Testsubstanzen ^{14}C -DP, ^{14}C -DS $^{-}$ und ^{14}C -DA $^{+}$ in den Sorptionsstudien zu unterbinden, wurde die eingesetzte CaCl_2 -Lösung zuvor mit 200 mg/L NaN_3 versetzt. Die, zur Unterbindung biotischer Abbauprozesse in den Sorptionsstudien zugesetzte Menge NaN_3 lag mit 20 g/kg Boden über den in der Literatur beschriebenen eingesetzten Konzentrationen von 0,1 g/kg (Conkle et al., 2010) und 1,6 g/kg (von Oepen et al., 1989). Nach 15 min wurden die Testsubstanzen zur Bodensuspension pipettiert. Radioaktive und nicht radioaktive Testsubstanzen waren in abs. EtOH (^{14}C -DP, DP, ^{14}C -DA, DA) bzw. abs. EtOH:dest. H_2O (1:1, w/w) (^{14}C -DS $^{-}$, DS $^{-}$) gelöst. Die radiochemische Reinheit und Stabilität ^{14}C -DP, ^{14}C -DS $^{-}$ und ^{14}C -DA $^{+}$ wurde vor Zugabe mittels DC überprüft. Die Reinheit betrug jeweils 99, 98 und 98% für ^{14}C -DP, ^{14}C -DS $^{-}$ und ^{14}C -DA $^{+}$. Die Zentrifugengläser wurden verschlossen und bei 210 rpm auf dem Horizontal-schüttler bei $20 \pm 2^\circ\text{C}$ bis zum Erreichen des GG im Dunkeln geschüttelt. Mittels Zentrifugation bei 943 g für 7 min wurden die wässrige Phase und der Boden voneinander getrennt. Zur Bestimmung der nicht adsorbierten bzw. der desorbierten Radioaktivität wurde der Überstand dekantiert und die in der wässrigen Phase enthaltene Radioaktivität mittels LSC quantifiziert.

Das GG für die Adsorption der Testsubstanzen wurde mittels paralleler Methode in Triplikaten ermittelt. ^{14}C -DP, ^{14}C -DS $^{-}$ und ^{14}C -DA $^{+}$ wurden in einer Konzentration von 2 mg/kg zur Bodensuspension pipettiert und die Proben geschüttelt. Nach einem Zeitintervall von jeweils 1, 15, 60, 120, 240, 1260, 2880 und 3120 min wurden die Proben zentrifugiert und dekantiert. Ein Aliquot der wässrigen Probe wurde zur Bestimmung der enthaltenen Radioaktivität am LSC vermessen und die CaCl_2 -Lösung wieder mit dem Boden vermischt. Um das Boden-Lösungsverhältnis (1:100) nicht zu verändern, wurde

das Volumen des entnommen Aliquots durch frische CaCl_2 -Lösung ersetzt. Die Bestimmung der Adsorption (A_{t_i}) von DP, DS^- und DA^+ im Boden 5M nach den oben genannten Zeitintervallen wurden mittels folgender Gleichung bestimmt:

$$A_{t_i} = \frac{m_s^{ads}(t_i) \cdot 100}{m_0} \quad (3.6)$$

A_{t_i} : Adsorption zum Zeitpunkt t_i (%)

$m_s^{ads}(t_i)$: Masse der adsorbierten Substanz zum Zeitpunkt t_i (μg)

m_0 : Masse der Substanz zu Beginn der Tests (μg)

Die GG für die Desorption von DP, DS^- und DA^+ im Boden 5M wurde ebenfalls mittels paralleler Methode in Triplikaten ermittelt. ^{14}C -DP, ^{14}C - DS^- und ^{14}C - DA^+ wurden in einer Konzentration von 2 mg/kg zur Bodensuspension pipettiert. Die Testansätze wurden bis zum Erreichen des Adsorptions-GG geschüttelt und anschließend zentrifugiert und dekantiert. Der Boden wurde mit frischer CaCl_2 -Lösung vermischt und geschüttelt. Nach einem Zeitintervall von jeweils 1, 15, 60, 120, 240, 1680, 3120, 4560, 6000 und 7440 min wurden die Proben zentrifugiert und dekantiert. Ein Aliquot der wässrigen Probe wurde mittels LSC quantifiziert und die CaCl_2 -Lösung wieder mit dem Boden vermischt. Um das Boden-Lösungsverhältnis (1:100) nicht zu verändern, wurde das Volumen des entnommen Aliquots durch frische CaCl_2 -Lösung ersetzt. Die Bestimmung der Desorption (D_{t_i}) von DP, DS^- und DA^+ im Boden 5M nach den oben genannten Zeitintervallen wurden mittels folgender Gleichung bestimmt:

$$D_{t_i} = \frac{m_{aq}^{des}(t_i)}{m_s^{des}(t_i)} * 100 \quad (3.7)$$

D_{t_i} : Desorption zum Zeitpunkt t_i (%)

$m_{aq}^{des}(t_i)$: Masse der desorbierten Substanz zum Zeitpunkt t_i (μg)

$m_s^{des}(t_i)$: Masse der adsorbierten Substanz im Adsorptions-Gleichgewichts (μg)

Zur Aufnahme der Adsorptions-Isotherme wurden folgende Konzentrationen der Testsubstanzen in Triplikaten eingesetzt: 1, 1,6, 2, 4, 10 und 20 mg/kg Boden. Radioaktivmarkierte und nicht radioaktivmarkierte Testsubstanz wurden wie folgt zugegeben:

Tabelle 3.7: Zugabe von radioaktivmarkierter und nicht radioaktivmarkierter Testsubstanz DP, DS^- und DA^+ zu den Testansätzen.

	DP	DS^-	DA^+
1 mg/kg	^{14}C -DP: 0,5 μg	^{14}C - DS^- : 0,5 μg	^{14}C - DA^+ : 0,5 μg
1,6 mg/kg	^{14}C -DP: 0,8 μg	^{14}C - DS^- : 0,8 μg	^{14}C - DA^+ : 0,8 μg
2 mg/kg	^{14}C -DP: 1,0 μg	^{14}C - DS^- : 1,0 μg	^{14}C - DA^+ : 1,0 μg
4 mg/kg	^{14}C -DP: 0,8 μg /DP: 1,2 μg	^{14}C - DS^- : 0,5 μg / DS^- : 1,5 μg	^{14}C - DA^+ : 0,8 μg / DA^+ : 1,2 μg
10 mg/kg	^{14}C -DP: 0,8 μg /DP: 4,2 μg	^{14}C - DS^- : 0,5 μg / DS^- : 4,5 μg	^{14}C - DA^+ : 0,8 μg / DA^+ : 4,2 μg
20 mg/kg	^{14}C -DP: 0,8 μg /DP: 9,2 μg	^{14}C - DS^- : 0,5 μg / DS^- : 9,5 μg	^{14}C - DA^+ : 0,8 μg / DA^+ : 9,2 μg

Nach Erreichen des Adsorptions-GG wurden die Proben zentrifugiert und 80% der eingesetzten CaCl_2 -Lösung durch Dekantieren vom Boden getrennt. In einem Aliquot der wässrigen Probe wurde das enthaltende ^{14}C mittels LSC quantifiziert. Die Bestimmung der Adsorptions-Isothermen und des Verteilungskoeffizienten K_F^{ads} erfolgt über die indirekte Methode. Dabei wurden angenommen, dass Verluste an ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ aus der CaCl_2 -Lösung an Boden adsorbiert vorlagen. Die Sorptionsisothermen für die Adsorption von DP, DS⁻ und DA⁺ im Boden 5M wurden mittels Freundlich Adsorptions-Isotherme bestimmt (Formel 3.8). Unter Verwendung der Freundlich Adsorptions-Isotherme wird angenommen, dass der Boden unterschiedliche Adsorption-Stellen aufweist und die Adsorption mit steigender Konzentration in der wässrigen Bodenphase steigt (Dao & Unger, 1995).

$$\log C_s^{\text{ads}}(\text{eq}) = \log K_F^{\text{ads}} + 1/n * \log C_{\text{aq}}^{\text{ads}}(\text{eq}) \quad (3.8)$$

$\log C_s^{\text{ads}}(\text{eq})$: Konzentration der adsorbierten Substanz im Boden ($\mu\text{g/kg}$)

$\log K_F^{\text{ads}}$: Freundlich-Adsorptionskoeffizient

$\log C_{\text{aq}}^{\text{ads}}(\text{eq})$: Konzentration der Substanz in CaCl_2 -Lösung im Adsorptions-Gleichgewicht ($\mu\text{g/L}$)

n : Freundlich-Adsorptions-Exponent

Der auf den organischen Kohlenstoffgehalt im Boden 5M normierte Freundlich-Adsorptionskoeffizient K_{oc} wurde wie folgt bestimmt:

$$K_{\text{oc}} = \frac{K_d}{f_{\text{oc}}} \quad (3.9)$$

K_{oc} : auf den organischen Kohlenstoffgehalt des Bodens normierter Freundlich-Adsorptionskoeffizient (L/kg)

K_d : Verteilungskoeffizient für die Adsorption (L/kg)

f_{oc} : organischer Kohlenstoffgehalt des Bodens (kg/kg)

Direkt im Anschluss an das Adsorptionsexperiment wurden die Desorptions-Isotherme von DP, DS⁻ und DA⁺ im Boden 5M bestimmt. Dazu wurden 40 mL frische CaCl_2 -Lösung mit dem Boden aus dem Adsorptionsexperiment vermischt und bis zum Erreichen des Desorptions-GG geschüttelt, zentrifugiert, dekantiert und die Radioaktivität in der wässrigen Phase mittels LSC quantifiziert. Die Bestimmung der Desorptions-Isothermen und des Verteilungskoeffizienten K_F^{des} erfolgte über die indirekte Methode. Dabei wurde angenommen, dass Anteile an ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺, die nicht desorbiert in der CaCl_2 -Lösung vorlagen, an Boden adsorbiert waren. Die Sorptionsisothermen für die Desorption von DP, DS⁻ und DA⁺ im Boden 5M wurden mittels Freundlich Desorptions-Isotherme bestimmt:

$$\log C_s^{\text{des}}(\text{eq}) = \log K_F^{\text{des}} + 1/n * \log C_{\text{aq}}^{\text{des}}(\text{eq}) \quad (3.10)$$

$\log C_s^{\text{des}}(\text{eq})$: Konzentration der adsorbierten Substanz im Desorptions-Gleichgewicht ($\mu\text{g/kg}$)

$\log K_F^{\text{des}}$: Freundlich-Desorptionskoeffizient

$\log C_{\text{aq}}^{\text{des}}(\text{eq})$: Konzentration der Substanz in CaCl_2 -Lösung im Desorptions-Gleichgewicht

n : Freundlich-Desorptions-Exponent

Durch die Adsorptions- und Desorptionsstudie soll untersucht werden, ob DP , DS^- und DA^+ an den Boden 5M adsorbieren und ob dieser Prozess reversible oder irreversibel ist.

Zur Bestimmung der Wiederfindung der AR in den Experimenten zur Bestimmung der Adsorptions- und Desorptions-Isotherme, wurde der verbliebene Boden nach Desorption bei 105°C getrocknet, mittels Verbrennungsautomaten verbrannt und das freigesetzte $^{14}\text{CO}_2$ am LSC quantifiziert. Um den an die Gefäßwand sorbierten Anteil an ^{14}C zu bestimmen, wurden die Zentrifugengläser nach vollständiger Entfernung des getrockneten Bodens mit 5 mL MeOH gespült und ein Aliquot am LSC vermessen.

Zur Bestimmung der Stabilität von DP , DS^- und DA^+ im Testsystem (CaCl_2 -Lösung, 200 mg/L NaN_3 , 0,5 g Boden), wurden die CaCl_2 -Extrakte aus den Adsorptions- und Desorptions-Experimenten nach Erreichen des GG mittels DC-Analytik untersucht. Dazu wurden die wässrigen Extrakte mittels Rotationsverdampfer eingedunstet, in MeOH rückgelöst, mittels Auftragsmaschine auf eine DC-Platte aufgetragen und die Platte entwickelt und ausgewertet (Kapitel 3.7.1). Bei ausgewählten Proben wurde zusätzlich der verbliebene Boden aus den Adsorptions- und Desorptions-Experimenten nach Erreichen des GG mit 20 mL MeOH erschöpfend extrahiert, der Extrakt mittels Rotationsverdampfer aufkonzentriert und mittels DC-Analytik untersucht.

4 Ergebnisse und Diskussion

4.1 Sorption von DP, DS⁻ und DA⁺ im Boden

4.1.1 Gleichgewicht und Stabilität im Testsystem

In einer Studie nach Testrichtlinie OECD 106 wurde die Sorption von ¹⁴C-DP, ¹⁴C-DS⁻ und ¹⁴C-DA⁺ im Boden 5M untersucht. Zur Ermittlung des Gleichgewichts (GG) für die Adsorption und Desorption von DP, DS⁻ und DA⁺ wurde die Adsorption (A_{t_i}) bzw. Desorption (D_{t_i}) von DP, DS⁻ und DA⁺ in Abhängigkeit von der Zeit aufgetragen und graphisch ausgewertet (Plateaubildung). Die Zeit für das GG für die A_{t_i} und D_{t_i} von DP an den Boden betrug jeweils 240 min (Abb. 4.1).

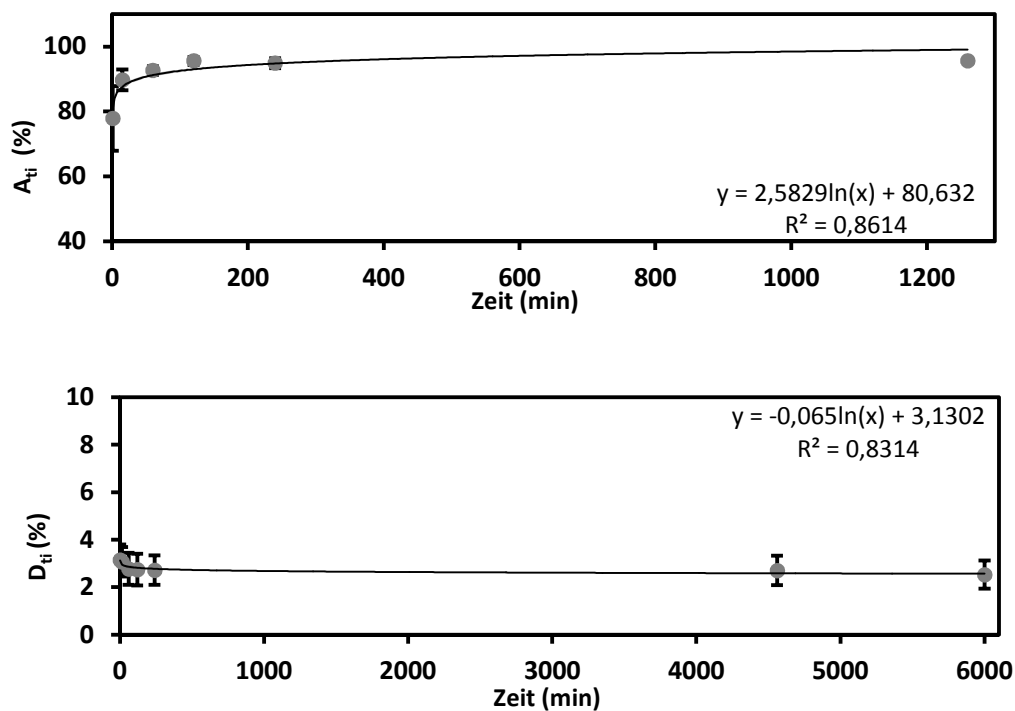


Abbildung 4.1: A_{t_i} (%) und D_{t_i} (%) von DP im Boden 5M in Abhängigkeit von der Zeit (min).

Die Zeiten für das GG für die A_{t_i} und D_{t_i} von DS⁻ an den Boden betrug jeweils 240 min (Abb. 4.2).

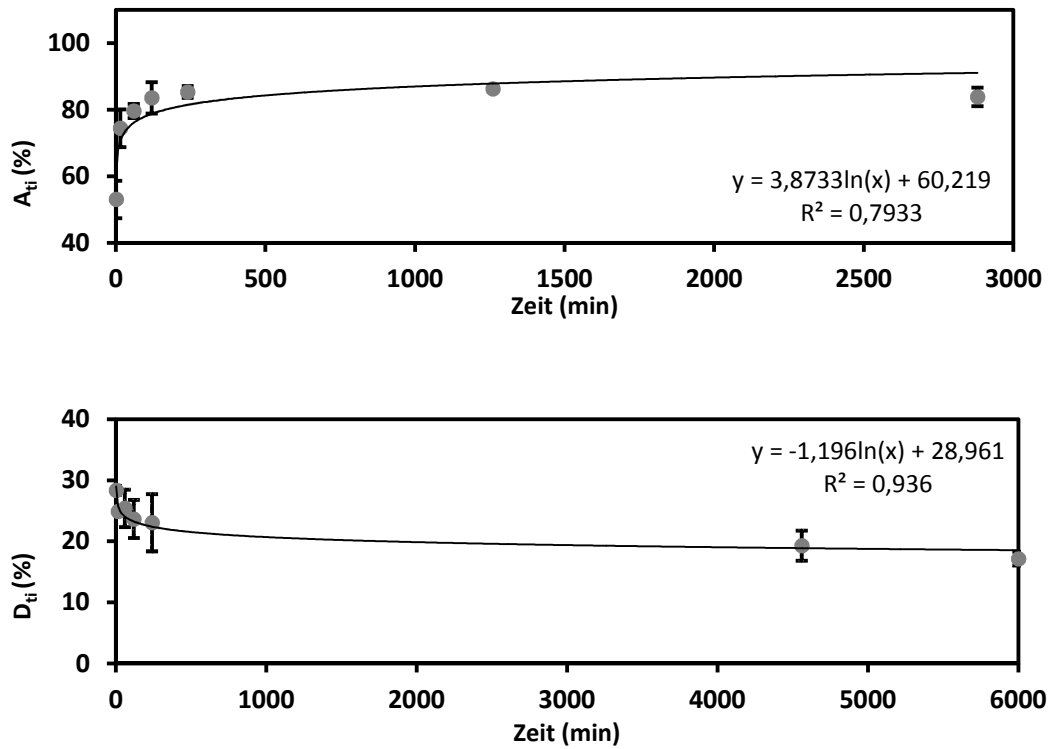


Abbildung 4.2: $A_{ti} (%)$ und $D_{ti} (%)$ von DS^- im Boden 5M in Abhängigkeit von der Zeit (min).

Die Zeiten für das GG für die A_{ti} und D_{ti} von DA^+ an den Boden betrugen 15 min und 1680 min (Abb. 4.3).

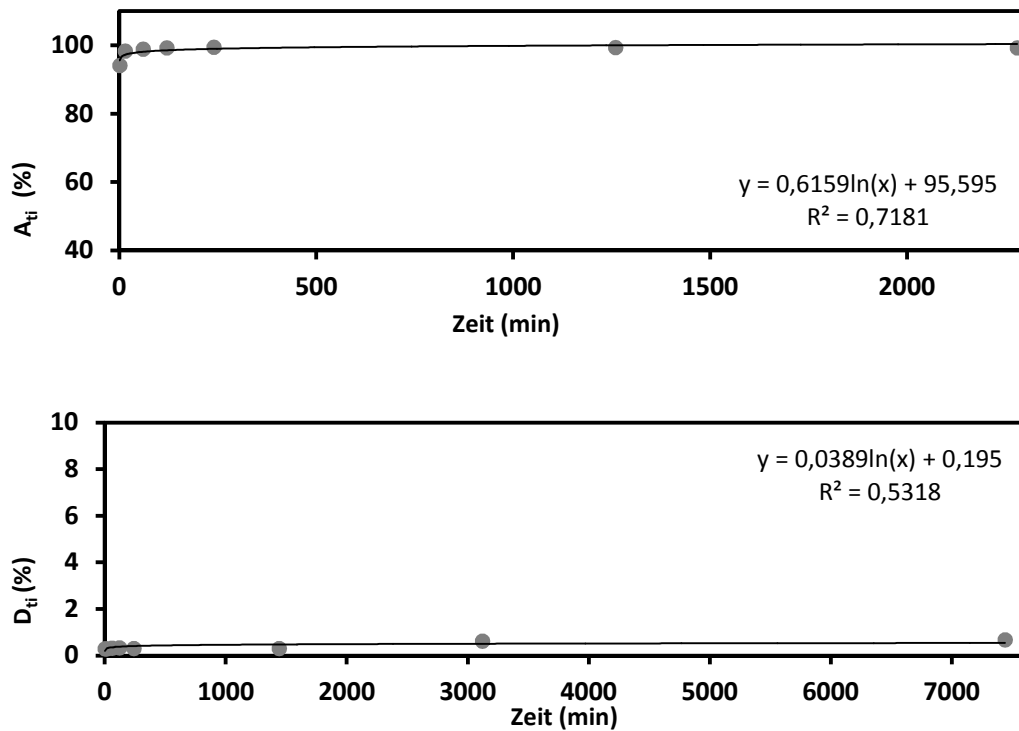


Abbildung 4.3: $A_{ti} (%)$ und $D_{ti} (%)$ von DA^+ im Boden 5M in Abhängigkeit von der Zeit (min).

Zur Bestimmung der Stabilität von DP, DS⁻ und DA⁺ im Testsystem (CaCl₂-Lösung, 200 mg/L NaN₃, 0,5 g Boden) wurden die CaCl₂-Extrakte der Testkonzentration 2 mg/kg aus den Adsorptions- und Desorptions-Experimenten nach Erreichen des GG mittels DC analysiert. In allen CaCl₂-Extrakten konnte unter Verwendung von DP als Referenzsubstanz DP, nicht weiter identifizierbarer Startaktivität und ein polares Abbauprodukt, dass auf Grund zu geringer Radioaktivitätsmengen nicht weiter identifiziert werden konnte, detektiert werden (Abb. 4.4).

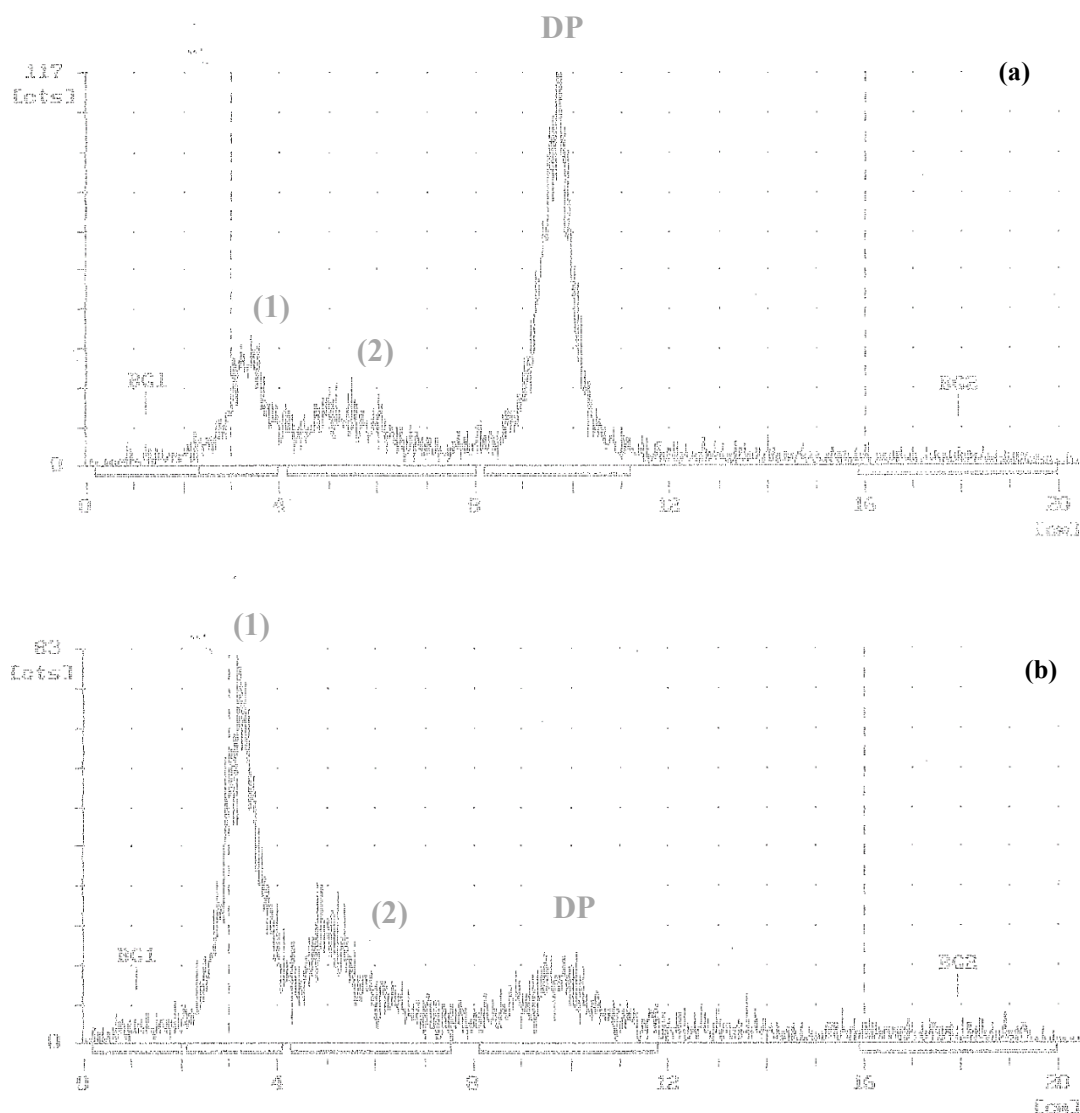


Abbildung 4.4: DC-Radio-Chromatogramm des CaCl₂-Extrakts der Testkonzentration 2 mg/kg für die Adsorption (a) und Desorption (b). Die radioaktiven Signale konnten mit DP als Referenzsubstanz co-chromatographisch als DP, nicht weiter identifizierbare Startaktivität (1) und ein polares Abbauprodukt (2) identifiziert werden.

Die Testsubstanz DP war somit im Testsystem für die Dauer der Sorptionsstudien nicht stabil. Da die alleinige Zugabe von NaN₃ den Abbau von DP im Rahmen der Testdauer der Sorptionsstudien nicht unterbunden hat, wurde die Studie bei einer Testkonzentration von 2 mg/kg mit Boden 5M wiederholt. Darüber hinaus wurde der Boden vor dem Einsatz in den Sorptionsstudien autoklaviert (feuchte Hitze, 2 h, 121°C). Die Kombination der beiden Bodensterilisationsmethoden (NaN₃, Autoklavieren) sollte den Abbau von DP im

Testsystem unterbinden. In den CaCl_2 -Extrakten konnten DP, nicht weiter identifizierbare Startaktivität und ein polares Abbauprodukt, dass auf Grund zu geringer Radioaktivitätsmengen nicht weiter identifiziert werden konnte, co-chromatographisch identifiziert werden (Abb. 4.5).

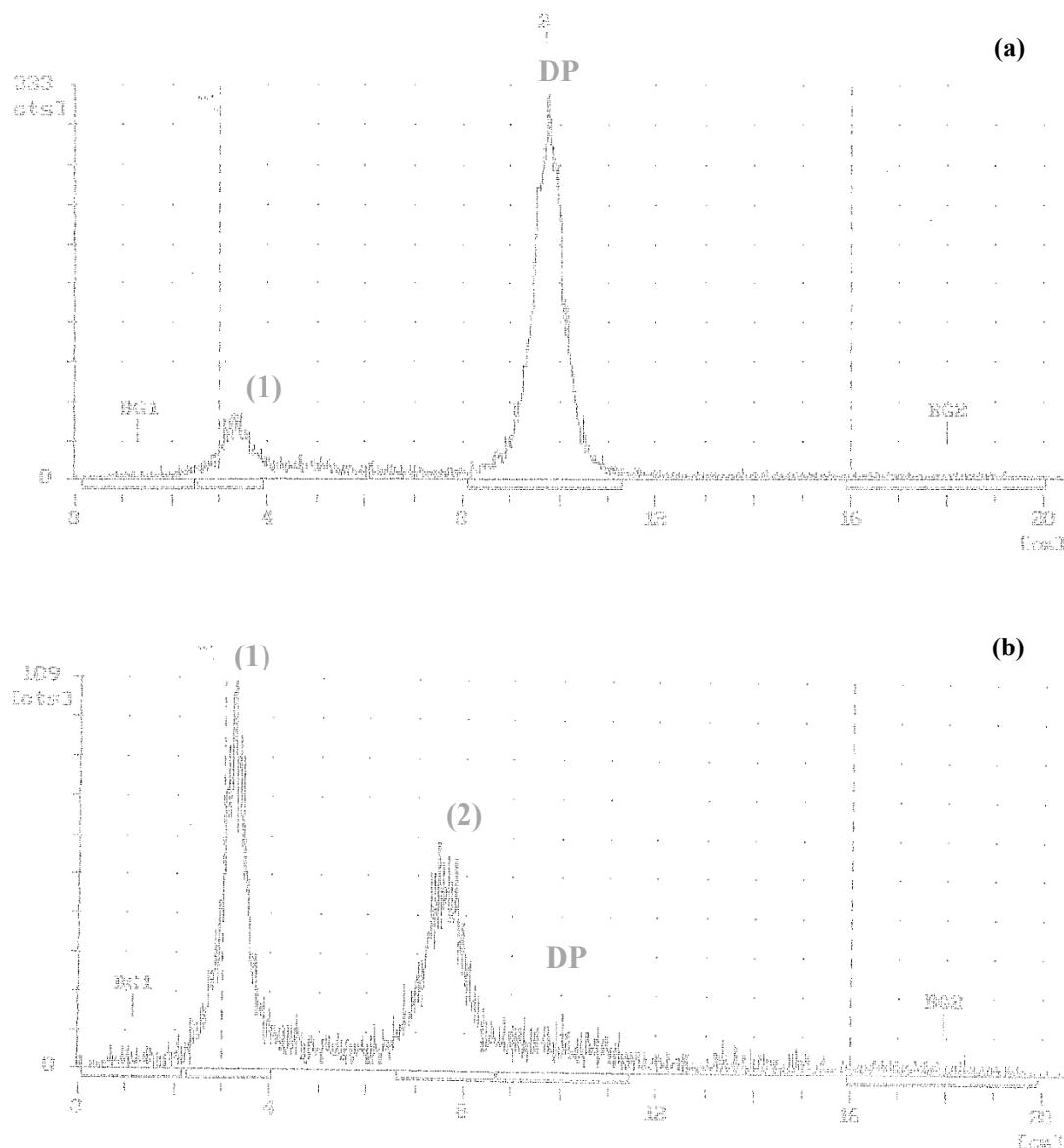


Abbildung 4.5: DC-Radio-Chromatogramm des CaCl_2 -Extrakts der Testkonzentration 2 mg/kg mit autoklaviertem Boden für die Adsorption (a) und Desorption (b). Die radioaktiven Signale konnten mit DP als Referenzsubstanz co-chromatographisch als DP, nicht weiter identifizierbare Startaktivität (1) und ein polares Abbauprodukt (2) identifiziert werden.

