



#DS2404

Abschlußbericht (1996)

BMBF-Verbundvorhaben: **„Biologische Sanierung von Rüstungsaltslasten“**

Teilvorhaben 6:

Dekontamination schadstoffbelasteter Böden mit Hilfe speziell selektierter Pflanzenarten bzw. -sorten mit hoher metabolischer Entgiftungskapazität

(FKZ: 14 50 85 8 3)

Laufzeit: 01.03.1993 - 29.02.1996
Projektleiter: Direktor u. Professor, Prof. Dr. Ulrich Burth
Projektbetreuer: Prof. Dr. Horst Lyr
Projektbearbeiter: Dr. Bernd Schönmath

Adresse: Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft
(BBA)
Institut für integrierten Pflanzenschutz, Kleinmachnow
Stahnsdorfer Damm 81
14532 KLEINMACHNOW
Tel.: 033 203 / 48-408 oder 48-204, Fax: 48-525

Zusammenfassung:

Screening-Versuche in Hydrokulturen und in Sandböden führten zur Auslese von Weiden- und Pappelklonen, die sich in ihrem Wachstum durch eine erhöhte Toleranz gegenüber 2,4,6-Trinitrotoluol (TNT) vor anderen Klonen auszeichnen.

In Gefäßversuchen, die sowohl in künstlich mit TNT kontaminiertem Sand als auch in tonreichem, TNT/ADNT-verseuchtem Altlastboden durchgeführt wurden, konnte nachgewiesen werden, daß im TNT-kontaminierten Boden durch die Bepflanzung mit Stecklingen von Weiden (*Salix*) oder Pappeln (*Populus*) eine schnellere Umsetzung des TNTs zu seinen primären Reduktionsprodukten 4-Amino-2,6-dinitrotoluol (4-ADNT) bzw. 2-Amino-4,6-dinitrotoluol (2-ADNT) erfolgt.

Neben einer signifikanten pflanzenbedingten Nitroaromatenabreicherung von Sand und Altlastboden läßt sich auch eine Nitroaromataufnahme – vorzugsweise als ADNT – durch die Gehölzpflanzen signifikant nachweisen.

Die Gehölze haben somit ein Sanierungspotential für TNT-kontaminierte Böden.



[DendroRem-Home](http://www.dendrorem-home.de)

Inhalt:

Abbildungsverzeichnis	3
Tabellenverzeichnis.....	3
Verzeichnis der GC-ECD-Chromatogramme	3
Abkürzungen	3
1. Problemstellung und Ziel	4
Problem	4
Ziel	5
2. Material und Methoden.....	6
Anzucht und Behandlung des Pflanzenmaterials.....	6
Pflanzenprobenahme	6
Extraktion der Pflanzenproben.....	6
Bodenproben	7
GC-Analyse.....	7
3. Ergebnisse und Diskussion	8
3.1. Screening des Wachstums auf TNT-Toleranz.....	8
Voruntersuchungen in Hydrokultur	8
TNT-Toleranz von Weiden und Pappeln in Sandkultur	8
3.2. Nachweis von Nitroaromaten in Böden und Gehölzpflanzen.....	10
3.3. Beprobung von Standortböden in Clausthal-Zellerfeld	12
4. Ausblick	13
Abschätzung der Dekontaminationspotenz von Gehölzen	13
Geplante Radiotracer-Untersuchungen.....	14
Entsorgungsproblematik bei Freiland-Untersuchungen.....	15
Resümee	16
5. Zitierte Literatur.....	17
Anhang: Abbildungen, und Tabellen und Chromatogramme	19



Abbildungsverzeichnis

ABB. 1:	SCHEMA DES MIKROBIELLEN ABBAUS VON TNT NACH FELLER 1992.....	19
ABB. 2:	TNT-TOLERANZ VON WEIDEN IN HYDROKULTUR.....	20
ABB. 3:	EINFLUß VON TNT AUF DAS WACHSTUM VON WEIDEN IN SANDKULTUR	21
ABB. 4:	EINFLUß VON TNT AUF DAS WACHSTUM VON PAPPELN IN SANDKULTUR	22
ABB. 5:	WURZELANALYSEN AUF NITROAROMATE BEI TNT-BEHANDELTEN WEIDEN UND PAPPELN	23
ABB. 6:	EIGNUNGSSCREENING FÜR NACHFOLGEVERSUCHE ZUR TNT-BEHANDLUNG	23
ABB. 7:	BEPFLANZUNGSEFFEKT AUF TNT-DOTIERTEN SAND UND AUF ALTLASTBODEN	26
ABB. 8:	TIEFEN- UND ANTEILSVERTEILUNG DER NITROAROMATEN AUF FLÄCHE 1	30
ABB. 9:	HORIZONTALE VERTEILUNG DER 4 HAUPTKONTAMINATEN AUF FLÄCHE 1	31

Tabellenverzeichnis

TAB. 1:	EINFLUß EINER BEPFLANZUNG MIT WEIDE UND PAPPEL AUF TNT-DOTIERTEN SAND.....	24
TAB. 2:	NACHWEIS VON TNT UND ADNTs IN WEIDEN UND PAPPELN NACH TNT-EXPOSITION	25
TAB. 3:	WURZELANALYSE VON SALIX UND <i>POPULUS</i> BEI VERSCHIEDENEN TNT-KONZENTRATIONEN ..	25
TAB. 4:	KONZENTRATIONEN VON TNT, 4-ADNT UND 2-ADNT IN ALTLASTBODEN	26
TAB. 5:	NACHWEIS VON TNT, 4-ADNT UND 2-ADNT IN SALIX EW-027 AUF ALTLASTBODEN.....	27
TAB. 6:	GEHALTE AN TNT, 4-ADNT UND 2-ADNT IN SALIX EW-027 UND ALTLASTBODEN	28
TAB. 7:	NITROAROMATENKONZENTRATIONEN VON BODENPROBEN DER „FLÄCHE 1“	29

Verzeichnis der GC-ECD-Chromatogramme

CHROM. 1:	<i>SALIX</i> EW-27, BLÄTTER (300 MG TS JE PROBE, N = 5).....	32
CHROM. 2:	<i>SALIX</i> EW-27, ZWEIGE (300 MG TS JE PROBE, N = 3)	33
CHROM. 3:	<i>SALIX</i> EW-27, STECKHOLZ-OBERTEIL (300 MG TS JE PROBE, N = 3)	34
CHROM. 4:	<i>SALIX</i> EW-27, STECKHOLZ-MITTELTEIL (300 MG TS JE PROBE, N = 5)	35
CHROM. 5:	<i>SALIX</i> EW-27, STECKHOLZ-UNTERTEIL (300 MG TS JE PROBE, N = 5)	36
CHROM. 6:	<i>SALIX</i> EW-27, WURZELN (100 MG TS JE PROBE, N = 5)	37

Abkürzungen

1.	2,6- Dinitrotoluol	2,6-DNT
2.	3,4- Dinitrotoluol	3,4-DNT
3.	2,4-Dinitrotoluol	2,4-DNT
4.	1,3,5-Trinitrobenzol	TNB
5.	2,4,6-Trinitrotoluol	TNT
6.	4-Monoamino-2,6-Dinitrotoluol	4-ADNT
7.	2-Monoamino-2,4-Dinitrotoluol	2-ADNT



[DendroRem-Home](#)

1. Problemstellung und Ziel

Problem

Das Problem der Konversion von ehemaligen Rüstungs- und Militärgeländen ist hinlänglich bekannt. Neben unmittelbarer Gesundheitsgefährdung durch Explosivkörper und dem Gefährdungspotential unspezifischer Verseuchungen, wie z.B. durch Mineralöle und Schwermetalle, sind es vor allem die rüstungsspezifischen Substanzen, die als Spreng- und Kampfstoffe humantoxisch und z.T. cancerogen im Boden lagern und durch Auswaschung das Trinkwasser bedrohen.

Fundorte sprengstoffspezifischer Verbindungen, wie Standorte der Sprengstofffabriken, Munitionsfüllstellen, Munitionslager, Delaborierungsstandorte, Bombenabwurfgebiete und Schießplätze liegen allein in Deutschland nicht nur in großer Anzahl vor (vgl. PREUSS und HAAS 1987, PREUSS 1990), sondern bergen auch eine Vielgestaltigkeit an Verbindungen, wovon etwa 15 Substanzen als Hauptkontaminanten angesehen werden. Als eine quantitativ sehr wichtige Verbindung, allein im Deutschland des 2. Weltkrieges zu über 800 000 t produziert, die zudem mit einer guten Datenlage versehen ist, erscheint das **2,4,6-Trinitrotoluol (TNT)**. Mit Begleitsubstanzen wie Mono- und Dinitrotoluolen aus den verschiedenen Etappen seiner Herstellung vergesellschaftet, wird TNT auch in Gestalt seiner mikrobiell entstandenen Abbauprodukte, die vorwiegend als Aminonitroaromate und Aminoaromate in Boden und Wasser auftreten (vgl. Abb. 1), zum Gefährdungsproblem und verlangt nach Sanierungsmöglichkeiten..

Sanierungsverfahren

Physikalisch-technische Sanierungsverfahren müssen in der Regel als On-Site- oder Off-Site -Verfahren *ex situ* durchgeführt werden, sind damit sehr kostenintensiv und daher bislang nur punktuell für die Dekontamination hochverseuchter Schwerpunkttorte eingesetzt worden.

Die Erarbeitung bodenschonender, biologischer Sanierungstechniken schreitet somit vor allem aus wirtschaftlichen Gründen voran. Für hochgradig belastete Orte sind mikrobiologische Verfahren mit Auslesen von pilzlichen oder bakteriellen Hochleistungsstämmen vielversprechend.

Jedoch müssen sogar effektive mikrobiologische Verfahren auf Schwerpunktkontaminationen beschränkt bleiben, da auch hier ein Bodenaushub und der Zuschlag organischer Cosubstrate notwendig ist.

Großflächig mit 2,4,6-Trinitrotoluol (TNT) und dessen Begleitsubstanzen verseuchte Areale geringen bis mittleren Belastungsgrades (1...100 ppm), die oft mehrere hundert Hektar pro Altlast umfassen, sind wegen ihrer großen Ausdehnung nicht *ex situ* sanierbar, selbst die flächendeckende Beprobung ist aus Kostengründen nur weitmaschig realisiert.

Dekontamination durch Pflanzen

Es bietet sich daher an, nach Wegen einer möglichen **Phytoremediation** mit ausdauernden, tiefwurzelnenden Pflanzen zu suchen, um sich den Sanierungsrichtwerten, die mit 1 mg/kg Boden diskutiert werden, zu nähern.. Da Pflanzen nicht so hoch spezialisiert sind wie Mikroorganismenauslesen, Stoffwechselwege aber oft ähnlich oder identisch sind, eröffnen sich langfristig erhebliche Potenzen für die Eliminierung organischer Schadstoffe.



Ausgangssituation

1. Mikrobielle Abbauwege waren bekannt.

Die mikrobielle Transformation von TNT im Boden war zu Projektbeginn in seinen Grundzügen bekannt (vgl. Abb. 1). Vielschichtige Erkenntnisse zum cometabolischen Abbau durch Bakterien (aerob und anaerob) und durch Pilze sind inzwischen in ihren Grundlagen auch im Rahmen des BMFT-Verbundvorhabens hinzugewonnen worden und finden ihren Niederschlag in der Entwicklung von mikrobiologischen Sanierungsverfahren.

2. Hinweise zur Aufnahme von TNT und/oder Abkömmlingen lagen von krautigen Pflanzen vor.

In Untersuchungen mit TNT-exponierten krautigen Pflanzen, z.B. *Phaseolus vulgaris* (CATALDO et al. 1989, HARVEY et al. 1990, 1991), *Cyperus esculentus* (PALAZZO und LEGGETT 1983, 1986) und *Medicago sativa* und *Allium schoenoprasum* (GÖRGE 1992), gab es Hinweise auf eine TNT-Aufnahme und eine TNT bedingte Wachstumshemmung. Breitbandscreening-Versuche zur Wachstumstoleranz lagen von TUCKER et al., 1989 vor, beschränkten sich jedoch auf Wurzelmessungen weniger Tage alter Sämlinge.

3. Gehölze bewirken eine tiefe Durchwurzelung des Bodens.

Für Gehölze waren keine Ergebnisse bezüglich ihres Verhaltens gegenüber sprengstoffspezifischen Verbindungen bekannt.

Ziel

Hauptziel war es, Voraussetzungen zu schaffen für die Entwicklung eines einfachen biologischen Verfahrens zur Sanierung TNT-verseuchter Großflächen mittleren Belastungsgrades.

An tiefwurzelndem, definiertem Pflanzenmaterial war zu prüfen, ob und welche Arten/Sorten prinzipiell in der Lage sind, Explosivstoffe zu ertragen, aufzunehmen und/oder abzubauen.

Gehölze sollten Bevorzugung finden wegen ihrer potentiell guten Tiefendurchwurzelung, Sauerstoffanreicherung des Bodens und Belebung der Mikroorganismenflora, sowie ihrer Langlebigkeit und ihres möglichen Nebeneffektes als Repositionspflanzen und Lieferanten nachwachsender Rohstoffe.

Wichtige zu klärende Fragen waren:

1. Welche Gehölze ertragen sprengstoffspezifische Schadstoffe ?
2. Haben die Gehölze einen Einfluß auf den Schadstoffgehalt des Bodens ?
3. Können auch Gehölze TNT aufnehmen ?
Wo sind die Orte einer möglichen Akkumulation ?



DendroRem-Home

2. Material und Methoden

Anzucht und Behandlung des Pflanzenmaterials

Der Erwerb der Weiden- bzw. Pappelsteckhölzer erfolgte aus dem Forstbotanischen Garten Eberswalde (Frau Dr. Schröter) oder entstammte den Baumschulen „Fürst Pückler, Zeischa bzw. Fa. Reiner Reher, Büchen.

Wenn in den Legenden der Abbildungen bzw. Tabellen angeführt, erfolgte eine Vorkultur von einigen Wochen in sandgefüllten Pflanzschalen (Sandkörper: 35 cm x 35 cm x 10 cm) im Gewächshaus. Vor dem Austrieb wurden die Hölzer mit Polyethylenfolie abgedeckt.