Da die Zugabe von NaN_3 und Autoklavieren des Bodens den Abbau von DP im Rahmen der Testdauer der Sorptionsstudien nicht unterbunden hat, wurde die Studie in Triplikaten bei einer Testkonzentration von 2 mg/kg mit autoklaviertem Boden 5M wiederholt, der zusätzlich γ -bestrahlt wurde (30 kGy, 60Co). In den CaCl_2 -Extrakten konnte co-chromatographisch DP, nicht weiter identifizierbare Startaktivität und ein polares Abbauprodukt, dass wegen zu geringer Radioaktivitätsmengen nicht weiter identifiziert werden konnte, detektiert werden (Abb. 4.6).

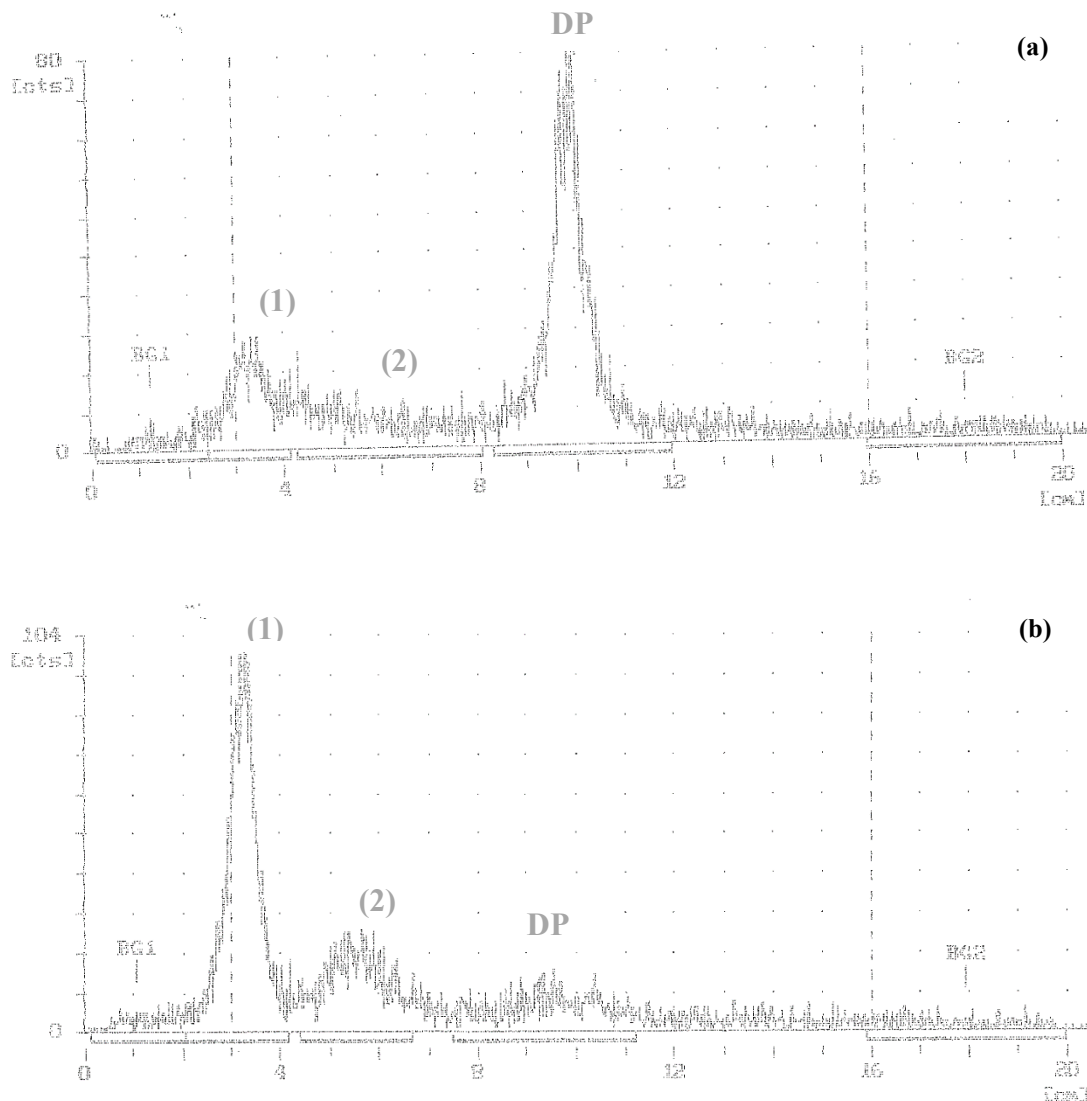


Abbildung 4.6: DC-Radio-Chromatogramm des CaCl_2 -Extrakts der Testkonzentration 2 mg/kg mit autoklaviertem, γ -bestrahltem Boden für die Adsorption (a) und Desorption (b). Die radioaktiven Signale konnten mit DP als Referenzsubstanz co-chromatographisch als DP, nicht weiter identifizierbare Startaktivität (1) und ein polares Abbauprodukt (2) identifiziert werden.

Die Testsubstanz DP war auch im Testsystem mit autoklaviertem, γ -bestrahltem Boden für die Dauer der Sorptionsstudien nicht stabil. Die Kombination der drei Bodensterilisationsmethoden (NaN_3 , Autoklavieren, γ -Bestrahlung) konnte den Abbau von DP im Testsystem nicht unterbinden. Die Behandlung von Boden mit NaN_3 , Autoklavieren und γ -Bestrahlung zählt zu den gängigen Sterilisationsmethoden, um einen biotischen Abbau von Chemikalien im Boden zu unterbinden. Die Bestrahlung von Boden mit γ -Strahlung tötet Mikroorganismen ab, ohne die Bodenstruktur wesentlich zu verändern (McNamara et al., 2003). Autoklavieren führt zusätzlich zur Deaktivierung extrazellulärer Enzyme (Perotti & Pidello, 1999). Durch die Behandlung von Boden mit NaN_3 werden oxidative Enzyme wie Phenoloxidasen und Peroxidasen gehemmt (Alef & Nannipieri, 1995). Die mikrobielle Aktivität des Mittels der drei Methoden sterilisierten Bodens gemessen über die DMSO-Reduktionsrate betrug 0 ng DMS/h*gTG. Es kann somit davon ausgegangen werden, dass die Sterilisation des Bodens erfolgreich war und ein biotischer Abbau von

DP durch Mikroorganismen und Enzyme ausgeschlossen werden kann. In der Umwelt finden viele verschiedene abiotische Abbauprozesse, u.a. Hydrolyse, direkte und indirekte Photolyse, Oxidation/Reduktion und Oberflächen kontrollierte Katalysereaktionen statt (ECHA, 2017). Der abiotische Abbau von DP wurde bisher nicht untersucht. Aus der Literatur ist jedoch der photochemische Abbau als abiotischer Abbaupfad von Nonylphenol (NP) in der Umwelt bekannt. NP wird hauptsächlich durch indirekte Photolyse umgesetzt, die direkte Photolyse ist als langsam einzustufen (Ahel et al., 1994). Als Photolyseprodukte von NP konnten Phenol, 1,4-Dihydroxybenzol und 1,4-Benzoquinone beschrieben werden (Neamțu & Frimmel, 2006). Weiterhin können Phenole durch Fe_2O_3 , MnO_2 , Boden oder Ton als abiotische Katalysatoren zu Polymeren oder einfacheren Produkten transformiert werden (Gianfreda et al., 2006). Es ist daher davon auszugehen, dass DP in den Sorptionsstudien unter Bildung eines polaren Transformationsprodukts abiotisch abgebaut wurde.

In allen CaCl_2 -Extrakten aus den Adsorptions- und Desorptions-Experimenten mit DS^- konnte jeweils ein radioaktives Signal detektiert werden, das co-chromatographisch als DS^- identifiziert werden konnte (Daten nicht dargestellt). Die Testsubstanz DS^- war somit im Testsystem für die Dauer der Sorptionsstudien stabil. Auch in Sorptionsexperimenten von Ou et al. (1996) und Fytianos et al. (1998) mit linearen Alkylbenzolsulfonaten (LAS^-) konnte nach 14 bzw. 24h Inkubation kein Abbau im Testsystem verzeichnet werden.

Auf Grund zu geringer Radioaktivitätsmenge in den CaCl_2 -Extrakten aus den Adsorptions- und Desorptions-Experimenten mit DA^+ war keine analytische Untersuchung zur Beurteilung der Stabilität von DA^+ in den Sorptionsstudien möglich. Jedoch konnte bei Sorptionsstudie mit dem QAC^+ Hexadecyltrimethylammoniumchlorid (HDTMA) kein Abbau der Testsubstanz beobachtet werden (Jones-Hughes & Turner, 2005).

4.1.2 Sorptionskinetik

Auf Basis der in den Sorptionsstudien ermittelten Konzentrationen an DP, DS^- und DA^+ in Boden ($\log c_{\text{s}}^{\text{ads}}$, $\mu\text{g/kg}$) und CaCl_2 -Lösung ($\log c_{\text{aq}}^{\text{ads}}$, $\mu\text{g/L}$) wurden die Sorptionsisotherme für die Adsorption und Desorption ermittelt (Abb. 4.7). Wie in Kapitel 4.1.1 diskutiert, wurde DP in den Adsorptions- und Desorptions-Experimenten im Rahmen der Testdauer abiotisch abgebaut. Die für DP ermittelten Isothermen für die Adsorption und Desorption sind daher nur begrenzt verwendbar.

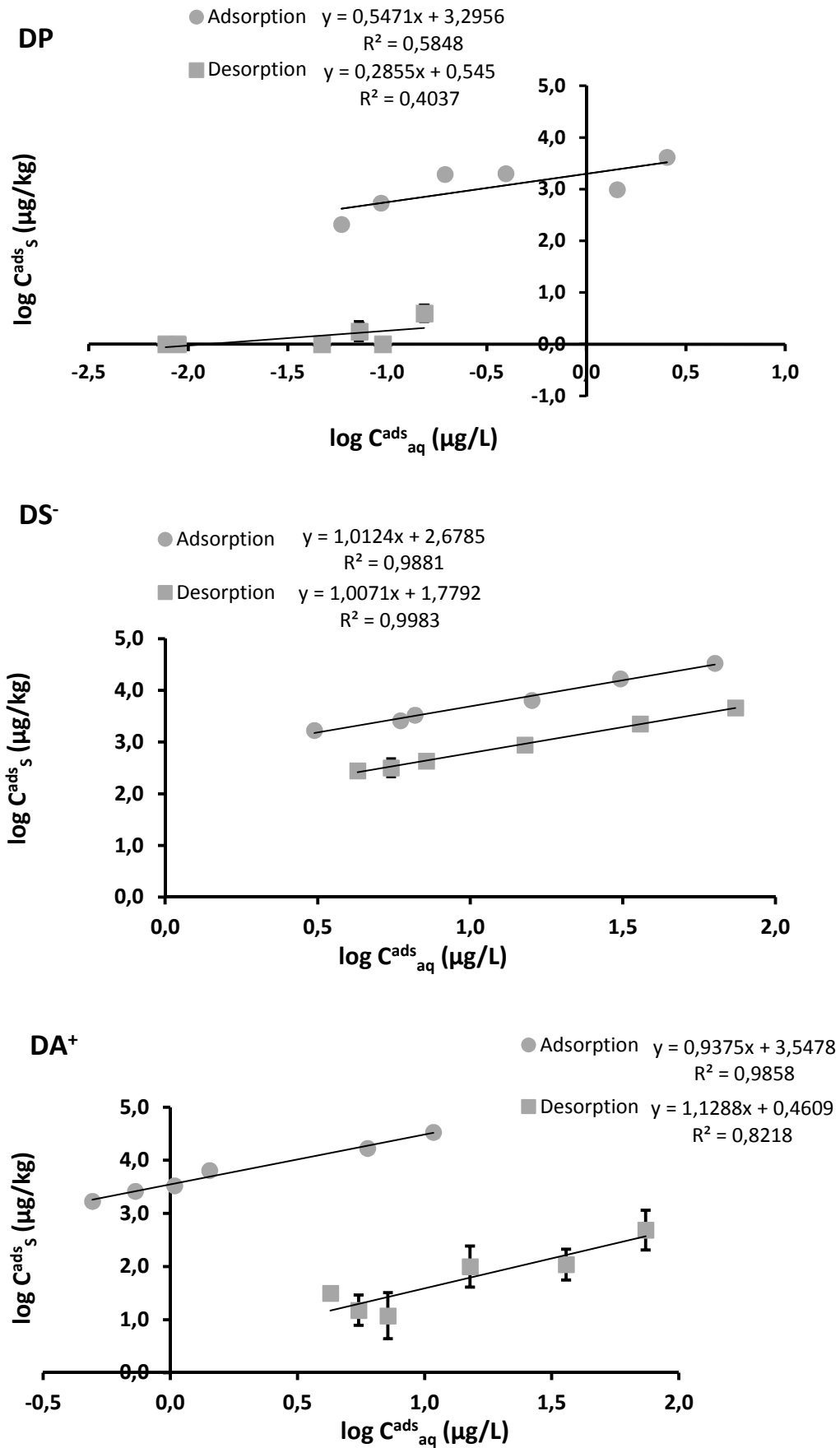


Abbildung 4.7: Adsorptions- und Desorptions-Isotherme von DP, DS⁻ und DA⁺ im Boden 5M (n=2) ermittelt über die Konzentration von DP, DS⁻ und DA⁺ im Boden ($\log C_{ads}^s$, $\mu\text{g/kg}$) und in der CaCl₂-Lösung ($\log C_{aq}^{ads}$, $\mu\text{g/L}$) im GG für die Testkonzentrationen 1, 1,6, 2, 4, 10 und 20 mg/kg.

Die Wiederfindung der applizierten Radioaktivität (AR) in den Sorptionsstudie mit DP, DS⁻ und DA⁺ lag zwischen 88,3-102,6%, 100,6-106,8% sowie zwischen 84,0-71,5% und war unabhängig von der Testkonzentration (Anhang A.2).

Auf Grund des abiotischen Abbaus von DP wurden zur Bestimmung der Sorptionsisothermen von DP die CaCl₂-Extrakte nach Adsorption und Desorption sowie die Boden-Extrakte nach Desorption für die Testkonzentrationen 1, 1,6, 2, 4, 10 und 20 mg/kg mittels DC-Analytik auf DP hin untersucht. Auf Basis der Verteilung der als DP identifizierten Anteile an Radioaktivität (Tab. 4.1) wurden die Adsorptions- und Desorptions-Isothermen für DP bestimmt (Abb. 4.7). Dabei wurde angenommen, dass die als DP identifizierten Anteile im Boden nach Desorption der Verteilung der Radioaktivität im Boden nach Adsorption entsprachen.

Tabelle 4.1: Verteilung von ¹⁴C-DP in den CaCl₂-Extrakten nach Adsorption und Desorption sowie die Boden-Extrakte nach Desorption für die Testkonzentrationen 1, 1,6, 2, 4, 10 und 20 mg/kg. Daten sind dargestellt als Mittelwert (n=2) der AR (%) mit Standardabweichung (Konfidenzintervall $\alpha=0,05$).

CaCl ₂ -Extrakt Adsorption	Anteil an applizierter Radioaktivität (%)					
	1 mg/kg	1,6 mg/kg	2 mg/kg	4 mg/kg	10 mg/kg	20 mg/kg
Startaktivität	28,9±3,8	34,8±9,2	17,8±3,0	15,9±3,3	14,1±2,1	13,9±2,4
Abbauprodukt 1	22,7±2,6	19,8±0,3	12,9±3,9	18,0±2,0	16,3±0,5	12,3±1,2
Abbauprodukt 2	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0
DP	48,4±1,0	45,5±9,1	62,7±0,1	66,2±5,2	69,6±2,6	73,7±3,4
Abbauprodukt 3	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0

CaCl ₂ -Extrakt Desorption	Anteil an applizierter Radioaktivität (%)					
	1 mg/kg	1,6 mg/kg	2 mg/kg	4 mg/kg	10 mg/kg	20 mg/kg
Startaktivität	60,7±3,2	65,1±0,2	63,8±14,7	46,3±8,3	55,6±13,5	67,8±0,7
Abbauprodukt 1	17,2±11,7	25,8±0,6	19,1±13,1	17,1±3,5	11,8±4,1	17,3±8,6
Abbauprodukt 2	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0
DP	22,1±8,5	9,1±0,4	17,1±1,7	36,6±11,9	32,6±9,4	7,7±10,9
Abbauprodukt 3	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0

Boden-Extrakt Desorption	Anteil an applizierter Radioaktivität (%)					
	1 mg/kg	1,6 mg/kg	2 mg/kg	4 mg/kg	10 mg/kg	20 mg/kg
Startaktivität	16,8±2,2	13,8±1,3	1,1±1,5	8,9±2,6	64,0±1,3	51,9±3,7
Abbauprodukt 1	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0
Abbauprodukt 2	34,7±0,7	28,9±1,3	2,0±2,9	22,2±2,4	16,6±1,5	19,7±2,1
DP	20,9±2,2	33,6±2,6	96,9±4,4	50,5±6,6	9,9±0,3	13,9±1,1
Abbauprodukt 3	27,6±0,6	23,7±0,0	0,0±0,0	18,4±01,7	9,5±0,3	14,5±0,6

Mit Hilfe der Geradengleichung der Freundlich Adsorptions- und Desorptions-Isotherme (Abb. 4.7) wurden die Verteilungskoeffizienten für die Adsorption ($\log K_F^{\text{ads}}$) und für die Desorption ($\log K_F^{\text{des}}$) sowie der Freundlich-Exponent für die Adsorption (n^{ads}) und Desorption (n^{des}) von DP, DS⁻ und DA⁺ ermittelt (Tab. 4.2). Über die Normierung der

Verteilungskoeffizienten für die Adsorption mit dem organischen Kohlenstoffgehalt im Boden 5M wurde der $\log K_{oc}$ bestimmt.

Tabelle 4.2: Verteilungskoeffizienten für die Adsorption ($\log K_F^{ads}$) und Desorption ($\log K_F^{des}$), Freundlich –Exponent für Adsorption (n^{ads}) und Desorption (n^{des}), sowie $\log K_{oc}$ für die Adsorption von DP, DS⁻ und DA⁺ im Boden 5M.

	DP	DS ⁻	DA ⁺
$\log K_F^{ads}$	3,30±0,01	2,68±0,01	3,55±0,01
$\log K_{oc}$	5,28	4,66	5,53
n^{ads}	1,82	0,99	1,07
$\log K_F^{des}$	0,55±0,34	1,78±0,08	0,46 ±0,31
n^{des}	3,50	0,99	0,89

Der Freundlich-Exponent n ist ein Maß für die Nichtlinearität der Beziehung zwischen der adsorbierten Menge der Testsubstanz und der Konzentration der Testsubstanz in der wässrigen Phase im GG (Sixt, 1998). Ist n^{ads} bzw. n^{des} gleich 1, sind $\log K_F^{ads}$ bzw. $\log K_F^{des}$ identisch zu den Verteilungskoeffizienten für die Adsorption ($\log K_d$) bzw. Desorption ($\log K_{des}$) und die Beziehung zwischen C_s und C_{aq} ist linear. Ist n^{ads} bzw. $n^{des} \neq 1$, ist die Beziehung zwischen C_s und C_{aq} nicht linear und die Verteilungskoeffizienten für die Adsorption (K_d) bzw. Desorption (K_{des}) ändern sich entlang der Isotherme. n^{ads} und n^{des} von DP und DA⁺ waren $\neq 1$. Die Adsorption als auch die Desorption von DP und DA⁺ im Boden 5M waren somit nicht linear und $\log K_F^{ads}$ und $\log K_F^{des}$ müssen zur Beschreibung des Adsorptions- bzw. Desorptionsverhaltens von DP und DA⁺ herangezogen werden. Für DS⁻ betrugen n^{ads} und n^{des} annähernd 1. Die Adsorption als auch die Desorption von DS⁻ im Boden 5M waren somit linear. Über den Exponenten n^{ads} kann das Adsorptionsverhalten einer Chemikalie im Boden näher beschrieben werden. Für $n < 1$ nimmt die Adsorptionsbereitschaft mit steigender Konzentration der Chemikalie ab; bereits adsorbierte Moleküle verhindern die Adsorption weiterer Moleküle. Für $n > 1$ fördert die Adsorption von Molekülen an der Oberfläche die Adsorption weiterer Moleküle (Sixt 1998). Für DP und DA⁺ im Boden 5M betrug $n^{ads}=1,82$ und $n^{ads}=1,07$. Die Adsorption von DP und DA⁺ an die Bodenmatrix wirkt sich somit positiv auf die Adsorption weiterer DP- bzw. DA⁺-Moleküle mit steigender Konzentration an DP und DA⁺ im Boden 5M aus. Studien zur Sorption von DP, DS⁻ und DA⁺ wurden bisher nicht veröffentlicht. Aus diesem Grund werden die Ergebnisse für DP, DS⁻ und DA⁺ mit den von Nonylphenol (NP), linearer Alkylbenzolsulfonate (LAS⁻) und verschiedener quartärer Ammoniumverbindungen (QAC⁺) verglichen und diskutiert. Die Sorption von LAS⁻ an natürliche Böden wurde bei einer Konzentration $< 90 \mu\text{g/mL}$ als linear beschrieben (Ou et al., 1996). Bei höheren Konzentration konnte eine kooperative Sorption ($n > 1$) beobachtet werden (Fytianos et al., 1998; Ou et al., 1996). Dies wird mit intermolekularer Mizellenbildung der anionischen Tenside bei hohen Konzentrationen in Verbindung gebracht (Inoue et al., 1978). Die Sorptionsisotherme für den QAC⁺ HDTMA an Sediment

wurde als nicht linear beschrieben, was im Zusammenhang mit dem komplexen Sorptionsmechanismus des Tensids steht (Jones-Hughes & Turner, 2005). Während unter Verwendung von Seewassers eine kooperative Sorption des Kations beobachtet werden konnte, setze die Sorption von HDTMA in Gegenwart von Flusswasser die Sorption weiterer Moleküle herab. Für DP weichen die Ergebnisse von den in der Literatur veröffentlichten Ergebnissen ab. Die Sorption hydrophober Chemikalien, wie DP, sollte beim verwendeten niedrigen Konzentrationsbereich ($\leq 200 \mu\text{g/L}$) linear verlaufen (Karickhoff, 1981). In einer Studien von Düring et al. (2002) wurde sogar eine lineare Adsorption von 4-*n*-NP an Boden bei einer Konzentration von $750 \mu\text{g/L}$ beschrieben.

Über $\log K_F^{\text{ads}}$ und $\log K_{\text{oc}}$ kann das Adsorptionsverhalten einer Chemikalie im Boden näher beschrieben werden. Chemikalien mit einem $\log K_{\text{oc}} > 3,0$ sind stark an die organische Bodensubstanz gebunden (Kenaga, 1980). Für DP im Boden 5M wurde ein $\log K_F^{\text{ads}} = 3,30$ und ein $\log K_{\text{oc}} = 5,28$ bestimmt. Der mittels EPISuite Software berechnete $\log K_{\text{oc}} = 5,5$ (Kapitel 1.7.1) korreliert gut mit dem experimentell ermittelten Wert. Für DS^- im Boden 5M wurde ein $\log K_F^{\text{ads}} = 2,68$ und ein $\log K_{\text{oc}} = 4,66$, für DA^+ ein $\log K_F^{\text{ads}} = 3,55$ und ein $\log K_{\text{oc}} = 5,53$ bestimmt. Die mittels Berechnung ermittelten $\log K_{\text{oc}}$ -Werte für DS^- ($\log K_{\text{oc}} = 3,6$) und DA^+ ($\log K_{\text{oc}} = 3,9$) für die nicht ionische Form von DS^- und DA^+ (Kapitel 1.7.2 und 1.7.3) sind niedriger als die experimentell ermittelten $\log K_{\text{oc}}$ -Werte. Das Auftreten der nicht ionischen Spezies von DS^- ist bei einem im Testsystem für die Sorptionsstudien ermitteltem $\text{pH} = 7,3$ vernachlässigbar. DA^+ liegt permanent ionisch vor. Daher kann davon ausgegangen werden, dass der experimentell ermittelte $\log K_{\text{oc}}$ die Verteilung der ionischen Form von DS^- und DA^+ zwischen Boden und Bodenlösung abbildet. Tenside sorbieren über Van der Waals-Kräfte zwischen hydrophoben und hydrophilen Anteile der Tenside und der festen Oberfläche (Ying, 2006). Jedoch wird angenommen, dass die Sorption kationischer Tenside nicht nur über Van der Waals-Kräfte erfolgt, sondern auch über ionische Wechselwirkungen wie Ionenpaarbindung oder Ionenaustausch (Jones-Hughes & Turner, 2005). Bei niedrigen Konzentration wird der Ionenaustausch als Hauptsorptionsmechanismus für QAC^+ im Boden beschrieben (Mulder et al., 2018). Auch an der Sorption von Anionen an Boden sind sowohl nicht ionische also auch elektrostatische Wechselwirkungen beteiligt (Tülp et al., 2009). LAS^- sorbieren über Ionenbindung zwischen der negativ geladenen Sulfonsäuregruppe und positiv geladenen Bodenbestandteilen, u.a. Amine der organischen Bodenmaterie und Oxide, an die Bodenoberfläche (Mingelgrin & Gerstl, 1983; Schwarzenbach & Westall, 1981). Der erhöhte $\log K_{\text{oc}}$ der ionischen Spezies von DS^- und DA^+ könnte durch ionische Wechselwirkung mit positiv und negativ geladenen mineralischen Oberflächen der Bodenmatrix hervorgerufen werden, die bei der Sorption der nicht ionischen Form von DS^- und DA^+ keine Rolle spielen. Die Abschätzung der Sorption ionischer organischer Chemikalien anhand des Verteilungsverhaltens der neutralen Form kann somit zur Unterschätzung der Affinität gegenüber Boden führen, insbesondere für Kationen.

Über $\log K_F^{\text{des}}$ kann abgeschätzt werden, ob die Adsorption von Chemikalien an Boden reversibel oder irreversibel ist (OECD, 2000). Ist die Adsorption vollständig reversibel, entspricht der $\log K_F^{\text{des}}$ dem $\log K_F^{\text{ads}}$ (von Oepen et al., 1991). Weichen Adsorptions- und Desorptions-Isotherme voneinander ab, spricht man von Hysterese (Calvet, 1989; Düring et al., 2002; Klein & Scheunert, 1982). $\log K_F^{\text{ads}}$ und $\log K_F^{\text{des}}$ für DP, DS⁻ und DA⁺ betragen jeweils 3,30 und 0,55, 2,68 und 1,78 sowie 3,55 und 0,46. Für alle drei Chemikalien kann somit von einer Hysterese ausgegangen werden. Da $\log K_F^{\text{des}}$ von DP und DA⁺ deutlich geringer war, als $\log K_F^{\text{ads}}$, kann die Sorption von DP und DA⁺ im Boden 5M als irreversible eingestuft werden. Die Sorption von DS⁻ ist nur teilweise irreversibel, da durch Desorption ein beachtlicher Anteil des adsorbierten Anions wieder freigesetzt wurde. Eine niedrige Desorption von Chemikalien steht im Zusammenhang mit deren intrapartikulärer Diffusion (Ball & Roberts, 1991). Durch die kovalente Einbindung von Chemikalien in Huminstoffe, deren Einlagerung in Hohlräume von Huminstoffen (Parlar & Angerhöfer, 1995) oder Schichtgittern von Tonmineralen (Klein & Scheunert, 1982) kommt es zur irreversiblen Festlegung von Chemikalien. Für 4-*n*-NP steht die irreversible Sorption im Zusammenhang mit der Bildung von stabilen chemischen Bindungen zur organischen Matrix (Düring et al., 2002). Die niedrige Desorption lässt vermuten, dass DP, DA⁺ und DS⁻ durch Diffusion in Huminstoffe oder Schichtgittern der Tonminerale in die Bodenmatrix eingebunden wurde, was zu deren mäßigen (DS⁻) bis niedrigen (DP, DA⁺) Desorption führt.

Die Adsorption von DS⁻ war im Vergleich zu DP und DA⁺ am niedrigsten. Dieses Ergebnis ist vergleichbar mit vorherigen Studien. Kah and Brown (2007) fanden bei Untersuchungen mit ionisierbaren Pestiziden in Böden aller Klassen heraus, dass die Sorption von Säuren schwächer ist im Vergleich zu basischen Pestiziden. Die Adsorption nicht ionischer und kationischer Tenside ist sehr viel höher als die von anionischen Tensiden (Ying, 2006). Die Untersuchung der Sorption der strukturähnlichen Tenside Natriumdodecylsulfat und HDTMA hat gezeigt, dass die Sorption des Kations höher war im Vergleich zum Anion und ein Ergebnis aus hydrophoben und elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen der Partikeloberfläche und dem kationischen Tensid ist (Jones-Hughes & Turner, 2005). Grund für den niedrigen K_d von DS⁻ könnte die Abstoßung des Anions an der negativ geladenen Oberfläche der Bodenpartikel (Wauchope et al., 2002), u.a. der Tonminerale, Carboxyl- und Phenolgruppen der Huminstoffe, sein. Unter Berücksichtigung der strukturellen Ähnlichkeit kann anhand der Ergebnisse geschlossen werden, dass eine negative Ladung die Sorption organischer Chemikalien herabsetzt, während das Auftreten einer positiven Ladung zu einer starken und zuweilen irreversiblen Festlegung an Boden führt.

4.2 Verteilung und Schicksal von DP, DS⁻ und DA⁺ im Boden

4.2.1 Bilanzierung der Radioaktivität

In dieser Studie nach Testrichtlinie OECD 307 wurde die Verteilung der Radioaktivität von ¹⁴C-DP, ¹⁴C-DS⁻ und ¹⁴C-DA⁺ auf flüchtige, mineralisierte, extrahierbare und nicht-extrahierbare Anteile im nicht sterilen und sterilen Boden nach 1, 7, 14, 49, 84 und 124 Tagen Inkubation untersucht. Für ¹⁴C-DP, ¹⁴C-DS⁻ und ¹⁴C-DA⁺ lag die Wiederfindung im nicht sterilen Boden jeweils zwischen 90,9-101,8%, 84,5-106,6% und 86,1-102,8% und war unabhängig von der Inkubationsdauer (Abb. 4.8 & Anhang A.3). In sterilem Boden betrug die Wiederfindung für ¹⁴C-DP, ¹⁴C-DS⁻ und ¹⁴C-DA⁺ jeweils 109,0, 91,7 und 107,7% (Abb. 4.9 & Anhang A.4).

Die nach Testrichtlinie OECD 307 vorgeschriebene Wiederfindung von 90-110% wurde in einigen Proben mit nicht sterilem Boden nicht erreicht (OECD, 2002). ¹⁴C-DP, ¹⁴C-DS⁻ und ¹⁴C-DA⁺ zeigten unter nicht sterilen Bedingungen eine hohe Mineralisation (>37% AR). Die Wiederfindung im sterilen Boden, in dem die Mineralisierung vernachlässigbar ist, war höher im Vergleich zum nicht sterilen Boden. Die verringerte Wiederfindung der AR im nicht sterilen Boden könnte durch Verluste an ¹⁴CO₂, vermutlich durch Sättigung des Natronkalks, verursacht worden sein. Eine Studie von Lashermes et al. (2012) kommt zu vergleichbaren Ergebnissen: die durchschnittliche Wiederfindung von ¹⁴C-LAS⁻ und ¹⁴C-4-*n*-NP im Kompost lag bei 85% und 83%.

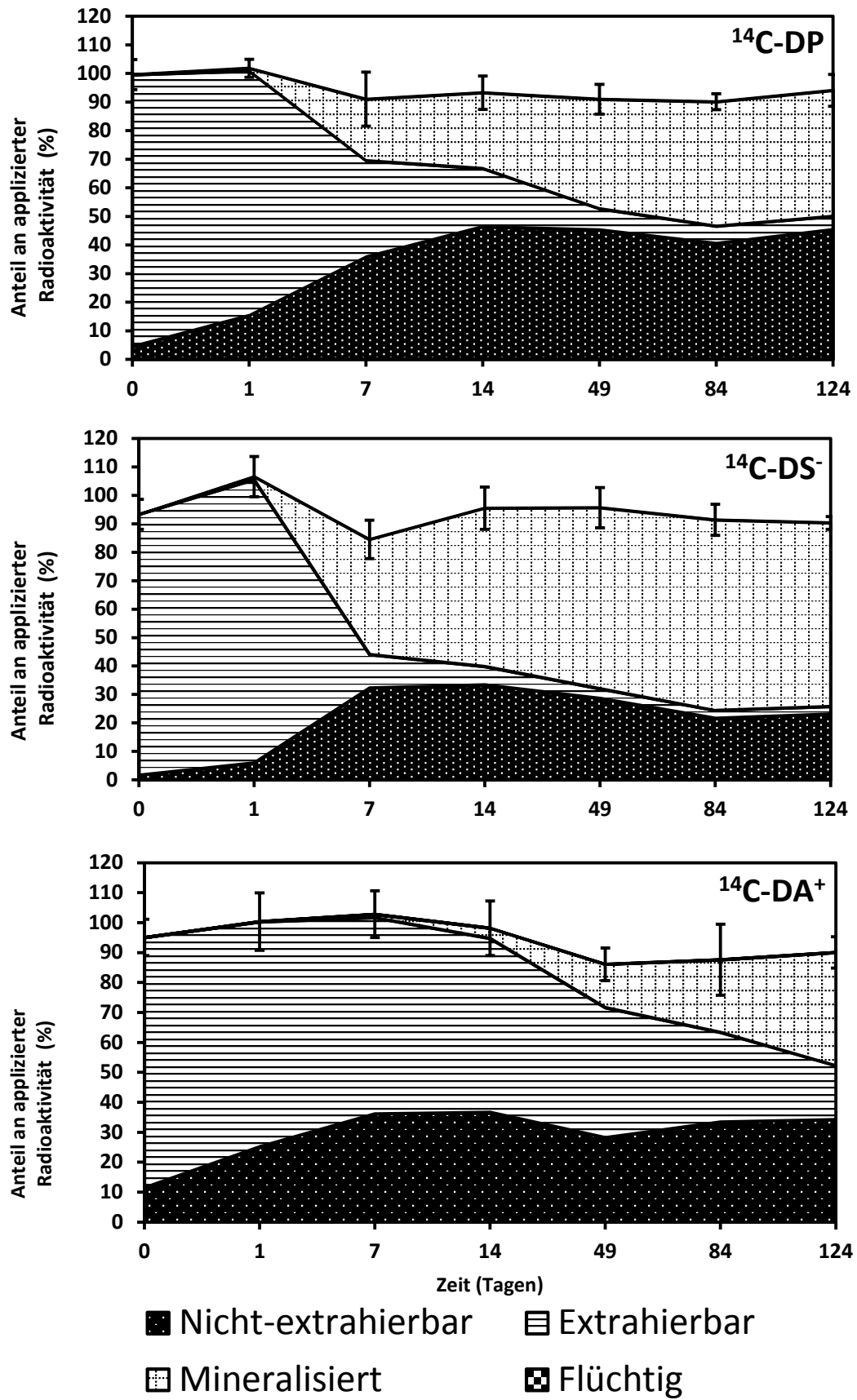


Abbildung 4.8: Verteilung der AR (%) von ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ auf flüchtige, mineralisierte, extrahierbare und nicht-extrahierbare Rückstände nach 0, 1, 7, 14, 49, 84 und 124 Tagen Inkubation im nicht sterilen Boden. Daten sind dargestellt als Mittelwert ($n=3$) mit Standardabweichung (Konfidenzintervall $\alpha=0,05$).

Das Verhalten von ^{14}C -DS⁻ im nicht sterilen Boden war charakterisiert durch eine schnelle Mineralisation, wohingegen die Mineralisierung von ^{14}C -DP durch die rasche Bildung von NER ausgeglichen wurde (Abb. 4.8). Im Fall von ^{14}C -DA⁺ nahm der Anteil an NER über die Zeit zu, wobei ein hoher Anteil an Radioaktivität bis zum Ende der Studie extrahierbar vorlag. Studien zum Verhalten von DP, DS⁻ und DA⁺ in der Umwelt wurden bisher nicht veröffentlicht. Aus diesem Grund werden die Ergebnisse für DP, DS⁻ und DA⁺ mit den von NP, LAS⁻ und verschiedener QAC⁺ verglichen und diskutiert. Auch in Studien mit Kompost stellt die Mineralisation zu CO₂ die Hauptroute des Verschwindens von ^{14}C -LAS⁻ dar (Lashermes et al., 2012). Hohe Mengen an $^{14}\text{CO}_2$ bei gleichzeitig hoher Bildung an NER kennzeichnete die Verteilung von 4-*n*-NP im Kompost (Lashermes et al., 2012). Deutlich geringere Mengen an $^{14}\text{CO}_2$ bei vergleichbar hohem Gehalt an NER wurden in Inkubationsexperimenten mit verzweigtem 4-NP beschrieben (Shan et al., 2011; Telscher et al., 2005).

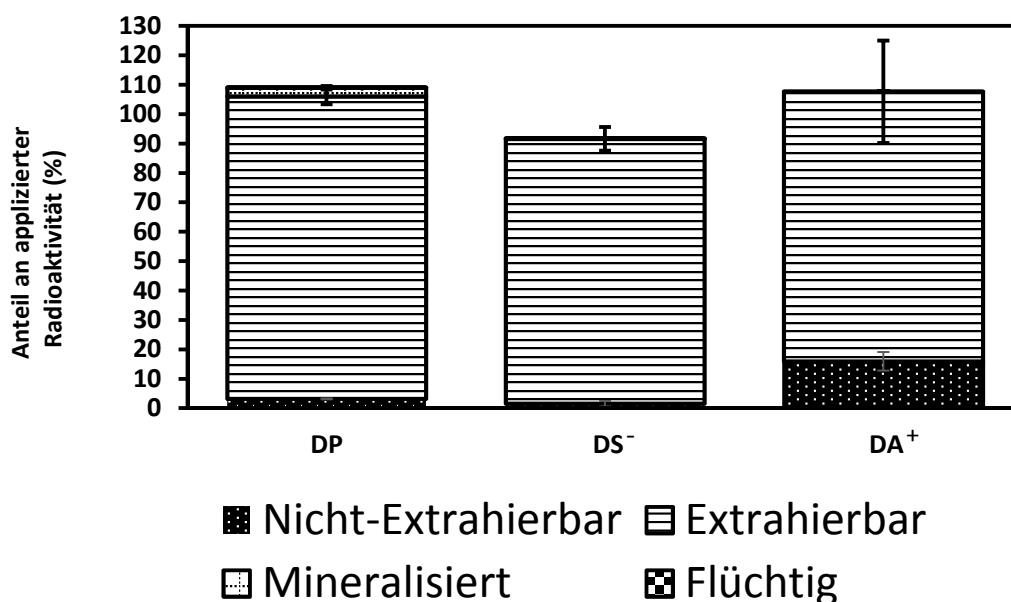


Abbildung 4.9: Verteilung der AR (%) von ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ auf flüchtige, mineralisierte, extrahierbare und nicht-extrahierbare Rückstände nach 14 Tagen Inkubation im sterilen Boden. Daten sind dargestellt als Mittelwert (n=3) mit Standardabweichung (Konfidenzintervall $\alpha=0,05$).

In den Inkubationsansätzen mit nicht sterilem und sterilem Boden mit ^{14}C -DP, ^{14}C DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ betrug der Anteil an flüchtiger AR 0% über den gesamten Inkubationszeitraum von 124 Tagen (Abb. 4.8 und Abb. 4.9). Die K_H von geladenen Molekülen ist auf Grund der starken Wechselwirkung mit dem Wasser niedrig und die Evaporation geladener Moleküle aus der wässrigen in die gasförmige Phase kann vernachlässigt werden, da nur die neutralen Moleküle an der Verteilung zwischen Wasser und Luft teilnehmen (Sixt, 1998). DS⁻ und DA⁺ liegen auf Grund ihres $pK_s < 3$ bzw. ihrer Molekülstruktur (quartäre Ammoniumverbindung) in wässriger Lösung fast vollständig bzw. permanent ionisch vor. $K_H > 10 \text{ Pa} \cdot \text{m}^3/\text{mol}$ bzw. $p > 5 \cdot 10^{-3} \text{ Pa}$ können als hoch eingestuft werden (Scheringer, 1999) und eine Verflüchtigung solcher Substanzen ist daher wahrscheinlich. K_H und p von DP, DS⁻ und DA⁺ betragen 3,5, 0,01 und $5,7 \cdot 10^{-6} \text{ Pa} \cdot \text{m}^3/\text{mol}$ sowie

$0,3 \cdot 10^{-1}$, $1,1 \cdot 10^{-8}$ und $3,5 \cdot 10^{-9}$ Pa. Eine Verteilung von ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ in die Gasphase war auf Grund der physikochemischen Eigenschaften daher nicht zu erwarten. Dies konnte auch in vorherigen Studien gezeigt werden. Weder durch biotischen noch abiotischen Abbau von NP im Boden wurden flüchtige Transformationsprodukte gebildet (Gejlsbjerg et al., 2003; Shan et al., 2011). Jedoch konnte Lashermes et al. (2012) und Telscher et al. (2005) für ^{14}C -LAS⁻ und ^{14}C -NP die Entstehung flüchtiger Anteile im Kompost bzw. Sediment nachweisen.

Die sequentielle Schüttelextraktion zu Bestimmung der extrahierbaren Anteile war für DP und DS⁻ erschöpfend. Es handelt sich um ein klassisches Extraktionsverfahren, das u.a. zur Extraktion von Pflanzenschutzmitteln vorgesehen ist (Eschenbach & Oing, 2013). In Studien mit ^{14}C -markierten Substanzen sollte die sequentielle Extraktion so lange durchgeführt werden, bis die extrahierbare Radioaktivität <5% im Bezug auf den ersten Extraktionsschritt beträgt (Kästner et al., 2018; Schäffer et al., 2018b). Für DA⁺ war die sequentielle Schüttelextraktion nicht erschöpfend. Aus diesem Grund wurde eine Soxhlet-Extraktion mit MeOH (27 h) nachgeschaltet. Die Radioaktivität im letzten Extraktionsschritt der Soxhlet-Extraktion betrug <5% der Radioaktivität. Somit war die Kombination aus Schüttelextraktion und Soxhlet-Extraktion mit MeOH (27 h) für DA⁺ erschöpfend. Es konnte gezeigt werden, dass DA⁺ gegenüber der Soxhlet-Extraktion stabil ist (Anhang A.5).

Für ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ nahmen die extrahierbaren Anteile an AR von 95,1, 91,6 und 83,5% (Tag 0) auf 4,7, 2,7 und 18,0% (Tag 124) im nicht sterilen Boden ab (Abb. 4.10). Die höchsten Mengen an ^{14}C für DP und DS⁻ wurden im Verlauf der Studien mit MeOH aus dem nicht sterilem Boden extrahiert, gefolgt von CaCl₂ (DS⁻) und MeOH:H₂O (DP). Auch für DA⁺ war die extrahierbare Radioaktivität mit MeOH am höchsten, ab Tag 49 wurden die höchsten Mengen an ^{14}C mittels CaCl₂ und MeOH:H₂O extrahiert. Die mittels Soxhlet extrahierbaren Rückstände von ^{14}C -DA⁺ nahmen von Tag 0 (26,5%) zu Tag 124 (2,8%) ab.

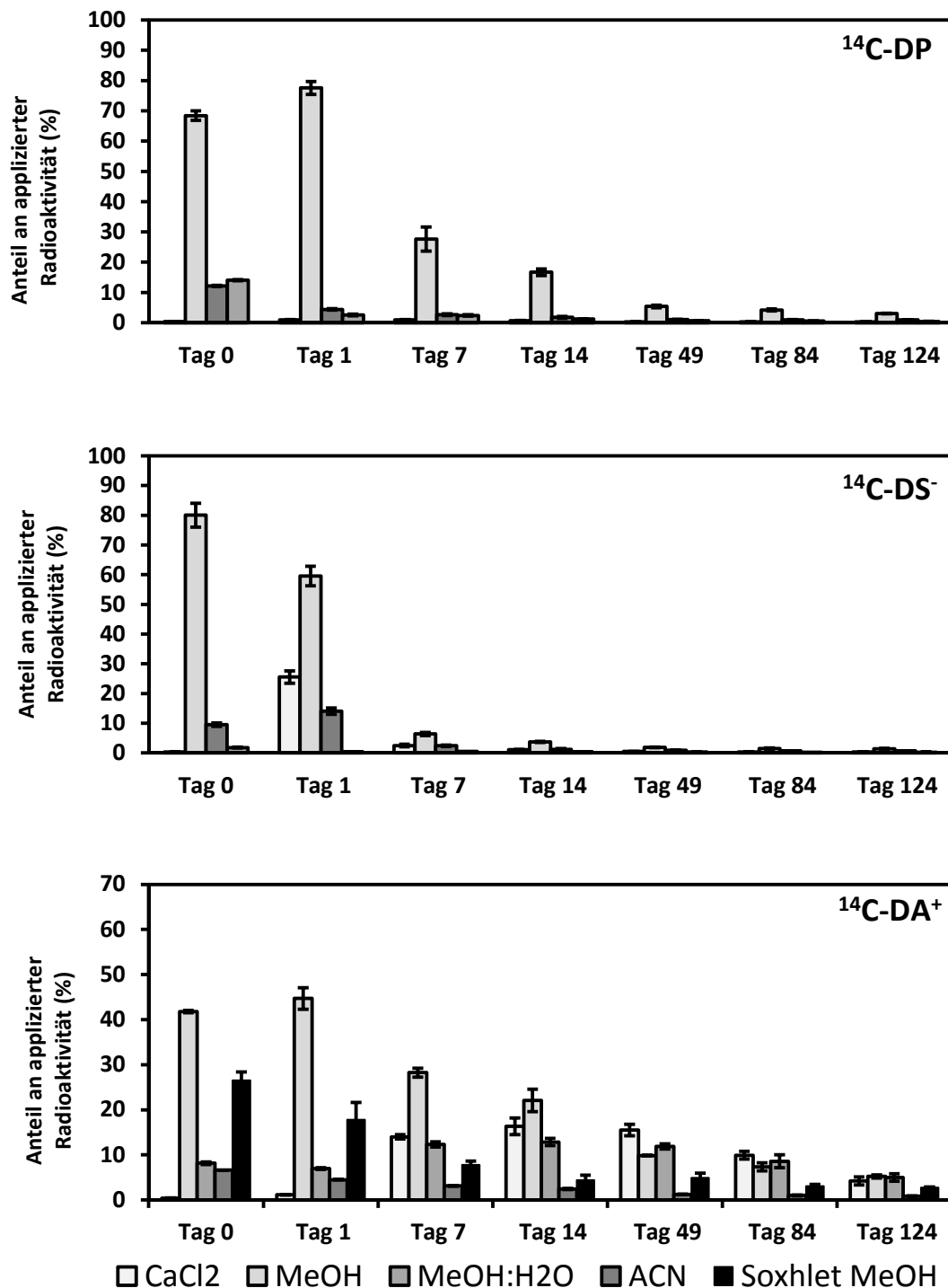


Abbildung 4.10: Extrahierbare Anteile (CaCl₂-, MeOH-, MeOH:H₂O- und ACN-Extraktion) an AR (%) von $^{14}\text{C-DP}$, $^{14}\text{C-DS-}$ und $^{14}\text{C-DA}^+$ im nicht sterilem Boden nach 0, 1, 7, 14, 49, 84 und 124 Tagen Inkubation. Daten sind dargestellt als Mittelwert (n=3) mit Standardabweichung (Konfidenzintervall $\alpha=0,05$).

Über eine sequentielle Extraktion unter Verwendung von Lösemitteln unterschiedlicher Polarität kann die Bioverfügbarkeit von Chemikalien abgeschätzt werden. Unter Verwendung von CaCl₂ werden leicht desorbierbare Rückstände extrahiert, die als direkt bioverfügbar gelten, während die mit organischen Lösemitteln extrahierten Rückstände die potentiell bioabbaubare Fraktion bilden (Benoit & Barriuso, 1997; Kästner et al., 2018;

Schäffer et al., 2018b). Eine Extraktion mit 0,01 M CaCl_2 -Lösung als initialer Extraktionsschritt wird empfohlen, da diese Konzentration an Ca^{2+} -Ionen der des Porenwassers von Böden entspricht (Houba et al., 2000; Peijnenburg et al., 2007). Die Extraktion mittels Soxhlet wird als harsch eingestuft, wobei stark sorbierte Anteile aus dem Boden herausgelöst werden (Kästner et al. 2018). Sorbierte Chemikalien gelten als weniger zugänglich für Mikroorganismen, da diese bevorzugt oder ausschließlich desorbierte Chemikalien in Lösung verwerten können (Boesten, 2016; Boivin et al., 2005). Da nur geringe Mengen an ^{14}C mittels CaCl_2 aus dem Boden extrahiert werden konnte, wird vermutet, dass DP , DS^- und DA^+ unmittelbar nach Eintrag sorbiert am Boden vorlagen und nur geringe Mengen direkt durch abbauende Mikroorganismen verwertet werden konnten. Hohe Mengen an ^{14}C im Soxhlet-Extrakt deuten darauf hin, dass die Sorption von DA^+ an Boden stärker war als die von DS^- und DP , was auf die Beteiligung anderer Wechselwirkungen des Kations mit der Bodenmatrix hindeutet. Im Verlauf der Studie stieg die leicht desorbierbare Menge an ^{14}C im nicht sterilen Boden für DS^- und DA^+ an, was auf die Bildung von polarer Transformationsprodukten schließen lässt, die weniger adsorptiv gegenüber dem Boden waren.

Im Laufe der Studie nahmen die NER bis Tag 7 (DS^- , DA^+) bzw. Tag 14 (DP) bis auf 32,3% (DS^-), 36,2% (DA^+) und 46,4% AR (DP) im nicht sterilen Boden zu und erreichten dann ein Plateau (Abb. 4.8). Ab Tag 14 konnte für DS^- eine Abnahme der NER über die Zeit beobachtet werden. An Tag 124 betrugen die NER für ^{14}C - DP , ^{14}C - DS^- und ^{14}C - DA^+ jeweils 45,4, 23,1 und 34,2% AR. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass eine negative und positive Ladung die NER Bildung organischer Chemikalien im Boden verringert. Die hohe NER-Bildung von ^{14}C - DP (ungeladen) stimmen mit Ergebnissen vorheriger Studien überein, die berichten, dass Chemikalien mit reaktiven funktionellen Gruppen, wie Phenolen, eine höhere Neigung zur NER-Bildung haben (Barriuso et al., 2008). Ursache sind oxidativen Kupplungsreaktionen dieser Chemikalien mit Humusbestandteilen des Bodens, die in Anwesenheit von Enzymen (Hatcher et al., 1993) oder abiotischer Katalysatoren (Bollag et al., 1992; Dec & Bollag, 2000) stattfinden. Es ist bekannt, dass positiv geladenen Moleküle leicht an die Bodenmatrix binden (Cycoń et al., 2012; Mordaunt et al., 2005). Die Ionische Bindung führt zu stabilen und unreaktiven Bindungen mit Carboxylgruppen von Humusbestandteilen (Gevao et al., 2000). Jedoch war die Bindung von DA^+ an die organische Bodenmaterie anscheinend limitiert: Durch sterische Hinderung sind nicht alle negativen Ladungen des Humus zugänglich um große Kationen, wie DA^+ , zu binden (Senesi, 1992). Die niedrigen Mengen an NER von ^{14}C - DS^- könnten durch die Abstoßung des Anions an negativ geladenen Oberflächen des Bodens verursacht worden sein (Wauchope et al., 2002). Weiterhin tragen nur wenige Gruppen der Bodenmatrix eine positive Ladung (Dubus et al., 2001), an die DS^- ionische binden kann.

Im sterilen Boden war die NER-Bildung für DP und DS⁻ vernachlässigbar (Abb. 4.9). Nach 14 Tagen Inkubation betrug die Menge an NER von ¹⁴C-DP, ¹⁴C-DS⁻ und ¹⁴C-DA⁺ jeweils 3,2, 1,5 und 16,0% AR. Unter sterilen Bedingungen werden NER im Boden durch abiotische Prozesse gebildet (Wang et al., 2017c). Daher kann davon ausgegangen werden, dass fast die gesamte Menge an NER von ¹⁴C-DS⁻ und ¹⁴C-DP durch mikrobielle Aktivität gebildet wird. Der Einfluss von Mikroorganismen bei der Bildung von NER wurde bereits durch andere Kollegen beschrieben (Botterweck et al., 2014; Wang et al., 2017c). Mikroorganismen sind an der Bildung von ¹⁴C-nicht-extrahierbarer Biomasse, bspw. Aminosäuren und Fettsäuren (Girardi et al., 2013; Nowak et al., 2013; Nowak et al., 2011; Poßberg et al., 2016; Richnow et al., 2000; Wang et al., 2017a; Wang et al., 2016) und der Bildung von Transformationsprodukten die als NER festgelegt werden können, beteiligt (Berns et al., 2005; Li et al., 2015; Liu et al., 2013; Richnow et al., 2000). Im Gegensatz zu ¹⁴C-DP und ¹⁴C-DS⁻ wurden bedeutende Mengen an ¹⁴C-DA⁺ NER in Abwesenheit von Mikroorganismen gebildet, was darauf hindeutet, dass abiotische Prozesse, wie starke Adsorption und physikalischer Einschluss in organische und mineralische Bodenbestandteile, an der Festlegung von ¹⁴C-DA⁺ beteiligt waren (Gevao et al., 2000; Kästner et al., 2018; Li et al., 2015; Liu et al., 2013).

Im Laufe der Studie nahmen die mineralisierten Anteile an ¹⁴C-DP, ¹⁴C-DS⁻ und ¹⁴C-DA⁺ im nicht sterilen Boden zu (Abb. 4.8 & Anhang A.3). Die höchste Menge an ¹⁴CO₂ an allen Inkubationszeitpunkten wurde für ¹⁴C-DS⁻ gemessen, gefolgt von ¹⁴C-DP und ¹⁴C-DA⁺. Nach 124 Tagen Inkubation waren jeweils 44,0, 64,5 und 37,8% AR in den Proben mit ¹⁴C-DP, ¹⁴C-DS⁻, und ¹⁴C-DA⁺ mineralisiert. In den Proben mit sterilem Boden war die Mineralisierung vernachlässigbar. Diese Ergebnisse stimmen mit denen anderer Studien überein. Die Mineralisierung von, an Bodenbestandteile adsorbierten ¹⁴C-Dodecyllinearalkoholethoxylat (ungeladen), ¹⁴C-LAS⁻ und ¹⁴C-Stearyltrimethylammoniumchlorid (QAC⁺) im Boden betrug 42, 63 und 15% nach 60 Tagen Inkubation. Während der Inkubation von 4-NP in einem Nassreiskulturboden wurden 45% AR in ¹⁴CO₂ umgewandelt (Shan et al., 2011). Über Sand und getrockneten Klärschlamm in den Boden eingetragen betrug die ¹⁴CO₂-Bildung von ¹⁴C-markiertem 4-NP 35-45% (Topp & Starratt, 2000). In einer Studie von Gejlsbjerg et al. (2003) wurden nach 26 Tagen 70% ¹⁴C-DS⁻ im Boden mineralisiert. 65% ¹⁴CO₂ wurden durch den ultimativen Abbau von ¹⁴C-LAS⁻ im Boden gebildet (Ward & Larson, 1989). Für ¹⁴C-LAS⁻ und ¹⁴C-4-*n*-NP wurden jeweils 51% und 29% während der Kompostierung mineralisiert (Lashermes et al., 2012). Für das kationische Diethylesterdimethylammoniumchlorid wurden nach 120 Tagen, in Abhängigkeit von der Testkonzentration, 50-60% der eingesetzten Menge ¹⁴C im Klärschlamm gedüngten Boden mineralisiert (Girolando et al., 1995).

Die geringste Menge an gebildetem ¹⁴CO₂ wurde für ¹⁴C-DA⁺ bestimmt. Die Sorption organischer, ionischer Chemikalien an Montmorillonit, Huminsäuren und Fulvinsäuren verringert deren vollständigen Abbau zu ¹⁴CO₂ (Knaebel et al., 1994; Knaebel et al.,

1996). Für viele ionische Chemikalien konnte eine positive Korrelation zwischen dem K_d und der Abbauhalbwertszeit aufgezeigt werden (Kah & Brown, 2006). Im Falle von Glyphosat wird die Adsorption der negativ geladenen Phosphorsäuregruppe an Boden für den Grad der Unzugänglichkeit des Herbizides und seiner Transformationsprodukte zu mikrobiellen Abbauprozessen verantwortlich gemacht (Nomura & Hilton, 1977). Die Abbauraten der sorbierten Säure 2,4-D ist niedriger im Vergleich zur gelösten Fraktion (Guo et al., 2000). Negativ geladenes MCPA zeigt im Boden mit dem höchsten sorbierten Stoffanteil die niedrigste Mineralisationsrate (Jensen et al., 2004). Für diverse kationische und anionische Tenside konnte Knaebel et al. (1994) zeigen, dass mit steigender Affinität der Chemikalie für die Bodenoberfläche der bioverfügbare Anteil für die Bodenorganismen sinkt. Neben der organischen Matrix wird die Wechselwirkung mit mineralischen Bestandteilen des Bodens für die reduzierte Bioverfügbarkeit positiv geladener Chemikalien im Boden verantwortlich gemacht. Durch die Festlegung von positiv geladenem Paraquat an Tonmineralen liegt die Halbwertszeit der quartären Ammoniumverbindung bei 6-7 Jahren (Domsch, 1992). Die Adsorption von Atrazin an Ton erniedrigt dessen Abbaurate im Boden (Soulas, 1975). Die geringere Mineralisierung von $^{14}\text{C-DA}^+$ im Vergleich zu $^{14}\text{C-DS}^-$ und $^{14}\text{C-DP}$ könnte mit der höheren Affinität der kationischer Chemikalien an Boden zusammenhängen, die zu einer geringen Bioverfügbarkeit von DA^+ gegenüber abbauenden Mikroorganismen führt.

Die mikrobielle Aktivität gemessen als DMSO-Reduktionsrate (ng DMS/h*gTG) sowie die Mineralisationsrate (% ^{14}C / Tag) von $^{14}\text{C-DP}$, $^{14}\text{C-DS}^-$ und $^{14}\text{C-DA}^+$ sind in Abb. 4.11 dargestellt. Die Mineralisationsrate von $^{14}\text{C-DP}$ und $^{14}\text{C-DS}^-$ zeigt keine lag-Phase, was zeigt, dass die Mikroorganismen offenbar keine Adaptionszeit für den vollständigen Abbau von DP und DS^- zu CO_2 benötigen. Die Mineralisationsrate von DA^+ war deutlich niedriger als die von DP und DS^- und stieg bis zum Ende der Studie nur leicht an. Ab Tag 14 fällt die Mineralisationsrate von DP und DS^- bis Studienende auf das Anfangsniveau ab. Die NER-Bildung von DP, DS^- und DA^+ erreicht an Tag 14 das Maximum. Es scheint somit, dass NER von DP und DS^- weniger bis nicht zugänglich für biotische Abbauprozesse sind. Diese Beobachtung konnte auch in einer Studie mit 3,4-Dichloranilin gemacht werden (Yuan et al., 2017). Im Falle von DA^+ ist sowohl die Bioverfügbarkeit der extrahierbaren als auch der nicht-extrahierbaren Rückstände als niedrig einzustufen.

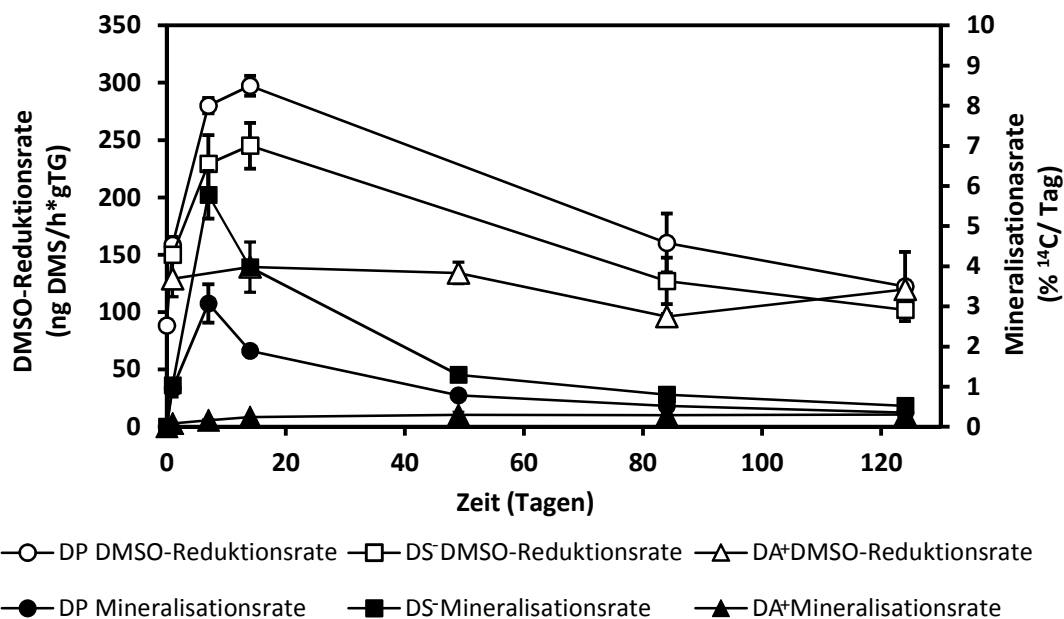


Abbildung 4.11: DMSO-Reduktionsraten (ng DMS/h*g TG) und Mineralisationsrate (% ¹⁴C/Tag) für nicht sterilem Boden inkubiert mit jeweils ¹⁴C-DP, ¹⁴C-DS⁻ und ¹⁴C-DA⁺ für 0, 1, 7, 14, 49, 84 und 124 Tage. Daten sind dargestellt als Mittelwert (n=3) mit Standardabweichung (Konfidenzintervall $\alpha=0,05$).