Hydrokulturinkubationen erfolgten vorzugsweise in 300-ml-Weithals-Erlenmeyerkolben, gefüllt mit 250 ml Inkubationsmedium. Die basalen Schnittenden der Steckhölzer wurden mit Vaseline verschlossen. Als eigentliche Kulturgefäße für Sand und Altlastboden dienten „Göttinger Töpfe“ aus schwarzem Polypropylen („7 x 7 x 8“, Fa. Hermann Meyer, Rellingen, BRD), die mit 220 cm³ Sand bzw. Boden befüllt wurden. Zur Exposition von *Salix* in Altlastboden wurden die Steckhölzer direkt in bodenbefüllte Töpfe gesteckt.

Die Weidensteckhölzer waren auf 20 cm Länge geschnitten, an den apikalen Schnittenden mit Lehm gegen Austrocknung versiegelt und bei 5°C kühl und dunkel gelagert. Vor dem Stecken wurden die Hölzer 24 h lang gewässert, danach 30 min lang mit Fungizidlösung (0,5 % m/v Benomyl, Du Pont) behandelt und 5 cm tief in die Pflanzgefäße gesteckt. Das Referenzmaterial für die Pflanzenanalysen wurde in unbelastetem Sand bzw. Boden angezogen.

Pflanzenprobenahme

Nach den in den Legenden der Tabellen ausgewiesenen Inkubationszeiträumen (6 Wochen bei Sand, 6 Monate bei Altlastboden) erfolgte zuerst die Probenahme und die Extraktionsvorbereitung des unbelasteten pflanzlichen Referenzmaterials. Von den belasteten Pflanzen wurden nacheinander Blätter, Zweige, Steckholz, und dann die Wurzeln abgetrennt. Die Pflanzenproben wurden durch Bestimmung der Frischmasse in gleiche Portionen geteilt und dann getrennt weiterbehandelt.

Dem gründlichen Waschen unter fließendem Leitungswasser folgte die Oberflächenreinigung der Einzelproben mit jeweils frischem Ethanol. Danach wurden die Proben 24 h lang bei T = 50 °C getrocknet, ihre jeweilige Trockenmasse bestimmt und in Exsikator dunkel zwischengelagert. Mit Hilfe einer Schneidmühle der Firma RETSCH (BRD) mit Feinsiebausstattung erfolgte die Zerkleinerung der Pflanzenteile auf eine Partikelgröße von max. 0,25 mm. Von dem homogenisierten Pflanzenmaterial wurden für die Extraktion der oberirdischen Pflanzenteile jeweils 3 bis 5 Proben zu je 100-300 mg abgewogen. Die Probenmasse der Wurzelproben betrug 100 mg bzw. 200 mg.

Extraktion der Pflanzenproben

Die Extraktion von Referenzmaterial und belasteten Proben erfolgte jeweils parallel. Dazu wurden die gemahlten Pflanzenproben mit je 5 ml 10- bzw. 50-%iger Essigsäure versetzt, gut verschlossen und 60 min lang bei T = 60 °C mit einer Frequenz von f = 31,5 kHz im Ultraschallbad extrahiert („Sonorex Super Digital“, Fa. Bandelin, BRD). Der essigsäure Extrakt wurde dann gemeinsam mit dem Pflanzenmaterial



4 mal mit je 2,5 ml Dichlormethan ausgeschüttelt, die jeweils abgenommenen Dichlormethanphasen vereinigt und mit 500 mg CaCl_2 getrocknet. Die Grobfiltration erfolgte mittels Faltenfilter (Fa. Schleicher & Schüll, BRD mittelschnell). Danach wurden die Extrakte mittels Polypropylen-Spritzenfiltern (Porengröße 0,44 μm , unsteril, für hydrophobe Proben, Fa. Roth, BRD) gereinigt, im Vakuum-Zentrifugalverdampfer bis zur Trockene eingeeengt, mit je 2,5 ml Ethylacetat aufgenommen und bis zur GC-Analyse bei $T = 4\text{ }^\circ\text{C}$ im Dunkeln verschlossen aufbewahrt.

Für die GC-Analyse wurden je 1,0 ml in 1,5-ml-GC-Gläschen gefüllt, mit Teflon-Butylgummi-Septen abgedichtet und mit Schraubkappen verschlossen. Bei Bedarf wurden die Proben verdünnt.

Bodenproben

Es wurden Proben aus bepflanzten Töpfen und den Vergleichsgefäßen mit einem Metallspatel aus der Mitte der Töpfe zu je etwa 8 g Frischmasse entnommen. Der Boden wurde 24 h lang in Petrischalen bei $50\text{ }^\circ\text{C}$ getrocknet und die trockenen Proben auf 0,5 mm Korngröße gesiebt.

Je 5 g trockenen Bodens wurden abgewogen, mit 10 ml Methanol (Sand), bzw. mit 15 ml Ethylacetat (Flächenbeprobung) bzw. 100 ml (Altlastboden-Gefäßversuch) Ethylacetat in Enghals-Erlenmeyerkolben 90 min im Ultraschallbad bei einer Temperatur von $35\text{ }^\circ\text{C}$ mit einer Frequenz von 31,5 kHz extrahiert und nach Filtration über Faltenfilter (Schleicher & Schüll, mittelschnell), mit Polypropylen-Spritzenfiltern (Porengröße 0,44 μm , unsteril, für hydrophobe Proben, Fa. Roth, BRD) nachgereinigt. Die auf das Ausgangsvolumen wiederaufgefüllten Extrakte wurden bei $T = 4\text{ }^\circ\text{C}$ dunkel aufbewahrt und zur GC-Analyse in 1,5-ml-GC-Gläschen abgefüllt. Bei Bedarf wurde verdünnt.

GC-Analyse

Es wurde ein Chromatograph vom Typ SHIMADZU 14A (SHIMADZU Europa GmbH, Duisburg, BRD) mit EZ-Chrom-Software-Ansteuerung und Split/Splitless-Injektor (Splitverhältnis 1:13) verwendet. Für die Injektortemperatur wurden $250\text{ }^\circ\text{C}$ gewählt. Zur Detektion diente ein Electron Capture Detektor (ECD) mit einer Detektortemperatur von $300\text{ }^\circ\text{C}$. Die Probenaufgabe erfolgte über den Autosampler AOC 1700 mit Autoinjektor, wobei das Einspritzvolumen 1 μl betrug. Zur Komponententrennung wurde eine „Optima 5“-Säule benutzt (Macherey-Nagel, Düren, BRD; 50 m Länge; 0,25 mm I.D.; 0,24 μm Filmdicke). Als Trägergas diente Helium (3,0 kg/cm^2), als Make-Up-Gas Stickstoff (0,7 kg/cm^2). Die Septumspülung des Injektors wurde auf 6,3 ml/min eingestellt.

Die Eichung erfolgte durch externen Standard (10, 20, 30, 50, 80, 100, 200, 300, 500, 800, 1000 ppb).

Der Säulenofen wurde mit den nachfolgenden Temperaturprogrammen gefahren.

A. Temperaturprogramm für Pflanzenextrakte:

Heizrate	Finaltemp.	Dauer
--	160 $^\circ\text{C}$	1,0 min
8 $^\circ/\text{min}$	195 $^\circ\text{C}$	5,0 min
2 $^\circ/\text{min}$	220 $^\circ\text{C}$	0,0 min
20 $^\circ/\text{min}$	230 $^\circ\text{C}$	0,0 min

B. Temperaturprogramm für Bodenextrakte:

Heizrate	Finaltemp.	Dauer
--	160 $^\circ\text{C}$	1,0 min
5 $^\circ/\text{min}$	195 $^\circ\text{C}$	5,0 min
3 $^\circ/\text{min}$	220 $^\circ\text{C}$	0,0 min
--	--	--



[DendroRem-Home](#)

3. Ergebnisse und Diskussion

3.1. Screening des Wachstums auf TNT-Toleranz

Voruntersuchungen in Hydrokultur

Hydrokulturrexperimente sind u.a. als orientierende Voruntersuchungen geeignet, weil die vergleichsweise hohe Bioverfügbarkeit wassergelöster Schadstoffe eine relativ schnelle Reaktion des pflanzlichen Materials erwarten läßt. Abb. 2 zeigt, daß für weitere Untersuchungen nur die Klone EW-012 bis EW-027 empfohlen werden konnten. (s.a. Zwischenbericht 1993).

TNT-Toleranz von Weiden und Pappeln in Sandkultur

25 *Salix*-, bzw. 11 Pappelklone wurden in Gefäßversuchen über 6 Wochen in Sandkultur einer wöchentlichen Gießwasserbehandlung mit 10 ppm TNT ausgesetzt (Abb. 2 und Abb. 3).

Schwerpunkt bei der Wachstumserfassung bildete die Messung des Längenzuwachses der Zweige. Blattzuwachsmessungen sollten den Aussagewert der Zweigwachstumsmessungen unterstützend ergänzen.

Um die in Abb. 2 und Abb. 3 vorgestellte Datenvielfalt zu verringern, wurden Selektionskriterien festgelegt. Der Selektionsweg soll kurz aufgezeigt werden.

Weiden

Forderung: Die Pflanzen sollen trotz TNT-Behandlung **120 %** des Zweigzuwachses des Ausgangszustandes erreichen. (Abb. 3).

Nachdem der Klon EW-016 wegen starker Hemmung des Blattzuwachses (vgl. Abb. 3 C.) ausgesondert wurde, verblieben die Klone EW-013, EW-014, EW-018, EW-031, EW-032, EW-034, EW-035, EW-038 und EW-039, die die Forderung erfüllten. Die in der Abb. 3 mit „A“ gekennzeichneten Klone wurden für die Nitroaromatenanalyse ausgewählt.

Abb. 3 A. und B. zeigen, daß lediglich die Klone EW-012, EW-013, EW-014, EW-033, EW-034, EW-037, EW-038, EW-040, ZS-004 und ZS-001 eine Hemmung des Zweigwachstums von weniger als 10 % aufweisen, rein **rechnerisch** also als **TNT-tolerant** zu bezeichnen wären.

Die Betrachtung des absoluten Zweigzuwachses zeigt aber, daß für praktische Belange Klone ausgewählt werden müssen, die trotz hemmendem TNT-Einfluß auch ein vertretbares Absolutwachstum erhoffen lassen. Diese Bezugnahme ist vor allem deshalb von großer Wichtigkeit, da bei späteren Freiland-Bepflanzungen entscheidend sein wird, ob die Bäume überhaupt wachsen.

Es sind somit 2 verschiedene Toleranztypen zu beobachten.

Beispiel für „relative“ Toleranz:

Der Weidenklon EW-012 ist nicht durch TNT gehemmt, ist also absolut tolerant, hat aber ein sehr schlechtes Absolutwachstum und ist damit nicht für weitere Untersuchungen geeignet.

Beispiel für „absolute“ Toleranz:

Der Klon EW-020 wird relativ um 26 % durch TNT in seinem Wachstum gehemmt, weist aber von allen getesteten Weidenklonen trotz TNT-Relativhemmung die höchste Wachstumsleistung bei TNT-Behandlung auf und muß daher für Freilandbepflanzungen als potentiell geeignet eingestuft werden.

Pappeln

Steckhölzer der Pappelklone EP-001, EP-002, EP-003, EP-004 zeigten sehr schlechte Kühllagerungseigenschaften und mußten von weiteren Versuchen ausgeschlossen werden.

Es verblieben danach die Pappelklone ZP-001, ZP-002, ZP-003, ZP-004, ZP-005, ZP-006 und ZP-007 (Abb. 4). Nachdem die Klone ZP-003, ZP-004, ZP-006 wegen schlechtem Gesamtzuwachs ausgesondert waren und das Steckholzmaterial des Klones ZP-001 durch Pilzbefall ausfiel, standen für weitere Experimente noch die Klone ZP-002 und ZP-007 zur Verfügung.

TNT/ADNT-Aufnahme

Nachdem die Daten- und Materialfülle auf ein übersichtliches Maß eingeschränkt war, konnte nunmehr die für das Projektziel wichtige Entscheidungsfrage / entscheidende Frage gestellt werden:

Sind in den Pflanzen TNT und/oder TNT-Abkömmlinge nachweisbar, oder handelt es sich bei den beobachteten Toleranzeffekten um Vermeidungstoleranz („stress avoidance“)?

Wie die Abb. 5 zeigt, sind in allen analysierten Klonen TNT, vor allem aber ADNTs in den Wurzeln nachweisbar. Die höchsten Konzentrationen an Nitroaromaten finden sich bei Weiden in den Wurzeln des Klones EW-013 und bei Pappeln weist der Klon ZP-007 die höchsten Werte auf.

Die Analyse oberirdischer Pflanzenteile (Steckholz, Zweige und Blätter) zeigte erste Hinweise auf das Vorkommen von ADNTs bei den meisten Klonen (keine Darstellung).

Ein Zusammenhang zwischen dem Nitroaromatengehalt der Wurzeln und der TNT-bewirkten Wachstumshemmung ist nicht feststellbar (vgl. Abb. 3, Abb. 4 und Abb. 5).



[DendroRem-Home](#)

Eignungstest

Für tiefergehende Analysen wurde ein eingeschränktes Spektrum an Klonen zunächst einem weiteren Wachstumseignungstest in Sandkultur unterzogen (Abb. 6).

Da die Versuche im Juli (Hochsommer) durchgeführt wurden, ergaben sich gleichzeitig Hinweise auf eine gute Dürretoleranz. Es wurde der Austrieb der ausgewählten Weiden- und Pappelklone nach 4 Wochen Kultur in Sand, sowie die Wachstumsparameter Zweiganzahl, Zweiglänge und Blattanzahl gemessen.

Steckhölzer des Weidenklones **EW-013** zeigen hinsichtlich Austrieb, Verzweigung und Wachstum die beste Wachstumsreaktion. Bei den beiden Pappelklonen ist **ZP-007** dem Klon ZP-002 überlegen (Abb. 6).