Die mikrobielle Aktivität stieg in den Proben mit DP und DS⁻ von Tag 0 bis Tag 14 von 88,3 ng DMS/h*gTG auf jeweils 297,3 und 245,1 ng DMS/h*gTG exponentiell an und nahm bis zum Studienende auf das Anfangsniveau ab. Im Boden der mit DA⁺ inkubiert wurde, stieg die mikrobiellen Aktivität von Tag 0 (88,3 ng DMS/h*gTG) bis Tag 7 (129,0 ng DMS/h*gTG) nur leicht an und blieb bis zum Ende konstant. Mikroorganismen sind in der Lage, Chemikalien als Nährstoff- und Energiequelle zu nutzen. Führt der mikrobielle Abbau einer Chemikalie nicht zum Wachstum der verantwortlichen Mikroorganismenpopulation, erfolgt die Transformation Co-metabolisch (Alexander 1979). In diesem Fall wächst die mikrobielle Population auf einem anderen Substrat während sie parallel Co-Metabolismus betreibt (Alexander 1980). Die Ergebnisse lassen vermuten, dass die Mikroorganismen DS⁻ und DP direkt nach Applikation als Wachstumssubstrat nutzen konnten, während die Mineralisation von DA⁺ einer Anpassungsphase benötigt, die zur vollständigen Transformation und Co-Metabolismus von DA⁺ führt.

4.2.2 Transformation von DP, DS⁻ und DA⁺

Zur analytischen Untersuchung der extrahierbaren Rückstände wurde mit den Rohextrakten eine DC-Analyse durchgeführt. Ausgewählte Proben wurden mittels HPLC und LC-MS/MS untersucht. Die Wiederfindung der Radioaktivität in den HPLC-Proben lag für ¹⁴C-DP, ¹⁴C-DS⁻ und ¹⁴C-DA⁺ jeweils zwischen 9,9-79,1%, 7,9-83,3% und 5,2-131,6% AR und war unabhängig vom Extraktionsmittel (Anhang A.6).

In den CaCl₂-, MeOH-, MeOH:H₂O- und ACN-Extrakten konnten über den Inkubationszeitraum DP, nicht weiter identifizierbare Startaktivität sowie drei polare Abbauprodukte

nachgewiesen werden (Anhang A.7). Abbildung 4.12 zeigt die DC- und HPLC-Analyse des MeOH-Extraktes Probe DP1 Tag 1. Mittels DC-Analyse konnten DP, Startaktivität und ein Abbauprodukt identifiziert werden. Im HPLC-Radio-Chromatogramm derselben Probe wurde DP co-chromatographisch identifiziert. Die Identifizierung der Abbauprodukte war auf Grund zu geringer Radioaktivitätsmengen nicht möglich. Die Menge an extrahierbaren ^{14}C -DP nahm von 88,3% AR an Tag 0 auf 0% AR an Tag 124 ab. Mittels CaCl_2 wurden die geringsten Mengen an ^{14}C -DP extrahiert, die höchsten Mengen an ^{14}C -DP wurden im Verlauf der Studie mit MeOH extrahiert.

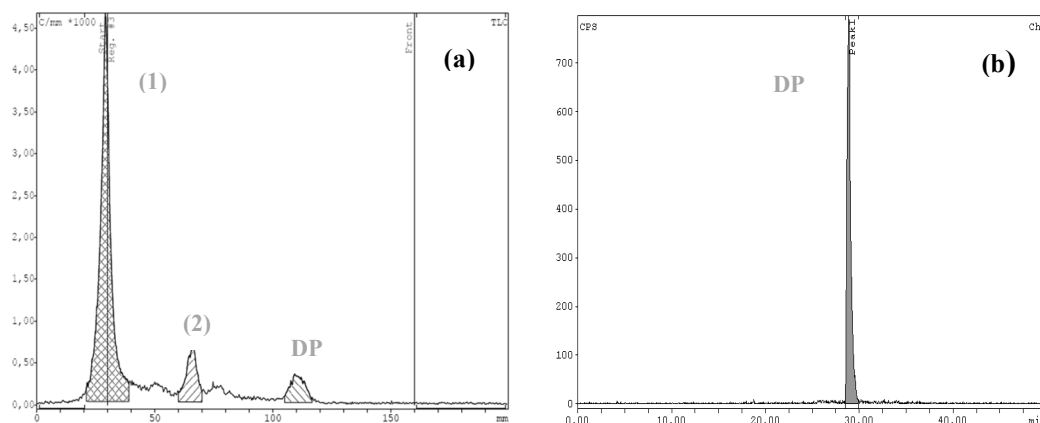


Abbildung 4.12: Radio-Chromatogramme aufgenommen mittels DC-Scanner (a) und HPLC (b) des MeOH-Extraktes der Probe DP1 Tag 1. Die radioaktiven Signale konnten mit DP als Referenzsubstanz co-chromatographisch als DP, nicht weiter identifizierbare Startaktivität (1) und ein polares Abbauprodukt (2) identifiziert werden.

In den CaCl_2 -, MeOH-, MeOH: H_2O - und ACN-Extrakten konnten über den Zeitraum DS^- , nicht weiter identifizierbare Startaktivität sowie sechs polare Abbauprodukte nachgewiesen werden (Anhang 7). Abbildung 4.13 zeigt die DC- und HPLC-Analyse des MeOH-Extraktes der Probe DS^- Tag 1. Mittels DC konnten DS^- und ein Abbauprodukt detektiert werden. Im HPLC-Chromatogramm derselben Probe wurden vier Signale detektiert. Die Signale konnten co-chromatographisch als DS^- und polare Abbauprodukte identifiziert werden, die auf Grund zu geringer Radioaktivitätsmengen nicht weiter identifiziert werden konnten. Die Menge an extrahierbaren ^{14}C - DS^- nahm über Zeit von 91,6% AR an Tag 0 auf 0,7% AR an Tag 124 ab. Mittels CaCl_2 wurden die geringsten Mengen an ^{14}C - DS^- an Tag 1, 7, 14, 49, 84 und 124 extrahiert, die höchsten Mengen an ^{14}C - DS^- wurden im Verlauf der Studie mit MeOH extrahiert.

Zur weiteren Aufklärung der Transformationsprodukte von DS^- wurde der vereinte MeOH-Extrakt an Tag 7 zusätzlich mittels LC-MS/MS untersucht. Mit LC-MS (negativer Modus) wurde für die Referenzverbindung ^{14}C - DS^- mit $R_t=25,49$ $m/z = 325,7500$, $327,7500$, $329,7500$, $313,5833$, $332,5833$ und $333,6667$ bestimmt, was dem typischen ^{14}C -Isotopernmuster entspricht (Anhang A.8). Durch LC-MS/MS-Analyse konnten für die Referenzverbindung ^{14}C - DS^- Fragmente mit $m/z=172,1397$, $174,0380$, $175,0797$, $176,1472$, $177,0544$ und $178,0594$ nachgewiesen werden. In der Probe wurde ein Signal mit $R_t=25,1$ min detektiert, das nach Fragmentierung folgende m/z zeigte: $172,2110$,

174,1287, 175,4747, 176,2405, 177,1539 und 178,2181. Somit konnte DS^- in den Proben identifiziert werden. Das Signal mit $R_t=4,1$ min, das mittels HPLC nachgewiesen wurde, konnte durch LC-MS nicht detektiert werden.

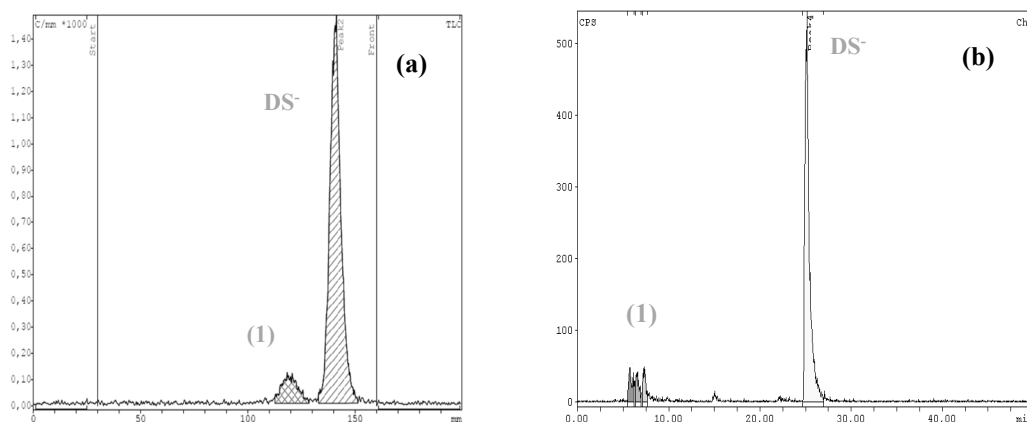


Abbildung 4.13: Radio-Chromatogramme aufgenommen mittels DC-Scanner (a) und HPLC (b) des MeOH-Extraktes der Probe DS1 Tag 1. Die radioaktiven Signale konnten mit DS^- als Referenzsubstanz co-chromatographisch als DS^- und polare Abbauprodukte (1) identifiziert werden.

In den $CaCl_2$ -, MeOH-, MeOH:H₂O- und ACN-Extrakten konnten über den Zeitraum DA^+ , nicht weiter identifizierbare Startaktivität sowie drei polare und zwei unpolare Abbauprodukte nachgewiesen werden (Anhang A.7). Abbildung 4.14 zeigt die DC- und HPLC-Analyse der MeOH-Extrakte der Probe DA1 Tag 1. Mittels DC konnten DA^+ und Startaktivität detektiert werden. Im HPLC-Chromatogramm derselben Probe konnte DA^+ co-chromatographisch identifiziert werden. Die Menge an extrahierbaren ^{14}C - DA^+ nahm über Zeit von 62,7% an Tag 0 auf 3,7% AR an Tag 124 ab. Mittels $CaCl_2$ wurden die geringsten Mengen an ^{14}C - DA^+ extrahiert, die höchsten Mengen an ^{14}C - DA^+ wurden an Tag 1 und Tag 7 mit MeOH-Schüttelextraktion und ab Tag 14 bis Studienende mittels Soxhlet extrahiert.

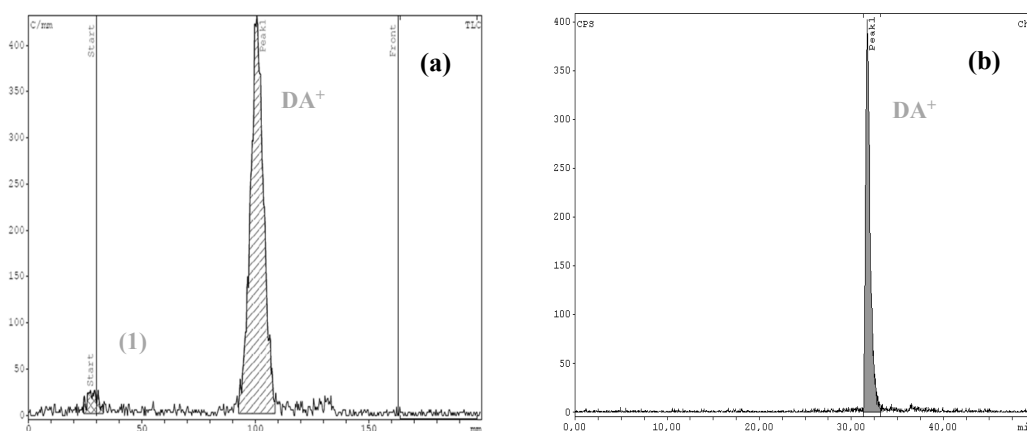


Abbildung 4.14: Radio-Chromatogramme aufgenommen mittels DC-Scanner (a) und HPLC (b) des MeOH-Extraktes der Probe DA1 Tag 1. Die radioaktiven Signale konnten mit DA^+ als Referenzsubstanz co-chromatographisch als DA^+ und nicht weiter identifizierbare Startaktivität (1) identifiziert werden.

In den CaCl_2 -Extrakten konnten ausschließlich Transformationsprodukte nachgewiesen werden (Anhang A.7). DP , DS^- und DA^+ waren daher nicht direkt bioverfügbar für abbauende Bodenmikroorganismen und lagen adsorbiert am Boden vor. Die Bildung polarer Transformationsprodukte von DP , DS^- und DA^+ unter aeroben Bedingungen kann durch biotische Transformationsprozesse während des Inkubationszeitraums erklärt werden. In einer Studie von Soares et al. (2006) konnte während des aeroben Abbaus von NP in einem Bioreaktor Carboxylsäure, verzweigte Alkane und kurzkettige (C_4 und C_5) Alkylphenole nachgewiesen werden. Der mikrobielle Abbau von LAS^- verläuft generell über die oxidative Kürzung der Alkylkette unter Bildung von Sulfophenylcarboxylaten (Yadav et al., 2001), die in weiteren Schritten desulfoniert werden (Ying, 2006). Das QAC^+ Benzyltrimethylammoniumchloride wird durch Bakterien zu Benzyltrimethylamin, Benzylmethylamin, Benzylamin, Benzaldehyd und Benzoesäure als polare Transformationsprodukte abgebaut (Patrauchan & Oriel, 2003; Tezel et al., 2012).

Der Abbau von DP , DS^- und DA^+ im Boden 5M konnte am besten durch eine biphasische Kinetik (Hockey Stick, HS) mit zwei Geschwindigkeitskonstanten (k) beschrieben werden. Die Halbwertszeiten (DT_{50}) für k_1 und k_2 von DP , DS^- und DA^+ auf Basis der Ergebnisse der DC-Analyse betrugen 0,03 und 9,96 Tage, 1,17 und 18,20 Tage sowie 5,88 und 61,70 Tage. In allen Fällen war die DT_{50} für k_1 niedriger, gefolgt von einer langsameren Phase. Alle Chemikalien haben einen $\log K_{oc} > 3,0$ und somit eine hohe Affinität zum Boden. Daher werden die hohen initialen Geschwindigkeitskonstanten eher durch die schnelle Verlagerung von DP , DS^- und DA^+ an den Boden bedingt als durch deren primären und ultimativen Abbau. Zur weiteren Diskussion wird daher die DT_{50} von k_2 verwendet.

Die DT_{50} nahm wie folgt ab: $\text{DA}^+(61,70 \text{ Tage}) > \text{DS}^-(18,20 \text{ Tage}) > \text{DP}(9,96 \text{ Tage})$. Die Ergebnisse lassen darauf schließen, dass eine negative und positive Ladung die DT_{50} organischer Chemikalien im Boden erhöht. Halbwertszeiten sind ein Produkt aus den physikochemischen Eigenschaften der Chemikalie sowie Umweltparametern (Wang & Wang, 2018). Zudem ist oft nicht klar, ob die Abnahme der Konzentration der betrachteten Chemikalie Ergebnis von Abbauprozessen ist oder durch die Verlagerung der Chemikalie im Testsystem hervorgerufen wird. Ein Vergleich zwischen Halbwertszeiten verschiedener Böden ist daher nicht immer eindeutig. Der Abbau von NP im Boden wird mit Halbwertszeiten zwischen 4 und 30 Tagen beschrieben (Chang et al., 2007; Dubroca et al., 2005; Nielsen et al., 2000; Topp & Starratt, 2000). Für LAS^- lag die Halbwertszeit in mit Klärschlamm gedüngten Böden zwischen 7 und 33 Tagen (Ward & Larson, 1989; Ying, 2006). Für das Kation Chlormequatchlorid wurde eine DT_{50} von 71 Tagen in einem sandigen Lehm Boden angegeben (Cycoń et al., 2012). Der Abbau des Kations Diethyl-esterdimethylammoniumchlorid im Boden war mit einer Halbwertszeit von 17,8 Tagen deutlich geringer (Giolando et al., 1995).

4.3 Bildung nicht-extrahierbarer Rückstände von DP, DS⁻ und DA⁺

4.3.1 Charakterisierung der nicht-extrahierbaren Rückstände

Die Verteilung der NER von ¹⁴C-DP, ¹⁴C-DS⁻ und ¹⁴C-DA⁺ in sequestrierte (Typ I), kovalent (Typ II) und biogen gebundene (Typ III) Rückstände ist in Abb. 4.15 dargestellt. Die Summe von Typ I, II und III NER an Tag 7 und 84 entspricht nicht den Gesamt NER (Abb. 4.8 & Anhang A.3). Grund ist, dass sequestrierte und kovalent gebundene (Typ I und II) NER sowie biogen gebundene (Typ III) NER mit zwei unabhängigen Methoden bestimmt werden. Biogene Rückstände werden mittels saurer Hydrolyse bestimmt, während sequestrierte und kovalent gebundene NER durch die Silylierungsmethode quantifiziert werden. Neben xenobiotischen Rückständen sind in Typ I und II NER wahrscheinlich auch biogene Rückstände enthalten, wodurch es zur Überschätzung der xenobiotischen (Typ I und II) NER kommen kann. Die Entwicklung einer Methode zur Bestimmung der biogenen Rückstände in Typ I und II NER ist daher zwingend erforderlich.

In Bezug auf die Gesamt NER an Tag 7 und 84 lag der höchste Anteil an ¹⁴C-DP-NER kovalent (Typ II NER) gebunden an Boden vor (Abb. 4.15). Die gleichbleibende Verteilung der NER von ¹⁴C-DP auf die Typen I-III an Tag 7 und 84 lässt vermuten, dass die NER von ¹⁴C-DP und seiner Transformationsprodukte, die zu Beginn gebildet wurden, sehr stabil über die Zeit sind. Studien zur Charakterisierung der NER von DP sind bisher nicht bekannt. Aus diesem Grund werden die vorliegenden Ergebnisse mit denen der strukturell ähnlichen Verbindung Nonylphenol (NP) verglichen und diskutiert. Im Gegensatz zu DP konnte durch Shan et al. (2011) eine Zunahme der kovalent gebundenen (Typ II) NER von NP an Humus mit der Zeit beobachtet werden. In der vorliegenden Studie nahmen Typ III NER von ¹⁴C-DP mit der Zeit zu. Es wird daher angenommen, dass die extrahierbare und mineralisierte Fraktion an ¹⁴C zu biogenen Rückständen umgewandelt wurde (Kästner et al., 2016). Jedoch dominiert der kovalent gebundene (Typ II NER) Anteil von ¹⁴C-DP an Tag 7 und 84 die Gesamt NER, was vermutlich mit der Reaktivität der Phenol-Gruppe zusammenhängt. Durch abiotisch oder biotisch vermittelte oxidative Kupplungsreaktionen kann es zur Bildung stabiler kovalenter Bindungen der Chemikalien mit Humusbestandteilen des Bodens kommen (Bollag et al., 1992; Dec & Bollag, 2000; Hatcher et al., 1993). Im Falle von ¹⁴C-DP werden diese Reaktionen eher durch Enzyme als durch abiotische Katalysatoren induziert, da die NER-Bildung im sterilen Boden deutlich geringer war im Vergleich zum nicht sterilen Boden (Abb. 4.9).

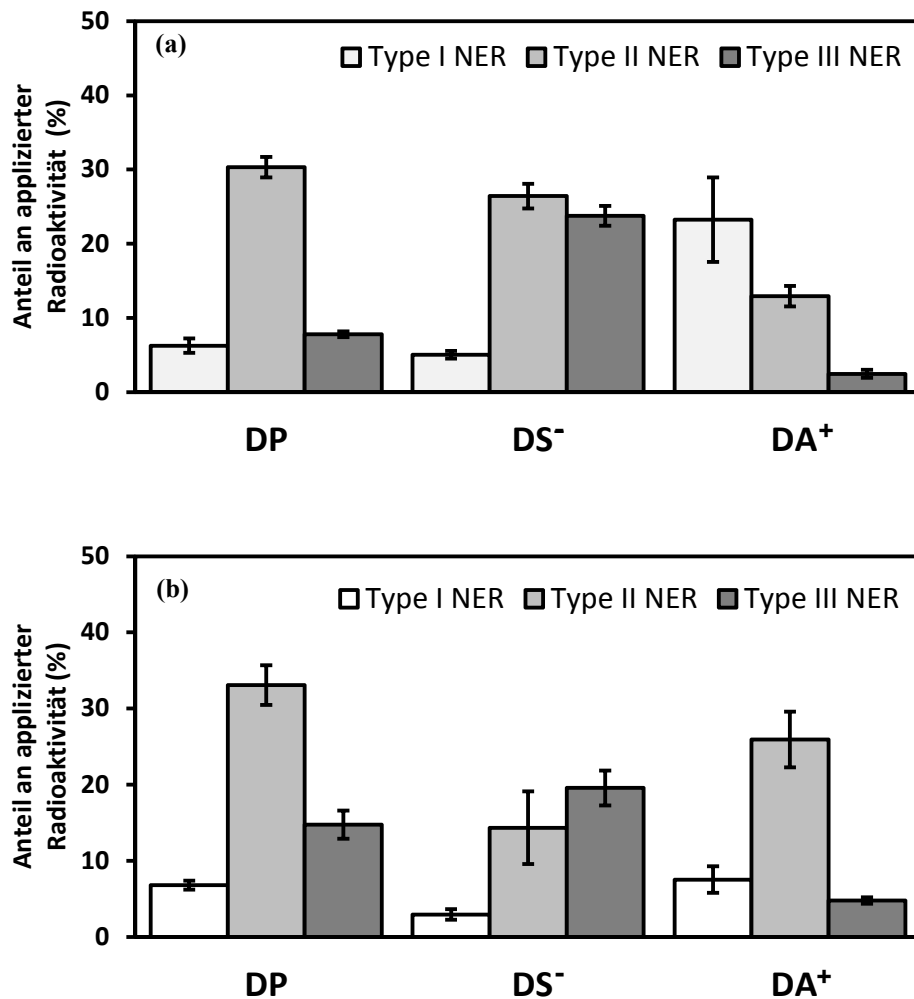


Abbildung 4.15: Bildung von Typ I (sequestriert), Typ II (kovalent) und Typ III (biogen) NER von ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ im nicht sterilen Boden nach 7 und 84 Tagen Inkubation. Daten sind dargestellt als Mittelwert ($n=3$) mit Standardabweichung (Konfidenzintervall $\alpha=0,05$).

Für ^{14}C -DS⁻ sanken die Typ II NER über die Zeit, während die biogenen Rückstände (Typ III NER) zunahmen. Dies zeigt, dass offensichtlich auch Typ II NER langsam freigesetzt und transformiert werden, obwohl das Freisetzungspotential der kovalent gebundenen Rückstände als niedrig eingestuft wird (Kästner et al., 2018; Schäffer et al., 2018b), da diese Bindungen unter Umweltbedingungen als stabil gelten (Eschenbach et al., 1998). Es ist denkbar, dass freigesetzte Typ II NER von ^{14}C -DS⁻ anschließend zu $^{14}\text{CO}_2$ mineralisiert wurde (Wang et al., 2017b; Wang et al., 2017c), das wiederum durch Mikroorganismen fixiert und in Biomoleküle unter Bildung von Typ III NER eingebaut wurde (Nowak et al., 2013; Nowak et al., 2011). Hohe Mengen an biogenen (Typ III) NER von ^{14}C -DS⁻ decken sich mit der hohen Mineralisierung der von DS⁻ im Boden (Abb. 4.8). Daher wird vermutet, dass die ^{14}C -Aminosäuren im Falle von ^{14}C -DS⁻ zum Teil durch die Fixierung von $^{14}\text{CO}_2$ durch heterophile Bodenorganismen gebildet wurden (Nowak et al., 2011).

Kovalent und biogen gebundene ^{14}C -DA⁺-NER stiegen über die Zeit an. Im Gegensatz dazu dominierten Typ I NER für ^{14}C -DA⁺ an Tag 7 die Gesamt NER und nahmen dann bis Tag 84 stark ab, was auf deren Remobilisierung hindeutet. Diese rasche Abnahme der Typ I NER von ^{14}C -DA⁺ deutet darauf hin, dass diese Rückstände deutlich schneller freigesetzt werden können als es für kovalent gebundenen Rückstände angenommen wird (Typ II) NER (Kästner et al., 2018; Schäffer et al., 2018b). Die Remobilisierung sequestrierter, quartärer Ammonium-Kationen wurde ebenfalls durch Mulder et al. (2018) beschrieben. Nach der Freisetzung von Typ I NER können diese Rückstände in Typ II NER umgewandelt oder weiter abgebaut werden. Hohe Mengen stark sorbierter oder physikalisch eingeschlossener Typ I NER von ^{14}C -DA⁺ stimmen mit den hohen Mengen an ^{14}C -DA⁺-NER, die unter sterilen Bodenbedingungen gebildet wurden, überein (Abb. 4.9). Trotz der vermuteten sterischen Hinderung, die ionische Wechselwirkungen zwischen großen Kationen mit negativen Ladungen des Humus erschweren, wurden im sterilen Boden beachtliche Mengen an ^{14}C -DA⁺-NER durch abiotische Prozesse, wie Katalyse an reaktiven Bodenoberflächen, gebildet (Bollag et al., 1992; Dec & Bollag, 2000).

4.3.2 Identifizierung der nicht-extrahierbaren Rückstände

Typ I NER werden als umweltrelevant eingestuft, da sie langsam aus dem Boden remobilisiert werden können. Um zu klären, ob Typ I NER die Ausgangssubstanzen ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ enthalten, wurde der extrahierte Boden mit NER von ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ nach 7 und 84 Tagen silyliert. Zum Vergleich wurden ebenfalls die Referenzsubstanzen ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ ohne Zugabe von Boden silyliert. Die Extrakte nach Silylierung wurden mittels DC und HPLC analysiert. Auf Grund geringer Konzentrationen in den Extrakten nach Silylierung konnte keine massenspektrometrische Analyse durchgeführt werden. Die DC-Chromatogramme von ^{14}C -DP zeigten zwei radioaktive Signale (Abb. 4.16). Ein Signal konnte co-chromatographisch als DP identifiziert werden; bei dem anderen Signal handelte es sich um nicht weiter identifizierbare Startaktivität. Die Anwesenheit von ^{14}C -DP im Silylierungsextrakt des Bodens nach 7 Tagen Inkubation wurde ebenfalls durch anschließende HPLC-Analyse mit ^{14}C -DP als Referenzsubstanz bestätigt (Anhang A.9). Das Auftreten von DP in den Extrakten nach Silylierung in Abwesenheit von Boden bestätigt, dass das Silylierungsreagenz TMCS nicht mit DP reagiert, obwohl das Reagenz bekanntermaßen Wasserstoffatome polarer Gruppen, e.g. Phenole, durch Silylgruppen ersetzt (Berns et al., 2005; Shan et al., 2011). ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ konnten nicht (DS⁻) oder in nur in sehr geringen Mengen (DA⁺) in den silylierten Böden nach 7 und 84 Tagen Inkubation mittels DC nachgewiesen werden (Anhang A.9 und A.10). DP konnte in einer Menge von 2,3% AR an Tag 7 als Teil der sequestrierten (Typ I) NER nachgewiesen werden. An Tag 84 konnte im Extrakt nach Silylierung kein DP nachgewiesen werden, was darauf hindeutet, dass DP schnell remobilisiert und umgesetzt wurde.

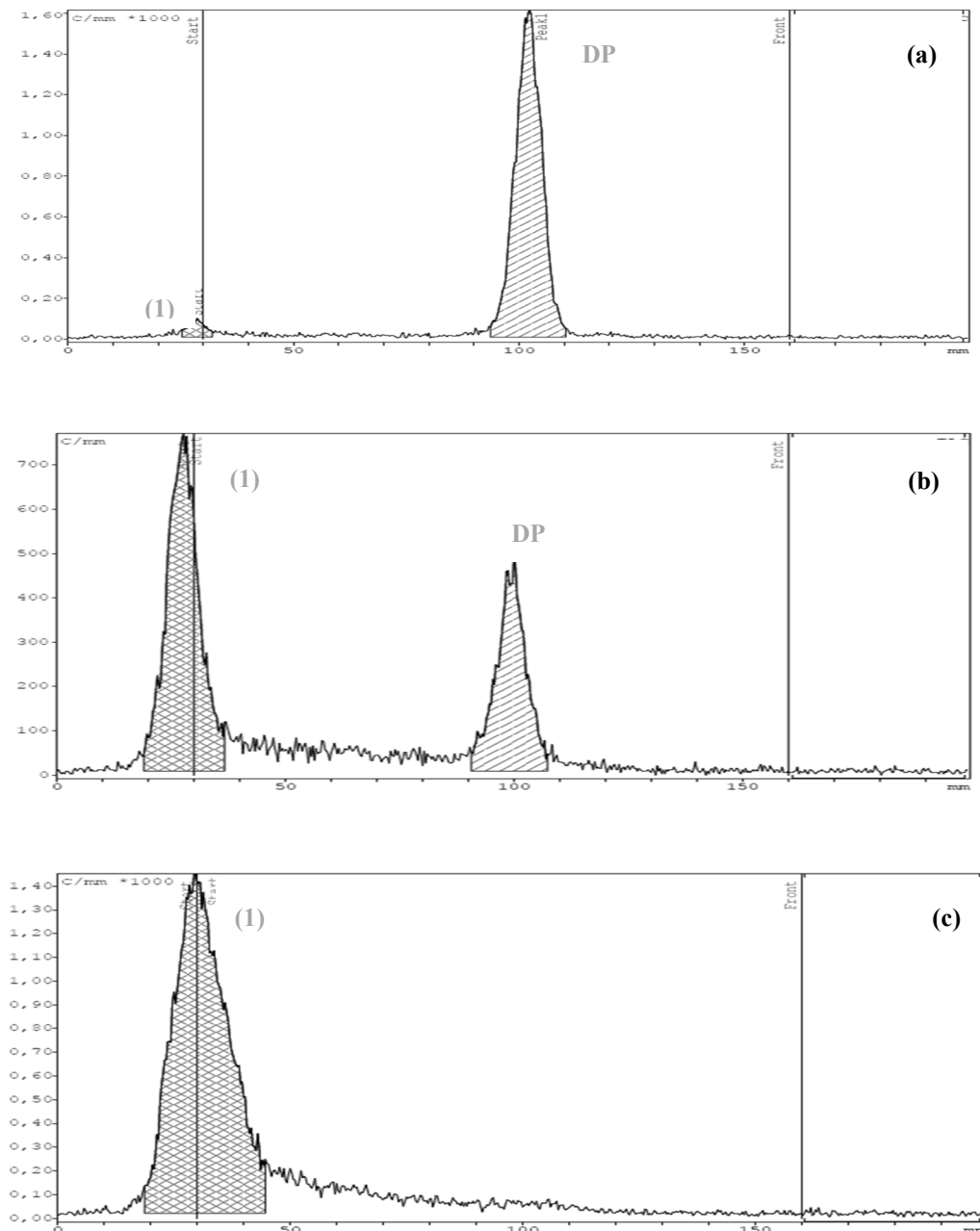


Abbildung 4.16: DC-Radio-Chromatogramm der Extrakte nach Silylierung mit ^{14}C -DP ohne Boden (a) und extrahiertem Boden inkubiert mit ^{14}C -DP für 7 Tage (b) und 84 Tage (c). Die radioaktiven Signale konnten mit ^{14}C -DP als Referenzsubstanz co-chromatographisch als DP und nicht weiter identifizierbare Startaktivität (1) identifiziert werden.