Es wurden die Klone EW-013 und ZP-007 daher für die TNT-Exposition mit abgestuften Konzentrationen und die nachfolgende Sand- und Pflanzenanalyse einsetzbar.

Die vergleichsweise hohen Nitroaromatengehalte der analysierten Wurzelproben ließen zudem eine gute Analysierbarkeit der beiden ausgewählten Klone bei den weiteren Untersuchungen erwarten (Abb. 5).

Fremdanalysen

Je ein „absolut TNT-toleranter“ *Salix*-Klon (EW-013) und ein „relativ TNT-toleranter“ Klon (EW-020), sowie Material der Pappelklone ZP-007 („absolut tolerant“) und ZP-002 („relativ tolerant“) wurden, differenziert nach Sand, Wurzeln, Steckholz, Zweigen und Blättern, inklusive des nötigen Referenzmaterials zur Analyse einem Fremdinstitut zugesandt.

Da die Ergebnisse des Fremdlabors bei Weiden und Pappeln bezüglich TNT, 4-ADNT und 2-ADNT unter der angegebenen Nachweisgrenze von 0,1 mg/kg lagen, mußten die übermittelten Ergebnisse in Zweifel gezogen werden. Weil die Ergebnisse den weiteren Projektverlauf in Frage zu stellen drohten, wurden eigene Analysemethoden entwickelt.



3.2. Nachweis von Nitroaromaten in Böden und Gehölzpflanzen

Die nachfolgend angeführten Tabellen erbringen aus Gefäßversuchen den **Nachweis**, daß eine Bepflanzung von TNT-dotiertem Sand mit je einem TNT-toleranten Klon von Weide (EW-013) und Pappel (ZP-007) über 6 Wochen oder die 6-monatige Bepflanzung von TNT/ADNT-verseuchtem Altlastboden mit dem Weidenklon EW-027 zu einer **Verringerung der Nitroaromatenkonzentration des Bodens über eine Förderung des mikrobiellen TNT-Abbaus und eine Nitroaromatenaufnahme** - vorzugsweise als ADNT - und -Aufwärtsverlagerung in die Gehölzpflanze führt.

Mittels GC-ECD-Analyse wurden die Konzentrationen von TNT und seinen primären Reduktionsprodukten 4-Amino-2,6-dinitrotoluol (4-ADNT) und 2-Amino-4,6-dinitrotoluol (2-ADNT) gemessen. Die wichtigsten Ergebnisse werden wie folgt zusammengefaßt:

1. Ohne Bepflanzung erfolgt ein mikrobieller TNT-Abbau im Sand und Altlastboden.

Auch ohne Bepflanzung wird in **Sand** appliziertes TNT zu ADNTs abgebaut (Tab. 1) und in Altlastboden schreitet der Umsatz von TNT zu ADNTs weiter voran (Tab. 4).

2. Bepflanzung verringert die Nitroaromatensumme in TNT-dotiertem Sand und in Altlastboden.

Die Abreicherung für die Nitroaromatensumme in **TNT dotiertem Sand** liegt bei *Salix* EW-013 zwischen **23** und **54** %, und bei *Populus* ZP-007 zwischen **29** und **56** %, ist aber erst bei 10 ppm bzw. 20 ppm applizierten TNTs als signifikante Differenz meßbar (Tab. 1).

Nitroaromaten in **Altlastboden** können durch Weidenbepflanzung um **37** % signifikant abgereichert werden (Tab. 4).

3. Die Bepflanzung beschleunigt signifikant den TNT-Abbau in Sand.

Die Verringerung des Gesamt-Nitroaromatengehaltes durch Bepflanzung geht signifikant zu Lasten des TNTs: Bei 5 und 10 ppm applizierten TNTs bleibt der relative TNT-Anteil annähernd gleich, wird jedoch bei 20 ppm von 73 % durch die Bepflanzung auf 34 % (Weide) bzw. 45 % (Pappel) deutlich gesenkt (Tab. 1).

Die TNT-Konzentration des Sandes und auch der prozentuale TNT-Anteil an der Nitroaromatensumme nimmt vor allem bei Zugabe höherer TNT-Konzentrationen (10 und 20 ppm) signifikant durch die Bepflanzung ab. Die ADNT-Konzentration hingegen bleibt bei signifikanter Gesamtabreicherung gleich (*Salix* EW-013) oder nimmt sogar zu (*Populus* ZP-007) (Tab. 1).

Bei Zugabe höherer TNT-Konzentrationen liegen aus TNT herrührende Nitroaromate daher nach 6 Wochen zu 55-66 % in Form von 4-ADNT und 2-ADNT vor, sind aber noch nicht weiter mikrobiell umgewandelt oder durch die Pflanze entzogen werden. Höhere ADNT-Konzentrationen bei der bepflanzten Variante wären sonst nicht erklärbar.

4. In Altlastboden dominiert der ADNT-Verlust bei der Bepflanzung.

Im Gegensatz zu TNT-dotiertem Sand, wo ohne Bepflanzung nach 6 Wochen etwa die Hälfte der Nitroaromate noch als TNT vorliegt (Tab. 1.1), weist der unbepflanzte Altlastboden nach 6 Monaten nur 8 % der Nitroaromate als TNT auf (Tab. 4.2).

Eine mikrobielle ADNT-Nachlieferung aus TNT kann den ADNT-Spiegel des Bodens also nicht mehr wesentlich beeinflussen. Obwohl TNT mit 24 %, 4-ADNT mit 31 % und 2-ADNT mit 45 % etwa in der gleichen Größenordnung zur relativen Gesamtabreicherung von 37 % beitragen, ist der absolute Verlust an ADNTs **20 mal** so hoch wie der TNT-Entzug. Die Gesamtabreicherung an Nitroaromaten durch *Salix* EW-027 äußert sich daher **zu 95 % als signifikanter ADNT-Verlust** (Tab. 5).

5. Nitroaromaten sind in lebenden Gehölzen kaum als TNT, aber als ADNTs nachweisbar.

Ähnlich, wie bei TNT-exponierten krautigen Pflanzen (z.B. PALAZZO und LEGGETT 1986, PENNINGTON 1989, HARVEY et al. 1990, GÖRGE 1993) dominieren bei den vorliegenden Analysen die ADNTs in allen untersuchten Pflanzenorganen.

Nur in Wurzeln und im basalen Steckholzteil lassen sich nennenswerte TNT-Nachweise führen (Tab. 2, Tab. 3, Tab. 5). Spurennachweise von TNT im Steckholz-Mittelteil, Zweigen und Blättern liegen unter 0,1 mg/kg oder sind nicht signifikant.

Eine mögliche Bildung von Dinitrotoluolen aus TNT und/oder ADNTs durch die Pflanze, wie sie nach schwefelsaurer Hydrolyse sprengstoffbelasteten krautigen Pflanzenmaterials von GÖRGE et al. 1994 beschrieben werden, ist in Weidenpflanzen nicht nachweisbar. Für 2,6-Dinitrotoluol (2,6-DNT), 3,4-Dinitrotoluol (3,4-DNT), 2,4-Dinitrotoluol (2,4-DNT), und auch 1,3,5-Trinitrobenzoesäure (TNB) ist in den Pflanzenextrakten keine Peakzuordnung möglich, da entweder keine Peaks zu den erwarteten Retentionszeiten eluieren oder die entsprechenden Peaks auch im unbelasteten Referenzmaterial auftreten. Auch sind im ECD-Chromatogramm keine weiteren, vom Referenzmaterial abweichenden Peaks auffällig (Chromatogramme Chrom. 1 bis Chrom. 6.).

6. Die Nitroaromatenkonzentration der Pflanzen nimmt apikalwärts ab.

Auf **Altlastboden** kultivierte Weidenpflanzen EW-027 weisen einen eindeutig abfallenden Gradienten der nachweisbaren Nitroaromatenkonzentrationen von der Wurzel zu den oberirdischen Pflanzenteilen hin auf. Im Steckholz-Oberteil lassen sich kaum Nitroaromaten nachweisen, wohl aber in den Zweigen und das 2-ADNT sogar noch signifikant in den Blättern (Tab. 5).

Bei *Salix* und *Populus* in **Sandkultur** sind nur bei höheren applizierten TNT-Konzentrationen (20 ppm) Nachweise von Nitroaromaten in den oberirdischen Pflanzenteilen - vorzugsweise als ADNTs - möglich (Tab. 2). Auch hier fallen die Transferfaktoren zu den oberen Pflanzenteilen hin ab.

7. Der Nitroaromatentransport erfolgt passiv über den Transpirationsstrom der Gehölze.

Im nahezu funktionslosen Steckholz-Oberteil lassen sich fast keine Nitroaromaten nachweisen (Tab. 5). Die sehr hohen Konzentrationen der Wurzel lassen sich z.T. durch die Barrierefunktion der Wurzelrinde erklären.

8. Einziger Anreicherungsort ist die Wurzel.

Übereinstimmend bei *Salix* und *Populus* in **Sandkultur** (Tab. 2) und *Salix* auf Altlastboden (Tab. 5) kann die Bioakkumulation in der Wurzel das 5- bis 7-fache der aktuellen Bodenkonzentration erreichen, wobei der TNT-Anteil an der Gesamtakkumulation der Wurzeln durchgängig unter 4 % bleibt.

Etwa die Hälfte der absoluten Nitroaromatenmasse bei *Salix* EW-027 findet sich in der Wurzel (Tab. 6).

Die ADNTs der Wurzel liegen zur Hälfte (*Salix* EW-013) bzw. zu 2/3 (*Populus* ZP-007) in gebundener Form vor.

Hydrolytische Extraktionen setzen zusätzlich gebundene Nitroaromaten frei (z.B. GÖRGE et al. 1995). Durch schwefelsaure Hydrolyse von Gehölzwurzeln wird vor allem die ADNT-Ausbeute erhöht (Tab. 2, Tab. 3). Da die absoluten TNT-Werte gleich bleiben, bzw. ihr relativer Anteil unter 2 % zurückweicht, ist davon auszugehen, daß nur die ADNTs an Wurzelgewebe der Gehölze (reversibel) gebunden werden können. Die schwefelsaure Hydrolyse versagt bei der Analyse oberirdischer Pflanzenteile der Gehölze.



3.3. Beprobung von Standortböden in Clausthal-Zellerfeld

Für zukünftige Bepflanzungsversuche sollten Freiflächen auf dem Gelände des ehemaligen TNT-Werkes „Tanne“ auf ihre potentielle Eignung geprüft werden. Nur 2 Flächen wiesen den notwendigen offenen Charakter auf. Neben einer Bodeneignung für Bepflanzungen, sollte der Nitroaromatengehalt zwischen 1 und 20 ppm liegen.

Fläche 1: Es handelt sich um eine seit ca. 2 Jahren eingezäunte Fläche, 300 m südlich des Laborgebäudes der iABG, 50 m westlich des Gebäudes 307 („Trinitrierung“). Die Vegetation wird dominiert von krautigen Pflanzen. Auffällig sind neben Gräsern Staudenlupine (*Lupinus perennis*), Große Brennessel (*Urtica dioica*), Himbeeren (*Rubus spec.*), Walderdbeere (*Fragaria vesca*). Der starke Besatz mit Amphibien (*Bufo spec.*, *Rana spec.*) läßt auf eine - zumindest zeitweise - gute Feuchteversorgung des Bodens schließen. Da die Fläche seit ca. 2 Jahren eingezäunt ist, damit nicht mehr als Äsungsfläche für die starke Mufflon-Population zur Verfügung steht, erfolgt eine langsame Verbuschung durch Ansiedlung von Hirschholunder (*Sambucus racemosus*), Bergahorn (*Acer pseudoplatanus*), vereinzelt auch durch Weidensämlinge (*Salix spec.*).

Charakteristisch für die Bodenprofile sind Aufschüttungen des Tonschieferuntergrundes mit Sprengtrümmern, überlagert von einer Humusaufgabe wechselnder Stärke.

Da die Fläche 1 für eine eventuelle **Probepflanzung** im Rahmen eines Nachfolgeprojektes vorgesehen ist, sind die Einzelwerte der Bodenanalysen angegeben, da der Einfluß von „hot spots“ auf statistische Werte ein unrealistisches Bild entstehen lassen könnte.

In 40 cm Tiefe ist die ECD-detektierbare Gesamtnitroaromatenkonzentration etwa 8 mal so hoch, wie in der oberen, bei 15 cm Tiefe liegenden Beprobungsebene. Die Anteile der einzelnen Nitroaromaten bleiben jedoch annähernd gleich: **TNT** ist mit etwa der Hälfte des Anteils an der Gesamtmenge eindeutig dominant. Zusammen mit seinen Abbauprodukten **4-ADNT** und **2-ADNT** nimmt es sogar $\frac{3}{4}$ des Gesamtnitroaromaten-Gehaltes ein. 4-ADNT und 2-ADNT liegen dabei etwa im Verhältnis wie **1:1** vor; das TNT/ADNT-Verhältnis liegt bei **1: 0,5**.

Bei den **Dinitrotoluolen** liegt 2,4-DNT mit etwa 25 % Gesamtnitroaromaten-Anteil deutlich vor dem nur in Spuren vorkommenden 2,6-DNT und dem praktisch nicht mehr nachweisbaren 3,4-DNT. Die intensive Färbung einiger Extrakte, die vom hellen Gelb über dunkelgelb bis zu Orange reichte, liefert einen Hinweis auf die Diaminomononitrotoluole 2,4-DA-6-NT und 2,6-DA-4-NT.

Übereinstimmend sind die **horizontalen Verteilungsmuster** von TNT und ADNTs (Abb. 9). Deutlich ist die Tendenz zur Zunahme in Richtung Norden zu erkennen. Abweichungen in der horizontalen Verteilung des 2,4-DNTs gegenüber den TNT-Verwandten sind nur geringfügig.

Die von der iABG empfohlene **Fläche 2** wurde im 5 m-Raster mit 77 Bodenentnahmen beprobt, jedoch lagen bei allen Analysen die Nitroaromatenkonzentrationen unter 0,1 ppm bzw. waren nicht mehr nachweisbar. Wegen der minimalen Belastung und des hohen Schuttanteils des Bodens ist diese Fläche zur Testbepflanzung **ungeeignet**.