4.3.3 Remobilisierung der nicht-extrahierbaren Rückstände

Für die Untersuchung der Remobilisierung der NER (Summe aus flüchtigen, mineralisierten und extrahierbaren Rückständen) von ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ wurde erschöpfend extrahierter Boden, der nur NER enthielt, mit nicht sterilem Boden vermischt. Abb. 4.17 zeigt die Remobilisierung der NER von ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ von Tag 7 und 84 nach 54 Tagen Inkubation. Die Remobilisierung der NER von ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ an Tag 7 betrug jeweils 9,4, 12,0 und 19,1% AR (Abb. 4.17 & Anhang A.11). An Tag 84 war die Remobilisierung der ^{14}C -DP-, ^{14}C -DS⁻- und ^{14}C -DA⁺-

NER geringer (7,8, 7,2 und 13,4% AR). Die Bildung von NER wurde als wünschenswerter Prozess zur natürlichen Elimination von Xenobiotika aus Böden angesehen, da sie die Bioverfügbarkeit, Toxizität und Mobilität einer Chemikalie herabsetzt (Bollag et al., 1992). Jedoch konnte gezeigt werden, dass gealterte oder sequestrierte organische Chemikalien in Form von NER nicht generell irreversibel im Boden gebunden vorliegen (Kästner et al., 2014). Es wird angenommen, dass insbesondere Bodenmikroorganismen an der Freisetzung von NER beteiligt sind (Gevao et al., 2000).

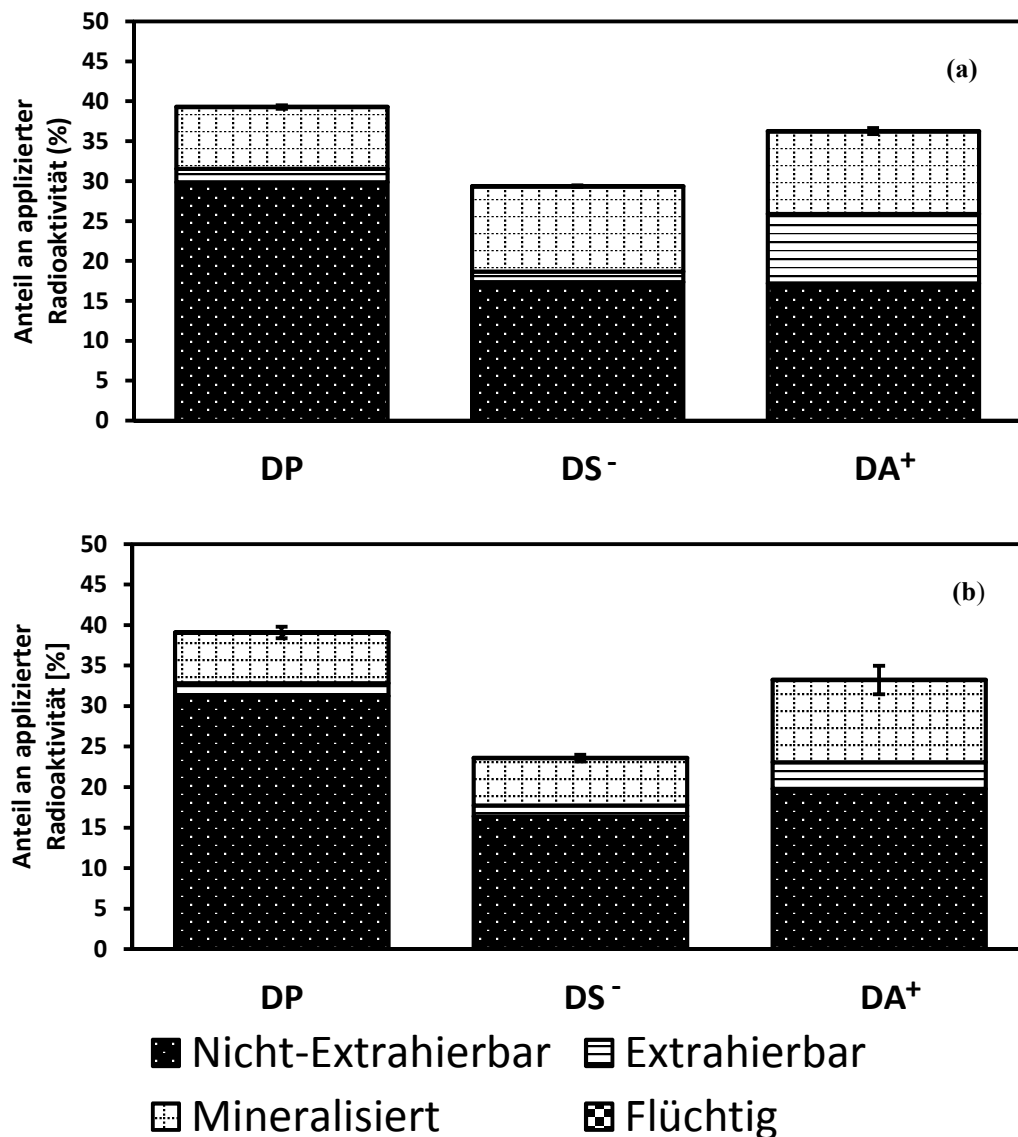


Abbildung 4.17: Verteilung der als NER applizierten Radioaktivität (%) von ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ an Tag 7 (a) und Tag 84 (b) auf flüchtige, mineralisierte, extrahierbare und nicht-extrahierbare Anteile nach 54 Tagen Inkubation mit nicht sterilem Boden. Daten sind dargestellt als Mittelwert ($n=3$) mit Standardabweichung (Konfidenzintervall $\alpha=0,05$).

Während der Remobilisierung der NER von ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ wurden keine flüchtigen Anteile gebildet. Nur geringe Mengen an ^{14}C der NER von DP und DS⁻ waren extrahierbar (<1,7% AR). Im Gegensatz dazu lagen die extrahierbaren Anteile an ^{14}C -DA⁺-NER an Tag 7 deutlich höher (8,7% AR). Es wird daher angenommen, dass die NER von ^{14}C -DP und ^{14}C -DS⁻ direkt nach ihrer Freisetzung vollständig mineralisiert werden. Die Rückstände von ^{14}C -DA⁺ hingegen werden nach Remobilisierung zunächst als

extrahierbare Rückstände akkumuliert, bevor sie durch die Mikroorganismen zu CO₂ abgebaut werden. Ein möglicher Grund hierfür könnte die verringerte Bioverfügbarkeit der extrahierbaren Rückstände von DA⁺ im Boden sein (Abb. 4.11).

Die Mineralisation ist mit 5,8-10,7% AR das deutlichste Anzeichen der Remobilisierung der NER von ¹⁴C-DP, ¹⁴C-DS⁻ und ¹⁴C-DA⁺ im Boden. Dies deckt sich mit Erkenntnissen aus anderen Studien. In Experimenten mit Boden, der NER von Tetrabishphenol A enthielt, konnten Wang et al. (2017b) zeigen, dass nach 231 Tagen Inkubation mit frischem Boden 9,2% ¹⁴CO₂ gebildet wurden und nur geringe Mengen aus dem Boden extrahiert (<2%) werden konnten. Nach Inkubation von Boden mit NER von ¹⁴C-Phenanthren mit frischem Boden wurden 21% nach 75 Tagen mineralisiert (Wang et al., 2017c). Durch die Inkubation von NER von ¹⁴C-Parathion wurden 26% ¹⁴CO₂ nach 28 Tagen freigesetzt; 8% konnten aus dem Boden extrahiert werden (Racke & Lichtenstein, 1985). Die Mineralisierung von NER von Anthracen, Naphthalin, Pyren und Benzo[a]pyren nach 190 Tagen betrug jeweils 10, 15, 18 und 5% (Eschenbach et al., 1998). Nur 1% der NER von Atrazin wurden nach 14 Tagen Re-Inkubation mit frischem Boden in Form von ¹⁴CO₂ freigesetzt (Jablonowski et al., 2008), was jedoch mit dem Alter (>20 Jahre) des NER-Bodens zusammen hängen könnte. Im Einklang mit diesen Studien weist auch die Mineralisierung der NER von ¹⁴C-DP, ¹⁴C-DS⁻ und ¹⁴C-DA⁺ auf deren Bioverfügbarkeit im Boden hin.

Die höchsten Anteile an in Form von NER applizierter Radioaktivität lagen nach Inkubation weiterhin gebunden am Boden vor (16,4-31,2% AR). Für ¹⁴C-DP war die Menge an NER nach Inkubation mit nicht sterilem Boden am höchsten (Abb. 4.17). Dieses Ergebnis entspricht den Erwartungen. Es konnte gezeigt werden, dass der größte Anteil der NER von ¹⁴C-DP an Tag 7 und 84 kovalent (Typ II NER) gebunden im Boden vorlagen (Abb. 4.15). Typ II NER gelten als stabil im Boden und nur geringe Mengen (2-5%/Jahr) werden im Zuge natürlicher Um-/Abbauprozess der organischen Materie freigesetzt (Eschenbach et al., 1998).

5 Zusammenführende Diskussion

Die vorliegende Arbeit liefert Daten, die zeigen ob und falls ja inwieweit die Sorption, das Schicksal und die Bildung nicht-extrahierbarer Rückstände organischer Chemikalien in Böden durch eine chemische Ladung beeinflusst werden.

Unter Berücksichtigung der strukturellen Ähnlichkeit der Modellsubstanzen konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, dass eine positive Ladung die Sorption organischer Chemikalien an die Bodenmatrix erhöht. Die Adsorption spielt bei der Bewertung der Persistenz von Chemikalien unter REACH eine wichtige Rolle, da sie über die Wahl des Simulationstests (OECD 307, OECD 308 oder OECD 309) zur Bewertung der Abbaubarkeit entscheidet (REACH Anhang VIII, 9.3.1). Liegen keine Daten zur Adsorption vor, kann über den $\log K_{ow}$ die Adsorptionsneigung von Chemikalien an Böden und Sediment (K_{oc} , K_d) abgeschätzt werden: je niedriger der $\log K_{ow}$ desto niedriger der K_{oc}/K_d . Im Falle ionischer Chemikalien konnte jedoch trotz niedrigem $\log K_{ow}$ eine hohe Adsorptionstärke nachgewiesen werden (Claßen et al., 2016). Neben dem $\log K_{ow}$ kann die Sorption von Chemikalien auch über die Berechnung des $\log K_{oc}$ bewertet werden. Die Ergebnisse der vorliegenden Sorptionsstudien zeigen jedoch, dass die mit der EPISuite Software berechneten $\log K_{oc}$ -Werte für die nicht ionische Spezies der ionischen Modellsubstanzen (DS^- , DA^+) niedriger sind als der experimentell ermittelte $\log K_{oc}$. Im Fall von DP korreliert der berechnete $\log K_{oc}$ jedoch gut mit dem experimentell ermittelten Wert.

Die Adsorption neutraler organischer Chemikalien an Boden läuft hauptsächlich über hydrophobe Verteilung ab, während für ionische Chemikalien weitere Adsorptions-Mechanismen (Kah & Brown, 2006), u.a. elektrostatische Wechselwirkungen, angenommen werden. Der $\log K_{ow}$ sowie der $\log K_{oc}$ der nicht ionischen Spezies bilden nicht alle Adsorptionsprozesse ionischer Chemikalien im Boden ab und sind daher nicht zur Abschätzung ihres Adsorptionsverhaltens im Rahmen der Persistenz-Bewertung geeignet. Experimentell bestimmte $\log K_{oc}$ -Werte sind für hydrophobe Chemikalien gleichbleibend für verschiedene Sedimente und Böden (Karickhoff, 1981). Für polare Chemikalien führt die Normalisierung auf den Gehalt an organischer Materie jedoch nicht zur Reduzierung der Variationen der Sorptionskoeffizienten von Böden (von Oepen et al., 1991). Auf Basis der Ergebnisse dieser Arbeit sollte für die Bewertung der Adsorption ionischer Chemikalien im Rahmen der Persistenz-Bewertung ein experimentell ermittelter $\log K_d$ anstelle eines kalkulierten/experimentellen $\log K_{oc}$ herangezogen werden.

Das Schicksal der drei Modellsubstanzen war in der vorliegenden Arbeit u.a. dominiert durch die Bildung von NER. Das Umweltrisiko dieser Rückstände hängt von der Wahrscheinlichkeit und der Art ihrer Freisetzung ab (Barraclough et al., 2005). Durch mikrobielle oder physikochemische Prozesse können NER freigesetzt werden, wodurch sie wieder bioverfügbar für Bodenorganismen werden und toxisch wirken können. Jedoch

wird angenommen, dass diese Freisetzung langsam erfolgt (Kästner et al., 2018) und freigesetzte Stoffanteile mineralisiert oder erneut als NER festgelegt werden können.

Die höchsten Anteile an NER von DP und DS⁻ waren biogen (Typ III NER) oder kovalent (Typ II NER) gebunden, während für DA⁺ hauptsächlich die Bildung sequestrierter (Typ I) NER beobachtet wurde. Trotz ihrer postulierten Stabilität konnte in der vorliegenden Studie gezeigt werden, dass neben Typ I NER (sequestriert) auch Typ II NER (kovalent) aus dem Boden remobilisiert werden können. Im Falle der neutralen Modellsubstanz (DP) gibt es Hinweise, dass die Ausgangssubstanz sequestriert (Typ I NER) im Boden vorliegt und bioverfügbar für Bodenorganismen werden kann, was einen entsprechenden Ökotoxikologie-Test nach sich ziehen würde. Auch in anderen Studien konnten in den NER die Ausgangssubstanzen nachgewiesen werden (Junge et al., 2011; Li et al., 2015; Tong et al., 2016). Chemikalien mit hoher NER-Bildung sollten daher im Hinblick auf sequestrierte (Typ I), kovalent gebundene (Typ II) und biogene (Typ III) Rückstände untersucht werden. Die Bildung von Typ I NER sollten bei der Persistenz-Bewertung Berücksichtigung finden, falls analytisch festgestellt wird, dass in dieser Fraktion auch die Ausgangssubstanz vorliegt. Unter diesen Umständen sollten sequestrierte Anteile an Ausgangssubstanz in die Berechnung der DT₅₀ eingeschlossen werden. Im Falle, dass eine analytische Untersuchung der Typ I NER im Hinblick auf die Ausgangssubstanz technisch nicht möglich ist, sollte bei der Berechnung der DT₅₀ - entsprechend dem Vorsorgeprinzip - die Gesamtmenge der sequestrierten (Typ I) NER einfließen.

6 Zusammenfassung und Ausblick

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss einer chemischen Ladung auf Sorption, Schicksal und Bildung nicht-extrahierbarer Rückstände organischer Chemikalien in Böden untersucht. Unter Verwendung von ungeladenem 4-*n*-Dodecylphenol[phenyl ring- $^{14}\text{C}(\text{U})$] (^{14}C -DP), negativ geladenem 4-*n*-Dodecylbenzolsulfonsäure Natriumsalz[phenyl ring- $^{14}\text{C}(\text{U})$] (^{14}C -DS $^{-}$) und positiv geladenem 4-*n*-Dodecylbenzyltrimethylammoniumchlorid[phenyl ring- $^{14}\text{C}(\text{U})$] (^{14}C -DA $^{+}$) mit hoher struktureller Ähnlichkeit wurden Sorptionsstudien nach OECD 106 (*Adsorption – Desorption using a Batch-Equilibrium Method*) und Simulationstests nach OECD 307 (*Aerobic and Anaerobic Transformation in Soil*) unter Verwendung von LUFA Boden 5M durchgeführt.

In den Sorptionsstudien wurde das Gleichgewicht für Adsorption und Desorption für ^{14}C -DA $^{+}$ im Boden nach 15 und 1680 min erreicht, für ^{14}C -DP und ^{14}C -DS $^{-}$ jeweils nach 240 min. Im Verlauf der Sorptionsstudie kam es zum abiotischen Abbau von DP unter Bildung polarer Transformationsprodukte. Die Verteilungskoeffizienten wurden über die, mittels DC-Analyse als DP identifizierten Anteile an applizierter Radioaktivität (AR) berechnet. Die Sorptionskinetik für DS $^{-}$ war linear und die Verteilungskoeffizienten für die Adsorption und Desorption betrug $\log K_{\text{F}}^{\text{ads}}=2,68$ und $\log K_{\text{F}}^{\text{des}}=1,78$. Die kooperative Adsorption von DP und DA $^{+}$ war deutlich höher ($\log K_{\text{F}}^{\text{ads}}>3,30$) im Vergleich zu ^{14}C -DS $^{-}$ und ist als irreversibel einzustufen ($\log K_{\text{F}}^{\text{des}}<0,55$). Der experimentelle $\log K_{\text{oc}}$ für ^{14}C -DP, ^{14}C -DS $^{-}$ und ^{14}C -DA $^{+}$ war hoch ($>3,0$) und korrelierte im Fall der ionischen Chemikalien nicht mit dem berechneten $\log K_{\text{oc}}$. Unter Berücksichtigung der strukturellen Ähnlichkeit der Modellsubstanzen konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, dass eine positive Ladung die Sorption organischer Chemikalien an die Bodenmatrix erhöht.

Ziel der Simulationstests war die Untersuchung des Schicksals von ^{14}C -DP, ^{14}C -DS $^{-}$ und ^{14}C -DA $^{+}$ im sterilen und nicht sterilen Boden. Nach Applikation der Testsubstanzen mit 1 mg/kg zum sterilen und nicht sterilen Boden und Inkubation für 0, 1, 7, 14, 49, 84 und 124 Tage wurde unter Verwendung einer sequentiellen Schüttelextraktion die Verteilung von ^{14}C auf flüchtige, mineralisierte, extrahierbare und nicht-extrahierbare Rückstände (NER) untersucht. Die extrahierbaren Rückstände wurden mittels DC, HPLC und LC-MS/MS analysiert. Nach 124 Tagen Inkubation war die Mineralisation im nicht sterilen Boden für ^{14}C -DS $^{-}$ (64,5% AR) am höchsten, gefolgt von ^{14}C -DP (44,0% AR) und ^{14}C -DA $^{+}$ (37,8% AR); die Bildung von $^{14}\text{CO}_2$ im sterilen Boden war vernachlässigbar. Es konnte eine gleichzeitige Zunahme der Mineralisationsrate und der mikrobiellen Aktivität (DMSO-Reduktionsrate) im nicht sterilen Boden mit ^{14}C -DP und ^{14}C -DS $^{-}$ von Tag 0 bis Tag 14 beobachtet werden. Für ^{14}C -DA $^{+}$ waren die Mineralisations- und die DMSO-Reduktionsrate über die Zeit konstant niedrig. Die extrahierbare Radioaktivität betrug für ^{14}C -DA $^{+}$ 18,0% AR, während im Fall von ^{14}C -DP und ^{14}C -DS $^{-}$ nur geringe Mengen (2,7-4,7% AR) an Tag 124 aus dem Boden extrahiert werden konnten. Neben ^{14}C -DP,

^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ konnten polare und unpolare (^{14}C -DA⁺) Transformationsprodukte über die Zeit in den extrahierbaren Rückständen detektiert werden. Die höchsten Mengen an ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ lagen potentiell bioverfügbar im Boden vor. In den Calciumchlorid-Extrakten konnten nur Transformationsprodukte nachgewiesen werden. Die Halbwertszeit (DT₅₀) nahm wie folgt ab: DA⁺(61,70 Tage)>DS⁻(18,20 Tage)>DP (9,96 Tage). Die Ergebnisse lassen darauf schließen, dass eine negative und positive Ladung die DT₅₀ organischer Chemikalien im Boden erhöht.

Die höchste Menge an NER am Studienende konnte für ^{14}C -DP (45,4% AR) beobachtet werden, gefolgt von ^{14}C -DA⁺ (34,2% AR) und ^{14}C -DS⁻ (23,1% AR). Beachtliche Mengen an NER von ^{14}C -DA⁺ (16,0% AR) wurden unter sterilen Bedingungen gebildet. Die NER nach 7 und 84 Tagen Inkubation wurden im Hinblick auf sequestrierte (Typ I), kovalent gebundene (Typ II) und biogene (Typ III) Rückstände mittels Silylierungsmethode (Typ I und II) und saurer Hydrolyse (Typ III NER) des extrahierten Bodens untersucht. Durch Silylierung der NER von ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ nach 7 und 84 Tagen Inkubation konnten 3,0-23,2% AR freigesetzt werden, was darauf hindeutet, dass diese Rückstände stark sorbiert oder physikalisch eingeschlossen (Typ I NER) im Boden vorlagen. Der Rückstand der NER nach Silylierung (12,9-33,1% AR) lag kovalent an Boden gebunden vor. Im Boden konnte ^{14}C -DP (2,3% AR), jedoch kein ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ durch Silylierung freigesetzt werden. Dies lässt vermuten, dass nur im Fall von ^{14}C -DP die Ausgangssubstanz Teil der Typ I NER war, die als reversibel an Boden gebunden gelten. Die saure Hydrolyse der ^{14}C -DP-, ^{14}C -DS⁻- und ^{14}C -DA⁺-NER nach 7 und 84 Tagen Inkubation und anschließender Analyse des Bodenextrakts hinsichtlich enthaltener ^{14}C -Aminosäuren zeigte, dass 2,5-23,8% AR biogen gebundene (Typ III) Rückstände sind. Die höchsten Anteile an NER von DP und DS⁻ waren biogen (Typ III NER) oder kovalent (Typ II NER) gebunden, während für DA⁺ hauptsächlich die Bildung sequestrierter (Typ I) NER beobachtet wurde. Nach Re-Inkubation des NER-Bodens nach 7 und 84 Tagen von ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ mit nicht sterilem Boden für 54 Tage betrug die Remobilisierung (Summe aus flüchtigen, mineralisierten und extrahierbaren Rückständen) 7,2-19,1% AR; der höchste Anteil verblieb jedoch weiterhin nicht-extrahierbar im Boden (16,4-31,2% AR).

Auf Basis der Ergebnisse dieser Arbeit sollte im Rahmen der Persistenz-Bewertung für die Beurteilung der Adsorption ionischer Chemikalien ein experimentell ermittelter logK_d anstelle des kalkulierten/experimentellen logK_{oc} herangezogen werden. Weiterhin sollten Chemikalien mit hoher NER-Bildung im Hinblick auf sequestrierte (Typ I), kovalent gebundene (Typ II) und biogene (Typ III) Rückstände untersucht werden. Die Bildung von Typ I NER sollten bei der Persistenz-Bewertung Berücksichtigung finden, falls analytisch festgestellt wird, dass in dieser Fraktion auch die Ausgangssubstanz vorliegt. Unter diesen Umständen sollten sequestrierte Anteile an Ausgangssubstanz in die Berechnung der DT₅₀ eingeschlossen werden. Im Falle, dass eine analytische Untersuchung der Typ I

NER im Hinblick auf die Ausgangssubstanz technisch nicht möglich ist, sollte bei der Berechnung der DT_{50} - entsprechend dem Vorsorgeprinzip - die Gesamtmenge der sequestrierten (Typ I) NER einfließen.

Um das hier erarbeitete Konzept zur Persistenz-Bewertung ionischer Chemikalien zu validieren, sollten weitere ^{14}C -markierte, ionische Chemikalien entsprechend untersucht werden, ggf. auch unter Einbeziehung von Ringtests. Die Verwendung unterschiedlicher Böden kann Aufschluss bringen, in wie fern das Schicksal ionischer Chemikalien vom pH-Wert, Ton- und organischen Kohlenstoff-Gehalt, Kationen- und Anionenaustauschkapazität des Bodens abhängt. Diese Ergebnisse könnten bei der Durchführung von Simulationstests nach OECD 307, für die standardmäßig drei Böden eingesetzt werden, berücksichtigt werden. Zur Berücksichtigung der NER in der Persistenz-Bewertung sollten weitere Studien mit ^{14}C -markierten Chemikalien durchgeführt und Typ I-III NER an mehr Inkubationszeitpunkten als in der vorliegenden Studie mittels Silylierungsmethode und saurer Hydrolyse des erschöpfend extrahierten Bodens untersucht werden. Weiterer Forschungsbedarf besteht in der Entwicklung einer analytischen Methode zur differenzierteren Unterscheidung der Typ I-III NER, die es ermöglicht, biogene Rückstände (Typ III NER) in Typ I (sequestriert) und Typ II (kovalent) NER nachzuweisen. Da in der vorliegenden Studie ausschließlich Boden als Umweltkompartiment diente, sollte geprüft werden, wie sich eine chemische Ladung auf das Schicksal organischer Chemikalien in Simulationstests mit Oberflächenwasser (OECD 309) und Sediment (OECD 308) auswirkt.

7 Summary and Outlook

In the present study we investigated the influence of an ionic functional group on the sorption, fate and formation of non-extractable residues of organic compounds in soil. Using uncharged 4-*n*-dodecylphenol[phenyl ring- $^{14}\text{C}(\text{U})$] (^{14}C -DP), negatively charged 4-*n*-dodecylbenzenesulfonic acid[phenyl ring- $^{14}\text{C}(\text{U})$] sodium salt (^{14}C -DS $^{-}$) and positively charged 4-*n*-dodecylbenzyltrimethylammonium chloride[phenyl ring- $^{14}\text{C}(\text{U})$] (^{14}C -DA $^{+}$) with high structural similarity, we performed sorption tests according to OECD 106 (Adsorption – Desorption using a Batch-Equilibrium Method) and simulation tests in soil according to OECD 307 (Aerobic and Anaerobic Transformation in Soil) with LUFA soil 5M.

In the sorption tests equilibrium for adsorption and desorption of ^{14}C -DA $^{+}$ was reached after 15 and 1680 min and for ^{14}C -DP and ^{14}C -DS $^{-}$ after 240 min, respectively. During the sorption test, DP was abiotically degraded to more polar transformation products. Partitioning coefficients were therefore determined according to the amounts of adsorbed and desorbed DP detected by TLC-Analysis. Sorption kinetic for DS $^{-}$ was linear and the partitioning coefficients for adsorption and desorption amounted to $\log K_{\text{F}}^{\text{ads}}=2.68$ and $\log K_{\text{F}}^{\text{des}}=1.78$. Cooperative adsorption of DP und DA $^{+}$ was obviously higher ($\log K_{\text{F}}^{\text{ads}}>3.30$) compared to ^{14}C -DS $^{-}$ and is considered irreversible ($\log K_{\text{F}}^{\text{des}}<0.55$). Experimentally determined $\log K_{\text{oc}}$ values for ^{14}C -DP, ^{14}C -DS $^{-}$ and ^{14}C -DA $^{+}$ were high (>3.0) and deviate from calculated $\log K_{\text{oc}}$ in case of the ionic chemicals. Considering the structural similarity it could be shown that a positive charge lead to an increased sorption of organic chemicals on soil.

Aim of the simulation test was to investigate the fate of ^{14}C -DP, ^{14}C -DS $^{-}$ und ^{14}C -DA $^{+}$ in sterile and non-sterile soil. After application of the test substances with 1 mg/kg to sterilized and non-sterilized soil and incubation for 0, 1, 7, 14, 49, 84 and 124 days, samples were sequentially extracted. Distribution of the applied radioactivity (AR) among volatile, mineralized, extractable and non-extractable residues (NER) for ^{14}C -DP, ^{14}C -DS $^{-}$ und ^{14}C -DA $^{+}$ were investigated. Extractable portions of ^{14}C were examined by means of TLC, HPLC and LC-MS/MS analyses. After 124 days of incubation highest mineralization could be observed for ^{14}C -DS $^{-}$ (64.5% AR), followed by ^{14}C -DP (44.0% AR) and ^{14}C -DA $^{+}$ (37.8% AR) whereas formation of $^{14}\text{CO}_2$ in sterile soil was neglectable. In case of ^{14}C -DP und ^{14}C -DS $^{-}$ the rate of mineralization and the microbial activity (DMSO reduction rate) in non-sterilized soil simultaneous increased from day 0 until day 14. For ^{14}C -DA $^{+}$ the mineralization and DMSO reduction rate were constantly low over time. Extractable radioactivity for ^{14}C -DA $^{+}$ amounted to 18.0% AR, but only low amounts of ^{14}C -DP und ^{14}C -DS $^{-}$ were extractable from the soil (2.7-4.7% AR) at the end of the test. Besides ^{14}C -DP, ^{14}C -DS $^{-}$ and ^{14}C -DA $^{+}$ polar and nonpolar (^{14}C -DA $^{+}$) transformation products were detected in the extracts over time. Highest amounts of ^{14}C -DP, ^{14}C -DS $^{-}$ and

$^{14}\text{C-DA}^+$ were potentially bioavailable in soil. In the calcium chloride extracts only transformation products were detected. Half-life (DT_{50}) decrease in the following manner: DA^+ (61.70 days) > DS^- (18.20 days) > DP (9.96 days). The findings suggest that a negative and positive charge increases the DT_{50} of organic chemicals in soil.

Highest amounts of NER at the end of the tests were observed for $^{14}\text{C-DP}$ (45.4% AR) followed by $^{14}\text{C-DA}^+$ (34.2% AR) and $^{14}\text{C-DS}^-$ (23.1% AR). Considerable amounts of NER of $^{14}\text{C-DA}^+$ (16.0% AR) were formed under sterile soil conditions. NER at day 7 and 84 were further investigated with respect to sequestered, covalently bound and biogenic residues (NER types I, II, and III). Silylation of $^{14}\text{C-DP}$, $^{14}\text{C-DS}^-$ and $^{14}\text{C-DA}^+$ derived NER after 7 and 84 days of incubation released 3.0-23.2% AR, indicating that these were strongly sorbed or physically entrapped (type I NER) in the soil. The remainder of the residues (12.9-33.1% AR) were covalently bound (type II NER) to the soil. Analysis of extracts derived by silylation shows that $^{14}\text{C-DP}$ (2.3% AR), but neither $^{14}\text{C-DS}^-$ nor $^{14}\text{C-DA}^+$ were released by the silylation procedure. This suggests that only in case of $^{14}\text{C-DP}$, the parent substance was part of type I NER, which is considered reversibly bound to soil. Acid hydrolysis of the $^{14}\text{C-DP}$, $^{14}\text{C-DS}^-$ and $^{14}\text{C-DA}^+$ NER containing soil after 7 and 84 days of incubation and subsequent analysis of soil extracts regarding $^{14}\text{C-aminoacids}$ ($^{14}\text{C-AA}$) indicates that 2.5-23.8% AR are biogenically formed residues (type III NER) in soil. Most DP and DS^- derived NER were biogenically or covalently bound, whereas DA^+ predominantly forms sequestered NER in soil. After re-incubation of the NER containing soil of $^{14}\text{C-DP}$, $^{14}\text{C-DS}^-$ und $^{14}\text{C-DA}^+$ after 7 and 84 days with non-sterilized soil for 54 days, remobilisation (sum of volatile, mineralised and extractable residues) amounted to 7.2-19.1% AR; however, the highest amounts still remained non-extractable in soil (16.4-31.2% AR).