4. Ausblick

Abschätzung der Dekontaminationspotenz von Gehölzen

Die vorliegenden Ergebnisse zur Nitroaromatenanreicherung im Boden und die Nachweise von Nitroaromaten in den Pflanzen bilden die wesentliche Voraussetzung für weitere Versuche zur Bilanzierung. Die Nachweise sind Mindestwerte, da nur **Augenblickskonzentrationen** gemessen werden konnten, die sich zudem auf die **extrahierbaren Konzentrationen** beschränken und gleichzeitig auf den **ECD-detektierbaren** Nitroaromatenanteil eingeengt sind.

Es kann also nur ein zeitlicher und quantitativer Ausschnitt des dynamischen Prozesses der Nitroaromatenumwandlung erfaßt werden. Die durch metabolische Einbau- und Umwandlungsprozesse als „Bound Residues“ vorliegenden Nitroaromatenreste können erst nach der Durchführung von **Bilanzierungsversuchen** mit radioaktiv markierten Verbindungen zu exakteren Berechnungen führen.

Abschätzungen der quantitativen Dekontaminationsmöglichkeiten sollen als Betrachtungsvarianten angeführt werden.

Ausgangspunkt sei ein Boden einer Dichte von 1 kg/dm^3 und einer Kontamination von 30 ppm ($\text{mg/kg} = \text{g/to}$).

1. Indirekte Schadstoffanreicherung des Bodens durch Weiden:

a) *Salix EW-027 bewirkt in 6 Monaten eine Nitroaromatenanreicherung von Altlastboden um 37 % (Tab. 4).*

Setzt man diese 37 % als Jahresanreicherung, wären bei linearer Interpolation nach **3 Jahren** sämtliche Nitroaromaten verschwunden. Die Ausgangskonzentration des Bodens bliebe hierbei unberücksichtigt.

b) *Bepflanzung mit Salix-EW-027 verringert die Nitroaromatenkonzentration von Altlastboden um 6,2 mg/kg (Tab. 4).*

Einem Kubikmeter Boden der Dichte von 1 kg/dm^3 würden somit während der Einwirkzeit von 6 Monaten **6,2 g Nitroaromaten** entzogen. Rechnet man sicherheitshalber die jährliche Vegetationsperiode mit 6 Monaten, so würde bei gleichmäßiger Durchwurzelung einem Boden mit einer Belastung von **30 ppm** - auf dem tolerante Weiden noch wachsen - **in fünf Jahren** sämtliche Nitroaromaten entzogen sein.

2. Metabolisierung bzw. sonstige Festlegung durch Gehölzpflanzen

Auf einen Kubikmeter Boden kann in ca. 10 Jahren eine oberirdische Holztrockenmasse von mindestens 20 kg gebildet werden (vgl. GEBHARDT und FRIEDRICH 1992).

Enthalten diese 20 kg TM nur **0,1 %** eingelagerte oder umgewandelte (metabolisierte) Nitroaromaten, so wären dies bereits 20 Gramm eingelagerter oder umgewandelter Nitroaromaten. Wenn der Nitroaromatenentzug durch die Blattmasse und der Einbau in das Wurzelholz nur mit weiteren 10 g veranschlagt würde, wären dies 30 g. Das ist dieselbe Masse an Nitroaromaten, die ein Kubikmeter Boden einer Dichte von 1 kg/dm^3 bei einer Belastung von **30 ppm** aufweist. Eine Dekontamination allein durch pflanzlichen Entzug wäre nach dieser Abschätzung innerhalb von **10 Jahren** möglich.

Allein die Augenblickskonzentration von ca. 1 ppm Nitroaromaten, die in Zweigen von *Salix EW-027* auffindbar ist, brauchte nur 100 mal metabolisiert werden, um den Gehalt von 0,1 % zu erreichen.

Wenn wir berücksichtigen, daß schon bei den relativ ligninarmen krautigen Pflanzen bereits nach wenigen Tagen nur **10 %** der aufgenommenen Nitroaromaten in der TNT/ADNT-Fraktion zu finden sind (CATALDO et al. 1989), wird der notwendige Einbaufaktor auf **10** gesenkt.

Radiotracer-Untersuchungen an den Gehölzen müßten zeigen, ob bei längerer Kulturdauer Einbau-/Metabolisierungsraten in der Größenordnung von 0,1 % der Trockenmasse möglich wären.

Die indirekte Bodenentgiftung durch die **starke Förderung des mikrobiellen Abbaus** und die **metabolische Kapazität** von Gehölzen, insbesondere von beerntbaren, vegetativ schnell **nachwachsenden Baumarten** erscheint somit im Bereich praktischer Realisierbarkeit.

Kurzumtriebskulturen von Gehölzen (z.B. Weiden und Pappeln) erreichen wesentlich schneller hohe Zuwachsgeschwindigkeiten (Leistungen der Trockenmasseproduktion) in den ersten Jahren nach ihrer Anpflanzung als beispielsweise Fichten und Kiefern. Durch die Beerntbarkeit läßt sich die hohe „Sink-Kapazität“ für Bausteine der Ligninbildung aufrechterhalten und die mögliche Metabolisierung von Nitroaromaten zusätzlich fördern.

Geplante Radiotracer-Untersuchungen

Die vorgestellten Ergebnisse, die Bodenabreicherung durch Weiden und Pappeln sowie Aufnahme und Transport von Nitroaromaten über den Transpirationsstrom in Weidenstecklingen nachweisen, bilden die Voraussetzung für die Untersuchung metabolischer Aktivitäten der Gehölze. Da die eigentliche Detoxifikationsleistung noch nicht quantitativ abgeschätzt werden kann, andererseits aber Umwandlungshinweise an krautigen Pflanzen aus der Literatur vorliegen, sollen die **Bilanzierungsversuche** erfolgen, um die Einbau/Metabolisierungsraten in die Gehölze bestimmen zu können. Ein hoher Forschungsbedarf besteht hier vor allem wegen der gegenüber krautigen Pflanzen erheblich höheren Potenz zur Ligninproduktion von Bäumen und den damit gegebenen Einlagerungsmöglichkeiten von Aminonitroaromaten. Insbesondere freie Carboxylgruppen verholzter Gewebe bieten Anlagerungsmöglichkeiten für Aminogruppen der Aminonitroaromaten (Monoaminodinitrotoluole, Diaminonitrotoluole und Triaminotoluol).

In Absprache mit dem Institut für ökologische Chemie der BBA in Berlin-Dahlem sind daher Untersuchungen unter Einsatz von Radiotracern geplant. Es sollen sowohl Experimente in Gefäßversuchen mit Originalboden, bzw. TNT-dotierten Böden als auch Modelluntersuchungen an *In-Vitro*-Kulturen durchgeführt werden.

Um Prinzipversuche unter Ausschluß von mikrobiellen Abbauwegen auch technisch durchführen zu können, ist die Möglichkeit des Einsatzes von steril kultiviertem Pflanzenmaterial zu prüfen. Dies würde Möglichkeiten eröffnen, das weitere Schicksal der ADNTs in oberirdischen Teilen der Pflanze zu klären, da Applikationen von ¹⁴C-ADNTs zu wurzelfreien, aseptisch kultivierten Sproßkulturen realisierbar wären.

Es könnte mit Radiotracern nachgewiesen werden, ob die Gehölze selbst 4-ADNT und 2-ADNT und auch Nachfolgeprodukte aus TNT bilden, oder ob sie nur mikrobiell erzeugte Metabolite aufnehmen können.

Als Gehölze sollen neben TNT-toleranten Weiden und Pappeln, auch Fichten (*Picea abies*) als wichtigste Vertreter der Standortgehölzflora des Werkes „Tanne“ für die Untersuchungen Verwendung finden.



Entsorgungsproblematik bei Freiland-Untersuchungen

Die Ergebnisse unserer Gefäßversuche mit Altlastboden zeigen, daß in den **oberirdischen Pflanzenteilen** (oberirdische 2/3 des Steckholzes, Zweige, Blätter) von Weiden vor allem ADNTs als gefährdende Stoffe in recht geringer Konzentration nachzuweisen sind. Die nach 6-monatiger Inkubation nachgewiesenen Konzentrationen der ADNTs liegen bei maximal **1,7 mg/kg** Trockensubstanz (Steckholz-Mittelteil) und nehmen über die Zweige (**1,0 ppm**) zu den Blättern (**0,7 ppm**) hin ab. TNT selbst spielt mit Konzentrationen unter **0,1 ppm** eine völlig untergeordnete Rolle (vgl. Tab. 5).

Die einzige der im Werk „Tanne“ in Clausthal-Zellerfeld engmaschig analysierten Freiflächen, die sowohl mit Nitroaromaten kontaminiert ist, als auch hinsichtlich ihrer Flächenausdehnung für einen größeren Bepflanzungsversuch geeignet ist, weist in 40 cm Tiefe einen Median der Gesamtbelastung mit Nitroaromaten von etwa **2 ppm** auf.

Da bei vereinfachter Betrachtung Belastungsgrad und Schadstofftransfer miteinander korrelieren, kann abgeschätzt werden, daß selbst bei einem vergleichsweise hohen Transferfaktor Boden/oberirdische Pflanze von 0,2 die theoretische Konzentration an ECD-nachweisbaren Nitroaromaten (ADNTs) in den oberirdischen Pflanzenteilen maximal im Bereich von etwa 0,4 ppm, also unterhalb des diskutierten Sanierungsrichtwertes von 1 ppm liegen kann. Nur in den unterirdischen Wurzeln können höhere Konzentrationen extrahierbarer Nitroaromaten erwartet werden.

Hauptziel der Bepflanzung auf dieser als gering belastet einzustufenden Fläche ist aber weniger der Nachweis der Nitroaromaten in den Gehölzen, der ohnehin die metabolische Kapazität der Pflanzen vernachlässigen muß, als vielmehr die Testung der **Standorttoleranz** der zu untersuchenden Gehölzklone, des **Durchwurzelungsvermögens** und vor allem der **Nitroaromatenabreicherung** des zu durchwurzeln den Bodens.

Da die Bepflanzung mit jungen Gehölzpflanzen erfolgen muß, wird der Gesamtwuchs an oberirdischem Material im ersten Jahr im Kilogramm Bereich liegen.

Die Entsorgungsproblematik bezüglich der sprengstofftypischen Verbindungen des Pflanzenmaterials wird neben den erwarteten geringen Konzentrationen vor allem deshalb als lösbar angesehen, weil die anfallenden Mengen kaum den Bedarf der Projektpartner für Kompostierungsuntersuchungen mit lignolytischen Pilzen (z.B. *Phanaerochaete chrysosporium*) decken dürften. So besteht ein starkes Interesse an kontaminiertem Gehölzmaterial seitens der Universität Jena (Frau Scheibner, Herr Michels). Diese Kompostierungsuntersuchungen müßten sich vor allem auf die ADNTs beziehen. Es sei auch darauf hingewiesen, daß 14 g Frischmyzel des Pilzes *Bjerkandera adusta* 40 mg/l ADNTs in 60 min abzubauen vermögen (GOTTSCHALK 1995).

Es wird also selbst bei höher kontaminiertem Material die metabolische Potenz holzzersetzender, TNT-abbauender Pilze ausreichen, um eine kontrollierte Kompostierung durchzuführen.

Blätter könnten durch TNT-zersetzende Streupilze abgebaut werden (SCHEIBNER et al. 1995).

Auf Altlastflächen des Rüstungsbereiches sind sprengstoffspezifische Schadstoffe oftmals auch mit polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffen (PAK) (GÖRGE et al. 1995) und mit Schwermetallen vergesellschaftet (HAAS 1995, pers. Mitt.).

Da bekannt ist, daß neben krautigen Pflanzen wie Getreide, Sachalinknöterich oder Chinaschilf (METZ und WILKE 1992) auch Gehölze, insbesondere Weiden erhebliche Mengen an Schwermetallen aufnehmen können (GEBHARDT und FRIEDRICH 1992), sollten neben analytischen Untersuchungen erst Biotoxizitätstests die endgültige Entscheidung über die Verwendungsfähigkeit des oberirdischen Gehölzzuwachs treffen lassen.

Dies betreffe jedoch in ähnlichem Maße die nach Teilziel 2 zu untersuchende Standortgehölzflora.

Resümee

Die quantitativ am leichtesten nachweisbaren Prozesse laufen offensichtlich als Nitroaromatenabreicherung im Boden ab. Hierbei kommt dem näheren Wurzelraum als Ort höchster mikrobiologischer Aktivität eine recht große Bedeutung zu. Passiv von Bäumen abgestoßene Wurzelrindenzellen und abgestorbene Wurzelteile, vor allem aber die aktive Exsudation von Kohlenhydraten, Aminosäuren, Amiden, Carbonensäuren und Vitaminen bilden die Lebensgrundlage einer aktiven Mikroorganismenflora (vgl. HEINZE und FIEDLER 1992). Ergebnisse, daß *Pinus nigra* 20 µg Zucker pro Tag und *Larix decidua* 700-2700 µg Glutaminsäure pro Tag (!) abgeben können (KRAUSS und MIERSCH 1983), geben einen Eindruck über die enormen quantitativen Leistungsmöglichkeiten von Gehölzen.

Die Kombination von pflanzlicher Leistung und dem Abbaupotential von bodenbürtigen und/oder speziell eingepflichten Mikroorganismen erscheint als natürliches Netzwerk zur Dekontamination, wobei Dauerkulturen von Pflanzen - also Gehölze - sicher ein sehr stabiles System darstellen. Vor allem ist - im Gegensatz zu Mikroorganismen - die Vitalität am oberirdischen Anteil der Gehölzpflanze leicht ablesbar, wenn auch spezielle Indikatorpflanzen, wie sie gelegentlich gefordert werden, wohl nicht zur Verfügung stehen werden.

Da die akropetale Verlagerung von ADNTs offensichtlich über den Transpirationsstrom erfolgt, sollte das gemeinhin bekannte, sehr hohe Transpirationsvermögen von Bäumen, insbesondere von Laubbäumen, das mehrere hundert Liter pro Jahr und m² betragen kann, für Dekontaminationszwecke genutzt werden.

Bei der Bepflanzung von Altlastflächen sollte schon am Beginn darauf geachtet werden, daß bewährten sprengstoffabbauenden Mikroorganismen eine lange Überlebenschance sichergestellt wird.

Bepflanzungen sollten demzufolge immer mit Wurzelballen erfolgen. Dies sichert zum einen den größeren Anwacherfolg der Gehölze, zum anderen kann die Wahl des Topfsubstrates derart gewählt werden, daß ein gewisser Anteil dieses Substrates von TNT-abbauenden Pilzen zur Etablierung genutzt werden kann.

Um dieses zu ermöglichen, sollen künftig speziell hergestellte, biologisch abbaubare Jutecontainer (ca. 3 Liter) zur Gehölzvorkultur benutzt werden. Das Pflanzsubstrat kann einen hohen Anteil von Rindenmulch, wie er in der gärtnerischen Praxis eingesetzt wird oder vergleichbare Zuschlagstoffe enthalten. Dieses Substrat könnte mit TNT-abbauenden Pilzen wie z.B. *Phanaerochaete chrysosporium* (Universität Jena) oder *Bjerkandera adusta* (WISSTRANS GmbH Göttingen) beimpft werden. Da die Etablierung von Hochleistungspilzen im Boden die entscheidende Vorbedingung für ihre Nutzbarkeit für den *in-situ*-Abbau von Nitroaromaten darstellt, könnten die mit dem Pflanzballen eingebrachten Cosubstrate für lignolytische Pilze somit dauerhaft stabile Besiedlungsinselfür die speziell selektierten Pilze bilden.

Untersuchungen, die in bepflanzbaren Großcontainern (Lysimeter) und auch an ungestörtem Boden durchgeführt werden sollten, müssen neben der Ermittlung des Durchwurzelungsvermögens auch den Einfluß von Pflanzen auf Auswaschungs/Mobilisierungseffekte zum Gegenstand haben.



DendroRem-Home

Die Untersuchungen zur Dekontaminationspotenz von Gehölzen müssen sich aus jetzigem Erkenntnisstand auf zwei Schwerpunkte konzentrieren:

1. Die Untersuchung des **Abreicherungsvermögens** durch Bodenuntersuchungen

(Bei höheren Bodenkonzentrationen an Nitroaromaten wäre die direkte HPLC-Zugänglichkeit, damit die Analysemöglichkeit für weitere Metabolite gegeben.)

2. Die quantitative Bestimmung **metabolischer Potenzen** durch Radiotracer-Experimente

GC-Pflanzenanalysen auf Nitroaromaten können nur ergänzenden oder orientierenden Charakter haben, da sie wegen der geringen Pflanzenkonzentrationen auf ECD-faßbare Verbindungen beschränkt bleiben müssen und ein Negativergebnis noch nicht die Metabolisierung ausschließt.

5. Zitierte Literatur

CATALDO, D.A.; HARVEY, S.D.; FELLOWS, R.J.; BEAN, R.M. und McVEETY, B.D. 1989. An evaluation of the environmental fate and behavior of munitions material (TNT, RDX) in soil and plant systems. Pacific Northwest Laboratories, Richland, Report AD-A223 546.

FELLER, K. 1992.

Biologische Verfahren bei der Sanierung von Rüstungs- und militärischen Altlasten.
IN: THOME-KOZMIENSKY (Hrsg.) 1992, Verfahren zur Sanierung von Rüstungsaltslasten., EF-Verlag, Berlin 1992, S. 167-176

GEBHARDT, K. und FRIEDRICH, E. 1992.

Pflanzenbauliche Überlegungen zur Weidenrindenproduktion.
Die Holzzucht, Kassel, Dez. 92, Nr. **46**, S.15-17

GÖRGE, E. 1993.

Aufnahme von 2,4,6-Trinitrotoluol (TNT) in Pflanzen unter besonderer Berücksichtigung von Freilandversuchen auf dem Gelände einer ehemaligen Sprengstofffabrik in Stadtallendorf. Dissertation am FB Biologie der Philipps-Universität Marburg

GÖRGE, E.; BRANDT, S. und WERNER, D. 1995.

Uptake of 2,4,6-Trinitrotoluene in higher plants.
ESPR - Environ. Sci. & Pollut. Res. Nr. **1**/1995; Seite 229-233

GOTTSCHALK, G.1995.

Entwicklung eines Kompostierungsverfahrens mit Pilzen.
Umweltbundesamt, PT AWAS des BMBF:
Arbeitsgespräch zum Thema „Biologische Sanierung von Rüstungsaltslasten“ am 4.5.1995 in Berlin.



- HARVEY, S.D., FELLOWS, R.J., CATALDO, D.A. and BEAN, R.M. 1990.
Analysis of 2,4,6-Trinitrotoluene and its transformation products in soil and plant tissues by high-performance liquid chromatography.
Journal of Chromatography, **518**, 361-374
- HARVEY, S.D., FELLOWS, R.J., CATALDO, D.A. and BEAN, R.M. 1991.
Fate of the explosive hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine (RDX) in soil and bioaccumulation in bush bean hydroponic plants.
Env. Toxicol. Chem. **10** (7), S. 845-855.
- HEINZE, M. und FIEDLER, H.-J. 1992.
Ernährung der Gehölze.
In: LYR, H., FIEDLER, H.-J. und TRANQUILINI, W. (Hrsg.) 1992: Physiologie und Ökologie der Gehölze.
Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1992
- KRAUSS, G.-H. und MIERSCH, J. 1983.
Chemische Signale. Urania Verlag, Leipzig, Jena, Berlin 1983, 2.Aufl.
- METZ, R. und WILKE, B.M. 1992.
Einfluß der Bodenbelastung von Rieselfeldern auf Wachstum, Ertrag und Schwermetallentzug von Mais (*Zea mays*) im Gefäßversuch. Beiträge zur umweltgerechten landwirtschaftlichen und gärtnerischen Nutzung.
Wissenschaftliche Zeitschrift der Humboldt-Universität zu Berlin,
R. Agrarwissenschaften **41** (1992) 3, S. 29-33
- PALAZZO, A.J. and LEGGET, D.C. 1983.
Toxicity, uptake, translocation, and metabolism of TNT by plants.
Technical Report, Ft. Detrick, Maryland
- PALAZZO, A.J. and LEGGET, D.C. 1986.
Effect and disposition of TNT in a terrestrial plant.
J. Environ. Qual. **15**, 49-52
- PENNINGTON, J.C. 1989.
Soil sorption and plant uptake of 2,4,6-trinitrotoluene.
Diss. Abst. Int. Pt. B - Sci. and Eng. **49** (12)
- PREUSS, J. and HAAS, R. 1987.
Die Standorte der Pulver-, Sprengstoff- Kampf- und Nebelstoffherzeugung im ehemaligen Deutschen Reich. Geographische Rundschau **10** (1987), S. 578-584
- PREUSS, J. 1990.
Die Bearbeitung von Rüstungsaltslasten. Referat zur Tagung: Rüstungsaltslasten am 27./28. September 1990 im Deutschen Ledermuseum Offenbach.
- SCHEIBNER, K., MICHELS, J., HERRE, A. und FRITSCHKE, W. 1995.
Einsatz von Pilzen bei der Sanierung von Böden mittels Kompostierung.
Umweltbundesamt, PT AWAS des BMBF:
Arbeitsgespräch zum Thema „Biologische Sanierung von Rüstungsaltslasten“ am 4.5.1995 in Berlin
- TUCKER, W.L.; BANWART, W.L., GRANATO, T.C. und HASSETT, J.J. 1989.
Screening for plant tolerance to TNT.
Report for USATHAMA by CERL and the University of Illinois

Anhang: Abbildungen, und Tabellen und Chromatogramme



DendroRem-Home

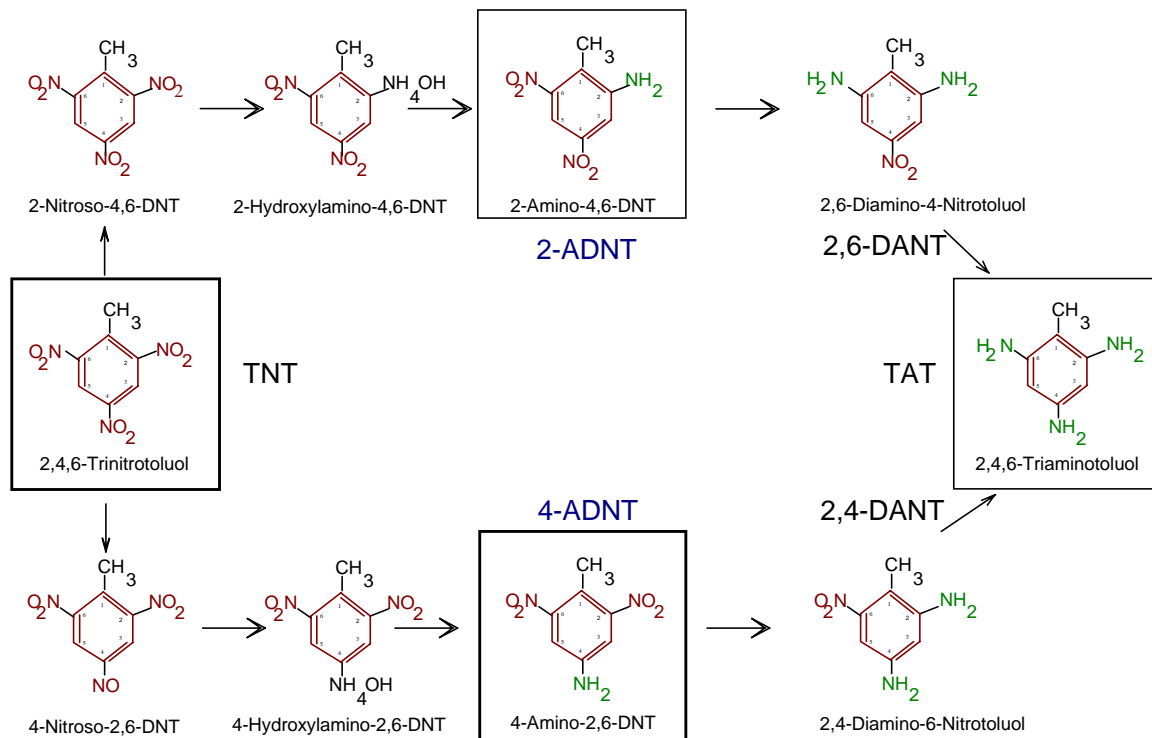


Abb. 1: Schema des mikrobiellen Abbaus von TNT nach Feller 1992



DendroRem-Home

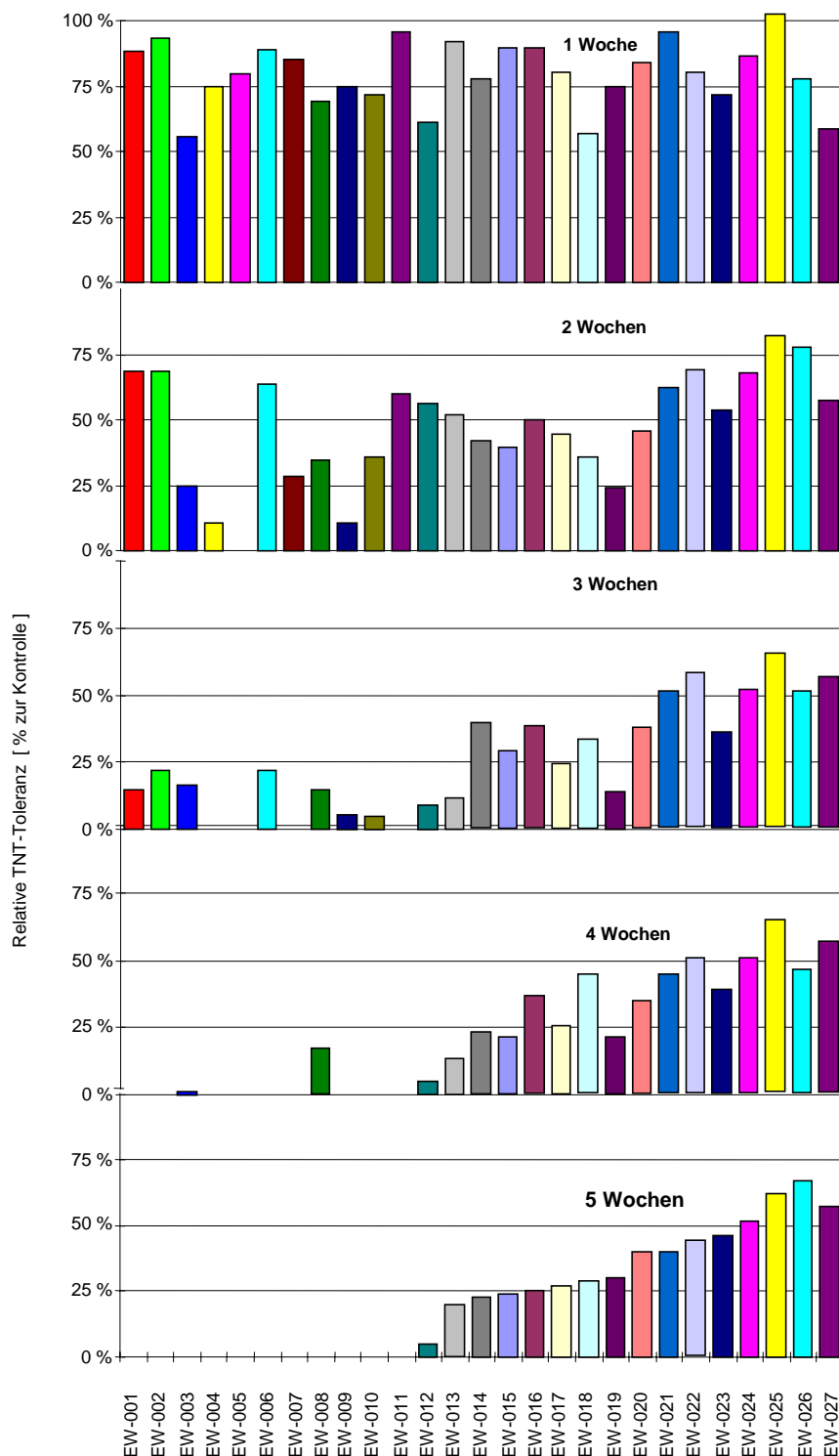


Abb. 2: TNT-Toleranz von Weiden in Hydrokultur

Vergleich von 27 *Salix*-Klonen in ihrer relativen Wachstumstoleranz gegenüber 30 µmol/l 2,4,6-Trinitrotoluol (6,81 ppm TNT). Angabe der zusammengefaßten oberirdischen Wachstumsleistung (Zweigzuwachs, Blattzuwachs) als prozentualer Bezug zur unbehandelten Kontrolle. Messung von 25 Weidenstecklingen je Klon. Vorkultur: 6 Wochen in Sand. Inkubation in 300-ml-Erlenmeyerkolben mit je 100 ml 0,5 % Wopil-Lösung +/- TNT.