With regard to the results it is recommended to use an experimentally determined $\log K_d$ instead of calculated/experimental $\log K_{oc}$ values for the assessment of the adsorption of ionic chemicals in soil in frame of persistence assessment. Furthermore, chemicals with an obviously high NER formation should be investigated according to sequestered (type I), covalently bound (type II) and biogenic (type III) NER. The formation of type I NER should be taken into account in the persistence assessment, if the parent substance has been analytically determined in this fraction. In this case, the sequestered amount of parent molecule should be included in the calculation of the DT_{50} . In case that analytical investigations of type I NER regarding the parent molecule were technically not feasible, the DT_{50} has to be calculated considering the total amount of sequestered (type I) NER in accordance with the precautionary principle.

To validate the developed concept for the persistence-assessment of ionic chemicals, further simulation tests according to OECD 307 with other ^{14}C -labelled, ionic compounds should be performed, if necessary as ring test. By the use of different soils, the influence of pH, clay and organic matter content as well as cation and anion exchange capacity on

the fate of ionic chemicals could be investigated. This results should be regarded by the performance of OECD 307 tests because generally three soils have to be examined within these tests. For the consideration of NER in the persistence-assessment, type I-III NER of further ^{14}C -labelled compounds should be determined by use of silylation method and acid hydrolysis of the exhaustively extracted soil, preferably at more sampling points compared to the present study. Developing analytical methods for the identification of biogenic (type III) residues within type I (sequestered) and type II (covalently bound) NER would help to better differentiate the three NER types. Furthermore, the influence of a chemical charge of organic chemicals in simulations tests with surface water (OECD 309) and sediment (OECD 308) should be examined, because these tests are also used for the assessment of the persistence of chemicals in different legislations.

Anhang

A.1 Vorversuche ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺

Tabelle 0.1: Verteilung der AR von ^{14}C -DP auf mineralisierte, flüchtige, extrahierbare und nicht-extrahierbare Anteile nach 0, 0,16, 7 und 61 Tagen Inkubation. Daten sind dargestellt als Mittelwert (MV; n=2) der AR mit Standardabweichung (ST).

Anteil an applizierter Radioaktivität [%]	Tag		Tag		Tag		Tag	
	0		0,16		7		61	
	MW	ST	MW	ST	MW	ST	MW	ST
mineralisiert	0,0	0,0	0,1	0,0	12,7	0,5	46,2	0,1
flüchtig	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
extrahierbar	95,1	2,0	79,5	3,3	28,3	2,2	2,5	0,2
nicht-extrahierbar	4,5	0,5	11,8	0,1	52,1	0,8	42,2	3,0
Wiederfindung	99,6	2,5	91,5	3,4	93,1	3,5	90,9	3,3

Tabelle 0.2: Verteilung der AR von ^{14}C -DS⁻ auf mineralisierte, flüchtige, extrahierbare und nicht-extrahierbare Anteile nach 0, 0,16, 6 und 56 Tagen Inkubation. Daten sind dargestellt als Mittelwert (MV; n=2) der AR mit Standardabweichung (ST).

Anteil an applizierter Radioaktivität [%]	Tag		Tag		Tag		Tag	
	0		0,16		6		56	
	MW	ST	MW	ST	MW	ST	MW	ST
mineralisiert	0,0	0,0	0,1	0,0	37,6	7,7	71,0	0,2
flüchtig	0,0	0,0	0,1	0,1	0,0	0,0	0,1	0,1
extrahierbar	91,6	4,7	90,9	5,3	23,9	4,6	2,4	0,5
nicht-extrahierbar	1,7	0,5	1,7	0,1	31,6	5,7	28,0	1,8
Wiederfindung	93,3	5,3	92,8	5,5	93,0	18,1	101,5	2,7

Tabelle 0.3: Verteilung der AR von ^{14}C -DA⁺ auf mineralisierte, flüchtige, extrahierbare und nicht-extrahierbare Anteile nach 0 und 7 Tagen Inkubation. Daten sind dargestellt als Mittelwert (MV; n=2) der AR mit Standardabweichung (ST).

Anteil an applizierter Radioaktivität [%]	Tag		Tag	
	0		7	
	MV	ST	MV	ST
mineralisiert	0,0	0,0	0,4	0,0
flüchtig	0,0	0,0	0,0	0,0
extrahierbar	83,5	2,4	65,6	0,8
nicht-extrahierbar	11,5	3,6	36,9	1,8
Wiederfindung	95,0	6,1	102,9	2,6

A.2 Wiederfindung der applizierten Radioaktivität in den Sorptionsstudien mit ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺

Tabelle 0.4: Wiederfindung der AR in den Ansätzen mit DP in den Testkonzentrationen 1, 1,6, 2, 4, 10 und 20 mg/kg. Daten sind dargestellt als Mittelwert (n=3) der AR (%) mit Standardabweichung (Konfidenzintervall $\alpha=0,05$).

	Anteil an applizierter Radioaktivität (%)					
	1 mg/kg	1,6 mg/kg	2 mg/kg	4 mg/kg	10 mg/kg	20 mg/kg
adsorbiert an Becher	2,3±0,3	1,8±0,2	2,2±0,1	2,8±0,3	3,1±0,6	2,4±0,5
nicht adsorbiert	1,3±0,6	1,3±0,1	1,6±0,0	1,5±0,5	2,2±0,5	1,8±0,6
desorbiert	1,4±0,4	1,5±0,2	1,7±0,2	1,7±0,1	1,6±0,2	1,2±0,0
adsorbiert an Boden	86,3±3,3	83,7±6,5	91,7±2,5	86,2±10,9	93,6±1,1	97,3±1,1
Wiederfindung	91,3±4,5	88,3±7,1	97,1±2,8	92,2±11,8	100,5±2,7	102,6±2,3

Tabelle 0.5: Wiederfindung der AR in den Ansätzen mit DS⁻ in den Testkonzentrationen 1, 1,6, 2, 4, 10 und 20 mg/kg. Daten sind dargestellt als Mittelwert (n=3) der AR (%) mit Standardabweichung (Konfidenzintervall $\alpha=0,05$).

	Anteil an applizierter Radioaktivität (%)					
	1 mg/kg	1,6 mg/kg	2 mg/kg	4 mg/kg	10 mg/kg	20 mg/kg
adsorbiert Becher	6,9±3,4	8,7±1,0	7,7±0,6	7,7±0,6	7,5±1,3	8,7±0,3
nicht adsorbiert	15,4±1,1	18,5±0,9	16,8±4,3	19,9±4,3	15,6±1,7	15,9±0,8
Desorbiert	17,2±2,5	14,2±4,1	14,4±1,6	15,3±1,6	14,4±1,1	14,9±1,6
adsorbiert Boden	63,7±0,2	59,2±5,4	62,4±2,8	63,9±2,8	63,5±5,0	64,4±1,0
Wiederfindung	103,2±7,2	100,6±11,4	101,4±9,3	106,8±8,6	101,0±9,0	103,9±3,8

Tabelle 0.6: Wiederfindung der AR in den Ansätzen mit DA⁺ in den Testkonzentrationen 1, 1,6, 2, 4, 10 und 20 mg/kg. Daten sind dargestellt als Mittelwert (n=3) mit Standardabweichung (Konfidenzintervall $\alpha=0,05$).

	Anteil an applizierter Radioaktivität (%)					
	1 mg/kg	1,6 mg/kg	2 mg/kg	4 mg/kg	10 mg/kg	20 mg/kg
adsorbiert an Becher	2,4±0,5	2,6±0,2	2,1±0,3	2,3±0,2	2,9±0,4	3,1±0,9
nicht adsorbiert	2,5±0,8	2,3±0,2	2,6±0,2	1,8±0,3	3,0±0,4	2,7±0,4
desorbiert	1,4±0,4	1,2±0,4	0,9±0,3	2,0±1,5	1,3±0,4	2,1±1,3
adsorbiert an Boden	77,6±1,9	61,7±9,9	60,3±8,4	67,5±3,7	65,4±1,1	71,7±12,6
Wiederfindung	84,0±0,3	71,5±7,4	72,1±3,2	73,6±5,6	72,5±2,3	80,7±14,6

A.3 Wiederfindung von ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ im nicht sterilem Boden

Tabelle 0.7: Verteilung der AR von ^{14}C -DP auf mineralisierte, flüchtige, extrahierbare und nicht-extrahierbare Anteile nach 0, 1, 7, 14, 49, 84 und 124 Tagen Inkubation. Daten sind dargestellt als Mittelwert (MV; n=3) mit Standardabweichung (ST) (Konfidenzintervall $\alpha=0,05$; - = nicht bestimmt).

Anteil an applizierter Radioaktivität [%]	Tag		Tag		Tag		Tag		Tag		Tag		Tag	
	0		1		7		14		49		84		124	
	MV	ST	MV	ST	MV	ST	MV	ST	MV	ST	MV	ST	MV	ST
mineralisiert	0,0	0,0	1,0	0,2	21,5	3,4	26,5	1,3	38,3	0,9	43,4	1,3	44,0	1,6
flüchtig	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
extrahierbar	95,1	4,7	85,5	2,8	33,7	4,6	20,4	1,5	7,4	0,6	6,1	0,4	4,7	0,3
nicht-extrahierbar	4,5	0,5	15,4	0,2	35,8	1,5	46,4	3,1	45,3	3,7	40,6	1,1	45,4	3,7
Wiederfindung	99,6	5,3	101,8	3,2	91,0	9,4	93,3	5,9	90,9	5,2	90,1	2,8	94,1	5,6
Inkubationsgefäß	-	-	-	-	-	-	-	-	≤0,01	-	≤0,01	-	-	-

Tabelle 0.8: Verteilung der AR von ^{14}C -DS⁻ auf mineralisierte, flüchtige, extrahierbare und nicht-extrahierbare Anteile nach 0, 1, 7, 14, 49, 84 und 124 Tagen Inkubation. Daten sind dargestellt als Mittelwert (MV; n=3) mit Standardabweichung (ST) (Konfidenzintervall $\alpha=0,05$; - = nicht bestimmt).

Anteil an applizierter Radioaktivität [%]	Tag		Tag		Tag		Tag		Tag		Tag		Tag	
	0		1		7		14		49		84		124	
	MV	ST	MV	ST	MV	ST	MV	ST	MV	ST	MV	ST	MV	ST
mineralisiert	0,0	0,0	1,0	0,1	40,5	4,2	55,6	1,8	63,6	3,0	67,0	0,2	64,5	1,9
flüchtig	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
extrahierbar	91,6	4,7	99,5	6,5	11,7	1,2	6,4	0,5	3,5	0,2	2,8	0,3	2,7	0,1
nicht-extrahierbar	1,7	0,5	6,0	0,5	32,3	1,4	33,4	5,1	28,6	3,9	21,7	4,9	23,1	0,2
Wiederfindung	93,3	5,3	106,6	7,1	84,5	6,8	95,5	7,4	95,7	7,1	91,4	5,5	90,3	2,3
Inkubationsgefäß	-	-	-	-	≤0,01	-	-	-	-	-	-	-	≤0,01	-

Tabelle 0.9: Verteilung der AR von ^{14}C -DA⁺ auf mineralisierte, flüchtige, extrahierbare und nicht-extrahierbare Anteile nach 0, 1, 7, 14, 49, 84 und 124 Tagen Inkubation. Daten sind dargestellt als Mittelwert (MV; n=3) mit Standardabweichung (ST) (Konfidenzintervall $\alpha=0,05$; - = nicht bestimmt).

Anteil an applizierter Radioaktivität [%]	Tag		Tag		Tag		Tag		Tag		Tag		Tag	
	0		1		7		14		49		84		124	
	MW	ST	MV	ST	MV	ST	MV	ST	MV	ST	MV	ST	MV	ST
mineralisiert	0,0	0,0	0,1	0,0	1,1	0,3	3,4	0,1	14,4	4,0	24,2	3,9	37,8	1,9
flüchtig	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
extrahierbar	83,5	2,4	75,1	6,5	65,5	2,9	58,1	6,3	43,4	1,0	29,9	3,7	18,0	2,2
nicht-extrahierbar	11,5	3,6	25,2	3,1	36,2	4,7	36,6	2,7	28,3	0,5	33,5	4,2	34,2	1,2
Wiederfindung	95,0	6,1	100,3	9,6	102,8	7,8	98,1	9,1	86,1	5,5	87,6	11,8	90,1	5,2
Inkubationsgefäß	-	-	-	-	-	-	-	-	≤0,01	-	≤0,01	-	≤0,01	-

A.4 Wiederfindung von ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ im sterilen Boden

Tabelle 0.10: Verteilung der AR von ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ auf mineralisierte, flüchtige, extrahierbare und nicht-extrahierbare Anteile nach 14 Tagen Inkubation. Daten sind dargestellt als Mittelwert (MV; n=3) mit Standardabweichung (ST) (Konfidenzintervall $\alpha=0,05$; - = nicht bestimmt).

Anteil an applizierter Radioaktivität [%]	^{14}C -DP		^{14}C -DS ⁻		^{14}C -DA ⁺	
	MW	ST	MV	ST	MV	ST
mineralisiert	2,9	0,6	0,1	0,0	0,1	0,0
flüchtig	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
extrahierbar	102,9	2,7	90,1	4,0	91,7	17,4
nicht-extrahierbar	3,2	0,1	1,5	0,9	16,0	3,2
Wiederfindung	109,0	3,4	91,7	4,9	107,7	20,7
Inkubationsgefäß	-	-	-	-	-	-

A.5 Stabilität ^{14}C -DA⁺ in Soxhlet-Extraktion

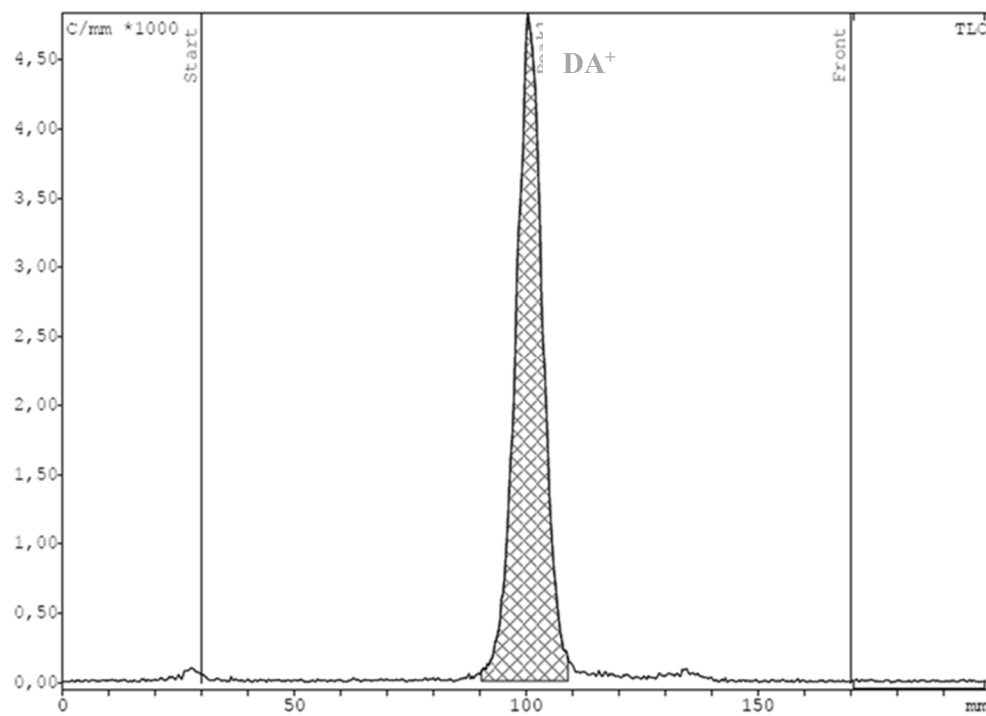


Abbildung 0.1: DC-Radio-Chromatogramm zur Untersuchung der Stabilität von ^{14}C -DA⁺ nach Soxhlet-Extraktion. Das radioaktive Signal konnten co-chromatographisch als DA⁺ identifiziert werden.

A.6 Wiederfindung Aufarbeitung Extrakte von ^{14}C -DP, ^{14}C -DS⁻ und ^{14}C -DA⁺ im nicht sterilem Boden

Tabelle 0.11: Wiederfindung der CaCl_2 -, MeOH-, MeOH:H₂O- und ACN-Extrakte von ^{14}C -DP nach Aufarbeitung für die HPLC-Analyse in % AR. Daten sind dargestellt als Mittelwert (MV; n=3) mit Standardabweichung (ST) (Konfidenzintervall $\alpha=0,05$).

Anteil an applizierter Radioaktivität [%]	Tag 1		Tag 7		Tag 14		Tag 49		Tag 84	
	MW	ST	MV	ST	MV	ST	MV	ST	MV	ST
CaCl₂	79,1	32,3	11,4	1,8	10,5	4,9	13,2	4,8	11,4	1,7
MeOH	69,5	13,7	38,6	8,0	53,8	11,2	67,8	2,3	32,0	15,3
MeOH:H₂O	61,3	1,7	12,1	3,2	17,4	6,9	9,9	10,0	31,3	27,7
ACN	71,3	5,5	39,9	18,0	57,1	0,9	58,5	11,6	44,0	2,7

Tabelle 0.12: Wiederfindung der CaCl_2 -, MeOH-, MeOH:H₂O- und ACN-Extrakte von ^{14}C -DS⁻ nach Aufarbeitung für die HPLC-Analyse in % AR. Daten sind dargestellt als Mittelwert (MV; n=3) mit Standardabweichung (ST) (Konfidenzintervall $\alpha=0,05$).

Anteil an applizierter Radioaktivität [%]	Tag 1		Tag 7		Tag 14		Tag 49		Tag 84	
	MW	ST	MV	ST	MV	ST	MV	ST	MV	ST
CaCl₂	59,5	14,3	12,6	1,1	11,5	4,7	11,2	3,2	7,9	1,7
MeOH	79,6	4,3	63,4	14,1	69,2	5,5	49,5	1,4	38,3	14,3
MeOH:H₂O	58,2	6,9	26,2	8,1	23,5	10,4	33,8	9,7	26,7	13,8
ACN	83,1	9,1	39,0	3,8	48,2	15,7	45,5	1,8	27,9	10,2

Tabelle 0.13: Wiederfindung der CaCl_2 -, MeOH-, MeOH:H₂O-, ACN- und Soxhlet-Extrakte von ^{14}C -DA⁺ nach Aufarbeitung für die HPLC-Analyse in % AR. Daten sind dargestellt als Mittelwert (MV; n=3) mit Standardabweichung (ST) (Konfidenzintervall $\alpha=0,05$).

Anteil an applizierter Radioaktivität [%]	Tag 1		Tag 7		Tag 14		Tag 49		Tag 84	
	MW	ST	MV	ST	MV	ST	MV	ST	MV	ST
CaCl₂	75,4	5,1	6,1	0,1	5,2	0,5	55,2	5,2	55,2	2,3
MeOH	86,4	6,5	78,7	4,3	79,0	6,1	81,2	4,2	78,9	4,4
MeOH:H₂O	73,9	10,9	67,4	10,9	30,6	29,0	60,7	5,7	74,0	15,5
ACN	70,5	1,2	76,2	3,8	74,4	7,6	78,3	4,5	70,3	21,2
Soxhlet	84,2	5,9	131,6	31,8	71,3	7,8	68,1	9,1	87,2	12,6

A.7 Analytik der CaCl₂-, MeOH-, MeOH:H₂O- und ACN-Extrakte von ¹⁴C-DP, ¹⁴C-DS⁻ und ¹⁴C-DA⁺ im nicht sterilem Boden

Tabelle 0.14: Analyse der CaCl₂-, MeOH-, MeOH:H₂O- und ACN-Extrakte von ¹⁴C-DP im nicht sterilem Boden. Die Verteilung der Radioaktivität wurde mittels DC-Scanner untersucht. Die Identifizierung von ¹⁴C-DP erfolgte co-chromatographisch mittels nicht radioaktivmarkierter Referenzsubstanz DP. Die Abbauprodukte konnten auf Grund zu geringer Radioaktivitätsmengen nicht identifiziert werden. Daten sind dargestellt als Mittelwert (n=3) in Bezug auf die AR (%) (Konfidenzintervall $\alpha=0,05$; - = nicht nachweisbar).

CaCl ₂ -Extrakt	Anteil an applizierter Radioaktivität [%]					
	Tag 1	Tag 7	Tag 14	Tag 49	Tag 84	Tag 124
Startaktivität	0,6	0,9	0,7	0,3	0,3	0,3
Abbauprodukt 1 (R _f =0,15)	0,4	-	-	-	-	-
Abbauprodukt 2 (R _f =0,27)	-	-	-	-	-	-
Abbauprodukt 3 (R _f =0,48)	-	-	-	-	-	-
DP (R _f =0,61)	-	-	-	-	≤ 0,1	-
MeOH-Extrakt	Anteil an applizierter Radioaktivität [%]					
	Tag 1	Tag 7	Tag 14	Tag 49	Tag 84	Tag 124
Startaktivität	63,0	9,8	10,6	2,9	3,3	2,5
Abbauprodukt 1 (R _f =0,15)	-	-	-	-	-	0,5
Abbauprodukt 2 (R _f =0,27)	8,5	9,5	3,0	1,4	0,3	-
Abbauprodukt 3 (R _f =0,48)	-	-	1,0	-	0,4	-
DP (R _f =0,61)	6,1	8,4	2,1	1,1	0,2	-
MeOH:H ₂ O-Extrakt	Anteil an applizierter Radioaktivität [%]					
	Tag 1	Tag 7	Tag 14	Tag 49	Tag 84	Tag 124
Startaktivität	1,2	2,7	1,8	1,0	1,0	1,0
Abbauprodukt 1 (R _f =0,15)	-	-	-	-	-	-
Abbauprodukt 2 (R _f =0,27)	-	-	-	-	-	-
Abbauprodukt 3 (R _f =0,48)	-	-	-	-	-	-
DP (R _f =0,61)	3,3	-	-	-	-	-
ACN-Extrakt	Anteil an applizierter Radioaktivität [%]					
	Tag 1	Tag 7	Tag 14	Tag 49	Tag 84	Tag 124
Startaktivität	1,1	2,0	0,8	0,5	0,5	0,4
Abbauprodukt 1 (R _f =0,15)	≤ 0,1	-	-	-	-	-
Abbauprodukt 2 (R _f =0,27)	≤ 0,1	0,2	0,2	-	-	-
Abbauprodukt 3 (R _f =0,48)	1,0	0,2	≤ 0,1	≤ 0,1	-	-
DP (R _f =0,61)	≤ 0,1	0,2	0,2	0,2	-	-

Tabelle 0.15: Analyse der CaCl_2 -, MeOH -, $\text{MeOH:H}_2\text{O}$ - und ACN -Extrakte von ^{14}C - DS^- im nicht sterilem Boden. Die Verteilung der Radioaktivität wurde mittels DC-Scanner untersucht. Die Identifizierung von ^{14}C - DS^- erfolgte co-chromatographisch mittels nicht radioaktivmarkierter Referenzsubstanz DS^- . Die Abbauprodukte konnten auf Grund zu geringer Radioaktivitätsmengen nicht identifiziert werden. Daten sind dargestellt als Mittelwert ($n=3$) in Bezug auf die AR (%). (Konfidenzintervall $\alpha=0,05$; - = nicht nachweisbar).

CaCl_2-Extrakt	Anteil an applizierter Radioaktivität [%]					
	Tag 1	Tag 7	Tag 14	Tag 49	Tag 84	Tag 124
Startaktivität	0,9	1,9	1,1	0,4	$\leq 0,1$	0,2
Abbauprodukt 1 ($R_f=0,12$)	-	-	-	-	$\leq 0,1$	-
Abbauprodukt 2 ($R_f=0,24$)	-	-	-	-	$\leq 0,1$	-
Abbauprodukt 3 ($R_f=0,41$)	21,4	0,2	-	-	-	-
Abbauprodukt 4 ($R_f=0,52$)	-	-	-	$\leq 0,1$	0,2	$\leq 0,1$
Abbauprodukt 5 ($R_f=0,69$)	-	-	-	$\leq 0,1$	-	-
Abbauprodukt 6 ($R_f=0,79$)	-	-	-	-	-	-
DS^- ($R_f=0,86$)	-	-	$\leq 0,1$	-	-	-

MeOH-Extrakt	Anteil an applizierter Radioaktivität [%]					
	Tag 1	Tag 7	Tag 14	Tag 49	Tag 84	Tag 124
Startaktivität	-	-	0,5	0,2	0,3	0,2
Abbauprodukt 1 ($R_f=0,12$)	-	-	-	-	-	-
Abbauprodukt 2 ($R_f=0,24$)	-	-	-	-	-	-
Abbauprodukt 3 ($R_f=0,41$)	-	-	1,3	-	-	0,6
Abbauprodukt 4 ($R_f=0,52$)	-	-	-	0,8	1,2	0,4
Abbauprodukt 5 ($R_f=0,69$)	-	-	-	-	-	-
Abbauprodukt 6 ($R_f=0,79$)	5,3	0,9	-	-	-	-
DS^- ($R_f=0,86$)	46,6	4,7	2,5	0,9	-	0,3

$\text{MeOH:H}_2\text{O}$-Extrakt	Anteil an applizierter Radioaktivität [%]					
	Tag 1	Tag 7	Tag 14	Tag 49	Tag 84	Tag 124
Startaktivität	-	1,4	0,9	0,6	0,3	0,4
Abbauprodukt 1 ($R_f=0,12$)	-	-	-	-	$\leq 0,1$	-
Abbauprodukt 2 ($R_f=0,24$)	-	-	-	-	$\leq 0,1$	$\leq 0,1$
Abbauprodukt 3 ($R_f=0,41$)	-	0,2	$\leq 0,1$	0,2	0,2	-
Abbauprodukt 4 ($R_f=0,52$)	-	-	-	-	-	$\leq 0,1$
Abbauprodukt 5 ($R_f=0,69$)	8,5	0,2	-	-	-	-
Abbauprodukt 6 ($R_f=0,79$)	-	-	-	-	-	-
DS^- ($R_f=0,86$)	3,8	0,3	0,3	0,2	$\leq 0,1$	$\leq 0,1$

ACN-Extrakt	Anteil an applizierter Radioaktivität [%]					
	Tag 1	Tag 7	Tag 14	Tag 49	Tag 84	Tag 124
Startaktivität	$\leq 0,1$	0,2	0,2	$\leq 0,1$	$\leq 0,1$	$\leq 0,1$
Abbauprodukt 1 ($R_f=0,12$)	-	-	-	-	$\leq 0,1$	-
Abbauprodukt 2 ($R_f=0,24$)	-	-	-	-	$\leq 0,1$	-
Abbauprodukt 3 ($R_f=0,41$)	-	-	-	-	$\leq 0,1$	-
Abbauprodukt 4 ($R_f=0,52$)	-	-	-	-	-	-
Abbauprodukt 5 ($R_f=0,69$)	$\leq 0,1$	$\leq 0,1$	-	-	-	-
Abbauprodukt 6 ($R_f=0,79$)	-	$\leq 0,1$	$\leq 0,1$	-	-	-
DS^- ($R_f=0,86$)	0,3	0,2	$\leq 0,1$	0,2	$\leq 0,1$	0,3

Tabelle 0.16: Analyse der CaCl_2 -, MeOH -, $\text{MeOH:H}_2\text{O}$ -, ACN - und Soxhlet-Extrakte von ^{14}C - DA^+ im nicht sterilem Boden. Die Verteilung der Radioaktivität wurde mittels DC-Scanner untersucht. Die Identifizierung von ^{14}C - DA^+ erfolgte co-chromatographisch mittels nicht radioaktivmarkierter Referenzsubstanz DA^+ . Daten sind dargestellt als Mittelwert ($n=3$) in Bezug auf die AR (%) (Konfidenzintervall $\alpha=0,05$; - = nicht nachweisbar).