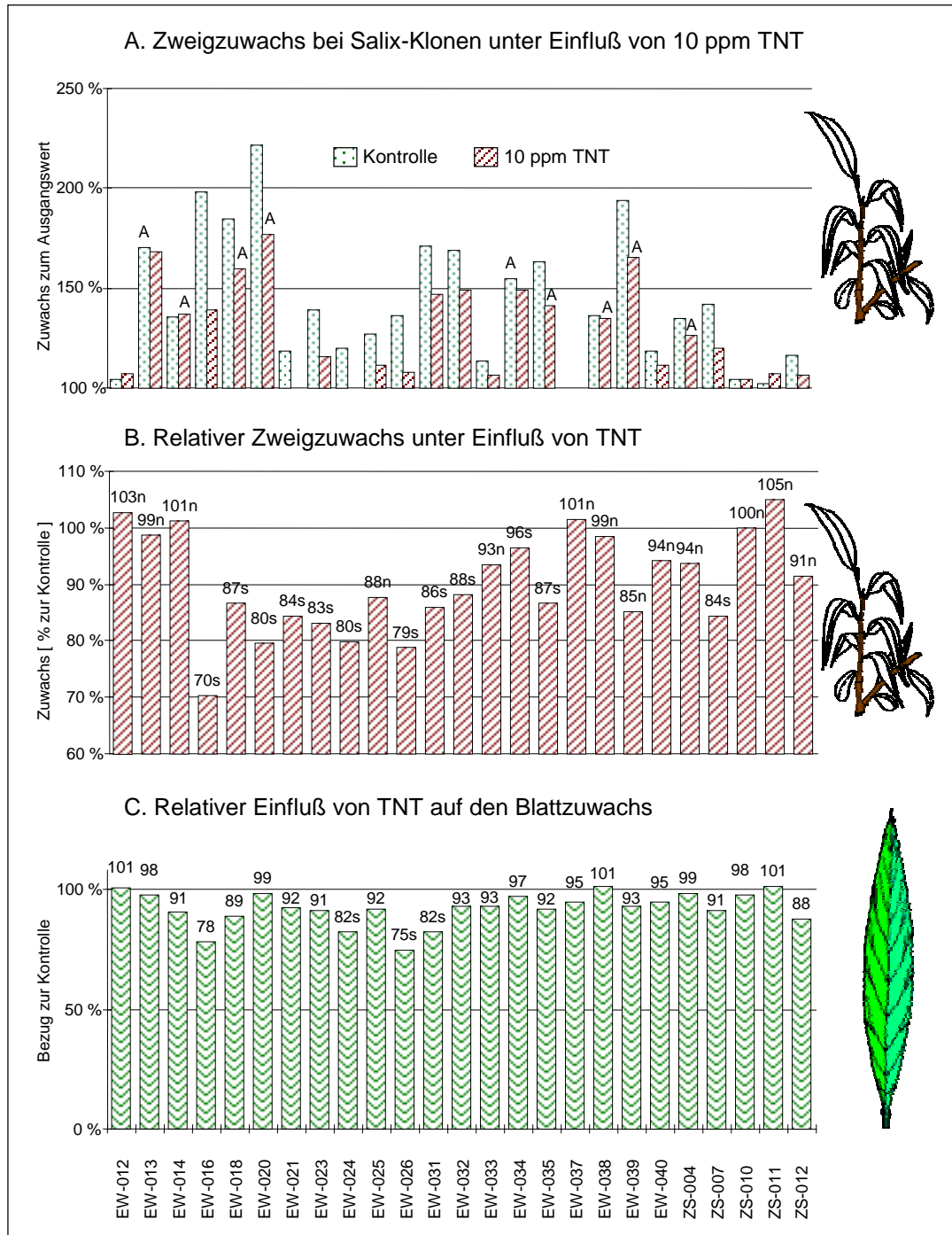


Abb. 3: Einfluß von TNT auf das Wachstum von Weiden in Sandkultur
 Vergleich von 25 *Salix*-Klonen in ihrer Wachstumstoleranz gegenüber TNT.
 Vorkultur von 20-cm-Steckhölzern über 8 Wochen in Sand.
 Danach wäßrige Applikation von 10 ppm TNT. Inkubationsdauer: 6 Wochen.
 Messung des Zweigwachstums und des Blattwachstums von 25 Weidenstecklingen je Klon.
 s = Signifikante Differenz zur unbehandelten Kontrolle für $P=0,95$,
 ns = nicht signifikant. A = zur Nitroaromatenanalyse ausgewählt.



DendroRem-Home

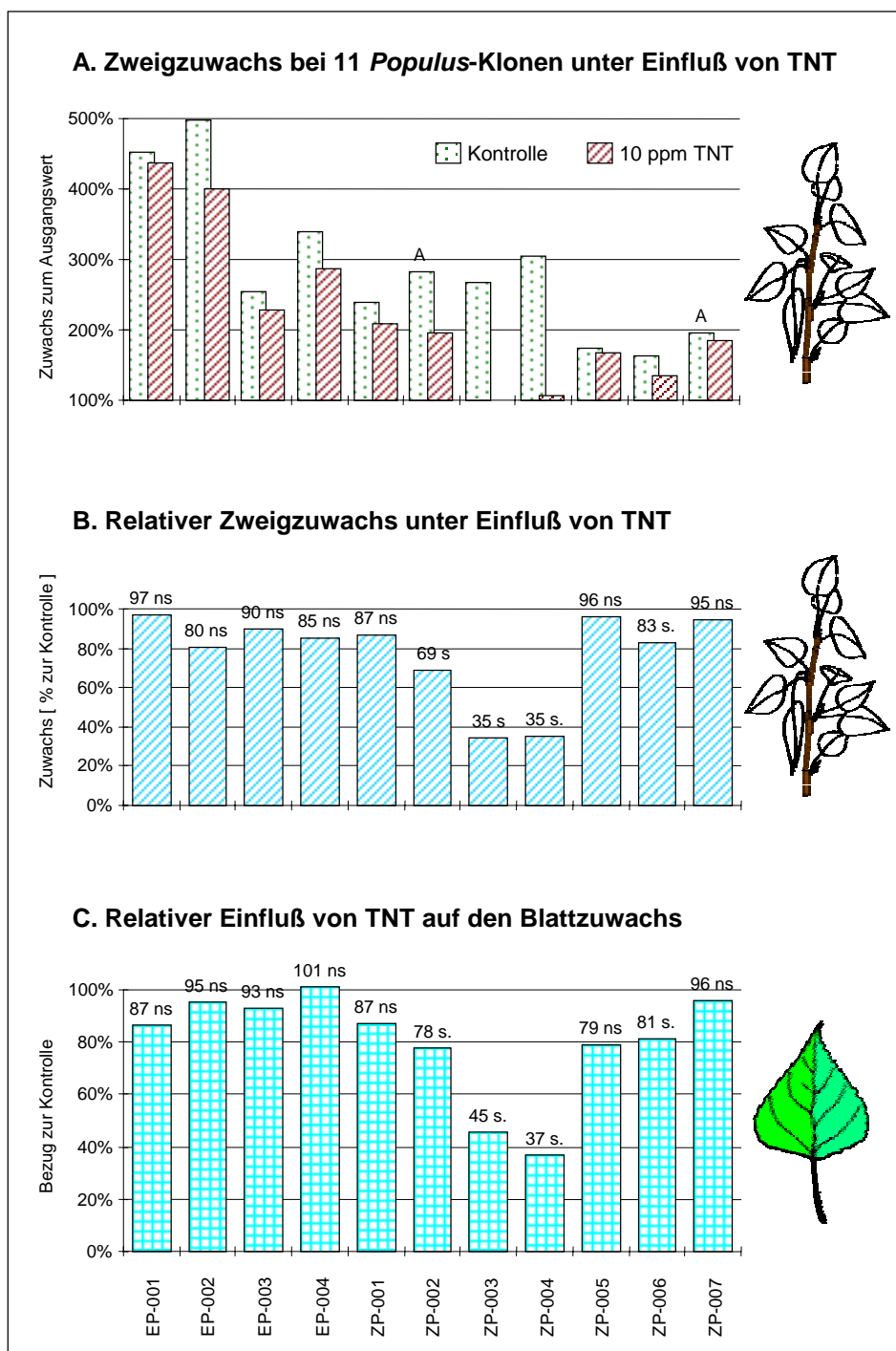


Abb. 4: Einfluß von TNT auf das Wachstum von Pappeln in Sandkultur

Vergleich von 11 *Populus*-Klonen in ihrer absoluten und relativen Wachstumstoleranz gegenüber TNT. Vorkultur von 20-cm-Steckhölzern über 8 Wochen in Sand. Danach wäßrige Applikation von 10 ppm TNT. Inkubationsdauer: 6 Wochen.
 Messung des Zweigwachstums und des Blattwachstums von 25 Weidenstecklingen je Klon.
 s = Signifikante Differenz zur unbehandelten Kontrolle für P=0,95.
 ns = nicht signifikant.
 A = zur Nitroaromatenanalyse ausgewählt.



DendroRem-Home

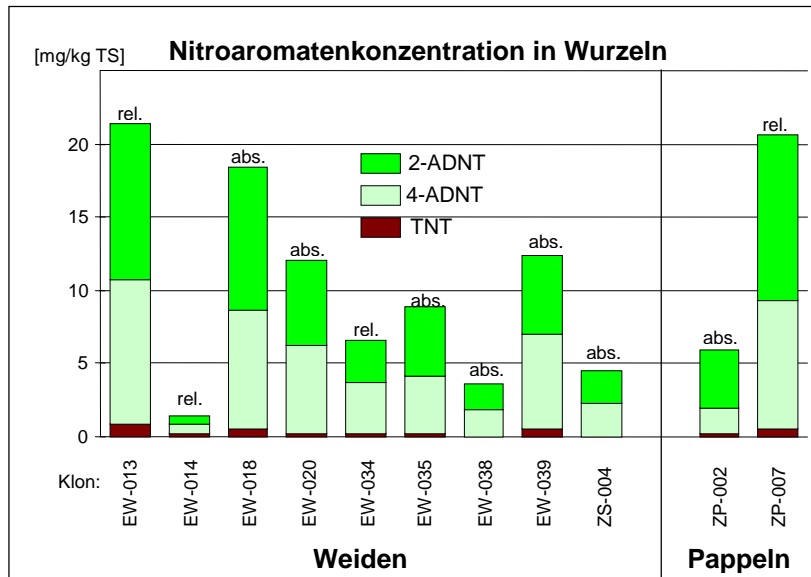


Abb. 5: Wurzelanalysen auf Nitroaromate bei TNT-behandelten Weiden und Pappeln
 200 mg TS je Probe, 5 ml EA, Bedingungen s.Tab. 3
 rel. = relativ tolerant, abs. = absolut tolerant

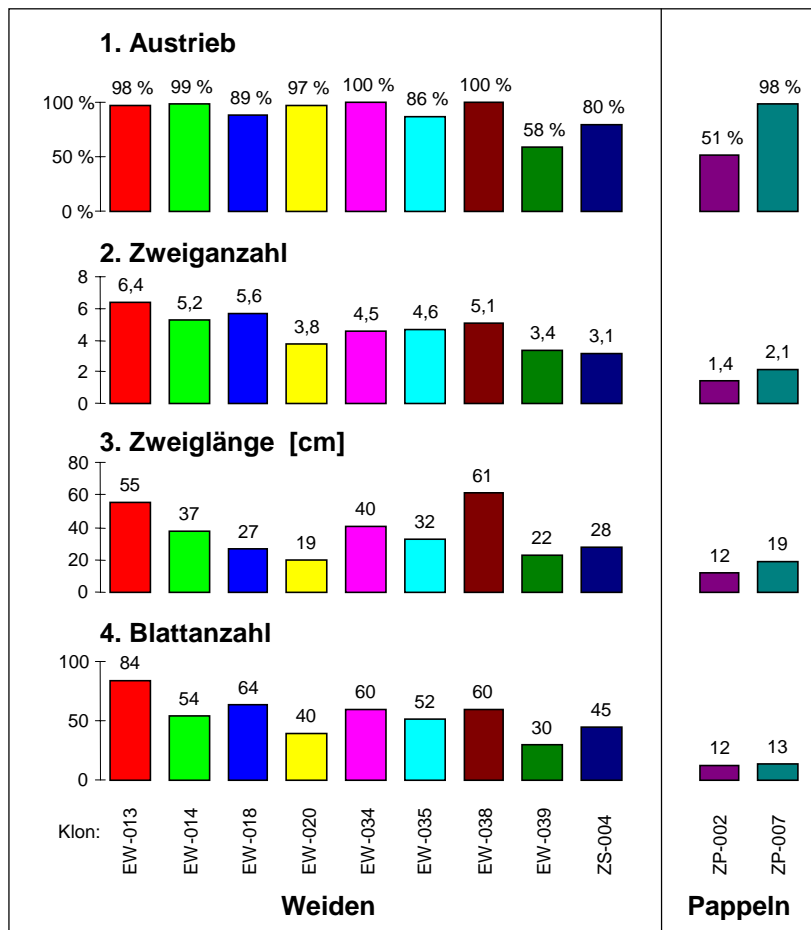


Abb. 6: Eignungsscreening für Nachfolgeversuche zur TNT-Behandlung
 Austrieb von 20-cm-Steckhölzern ausgewählter Weiden- und Pappelklone nach 4 Wochen Vorkultur in Sand. Messung der Wachstumsparameter Zweiganzahl, Zweiglänge und Blattanzahl.
 Auswertung von 80-120 Pflanzen je Klon.