CaCl₂-Extrakt	Anteil an applizierter Radioaktivität [%]					
	Tag 1	Tag 7	Tag 14	Tag 49	Tag 84	Tag 124
Startaktivität	0,2	-	1,7	1,4	1,1	0,4
Abbauprodukt 1 ($R_f=0,12$)	0,5	14,2	14,7	14,1	7,8	3,0
Abbauprodukt 2 ($R_f=0,24$)	0,4	-	-	-	0,8	-
Abbauprodukt 3 ($R_f=0,49$)	-	-	-	-	-	0,7
DA^+ ($R_f=0,53$)	$\leq 0,1$	-	-	-	-	$\leq 0,1$
Abbauprodukt 4 ($R_f=0,63$)	-	-	-	-	-	-
Abbauprodukt 5 ($R_f=0,74$)	-	-	-	-	-	$\leq 0,1$

MeOH-Extrakt	Anteil an applizierter Radioaktivität [%]					
	Tag 1	Tag 7	Tag 14	Tag 49	Tag 84	Tag 124
Startaktivität	2,4	1,6	3,0	0,8	0,5	0,6
Abbauprodukt 1 ($R_f=0,12$)	-	2,6	16,6	4,9	3,8	2,1
Abbauprodukt 2 ($R_f=0,24$)	-	-	-	0,6	0,4	-
Abbauprodukt 3 ($R_f=0,49$)	-	-	-	-	1,3	-
DA^+ ($R_f=0,53$)	42,2	20,6	2,4	2,5	1,2	1,1
Abbauprodukt 4 ($R_f=0,63$)	-	-	-	-	-	-
Abbauprodukt 5 ($R_f=0,74$)	-	-	-	0,7	-	1,4

MeOH:H₂O-Extrakt	Anteil an applizierter Radioaktivität [%]					
	Tag 1	Tag 7	Tag 14	Tag 49	Tag 84	Tag 124
Startaktivität	1,4	2,2	1,8	0,9	0,8	0,6
Abbauprodukt 1 ($R_f=0,12$)	1,1	7,8	9,3	10,3	7,1	4,4
Abbauprodukt 2 ($R_f=0,24$)	1,2	-	0,4	0,7	0,6	-
Abbauprodukt 3 ($R_f=0,49$)	-	-	0,3	-	-	-
DA^+ ($R_f=0,53$)	3,8	2,0	1,1	-	-	-
Abbauprodukt 4 ($R_f=0,63$)	-	-	-	-	$\leq 0,1$	-
Abbauprodukt 5 ($R_f=0,74$)	-	-	-	-	-	-

ACN-Extrakt	Anteil an applizierter Radioaktivität [%]					
	Tag 1	Tag 7	Tag 14	Tag 49	Tag 84	Tag 124
Startaktivität	0,8	0,5	0,2	0,2	0,2	0,2
Abbauprodukt 1 ($R_f=0,12$)	-	0,3	0,4	0,7	0,3	0,2
Abbauprodukt 2 ($R_f=0,24$)	-	-	-	$\leq 0,1$	-	-
Abbauprodukt 3 ($R_f=0,49$)	-	-	0,8	-	0,4	-
DA^+ ($R_f=0,53$)	3,7	2,3	0,9	0,3	0,2	0,3
Abbauprodukt 4 ($R_f=0,63$)	-	-	-	-	-	$\leq 0,1$
Abbauprodukt 5 ($R_f=0,74$)	-	-	-	-	-	$\leq 0,1$

Soxhlet-Extrakt	Anteil an applizierter Radioaktivität [%]					
	Tag 1	Tag 7	Tag 14	Tag 49	Tag 84	Tag 124
Startaktivität	2,0	0,5	0,2	1,4	0,3	0,2
Abbauprodukt 1 ($R_f=0,12$)	-	-	-	0,3	-	-
Abbauprodukt 2 ($R_f=0,24$)	-	-	-	-	-	-
Abbauprodukt 3 ($R_f=0,49$)	-	-	0,2	-	-	-
DA^+ ($R_f=0,53$)	15,8	7,3	3,9	3,2	2,4	2,2
Abbauprodukt 4 ($R_f=0,63$)	-	-	-	-	0,3	0,3
Abbauprodukt 5 ($R_f=0,74$)	-	-	-	-	0,2	$\leq 0,1$

A.8 LC-MS/MS-Analyse DS⁻

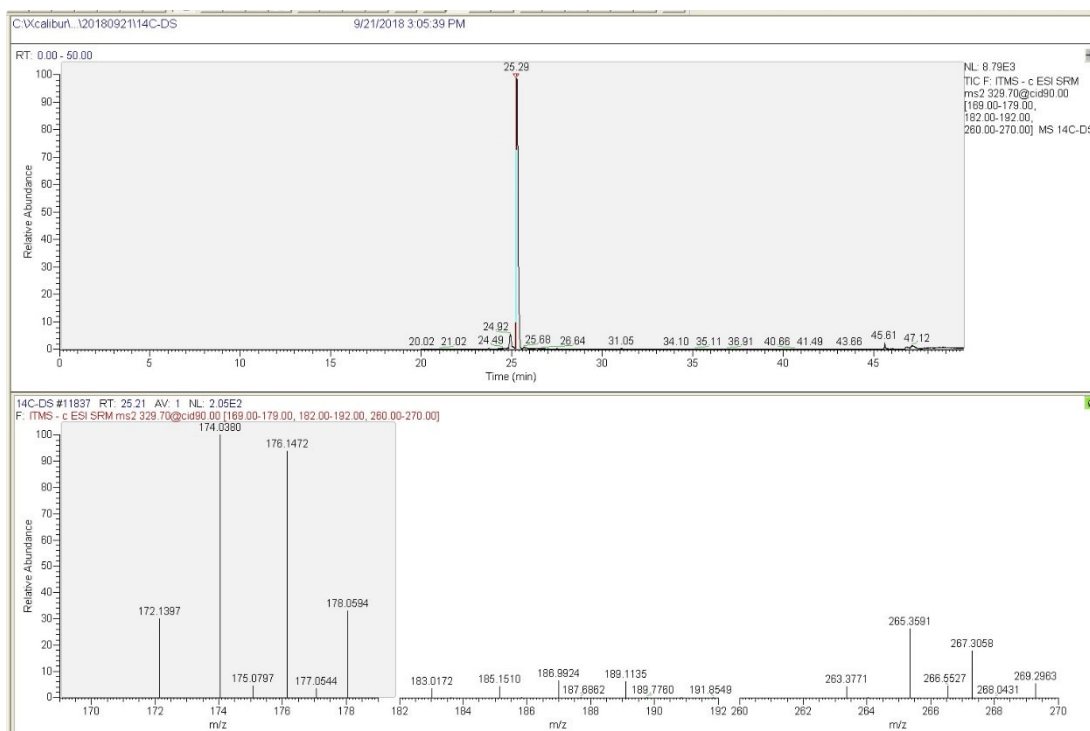


Abbildung 0.2: LC-MS/MS-Analyse der Referenzsubstanz ¹⁴C-DS⁻.

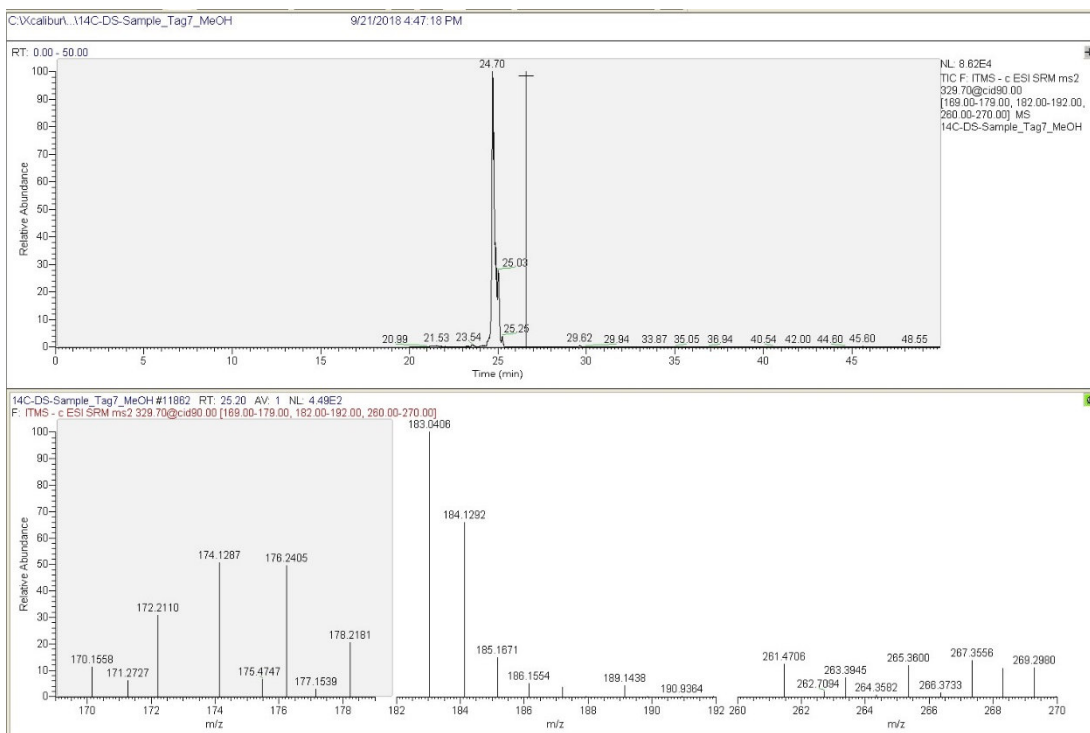


Abbildung 0.3: LC-MS/MS-Analyse der vereinte Probe der MeOH-Extrakte DS⁻ Tag 7.

A.9 Chromatogramm Silylierungsextrakt ^{14}C -DP

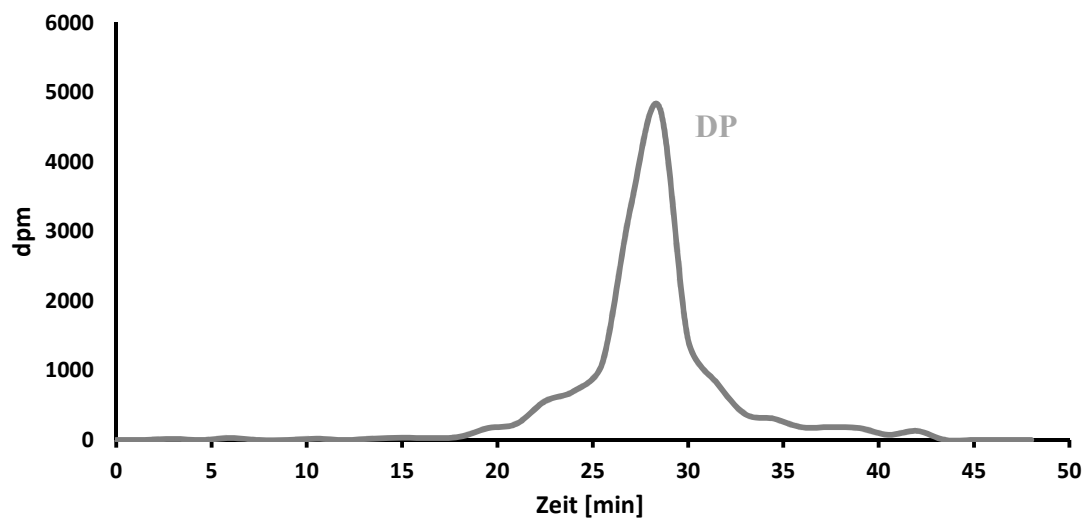


Abbildung 0.4: HPLC-Radio-Chromatogramm des Extraktes nach Silylierung mit extrahiertem Boden inkubiert mit ^{14}C -DP für 7 Tage. Das radioaktive Signal konnten mit ^{14}C -DP als Referenzsubstanz co-chromatographisch als DP identifiziert werden.

A.10 Chromatogramm Silylierungsextrakt $^{14}\text{C-DS}^-$ und $^{14}\text{C-DA}^+$

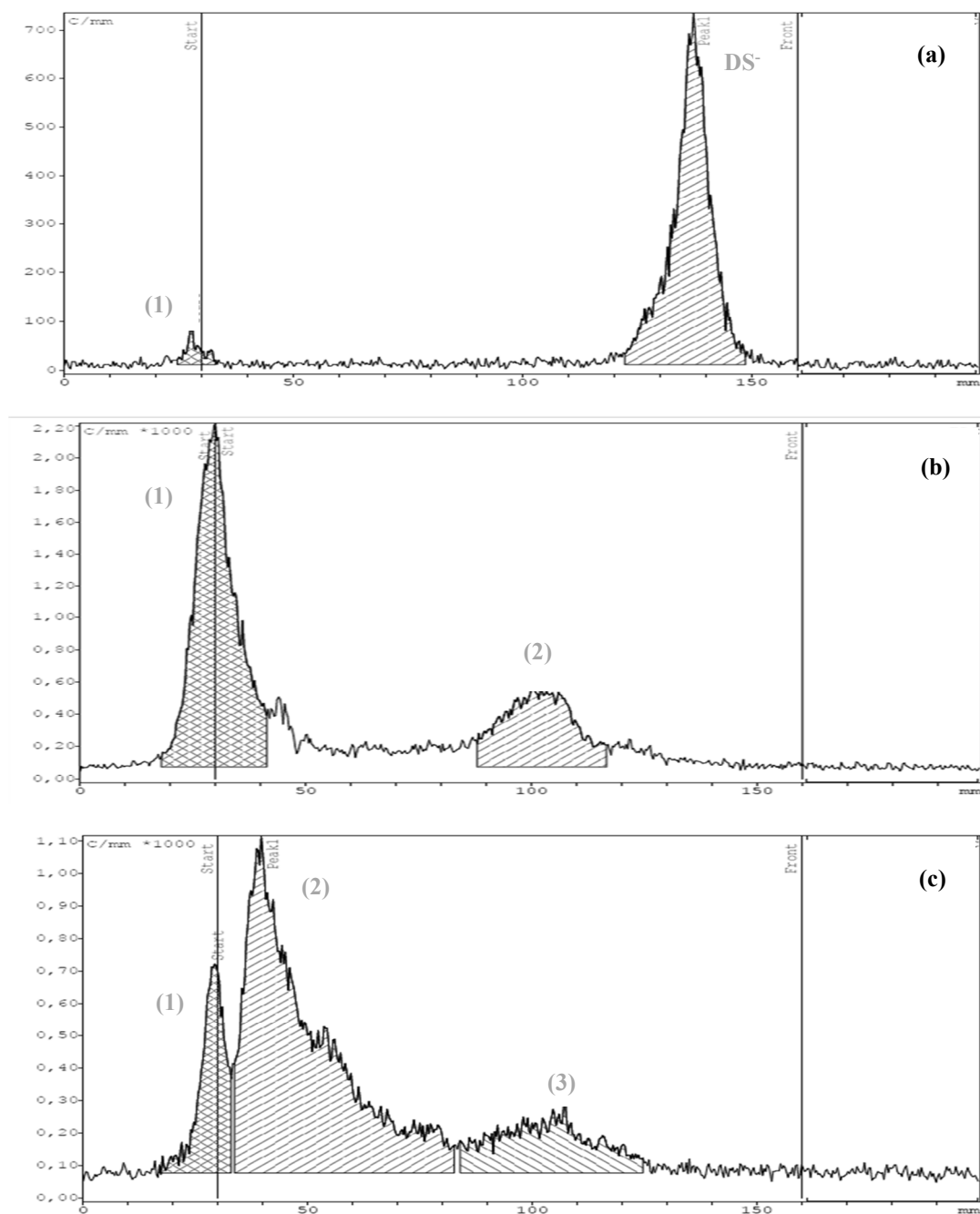


Abbildung 0.5: DC-Radio-Chromatogramm der Extrakte nach Silylierung mit $^{14}\text{C-DS}^-$ ohne Boden (a) und extrahiertem Boden inkubiert mit $^{14}\text{C-DS}^-$ für 7 Tage (b) und 84 Tage (c). Die radioaktiven Signale konnten mit $^{14}\text{C-DS}^-$ als Referenzsubstanz co-chromatographisch als DS^- , zwei Abbauprodukten (2, 3) und nicht weiter identifizierbare Startaktivität (1) identifiziert werden.

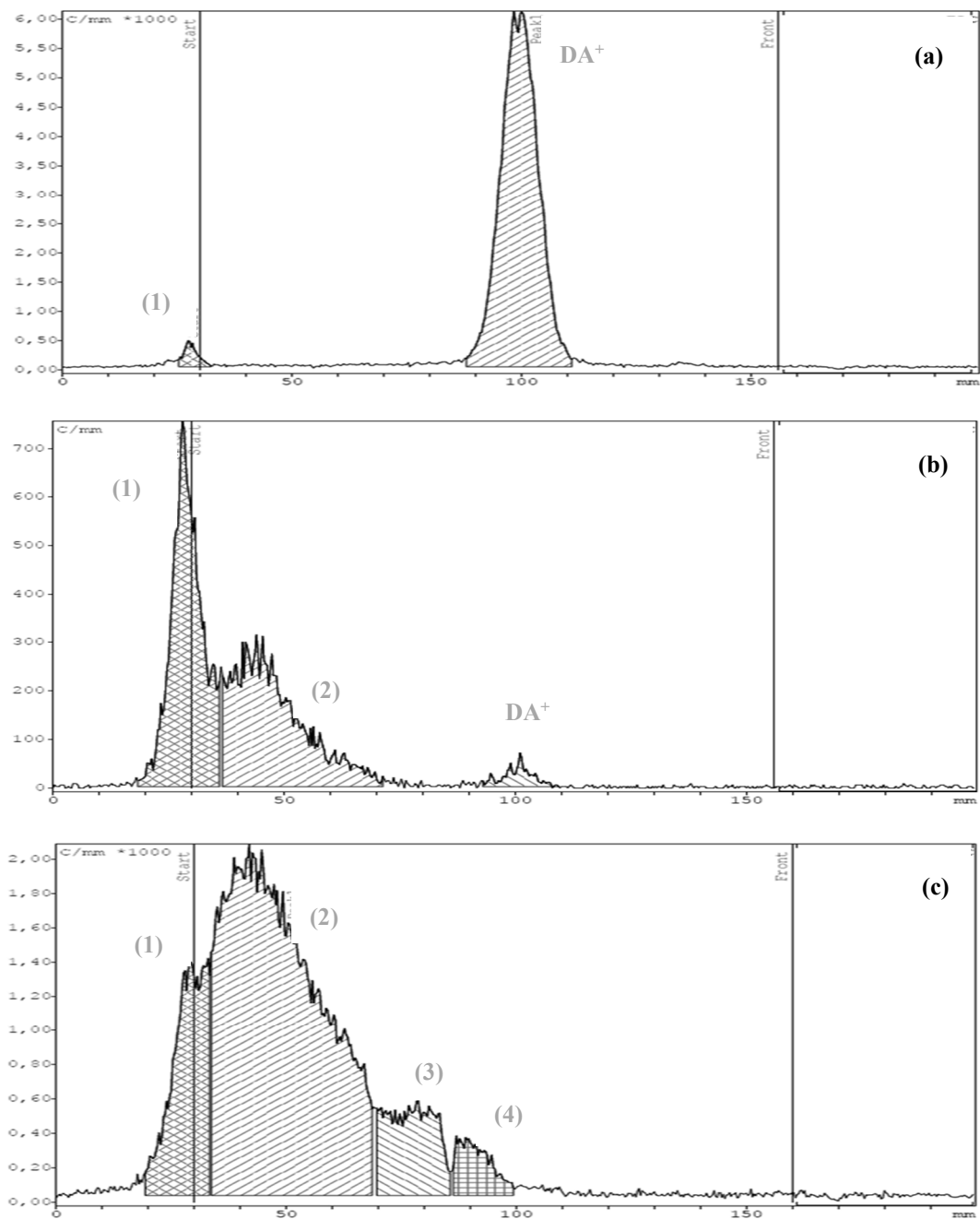


Abbildung 0.6: DC-Radio-Chromatogramm der Extrakte nach Silylierung mit ^{14}C - DA^+ ohne Boden (a) und extrahiertem Boden inkubiert mit ^{14}C - DA^+ für 7 Tage (b) und 84 Tage (c). Die radioaktiven Signale konnten mit ^{14}C - DA^+ als Referenzsubstanz co-chromatographisch als DA^+ , drei Abbauprodukte (2, 3, 4) und nicht weiter identifizierbare Startaktivität (1) identifiziert werden.

A.11 Wiederfindung der Nicht-extrahierbaren Rückstände von $^{14}\text{C-DP}$, $^{14}\text{C-DS}^-$ und $^{14}\text{C-DA}^+$

Tabelle 0.11: Verteilung der als NER applizierten Radioaktivität von $^{14}\text{C-DP}$ an Tag 7 und 84 auf mineralisierte, flüchtige, extrahierbare und nicht-extrahierbare Anteile nach 54 Tagen Inkubation. Daten sind dargestellt als Mittelwert (MV; n=3) mit Standardabweichung (ST) (Konfidenzintervall $\alpha=0,05$; - = nicht bestimmt).

Anteil an applizierter Radioaktivität [%]	Tag 7		Tag 84	
	MV	ST	MV	ST
mineralisiert	7,7	0,2	6,2	0,6
flüchtig	0,0	0,0	0,0	0,0
extrahierbar	1,7	0,1	1,6	0,1
nicht-extrahierbar	29,9	1,8	31,2	2,6
Summe	39,3	2,1	39,0	3,3

Tabelle 0.12: Verteilung der als NER applizierten Radioaktivität von $^{14}\text{C-DS}^-$ an Tag 7 und 84 auf mineralisierte, flüchtige, extrahierbare und nicht-extrahierbare Anteile nach 54 Tagen Inkubation. Daten sind dargestellt als Mittelwert (MV; n=3) mit Standardabweichung (ST) (Konfidenzintervall $\alpha=0,05$; - = nicht bestimmt).

Anteil an applizierter Radioaktivität [%]	Tag 7		Tag 84	
	MV	ST	MV	ST
mineralisiert	10,7	0,1	5,8	0,4
flüchtig	0,0	0,0	0,0	0,0
extrahierbar	1,3	0,0	1,3	0,0
nicht-extrahierbar	17,3	1,3	16,4	2,5
Summe	29,3	1,4	23,5	2,9

Tabelle 0.13: Verteilung der als NER applizierten Radioaktivität von $^{14}\text{C-DA}^+$ an Tag 7 und 84 auf mineralisierte, flüchtige, extrahierbare und nicht-extrahierbare Anteile nach 54 Tagen Inkubation. Daten sind dargestellt als Mittelwert (MV; n=3) mit Standardabweichung (ST) (Konfidenzintervall $\alpha=0,05$; - = nicht bestimmt).

Anteil an applizierter Radioaktivität [%]	Tag 7		Tag 84	
	MV	ST	MV	ST
mineralisiert	10,3	0,2	10,1	1,7
flüchtig	0,0	0,0	0,0	0,0
extrahierbar	8,7	0,2	3,3	0,1
nicht-extrahierbar	17,2	0,8	19,8	0,8
Summe	36,2	1,2	33,2	2,6

Beiträge zu Veröffentlichungen und Kapitel

Veröffentlichungen in Fachzeitschriften:

Claßen, D., J. Ackermann, S. Brendel (2016). "Bewertung persistenter, bioakkumulierender und toxischer Eigenschaften von ionischen und ionisierbaren Stoffen." Mitt Umweltchem Ökotox 2: 33-36.

DC, JA und SB haben die Daten ausgewertet und das Manuskript geschrieben. JA hat die Überarbeitung des Manuskripts übernommen. Alle Autoren haben das Manuskript gelesen und zugestimmt.

Claßen, D., M. Siedt, K. T. Nguyen, J. Ackermann, A. Schäffer (2019): "Formation, Classification and Identification of Non-Extractable Residues of ^{14}C -Labelled Ionic Compounds in Soil." Chemosphere, 232, 164-170.

DC hat die Studie entworfen. DC, MS und KN haben die Experimente durchgeführt. DC hat die Daten ausgewertet und das Manuskript geschrieben. AS und JA haben die Überarbeitung des Manuskripts übernommen. Alle Autoren haben das Manuskript gelesen und zugestimmt.

Kapitel:

1 Einleitung

DC hat Konzept für Kapitel entworfen und verfasst.

2 Material

DC hat Konzept für Kapitel entworfen und verfasst.

3 Methoden

DC hat Konzept für Kapitel entworfen und verfasst.

4 Ergebnisse und Diskussion

4.1.1 DC hat die Studie entworfen und die Experimente durchgeführt. DC hat die Daten ausgewertet und das Kapitel geschrieben.

4.1.2 DC hat die Studie entworfen und die Experimente durchgeführt. DC hat die Daten ausgewertet und das Kapitel geschrieben.

4.2.1 DC hat die Studie entworfen. Die Experimente wurden durch DC (95%) und KN (5%) durchgeführt. DC hat die Daten ausgewertet und das Kapitel geschrieben.

- 4.2.2 DC hat die Studie entworfen und die Experimente durchgeführt. DC hat die Daten ausgewertet und das Kapitel geschrieben.
- 4.3.1 DC hat die Studie entworfen. Die Experimente wurden durch DC (40%) und MS (60%) durchgeführt. DC hat die Daten ausgewertet und das Kapitel geschrieben.
- 4.3.2 DC hat die Studie entworfen und die Experimente durchgeführt. DC hat die Daten ausgewertet und das Kapitel geschrieben.
- 4.3.3 DC hat die Studie entworfen. Die Experimente wurden durch DC (30%) und GB (70%) durchgeführt. DC hat die Daten ausgewertet und das Kapitel geschrieben.

5 Zusammenführende Diskussion

DC hat Konzept für Kapitel entworfen und verfasst.

6 Zusammenfassung und Ausblick

DC hat Konzept für Kapitel entworfen und verfasst.

7 Summary and Outlook

DC hat Konzept für Kapitel entworfen und verfasst.

Literaturverzeichnis

- Ahel, M., Scully, F. E., Hoigné, J., & Giger, W. (1994). Photochemical degradation of nonylphenol and nonylphenol polyethoxylates in natural waters. *Chemosphere*, 28(7), 1361-1368.
- Ahmed, F., & Ishiguro, M. (2015). Effect of adsorption site potential on adsorption of sodium dodecylbenzenesulfonate in highly humic volcanic ash soil. *SOIL SCI PLANT NUTR*, 61(3), 432-439.
- Alef, K., & Kleiner, D. (1989). Rapid and sensitive determination of microbial activity in soils and in soil aggregates by dimethylsulfoxide reduction. *Biol Fertil Soils*, 8(4), 349-355.
- Alef, K., & Nannipieri, P. (1995). *Methods in applied soil microbiology and biochemistry*: Academic Press.
- Alexander, M. (1994). *Biodegradation and Bioremediation*. Academic Press, San Diego.
- Bailey, G. W., & White, J. L. (1964). Review of Adsorption and Desorption of Organic Pesticides by Soil Colloids with Implications concerning Pesticide Bioactivity. *J Agric Food Chem*, 12(4), 324-332.
- Ball, W. P., & Roberts, P. V. (1991). Long-term sorption of halogenated organic chemicals by aquifer material. 2. Intraparticle diffusion. *Environ Sci Technol*, 25(7), 1237-1249.
- Barracough, D., Kearney, T., & Croxford, A. (2005). Bound residues: environmental solution or future problem? *Environ Pollut*, 133(1), 85-90.
- Barriuso, E., Benoit, P., & Dubus, I. G. (2008). Formation of Pesticide Nonextractable (Bound) Residues in Soil: Magnitude, Controlling Factors and Reversibility. *Environ Sci Technol*, 42(6), 1845-1854.
- Benoit, P., & Barriuso, E. (1997). Fate of ¹⁴C-ring-labeled 2,4-D, 2,4-Dichlorophenol and 4-Chlorophenol during Straw Composting. *Biol Fertil Soils*, 25, 53-59.
- Berns, A., Vinken, R., Bertmer, M., Breitschwerdt, A., & Schäffer, A. (2005). Use of ¹⁵N-depleted artificial compost in bound residue studies. *Chemosphere*, 59(5), 649-658.
- Blair, R. M., Fang, H., Branham, W. S., Hass, B. S., Dial, S. L., Moland, C. L., Tong, W., Shi, L., Perkins, R., & Sheehan, D. M. (2000). The Estrogen Receptor Relative Binding Affinities of 188 Natural and Xenochemicals: Structural Diversity of Ligands. *Tox Sci*, 54(1), 138-153.
- Bliefert, C. (2012). *Umweltchemie*: John Wiley & Sons.
- Boesten, J. J. T. I. (2016). Proposal for field-based definition of soil bound pesticide residues. *Sci Total Environ*, 544, 114-117.
- Boivin, A., Amellal, S., Schiavon, M., & van Genuchten, M. T. (2005). 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) sorption and degradation dynamics in three agricultural soils. *Environ Pollut*, 138(1), 92-99.
- Bollag, J.-M., Myers, C. J., & Minard, R. D. (1992). Biological and chemical interactions of pesticides with soil organic matter. *Sci Total Environ*, 123-124, 205-217.
- Bosma, T. N. P., Middeldorp, P. J. M., Schraa, G., & Zehnder, A. J. B. (1997). Mass Transfer Limitation of Biotransformation: Quantifying Bioavailability. *Environ Sci Technol*, 31(1), 248-252.

- Botterweck, J., Claßen, D., Zegarski, T., Gottfroh, C., Kalathoor, R., Schäffer, A., Schwarzbauer, J., & Schmidt, B. (2014). A correlation between the fate and non-extractable residue formation of C-metalaxyl and enzymatic activities in soil. *J Environ Sci Health B*, 49(2), 69-78.
- Brady, N. C., & Weil, R. R. (1984). *The Nature and Properties of Soils*. New York: Macmillan.
- Breitschwerdt, A. (2004). Remobilisierung nichtextrahierbarer Simazin-Rückstände im Boden. *Shaker*.
- Brooke, D., Mitchell, R., & Watts, C. (2007). Environmental Risk Evaluation Report: para-C12-alkylphenols (Dodecylphenol and Tetrapropenylphenol).
- Calderbank, A. (1989). The Occurrence and Significance of Bound Pesticide Residues in Soil. In G. W. Ware (Ed.), *Rev Environ Contam T* (pp. 71-103). New York, NY: Springer New York.
- Calvet, R. (1989). Adsorption of organic chemicals in soils. *Environ Health Perspect*, 83, 145-177.
- CEC. (1997). EC Draft Guidance Document 9188/VI/97, Persistence in soil. Commission of the European Communities, Directorate-General for Agriculture, Brussels, Belgium, DG VI B II-1.
- Celis, R., Koskinen, W. C., Cecchi, A. M., Bresnahan, G. A., Carrisoza, M. J., Ulibarri, M. A., Pavlovic, I., & Hermosin, M. C. (1999). Sorption of the ionizable pesticide imazamox by organo-clays and organohydrotalcites. *J Environ Sci Health B*, 34(6), 929-941.
- Chang, B. V., Chiang, B. W., & Yuan, S. Y. (2007). Biodegradation of nonylphenol in soil. *Chemosphere*, 66(10), 1857-1862.
- Claßen, D., Ackermann, J., & Brendel, S. (2016). Bewertung persistenter, bioakkumulierender und toxischer Eigenschaften von ionischen und ionisierbaren Stoffen. *Mitt Umweltchem Ökotox*, 2, 33-36.
- Conkle, J. L., Lattao, C., White, J. R., & Cook, R. L. (2010). Competitive sorption and desorption behavior for three fluoroquinolone antibiotics in a wastewater treatment wetland soil. *Chemosphere*, 80(11), 1353-1359.
- Corvini, P. F. X., Schäffer, A., & Schlosser, D. (2006). Microbial degradation of nonylphenol and other alkylphenols—our evolving view. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 72(2), 223-243.
- Craven, A. (2000). Bound residues of organic compounds in the soil: the significance of pesticide persistence in soil and water: a European regulatory view. *Environ Pollut*, 108(1), 15-18.
- Cycoń, M., Lewandowska, A., & Piotrowska-Seget, Z. (2012). Mineralization Dynamics of Chlormequat Chloride (CCC) in Soils of Different Textures. *Pol J Environ Stud*, 21(3), 595-602.
- Dao, T. H., & Unger, P. W. (1995). *Agronomic Practices in Relation to Soil Amendments and Pesticides* (J. E. Rechcigl Ed.): Lewis Publisher, Boca Raton, London, New York, Washington D.C.
- Dec, J., & Bollag, J.-M. (2000). Phenoloxidase-Mediated Interactions of Phenols and Anilines with Humic Materials. *J Environ Qual*, 29(3), 665-676.

- Domsch, K. H. (1992). *Pestizide im Boden: Mikrobieller Abbau und Nebenwirkungen auf Mikroorganismen*: Verlag Chemie, Weinheim.
- Droge, S. T. J., & Goss, K.-U. (2013). Sorption of Organic Cations to Phyllosilicate Clay Minerals: CEC-Normalization, Salt Dependency, and the Role of Electrostatic and Hydrophobic Effects. *Environ Sci Technol*, 47(24), 14224-14232.
- Dubroca, J., Brault, A., Kollmann, A., Touton, I., Jolival, C., Kerhoas, L., & Mougin, C. (2005). Biotransformation of nonylphenol surfactants in soils amended with contaminated sewage sludges. *Environ Chem*, 305-315.
- Dubus, I. G., Barriuso, E., & Calvet, R. (2001). Sorption of weak organic acids in soils: clofencet, 2,4-D and salicylic acid. *Chemosphere*, 45(6-7), 767-774.
- Düring, R.-A., Krahe, S., & Gäth, S. (2002). Sorption behaviour of Nonylphenol in terrestrial soils. *Environ Sci Technol*, 36, 4052-4057.
- ECETOC. (2013a). Environmental Exposure Assessment of Ionisable Organic Compounds.
- ECETOC. (2013b). Understanding the relationship between extraction technique and bioavailability.
- ECHA. (2017). Guidance on Information Requirements and Chemical Safety Assessment. Chapter R.11: PBT/vPvB assessment.
- Eschenbach, A., & Oing, K. (2013). Erarbeitung eines gestuften Extraktionsverfahrens zur Bewertung gebundener Rückstände, Gutachten. Dessau-Roßlau: Umweltbundesamt.
- Eschenbach, A., Wienberg, R., & Mahro, B. (1998). Fate and Stability of Nonextractable Residues of [¹⁴C]PAH in Contaminated Soils under Environmental Stress Conditions. *Environ Sci Technol*, 32(17), 2585-2590.
- FOCUS. (2006). Guidance Document on Estimating Persistence and Degradation Kinetics from Environmental Fate Studies on Pesticides in EU Registration.
- Franco, A., Ferranti, A., Davidsen, C., & Trapp, S. (2010). An unexpected challenge: ionizable compounds in the REACH chemical space. *I J Life Cycle Assess*, 15(4), 321-325.
- Friedel, J. K., & Scheller, E. (2002). Composition of hydrolysable amino acids in soil organic matter and soil microbial biomass. *Soil Biol Biochem*, 34(3), 315-325.
- Führ, F., Ophoff, H., Burauel, P., Wanner, U., & Haider, K. (1998). *Modification of definition of bound residues*. Weinheim, Germany: Wiley-VCH.
- Fytianos, K., Voudrias, E., & Papamichali, A. (1998). Behavior and fate of linear alkylbenzene sulfonate in different soils. *Chemosphere*, 36(13), 2741-2746.
- García, M. T., Campos, E., Sanchez-Leal, J., & Ribosa, I. (1999). Effect of the alkyl chain length on the anaerobic biodegradability and toxicity of quaternary ammonium based surfactants. *Chemosphere*, 38(15), 3473-3483.
- García, M. T., Ribosa, I., Guindulain, T., Sanchez-Leal, J., & Vives-Rego, J. (2001). Fate and effect of monoalkyl quaternary ammonium surfactants in the aquatic environment. *Environ Pollut*, 111(1), 169-175.
- Gejlsbjerg, B., Madsen, T., & Thorup Andersen, T. (2003). Comparison of biodegradation of surfactants in soils and sludge-soil mixtures by use of ¹⁴C-labelled compounds and automated respirometry. *Chemosphere*, 50(3), 321-331.

- Gevao, B., Semple, K. T., & Jones, K. C. (2000). Bound pesticide residues in soils: a review. *Environ Pollut*, 108(1), 3-14.
- Gianfreda, L., Iamarino, G., Scelza, R., & Rao, M. A. (2006). Oxidative catalysts for the transformation of phenolic pollutants: a brief review. *Biocatal Biotransformation*, 24(3), 177-187.
- Giger, W., Brunner, P. H., & Schaffner, C. (1984). 4-Nonylphenol in sewage sludge: accumulation of toxic metabolites from nonionic surfactants. *Science*, 225(4662), 623-625.
- Giolando, S. T., Rapaport, R. A., Larson, R. J., Federle, T. W., Stalmans, M., & Masscheleyn, P. (1995). Environmental fate and effects of DEEDMAC: A new rapidly biodegradable cationic surfactant for use in fabric softeners. *Chemosphere*, 30(6), 1067-1083.
- Girardi, C., Nowak, K. M., Carranza-Diaz, O., Lewkow, B., Miltner, A., Gehre, M., Schäffer, A., & Kästner, M. (2013). Microbial degradation of the pharmaceutical ibuprofen and the herbicide 2,4-D in water and soil — Use and limits of data obtained from aqueous systems for predicting their fate in soil. *Sci Total Environ*, 444, 32-42.
- Gisi, U. (1997). *Bodenökologie*: Georg Thieme Verlag.
- Guo, L., Jury, W. A., Wagenet, R. J., & Flury, M. (2000). Dependence of pesticide degradation on sorption: nonequilibrium model and application to soil reactors. *J Contam Hydrol*, 43, 45-62.
- Haider, K., Spiteller, M., Dec, J., & Schäffer, A. (2000). Silylation of soil organic matter extraction of humic compounds and soil-bound residues. *Soil biochemistry*, 10, 139-170.
- Hatcher, P. G., Bortlatynski, J. M., Mlnard, R. D., Dec, J., & Bollag, J.-M. (1993). Use of High-Resolution ¹³C NMR To Examine the Enzymatic Covalent Binding of ¹³C-Labeled 2,4-Dichlorophenol to Humic Substances. *Environ Sci Technol*, 27, 2098-2103.
- Hatzinger, P. B., & Alexander, M. (1995). Effect of Aging of Chemicals in Soil on Their Biodegradability and Extractability. *Environ Sci Technol*, 29(2), 537-545.
- Hayes, M. H. B., & Mingelgrin, U. (1991). Interactions between Small Organic Chemicals and Soil Colloidal Constituents. In G. H. Bolt, M. F. De Boodt, M. H. B. Hayes, M. B. McBride & E. B. A. De Strooper (Eds.), *Interactions at the Soil Colloid — Soil Solution Interface* (pp. 323-407). Dordrecht: Springer Netherlands.
- Hintermaier-Erhard, G., & Zech, W. (1997). *Wörterbuch der Bodenkunde: Systematik, Genese, Eigenschaften, Ökologie und Verbreitung von Böden*. Stuttgart: Enke Ferdinand.
- Holysh, M., Paterson, S., Mackay, D., & Bandurraga, M. M. (1986). Assessment of the environmental fate of linear alkylbenzenesulphonates. *Chemosphere*, 15(1), 3-20.
- Houba, V. J. G., Temminghoff, E. J. M., Gaikhorst, G. A., & van Vark, W. (2000). Soil analysis procedures using 0.01 M calcium chloride as extraction reagent. *Commun Soil Sci Plant Anal*, 31(9-10), 1299-1396.
- Inoue, K., Kaneko, K., & Yoshida, M. (1978). Adsorption of dodecylbenzenesulfonates by soil colloids and influence of soil colloids on their degradation. *SOIL SCI PLANT NUTR*, 24 (1), 91-102.

- Jablonowski, N. D., Modler, J., Schaeffer, A., & Burauel, P. (2008). Bioaccessibility of Environmentally Aged ¹⁴C-Atrazine Residues in an Agriculturally Used Soil and Its Particle-Size Aggregates. *Environ Sci Technol*, 42(16), 5904-5910.
- Jensen, J. (1999). Fate and effects of linear alkylbenzene sulphonates (LAS) in the terrestrial environment. *Sci Total Environ*, 226(2-3), 93-111.
- Jensen, P. H., Hansen, H. C. B., Rasmussen, J., & Jacobsen, O. S. (2004). Sorption-Controlled Degradation Kinetics of MCPA in Soil. *Environ Sci Technol*, 38(24), 6662-6668.
- Jöhncke, U. (2018). Interpretation of non-extractable residues (NERs) in the persistence assessment. *SETAC Europe 28rd Annual Meeting, May 13-17, Rome, Italy*.
- Jones-Hughes, T., & Turner, A. (2005). Sorption of ionic surfactants to estuarine sediment and their influence on the sequestration of phenanthrene. *Environ Sci Technol*, 39(6), 1688-1697.
- Junge, T., Meyer, K. C., Ciecieski, K., Adams, A., Schäffer, A., & Schmidt, B. (2011). Characterization of non-extractable ¹⁴C- and ¹³C-sulfadiazine residues in soil including simultaneous amendment of pig manure. *J Environ Sci Health B*, 46(2), 137-149.
- Kah, M., Beulke, S., & Brown, C. D. (2007). Factors Influencing Degradation of Pesticides in Soil. *J Agric Food Chem*, 55(11), 4487-4492.
- Kah, M., & Brown, C. D. (2006). Adsorption of Ionisable Pesticides in Soils. *Rev Environ Contam T*, 188, 149-217.
- Kah, M., & Brown, C. D. (2007). Prediction of the Adsorption of Ionizable Pesticides in Soils. *J Agric Food Chem*, 55(6), 2312-2322.
- Karickhoff, S. W. (1981). Semi-empirical estimation of sorption of hydrophobic pollutants on natural sediments and soils. *Chemosphere*, 10(8), 833-846.
- Kästner, M., Nowak, K. M., Miltner, A., & Schäffer, A. (2016). (Multiple) Isotope probing approaches to trace the fate of environmental chemicals and the formation of non-extractable 'bound' residues. *Curr Opin Biotech*, 41, 73-82.
- Kästner, M., Nowak, K. M., Miltner, A., Trapp, S., & Schäffer, A. (2014). Classification and Modelling of Nonextractable Residue (NER) Formation of Xenobiotics in Soil – A Synthesis. *Crit Rev Environ Sci Tec*, 44(19), 2107-2171.
- Kästner, M., Trapp, S., & Schaeffer, A. (2018). Consultancy services to support ECHA in improving the interpretation of Non-Extractable Residues (NER) in degradation assessment.
- Kenaga, E. E. (1980). Predicted bioconcentration factors and soil sorption coefficients of pesticides and other chemicals. *Ecotoxicol Environ Saf*, 4(1), 26-38.
- Klein, W., & Scheunert, I. (1982). *Bound pesticide residues in soil, plants and food with particular emphasis on the application of nuclear techniques*. Paper presented at the Agrochemicals: Fate in Food and the Environment using isotope techniques, Rom.
- Knaebel, D., Federle, T. W., McAvoy, C. D., & Vestal, J. R. (1994). Effect of Mineral and Organic Soil Constituents on Microbial Mineralization of Organic Compounds in a Natural Soil. *Appl Environ Microbiol*, 60(12), 4500-4508.
- Knaebel, D. B., Federle, T. W., McAvoy, D. C., & Vestal, J. R. (1996). Microbial mineralization of organic compounds in an acidic agricultural soil: Effects of

- preadsorption to various soil constituents. *Environ Toxicol Chem*, 15(11), 1865-1875.
- Lashermes, G., Barriuso, E., & Houot, S. (2012). Dissipation pathways of organic pollutants during the composting of organic wastes. *Chemosphere*, 87(2), 137-143.
- Lewandowski, J., Leitschuh, S., & Koß, V. (1997). *Schadstoffe im Boden: Eine Einführung in Analytik und Bewertung*. Berlin, Heidelberg, New York, Wien, Barcelona, Budapest, Paris, Singapore, Tokyo Springer.
- Li, F., Wang, J., Jiang, B., Yang, X., Nastold, P., Kolvenbach, B., Wang, L., Ma, Y., Corvini, P. F.-X., & Ji, R. (2015). Fate of Tetrabromobisphenol A (TBBPA) and Formation of Ester- and Ether-Linked Bound Residues in an Oxic Sandy Soil. *Environ Sci Technol*, 49(21), 12758-12765.
- Li, X., Luo, X., Mai, B., Liu, J., Chen, L., & Lin, S. (2014). Occurrence of quaternary ammonium compounds (QACs) and their application as a tracer for sewage derived pollution in urban estuarine sediments. *Environ Pollut*, 185, 127-133.
- Liu, J., Wang, Y., Jiang, B., Wang, L., Chen, J., Guo, H., & Ji, R. (2013). Degradation, Metabolism, and Bound-Residue Formation and Release of Tetrabromobisphenol A in Soil during Sequential Anoxic–Oxic Incubation. *Environ Sci Technol*, 47(15), 8348-8354.
- Loibner, A., Jensen, J., Laak, T. T., Celis, R., & Hartnik, T. (2006). Sorption and ageing of soil contamination. In J. Jensen & M. Mesman (Eds.), *Ecological risk assessment of contaminated land* (pp. 19-29).
- Mackay, D., Shiu, W.-Y., Kuo-Ching Ma, K.-C., & Lee, S. C. (2006). *Handbook of Physical-Chemical Properties and Environmental Fate for Organic Chemicals* (2. Ed.): Taylor & Francis Group, Boca Raton.
- Manallack, D. T. (2009). The acid–base profile of a contemporary set of drugs: implications for drug discovery. *SAR QSAR Environ Res*, 20(7-8), 611-655.
- Marcomini, A., Capri, S., & Giger, W. (1987). Determination of Linear Alkylbenzenesulphonates, Alkylphenol Polyethoxylates and Nonylphenol in Waste Water by High-Performance Liquid Chromatography after Enrichment on Octadecylsilica. *J Chrom A*, 403(0), 243-252.
- Matthies, M., Solomon, K., Vighi, M., Gilman, A., & Tarazona, J. V. (2016). The origin and evolution of assessment criteria for persistent, bioaccumulative and toxic (PBT) chemicals and persistent organic pollutants (POPs). *Environ Sci Process*, 18(9), 1114-1128.
- McNamara, N. P., Black, H. I. J., Beresford, N. A., & Parekh, N. R. (2003). Effects of acute gamma irradiation on chemical, physical and biological properties of soils. *Appl Soil Ecol*, 24(2), 117-132.
- Mingelgrin, U., & Gerstl, Z. (1983). Reevaluation of Partitioning as a Mechanism of Nonionic Chemicals Adsorption in Soils. *J Environ Qual*, 12(1), 1-11.
- Mordaunt, C. J., Gevao, B., Jones, K. C., & Semple, K. T. (2005). Formation of non-extractable pesticide residues: observations on compound differences, measurement and regulatory issues. *Environ Pollut*, 133(1), 25-34.
- Mulder, I., Siemens, J., Sentek, V., Amelung, W., Smalla, K., & Jechalke, S. (2018). Quaternary ammonium compounds in soil: implications for antibiotic resistance development. *Rev Environ Sci Bio*, 17(1), 159-185.

- Neamțu, M., & Frimmel, F. H. (2006). Photodegradation of endocrine disrupting chemical nonylphenol by simulated solar UV-irradiation. *Sci Total Environ*, 369(1), 295-306.
- Nielsen, E., Østergaard, G., Thorup, I., Ladefoged, O., Jørgensen, O., & Jørgensen, J. E. (2000). Toxicological Evaluation and Limit Values for Nonylphenol, Nonylphenol Ethoxylates, Tricresyl, Phosphates and Benzoic Acid.
- Nomura, H. S., & Hilton, H. W. (1977). The Adsorption and Degradation of Glyphosate in Five Hawaiian Sugarcane Soils. *Weed Res*, 17, 113-121.
- Northcott, G. L., & Jones, K. C. (2000). Experimental approaches and analytical techniques for determining organic compound bound residues in soil and sediment. *Environ Pollut*, 108(1), 19-43.
- Nowak, K. M., Girardi, C., Miltner, A., Gehre, M., Schäffer, A., & Kästner, M. (2013). Contribution of microorganisms to non-extractable residue formation during biodegradation of ibuprofen in soil. *Sci Total Environ*, 445-446, 377-384.
- Nowak, K. M., Miltner, A., Gehre, M., Schäffer, A., & Kästner, M. (2011). Formation and Fate of Bound Residues from Microbial Biomass during 2,4-D Degradation in Soil. *Environ Sci Technol*, 45(3), 999-1006.
- OECD. (2000). OECD Guideline for Testing of Chemicals, OECD 106: Adsorption – Desorption using a Batch-Equilibrium Method. Paris: OECD.
- OECD. (2002). OECD Guideline for Testing of Chemicals, OECD 307: Aerobic and Anaerobic Transformation in Soil: OECD Paris
- Ou, Z., Yediler, A., Yaowu, H., Jia, L., Kettrup, A., & Sun, T. (1996). Adsorption of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) on soil. *Chemosphere*, 32(5), 827-839.
- Parlar, H., & Angerhöfer, D. (1995). *Chemische Ökotoxikologie*. Berlin, Heidelberg, New York, London, Paris, Tokyo, Hong Kong, Barcelona, Budapest Springer.
- Parvez, S. H., Reiss, C., Parvez, S., & Glabbe, G. (2001). *Molecular Responses to Xenobiotics*. Amsterdam: Elsevier Science.
- Patrauchan, M., & Oriol, P. (2003). Degradation of benzyldimethylalkylammonium chloride by *Aeromonas hydrophila* sp. K. *J Appl Microbiol*, 94(2), 266-272.
- Peijnenburg, W. J. G. M., Zablotskaja, M., & Vijver, M. G. (2007). Monitoring metals in terrestrial environments within a bioavailability framework and a focus on soil extraction. *Ecotoxicol Environ Saf*, 67(2), 163-179.
- Perotti, E., & Pidello, A. (1999). Effect of *Azospirillum brasilense* inoculation on urease activity in soil and gamma-sterilized soil. *Revista Argentina de microbiologia*, 31(1), 36-41.
- Pignatello, J. J., & Xing, B. (1996). Mechanisms of Slow Sorption of Organic Chemicals to Natural Particles. *Environ Sci Technol*, 30(1), 1-11.
- Poßberg, C., Schmidt, B., Nowak, K., Telscher, M., Lagojda, A., & Schaeffer, A. (2016). Quantitative Identification of Biogenic Nonextractable Pesticide Residues in Soil by ¹⁴C-Analysis. *Environ Sci Technol*, 50(12), 6415-6422.
- Racke, K. D., & Lichtenstein, E. P. (1985). Effects of soil microorganisms on the release of bound carbon-14 residues from soils previously treated with [¹⁴C] parathion. *J Agric Food Chem*, 33(5), 938-943.

- Rauert, C., Friesen, A., Hermann, G., Jöhncke, U., Kehrer, A., Neumann, M., Prutz, I., Schönfeld, J., Wiemann, A., Willhaus, K., Wöltjen, J., & Duquesne, S. (2014). Proposal for a harmonised PBT identification across different regulatory frameworks. *Environ Sci Eur*, 26(1), 9.
- Richnow, H. H., Annweiler, E., Koning, M., Lüth, J. C., Stegmann, R., Garms, C., Francke, W., & Michaelis, W. (2000). Tracing the transformation of labelled [1-¹³C]phenanthrene in a soil bioreactor. *Environ Pollut*, 108(1), 91-101.
- Rowell, D. L. (1994). *Bodenkundebuch-Untersuchungsmethoden und ihre Anwendungen*. Berlin; Heidelberg; New York; Barcelona; Budapest; Hongkong; London; Mailand; Paris; Santa Clara; Singapur; Tokio: Springer.
- Sarkar, B., Megharaj, M., Xi, Y., Krishnamurti, G. S. R., & Naidu, R. (2010). Sorption of quaternary ammonium compounds in soils: Implications to the soil microbial activities. *J Hazard Mater*, 184(1), 448-456.
- Sawhney, B. L., & Singh, S. S. (1997). Sorption of Atrazine by Al- and Ca-saturated smectite. *CLAY CLAY MINER*, 45(3), 333-338.
- Schäffer, A., Filser, J., Frische, T., Gessner, M., Köck, W., Kratz, W., Liess, M., Nuppenau, E.-A., Roß-Nickoll, M., & Schäfer, R. (2018a). Der stumme Frühling—Zur Notwendigkeit eines umweltverträglichen Pflanzenschutzes. *Deutsche Akademie der Naturforscher Leopoldina eV-Nationale Akademie der Wissenschaften*.
- Schäffer, A., Kästner, M., & Trapp, S. (2018b). A Unified Approach for including Non-Extractable Residues (NER) of Chemicals and Pesticides in the Assessment of Persistence. *Environ Sci Eur*, 30(1), 51.
- Schaffer, M., & Licha, T. (2014). A guideline for the identification of environmentally relevant, ionizable organic molecule species. *Chemosphere*, 103, 12-25.
- Scheringer, M. (1999). *Persistenz und Reichweite von Umweltchemikalien*. Weinheim, New York, Chichester, Brisbane, Singapore, Toronto: Wiley-VCH.
- Schwarzenbach, R. P., & Westall, J. (1981). Transport of nonpolar organic compounds from surface water to groundwater. Laboratory sorption studies. *Environ Sci Technol*, 15(11), 1360-1367.
- Scott, M. J., & Jones, N. J. (2000). The biodegradation of surfactants in the environment. *Biochim Biophys Acta*, 1508, 235-251.
- Scow, K. M., & Hutson, J. (1992). Effect of Diffusion and Sorption on the Kinetics of Biodegradation: Theoretical Considerations. *Soil Sci Soc Am J*, 56(1), 119-127.
- Semple, K. T., Doick, K. J., Jones, K. C., Burauel, P., Carven, A., & Harms, H. (2004). Defining bioavailability and bioaccessibility of contaminated soil and sediment is complicated. *Environ Sci Technol*, 228A-231A.
- Senesi, N. (1992). Binding mechanisms of pesticides to soil humic substances. *Sci Total Environ*, 123-124, 63-76.
- Shan, J., Jiang, B., Yu, B., Li, C., Sun, Y., Guo, H., Wu, J., Klumpp, E., Schäffer, A., & Ji, R. (2011). Isomer-Specific Degradation of Branched and Linear 4-Nonylphenol Isomers in an Oxidic Soil. *Environ Sci Technol*, 45(19), 8283-8289.
- Sixt, S. (1998). *Methoden zur Abschätzung umweltrelevanter physikalisch-chemischer und ökotoxikologischer Eigenschaften organischer Substanzen aus der Molekülstruktur*: Herbert Utz Verlag, München.

- Soares, A., Murto, M., Guieysse, B., & Mattiasson, B. (2006). Biodegradation of nonylphenol in a continuous bioreactor at low temperatures and effects on the microbial population. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 69(5), 597-606.
- Soulas, G. (1975). Influence du taux d'argile sur la persistance de l'atrazine dans le sol. 8e Conference COLUMA. *Journées d'Etudes sur/es Herbicides. Comptes Rendus, I*, 3-10.
- Telscher, M. J. H., Schuller, U., Schmidt, B., & Schäffer, A. (2005). Occurrence of a Nitro Metabolite of a Defined Nonylphenol Isomer in Soil/Sewage Sludge Mixtures. *Environ Sci Technol*, 39(20), 7896-7900.
- Terzić, S., Hršak, D., & Ahel, M. (1992). Primary biodegradation kinetics of linear alkylbenzene sulphonates in estuarine waters. *Water Res*, 26(5), 585-591.
- Tezel, U., Tandukar, M., Martinez, R. J., Sobecky, P. A., & Pavlostathis, S. G. (2012). Aerobic Biotransformation of n-Tetradecylbenzyltrimethylammonium Chloride by an Enriched *Pseudomonas* spp. Community. *Environ Sci Technol*, 46(16), 8714-8722.
- TGD. (2003). Technical guidance document on risk assessment in support of commission directive 93/67/EEC on risk assessment for new notified substances, Commission Regulation (EC) No 1488/94 on Risk Assessment for existing substances, and Directive 98/8/EC of the European Parliament and of the Council concerning the placing of biocidal products on the market. Part I-IV, European Chemicals Bureau (ECB), JRC-Ispra (VA), Italy, April 2003. *Part II. European Commission Joint Research Centre. EUR*, 20418.
- Tong, F., Gu, X., Gu, C., Xie, J., Xie, X., Jiang, B., Wang, Y., Ertunc, T., Schäffer, A., & Ji, R. (2016). Stimulation of Tetrabromobisphenol A Binding to Soil Humic Substances by Birnessite and the Chemical Structure of the Bound Residues. *Environ Sci Technol*, 50(12), 6257-6266.
- Topp, E., & Starratt, A. (2000). Rapid mineralization of the endocrine-disrupting chemical 4-nonylphenol in soil. *Environ Toxicol Chem*, 19(2), 313-318.
- Trapp, S., Brock, A. L., Nowak, K., & Kästner, M. (2018). Prediction of the Formation of Biogenic Nonextractable Residues during Degradation of Environmental Chemicals from Biomass Yields. *Environ Sci Technol*, 52(2), 663-672.
- Tülp, H. C., Fenner, K., Schwarzenbach, R. P., & Goss, K.-U. (2009). pH-Dependent Sorption of Acidic Organic Chemicals to Soil Organic Matter. *Environ Sci Technol*, 43(24), 9189-9195.
- van Wijk, D., Chénier, R., Henry, T., Hernando, M. D., & Schulte, C. (2009). Integrated Approach to PBT and POP Prioritization and Risk Assessment. *Integr Environ Assess Manag*, 5(4), 697-711.
- VCI. (2018). Chemiewirtschaft in Zahlen. In V. d. C. Industrie (Ed.).
- von Oepen, B., Kördel, W., & Klein, W. (1989). Soil preparation for the estimation of adsorption coefficients (K_{oc}) of organic chemicals. *Chemosphere*, 18(7), 1495-1511.
- von Oepen, B., Kördel, W., & Klein, W. (1991). Sorption of nonpolar and polar compounds to soil: processes, measurements and experience with the applicability of the modified OECD-Guideline 106. *Chemosphere*, 22(3-4), 285-304.

- Wang, J., & Wang, S. (2018). Activation of persulfate (PS) and peroxymonosulfate (PMS) and application for the degradation of emerging contaminants. *Chem Eng J*, 334, 1502-1517.
- Wang, S., Miltner, A., Kästner, M., Schäffer, A., & Nowak, K. M. (2017a). Transformation of metamitron in water-sediment systems: Detailed insight into the biodegradation processes. *Sci Total Environ*, 578, 100-108.
- Wang, S., Seiwert, B., Kästner, M., Miltner, A., Schäffer, A., Reemtsma, T., Yang, Q., & Nowak, K. M. (2016). (Bio)degradation of glyphosate in water-sediment microcosms – A stable isotope co-labeling approach. *Water Res*, 99, 91-100.
- Wang, S., Sun, F., Wang, Y., Wang, L., Ma, Y., Kolvenbach, B. A., Corvini, P. F. X., & Ji, R. (2017b). Formation, characterization, and mineralization of bound residues of tetrabromobisphenol A (TBBPA) in silty clay soil under oxic conditions. *Sci Total Environ*, 599-600, 332-339.
- Wang, Y., Xu, J., Shan, J., Ma, Y., & Ji, R. (2017c). Fate of phenanthrene and mineralization of its non-extractable residues in an oxic soil. *Environ Pollut*, 224, 377-383.
- Ward, T. E., & Larson, R. J. (1989). Biodegradation kinetics of linear alkylbenzene sulfonate in sludge-amended agricultural soils. *Ecotoxicol Environ Saf*, 17(1), 119-130.
- Wauchope, R. D., Yeh, S., Linders, J. B., Kloskowski, R., Tanaka, K., Rubin, B., Katayama, A., Kordel, W., Gerstl, Z., Lane, M., & Unsworth, J. B. (2002). Pesticide soil sorption parameters: theory, measurement, uses, limitations and reliability. *Pest Manag Sci*, 58(5), 419-445.
- Weber Jr, W. J., McGinley, P. M., & Katz, L. E. (1991). Sorption phenomena in subsurface systems: Concepts, models and effects on contaminant fate and transport. *Water Res*, 25(5), 499-528.
- Yadav, J., Lawrence, D., Nuck, B., Federle, T., & Reddy, C. A. (2001). Biotransformation of linear alkylbenzene sulfonate (LAS) by *Phanerochaete chrysosporium* : oxidation of alkyl side-chain. *Biodegradation*, 12(6), 443-453.
- Ying, G.-G., Williams, B., & Kookana, R. (2002). Environmental fate of alkylphenols and alkylphenol ethoxylates—a review. *Environ Int*, 28(3), 215-226.
- Ying, G. G. (2006). Fate, Behavior and Effects of Surfactants and Their Degradation Products in the Environment. *Environ Int*, 32(3), 417-431.
- Yuan, Y., Zhang, P., Schäffer, A., & Schmidt, B. (2017). 3,4-Dichloroaniline revisited: A study on the fate of the priority pollutant in a sediment-water system derived from a rice growing region in Italy. *Sci Total Environ*, 574, 1012-1020.
- Zhang, C., Cui, F., Zeng, G.-m., Jiang, M., Yang, Z.-z., Yu, Z.-g., Zhu, M.-y., & Shen, L.-q. (2015). Quaternary ammonium compounds (QACs): A review on occurrence, fate and toxicity in the environment. *Sci Total Environ*, 518-519, 352-362.

Eidesstattliche Erklärung

I, Daniela Claßen

erklärt hiermit, dass diese Dissertation und die darin dargelegten Inhalte die eigenen sind und selbstständig, als Ergebnis der eigenen originären Forschung, generiert wurden.

Hiermit erkläre ich an Eides statt

1. Diese Arbeit wurde vollständig oder größtenteils in der Phase als Doktorand dieser Fakultät und Universität angefertigt;
2. Sofern irgendein Bestandteil dieser Dissertation zuvor für einen akademischen Abschluss oder eine andere Qualifikation an dieser oder einer anderen Institution verwendet wurde, wurde dies klar angezeigt;
3. Wenn immer andere eigene- oder Veröffentlichungen Dritter herangezogen wurden, wurden diese klar benannt;
4. Wenn aus anderen eigenen- oder Veröffentlichungen Dritter zitiert wurde, wurde stets die Quelle hierfür angegeben. Diese Dissertation ist vollständig meine eigene Arbeit, mit der Ausnahme solcher Zitate;
5. Alle wesentlichen Quellen von Unterstützung wurden benannt;
6. Wenn immer ein Teil dieser Dissertation auf der Zusammenarbeit mit anderen basiert, wurde von mir klar gekennzeichnet, was von anderen und was von mir selbst erarbeitet wurde;
7. Teile dieser Arbeit wurden zuvor veröffentlicht und zwar in:

Claßen, D. (2015): "Problems when assessing the persistence of ionic or ionisable organic chemicals under REACH." Poster, 15th EuCheMS International Conference on Chemistry and the Environment, September 20-23, Leipzig, Germany.

Claßen, D., K. T. Nguyen, J. Ackermann, A. Schäffer (2018): "Assessment of the persistence of ionic or ionisable organic chemicals under REACH." Abstract WE055, SETAC Europe 28rd Annual Meeting, May 13-17, Rome, Italy.

Bode, G., D. Claßen, A. Schäffer (2018): „Remobilisierung nicht-extrahierbarer Rückstände ¹⁴C-markierter ionischer Chemikalien im Boden.“ Abstract Bod 9, Umwelt 2018, 09.-12. September, Münster, Deutschland.

Claßen, D., J. Ackermann, S. Brendel (2016). "Bewertung persistenter, bioakkumulierender und toxischer Eigenschaften von ionischen und ionisierbaren Stoffen." Mitt Umweltchem Ökotox 2: 33-36.

Claßen, D., M. Siedt, K. T. Nguyen, J. Ackermann, A. Schaeffer (2019): "Formation, Classification and Identification of Non-Extractable Residues of ¹⁴C-Labelled Ionic Compounds in Soil." Chemosphere, 232, 164-170.

Claßen, D., J. Ackermann, M. Siedt, A. Schäffer (2018): „NER-Bildung und Charakterisierung ¹⁴C-markierter, ionischer Stoffe im Boden.“ Abstract VBod4, Umwelt 2018, 09.-12. September, Münster, Deutschland.

10. Januar 2019