Tab. 1: Einfluß einer Bepflanzung mit Weide und Pappel auf TNT-dotierten Sand

GC-ECD-Analyse von künstlich mit TNT kontaminiertem Sand, der unbepflanzt bzw. mit *Salix* EW-013 und *Populus* ZP-007 bepflanzt war. Gefäßversuch in „Göttinger Töpfen“; Sand-Volumen: 225 cm³; Dichte: 1,88 g TM/cm³; Masse: 0,423 kg/Topf.

Die Stecklinge waren aus 20-cm-Steckhölzern 8 Wochen in Sand angezogen worden, wurden dann einer wäßrigen Applikation von 0, 5, 10 bzw. 20 ppm TNT unterzogen und der Sand nach einer Inkubationsdauer von 6 Wochen analysiert. Die Düngung der Pflanzen erfolgte mit 0,05 % v/v Wuxal.

5 g getrockneten Sandes wurden mit je 15 ml Methanol 30 min auf einem Horizontalschüttler (f = 170 / min) bei Raumtemperatur inkubiert und nachfolgend 60 min im Ultraschallbad (f = 31,5 kHz, T = 25 °C) extrahiert.

Angabe von Mittelwerten der Konzentrationen [mg/kg Sandtrockenmasse] und der Standardabweichung für n = 4.

„%TNT“ = Anteil von TNT an der Nitroaromatensumme.



DendroRem-Home

1. Sand ohne Pflanze

TNT - Appl.	TNT	4-ADNT	2-ADNT	Summe	% TNT
0 ppm	0,008 ± 0,010	0,003 ± 0,005	0,020 ± 0,023	0,040 ± 0,050	---
5 ppm	0,179 ± 0,093	0,119 ± 0,047	0,128 ± 0,055	0,426 ± 0,179	42 %
10 ppm	0,364 ± 0,114	0,208 ± 0,050	0,224 ± 0,067	0,795 ± 0,143	46 %
20 ppm	2,632 ± 0,609	0,487 ± 0,183	0,503 ± 0,194	3,622 ± 0,389	73 %

2. Sand, bepflanzt mit *Salix* EW-013

TNT - Appl.	TNT	4-ADNT	2-ADNT	Summe	% TNT
0 ppm	0,012 ± 0,016	0,010 ± 0,012	0,024 ± 0,024	0,046 ± 0,031	---
5 ppm	0,124 ± 0,026	0,104 ± 0,019	0,099 ± 0,036	0,327 ± 0,034	38 %
10 ppm	0,200 ± 0,072	0,167 ± 0,030	0,175 ± 0,054	0,542 ± 0,131	37 %
20 ppm	0,567 ± 0,155	0,489 ± 0,121	0,617 ± 0,167	1,673 ± 0,358	34 %

3. Sand, bepflanzt mit *Populus* ZP-007

TNT - Appl.	TNT	4-ADNT	2-ADNT	Summe	% TNT
0 ppm	0,014 ± 0,017	0,008 ± 0,010	0,008 ± 0,017	0,030 ± 0,042	---
5 ppm	0,068 ± 0,041	0,064 ± 0,034	0,056 ± 0,033	0,188 ± 0,081	36 %
10 ppm	0,089 ± 0,042	0,160 ± 0,036	0,143 ± 0,044	0,392 ± 0,098	22 %
20 ppm	1,169 ± 0,170	0,580 ± 0,043	0,823 ± 0,287	2,572 ± 0,402	45 %

4. Abreicherung des Sandes durch *Salix* EW-013 und *Populus* ZP-007

[mg/kg Trockensubstanz bzw. % Abreicherung]

	TNT	4-ADNT	2-ADNT	Summe	
5 ppm <i>Salix</i>	0,055 31 %	0,016 13 %	0,029 23 %	0,099	23 %
5 ppm <i>Populus</i>	0,111 62 %	0,056 47 %	0,072 56 %	0,238	56 %
10 ppm <i>Salix</i>	0,164 45 %	0,040 19 %	0,049 22 %	0,253 *	32 %
10 ppm <i>Populus</i>	0,275 * 76 %	0,048 23 %	0,081 36 %	0,403 *	51 %
20 ppm <i>Salix</i>	2,065 * 78 %	-0,002 0 %	-0,115 -23 %	1,949 *	54 %
20 ppm <i>Populus</i>	1,463 * 56 %	-0,093 -19 %	-0,321 -64 %	1,050 *	29 %

*) = Signifikanz der Differenz der Bepflanzung zur unbepflanzten Kontrolle bei $\alpha < 5$ %.

Tab. 2: Nachweis von TNT und ADNTs in Weiden und Pappeln nach TNT-Exposition

GC-ECD-Analyse von *Salix EW-013* und *Populus ZP-007* nach 6-wöchigem Gefäßversuch in künstlich mit 20 ppm TNT kontaminiertem Sand. Einmalige, wäßrige Applikation des TNTs. Die Stecklinge waren 8 Wochen in Sand vorinkubiert, danach wurde der Sand mit 20 ppm TNT kontaminiert. Für die Extraktion der getrockneten Pflanzenteile wurden diese auf eine Partikelgröße von < 1 mm gemahlen und einheitlich 100 mg Trockensubstanz je Probe eingesetzt. Die Extraktion erfolgte mit 10%-iger Essigsäure und anschließender Dichlormethan-Ausschüttelung. Angabe von Mittelwerten der Konzentrationen [mg/kg Trockensubstanz] und der Standardabweichung.

„TF“ = Transferfaktor für die Nitroaromatensumme [= Pflanzenkonzentration / Bodenkonzentration].

„%TNT“ = Anteil von TNT an der Nitroaromatensumme.



DendroRem-Home

A. *Salix* EW-013; (n = 4)

[mg/kg Trockensubstanz]

Kompartiment	TNT	4-ADNT	2-ADNT	Summe	TF	% TNT
1. Blätter	0,042 ± 0,035	0,105 ± 0,085	0,133 ± 0,062	0,280 ± 0,104	0,17	15 %
2. Zweige	0,037 ± 0,027	0,029 ± 0,017	0,035 ± 0,213	0,101 ± 0,041	0,06	37 %
3. Steckholz	0,166 ± 0,042	0,273 ± 0,044	0,755 ± 0,107	1,194 ± 0,084	0,71	14 %
4. Wurzeln	0,394 ± 0,060	3,124 ± 0,561	6,948 ± 1,024	10,465 ± 0,720	6,15	3,8 %
5. Sand	0,567 ± 0,155	0,489 ± 0,121	0,617 ± 0,167	1,673 ± 0,358	---	34 %

B. *Populus* ZP-007; (n = 3)

[mg/kg Trockensubstanz]

Kompartiment	TNT	4-ADNT	2-ADNT	Summe	TF	% TNT
1. Blätter	0,027 ± 0,030	0,077 ± 0,045	0,217 ± 0,110	0,321 ± 0,128	0,12	8 %
2. Zweige	0,086 ± 0,030	0,143 ± 0,076	0,333 ± 0,094	0,563 ± 0,104	0,22	15 %
3. Steckholz	0,342 ± 0,114	0,052 ± 0,036	0,276 ± 0,133	0,670 ± 0,225	0,26	51 %
4. Wurzeln	0,547 ± 0,078	4,371 ± 0,304	8,591 ± 1,009	13,509 ± 1,314	5,28	4,0 %
5. Sand	1,169 ± 0,170	0,580 ± 0,043	0,823 ± 0,287	2,572 ± 0,402	---	45 %

Tab. 3: Wurzelanalyse von *Salix* und *Populus* bei verschiedenen TNT-Konzentrationen

GC-ECD-Ermittlung der Nitroaromatenkonzentrationen nach Hydrolyse von je 100 mg Wurzeln mit 25%iger Schwefelsäure (t = 60 min, T=90 °C), anschließender 30-minütiger Ultraschallextraktion und Ausschüttelung mit Dichlormethan. Mittelwerte von Doppelproben, als mg Analyt/kg Wurzelrockenmasse.

„TF“ = Transferfaktor für die Nitroaromatensumme [= Pflanzenkonzentration / Bodenkonzentration].

„%TNT“ = Anteil von TNT an der Nitroaromatensumme.

A. *Salix* EW-013, Wurzeln, schwefelsaure Hydrolyse

ppm appl. TNT	TNT	4-ADNT	2-ADNT	Summe	TF	% TNT
0	0,017	0,000	0,000	0,017	---	---
5	0,081	1,640	5,427	7,147	4,3	1,1 %
10	0,305	1,942	7,341	9,587	5,7	3,2 %
20	0,282	4,682	15,771	20,735	12,4	1,4 %

B. *Populus* ZP-007, Wurzeln, schwefelsaure Hydrolyse

ppm appl. TNT	TNT	4-ADNT	2-ADNT	Summe	TF	% TNT
0	0,000	0,000	0,000	0,000	---	---
5	0,296	1,602	4,387	6,284	2,4	4,7 %
10	0,235	3,404	8,090	11,728	4,6	2,0 %
20	0,683	9,010	25,272	34,965	13,6	2,0 %

Tab. 4: Konzentrationen von TNT, 4-ADNT und 2-ADNT in Altlastboden

GC-ECD-Analyse von kontaminiertem Altlastboden nach 6-monatigem Gefäßversuch mit *Salix* EW-027. [DendroRem-Home](#)
 Der Boden stammte vom Gelände des ehemaligen Sprengstoffwerkes „Tanne“ aus Clausthal-Zellerfeld, 20 m westlich des Gebäudes 110 und wurde aus 40-50 cm Tiefe gewonnen und vor Ort auf 1,5 cm abgesiebt in Göttinger Töpfe gefüllt, mit 20-cm-Steckhölzern von *Salix* EW-027 bestückt und 6 Monate im Gewächshaus kultiviert.
 (Bodenvolumen: 220 cm³/Topf; Rohrockendichte: 0,96 g TM/cm³; Masse: 0,211 kg/Topf).

„n.s.“ = nicht signifikant für $\alpha < 5\%$. „%TNT“ = Anteil von TNT an der Nitroaromatensumme.
Extraktion: 5 g getrockneten Bodens (Korngröße 0,5 mm) wurden mit 90 min lang mit je 100 ml Ethylacetat bei T = 35 °C und f = 31,5 kHz im Ultraschallbad extrahiert. Filtrieren mit Faltenfilter und 0,44 µm PP-Filter, Verdünnung zu GC-Analyse: 1 : 2.
Analyse: GC-ECD (SHIMADZU 14A). Säule: Optima 5 (50 m; 0,25 mm I.D.; 0,24 µm Film); Injektionsvolumen: 1 µl; Injektortemperatur: 250 °C; Split: 1:13; Detektortemperatur: 300 °C; Carrier: He (3,0 kg/cm²); Make up: N₂ (0,7 kg/cm²); Ofen: 160°C (1 min); 5°/min bis 195°C; 5 min bei 195°C; 3°/min bis 220 °C.
 Angabe von Mittelwerten der Konzentrationen und der Standardabweichung.

Analyt:	TNT	4-ADNT	2-ADNT	Summe	% TNT
1. Altlastboden vor Versuchsbeginn					
Konzentration [mg/kg]:	17,047	20,420	18,673	<u>56,140</u>	30,4 %
Standardabw. (n = 5):	± 5,502	± 3,194	± 3,603	± 6,896	
2. Vergleichsboden, unbepflanz					
Konzentration [mg/kg]:	1,305	8,084	7,537	<u>16,926</u>	7,7 %
Standardabw. (n = 10):	± 0,457	± 1,573	± 1,606	± 3,386	
3. Boden, bepflanzt mit Salix EW-027					
Konzentration [mg/kg]:	0,996	5,555	4,144	<u>10,694</u>	9,3 %
Standardabw. (n = 5):	± 0,185	± 0,847	± 0,713	± 1,683	
4. Nitroaromatenabreicherung des Bodens durch Bepflanzung mit Salix EW-027					
Abreicherung in mg/kg:	0,309	2,530	3,393	<u>6,232</u>	5,0 %
Abreicherung in %:	24 %	31 %	45 %	<u>37 %</u>	
Signifikanz der Abreich.:	n.s.	$\alpha < 1\%$	$\alpha < 0,1\%$	$\alpha < 1\%$	

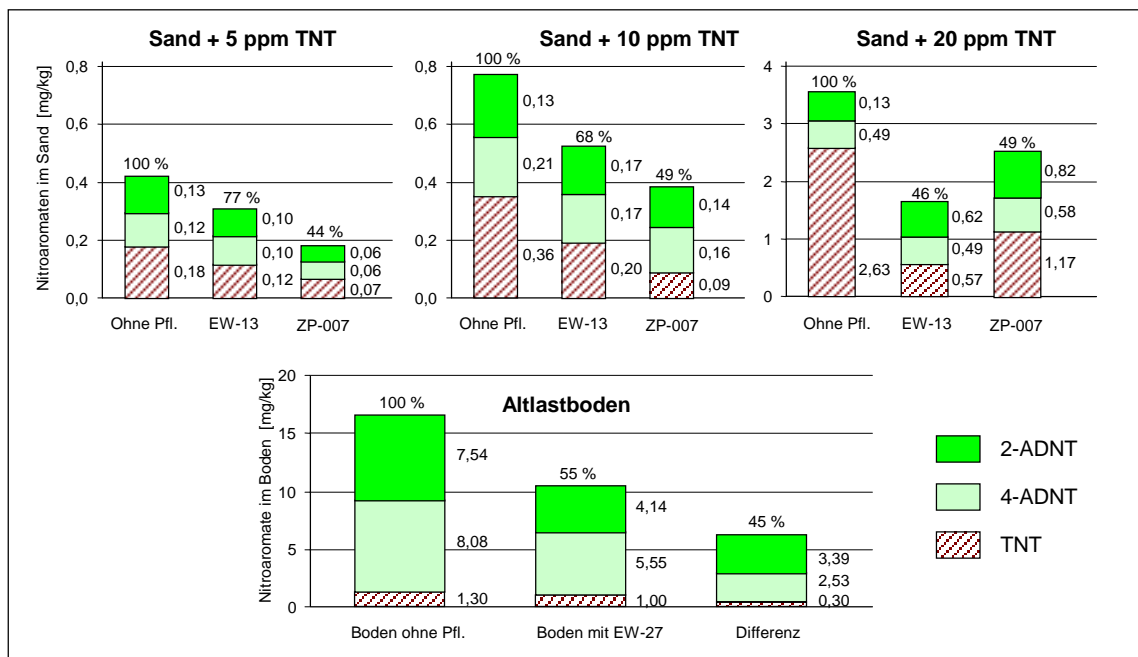


Abb. 7: Bepflanzungseffekt auf TNT-dotierten Sand und auf Altlastboden

Tab. 5: Nachweis von TNT, 4-ADNT und 2-ADNT in *Salix EW-027* auf Altlastboden

GC-ECD-Analyse von *Salix EW-027* nach Gefäßversuch in kontaminiertem Altlastboden aus Clausthal-Zellerfeld. 20-cm-Steckholzsegmente wurden im August in „7x7x8“ Göttinger Töpfen zum Austrieb gebracht und über 6 Monate im Gewächshaus kultiviert. (Bodenvolumen: 220 cm³; Rohrockendichte: 0,96 g TM/cm³; Masse: 0,211 kg/Topf).

Pflanzenproben: 300 mg (Blätter, Zweige, Steckholz) bzw. 100 mg (Wurzeln); Partikelgröße: < 0,25 mm.

Extraktion: 5 ml 50%ige Essigsäure, 60 min Ultraschall (31,5 kHz, 60°C); Ausschütteln mit 4 x 1,5 ml Dichlormethan, Filtrieren mit 0,44 µm Polypropylen-Filter, Einengen im Vakuum-Konzentrator, Aufnahme in 2,5 ml Ethylacetat.

Bodenproben: 5 g getrockneten Bodens (Korngröße 0,5 mm) wurden mit 90 min lang mit je 100 ml Ethylacetat bei T = 35 °C und f = 31,5 kHz im Ultraschallbad extrahiert. Filtrieren mit Faltenfilter und 0,44 µm PP-Filter, Verdünnung zur GC-Analyse: 1 : 2.

Analyse: GC-ECD (SHIMADZU 14A). Säule: Optima 5 (50 m; 0,25 mm I.D.; 0,24 µm Film); Injektionsvolumen: 1 µl; Injektor-temperatur: 250 °C; Split: 1:13; Detektortemperatur: 300 °C; Carriergas: He (3,0 kg/cm²); Makeup-Gas: N₂ (0,7 kg/cm²); Ofen: 160°C (1 min); 8°/min bis 195°C; 5 min bei 195°C; 2°/min bis 220; 20°/min bis 230 °C.

Angabe von Mittelwerten der Konzentrationen der Analyte [mg/kg Trockensubstanz] und der Standardabweichung.

Hochgestellte Werte = Signifikanzniveau des Unterschiedes der Analysenwerte zum unbelasteten Referenzmaterial

„n.s.“ = nicht signifikant für α < 5 % (Student-Test).

„TF“ = Transferfaktor für die Nitroaromatensumme [= Pflanzenkonzentration / Bodenkonzentration].

„%TNT“ = Anteil von TNT an der Nitroaromatensumme.



DendroRem-Home

	TNT	4-ADNT	2-ADNT	Summe	TF	%TNT
	1. Blätter, n = 3					
	0,091 ^{n.s.}	0,135 ^{n.s.}	0,454 ^{0,1%}	0,680^{n.s.}	0,06	13,4%
	±0,074	±0,041	±0,182	±0,183		
	2. Zweige, n = 5					
	0,037 ^{n.s.}	0,224 ^{1%}	0,767 ^{0,1%}	1,028^{1%}	0,10	3,6%
	±0,036	±0,081	±0,242	±0,313		
	3. Steckholz-Oberteil, n = 3					
0,061 ^{n.s.}	0,000 ^{n.s.}	0,025 ^{n.s.}	0,086^{n.s.}	0,01	(70,9%)	
±0,046	±0,000	±0,044	±0,057			
4. Steckholz-Mittelteil, n = 5						
0,056 ^{1%}	0,262 ^{0,1%}	1,353 ^{0,2%}	1,670^{0,1%}	0,16	3,4%	
±0,020	±0,049	±0,619	±0,652			
5. Steckholz-Unterteil, n = 5						
0,130 ^{1%}	1,224 ^{1%}	2,107 ^{0,1%}	3,461^{0,1%}	0,32	3,8%	
±0,057	±0,586	±0,465	±1,023			
6. Wurzeln, n = 5						
2,27 ^{0,1%}	34,57 ^{0,1%}	34,78 ^{0,1%}	71,61^{0,1%}	6,70	3,2%	
±0,377	±6,547	±5,336	±11,825			
7. Boden, n = 5						
0,996 ^{0,1%}	5,555 ^{0,1%}	4,144 ^{0,1%}	10,694^{0,1%}	—	9,3%	
±0,185	±0,847	±0,713	±1,683			

Tab. 6: Gehalte an TNT, 4-ADNT und 2-ADNT in *Salix* EW-027 und Altlastboden

GC-ECD-Analyse von *Salix* EW-027 nach 6-monatigem Gefäßversuch in kontaminiertem Altlastboden aus dem Werk „Tanne“ in Clausthal-Zellerfeld.

Angabe von Mittelwerten der Konzentrationen und der Standardabweichung, sowie der absoluten Gehalte.

TM = durchschnittliche Trockenmasse in g pro Pflanzenteil.

Analysebedingungen: siehe Tab. 5, Seite 24.



DendroRem-Home

Kompartiment / Analyt	TNT	4-ADNT	2-ADNT	Summe	TM
1. Blätter					
Gehalt [μg pro Pflanzenteil]:	0,03 μg	0,04 μg	0,13 μg	0,19 μg	0,283 g
Gehaltsanteil je Pflanzenteil:	2,9 %	0,5 %	1,0 %	0,9 %	
2. Zweige					
Gehalt [μg pro Pflanzenteil]:	0,01 μg	0,07 μg	0,23 μg	0,30 μg	0,295 g
Gehaltsanteil je Pflanzenteil:	1,2 %	0,8 %	1,8 %	1,4 %	
3. Steckholz-Oberteil					
Gehalt [μg pro Pflanzenteil]:	0,12 μg	0,00 μg	0,05 μg	0,16 μg	1,900 g
Gehaltsanteil je Pflanzenteil:	13,3 %	0,0 %	0,4 %	0,7 %	
4. Steckholz-Mittelteil					
Gehalt [μg pro Pflanzenteil]:	0,11 μg	0,50 μg	2,60 μg	3,21 μg	1,920 g
Gehaltsanteil je Pflanzenteil:	12,2 %	6,0 %	20,5 %	14,6 %	
5. Steckholz-Unterteil					
Gehalt [μg pro Pflanzenteil]:	0,26 μg	2,47 μg	4,26 μg	6,99 μg	2,020 g
Gehaltsanteil je Pflanzenteil:	30,1 %	29,3 %	33,7 %	31,8 %	
6. Wurzeln					
Gehalt [μg pro Pflanzenteil]:	0,35 μg	5,36 μg	5,39 μg	11,10 μg	0,155 g
Gehaltsanteil je Pflanzenteil:	40,2 %	63,5 %	42,6 %	50,6 %	
A. Gesamtpflanzengehalt pro Topf:					
Gehalt [μg pro Pflanzenteil]:	0,87 μg	8,44 μg	12,65 μg	21,96 μg	6,573 g
Gehaltsanteil:	100 %	100 %	100 %	100 %	
B. Nitroaromatenentzug pro Topf:					
Gehalt [μg pro Pflanzenteil]:	65 μg	534 μg	717 μg	1.316 μg	211 g
Quotient (Boden / Pflanze):					
	75	63	57	60	
Quotient (Pflanze / Boden):					
	0,013	0,016	0,018	0,017	



DendroRem-Home

Tab. 7: Nitroaromatenkonzentrationen von Bodenproben der „Fläche 1“

Clausthal-Zellerfeld, Werk „Tanne“, 300 m südlich des Laborgebäudes, 50 m westl. Gebäude 307

Raster: 4 m x 4 m.

E4	E3	E2	E1
D4	D3	D2	D1
C4	C3	C2	C1
B4	B3	B2	B1
A4	A3	A2	A1

Zaun

Entnahme: jeweils 20 cm links vom Markierungspunkt2 Ebenen: **A:** 10-15 cm (10.5.95);
B: 35-40 cm Tiefe (8.8.95)Extraktion: 5 g Boden mit 15 ml Ethylacetat,
30 min Rotationsschüttler, 170 U/min
(T = 25 °C), danach 60 min Ultraschall-
extraktion (31,5 kHz, 60 °C).Analyse: Shimadzu-GC-ECD,
1 µl Splitinjektion (1:16);
Säule 60-m-SE 54, (Macherey-Nagel).**A. Probenahme in 15 cm Tiefe (Fläche 1, Werk „Tanne“, Clausthal-Zellerfeld)**

Probenort	mg/kg 2,6-DNT	mg/kg 2,4-DNT	mg/kg 3,4-DNT	mg/kg TNT	mg/kg 4-ADNT	mg/kg 2-ADNT	mg/kg Summe (6 NAr)
A1	0,051	0,552	0,015	0,172	0,077	0,074	0,941
A2	0,045	0,811	0,014	0,492	0,184	0,125	1,672
A3	0,031	0,235	0,010	0,204	0,086	0,082	0,648
A4	0,014	0,086	0,004	0,096	0,086	0,100	0,384
B1	0,035	0,231	0,008	0,159	0,058	0,066	0,557
B2	0,024	0,047	0,000	0,065	0,041	0,048	0,225
B3	0,045	0,212	0,010	0,283	0,116	0,126	0,792
B4	0,023	0,119	0,004	0,211	0,092	0,084	0,533
C1	0,025	0,132	0,005	0,143	0,069	0,086	0,459
C2	0,015	0,084	0,000	0,242	0,089	0,072	0,502
C3	0,057	0,331	0,010	0,786	0,236	0,197	1,616
C4	0,030	0,193	0,010	0,408	0,076	0,085	0,801
D1	0,063	0,236	0,006	0,681	0,228	0,246	1,459
D2	0,025	0,139	0,004	0,460	0,145	0,139	0,912
D3	0,046	0,429	0,014	1,328	0,323	0,291	2,431
D4	0,053	0,348	0,013	0,165	0,062	0,060	0,701
E1	0,024	0,174	0,006	0,511	0,143	0,153	1,011
E2	0,050	0,309	0,008	1,646	0,334	0,274	2,622
E3	0,029	0,237	0,007	0,456	0,149	0,133	1,010
E4	0,018	0,159	0,011	0,259	0,083	0,075	0,606

MW-15 cm	0,035	0,253	0,008	0,438	0,134	0,126	0,994
SA	± 0,015	± 0,180	± 0,004	± 0,411	± 0,086	± 0,072	± 0,654
Median	0,030	0,221	0,008	0,271	0,091	0,093	0,797
Max	0,063	0,811	0,015	1,646	0,334	0,291	2,622
Min	0,014	0,047	0,000	0,065	0,041	0,048	0,225

B. Probenahme in 40 cm Tiefe (Fläche 1, Werk „Tanne“, Clausthal-Zellerfeld)



DendroRem-Home

Probenort	mg/kg 2,6-DNT	mg/kg 2,4-DNT	mg/kg 3,4-DNT	mg/kg TNT	mg/kg 4-ADNT	mg/kg 2-ADNT	mg/kg Summe (6 NAr)
A1	0,032	0,212	0,005	0,322	0,234	0,185	0,989
A2	0,013	0,219	0,007	0,215	0,102	0,099	0,655
A3	1,428	26,330	0,000	50,573	4,635	5,330	88,295
A4	0,010	0,012	0,000	0,048	0,008	0,807	0,884
B1	0,007	0,061	0,000	0,189	0,131	0,381	0,767
B2	0,000	0,024	0,000	0,384	0,065	0,070	0,542
B3	0,011	0,060	0,007	0,191	0,058	0,068	0,394
B4	0,010	0,069	0,000	0,407	0,154	0,332	0,972
C1	0,016	0,128	0,000	0,374	0,150	0,534	1,200
C2	0,015	0,150	0,003	0,271	0,175	0,155	0,768
C3	0,045	0,378	0,000	1,393	0,517	0,457	2,788
C4	0,050	1,241	0,000	0,495	0,255	0,295	2,335
D1	0,208	1,667	0,000	4,746	0,896	1,027	8,543
D2	0,027	0,281	0,000	1,120	0,231	0,288	1,945
D3	0,046	0,381	0,000	2,999	0,448	0,529	4,402
D4	0,331	3,400	0,062	2,100	1,427	0,691	8,009
E1	0,128	1,852	0,000	3,849	0,965	0,925	7,718
E2	0,046	0,302	0,000	3,998	2,003	1,399	7,747
E3	0,000	0,552	0,000	11,523	0,628	1,136	13,838
E4	0,073	0,897	0,013	2,371	0,534	0,493	4,379

MW-40 cm	0,125	1,911	0,005	4,378	0,680	0,760	7,858
SA	± 0,317	± 5,810	± 0,014	± 11,200	± 1,062	± 1,139	± 19,291
Median	0,029	0,292	0,000	0,807	0,244	0,475	2,140
Max	1,428	26,330	0,062	50,573	4,635	5,330	88,295
Min	0,000	0,012	0,000	0,048	0,008	0,068	0,394

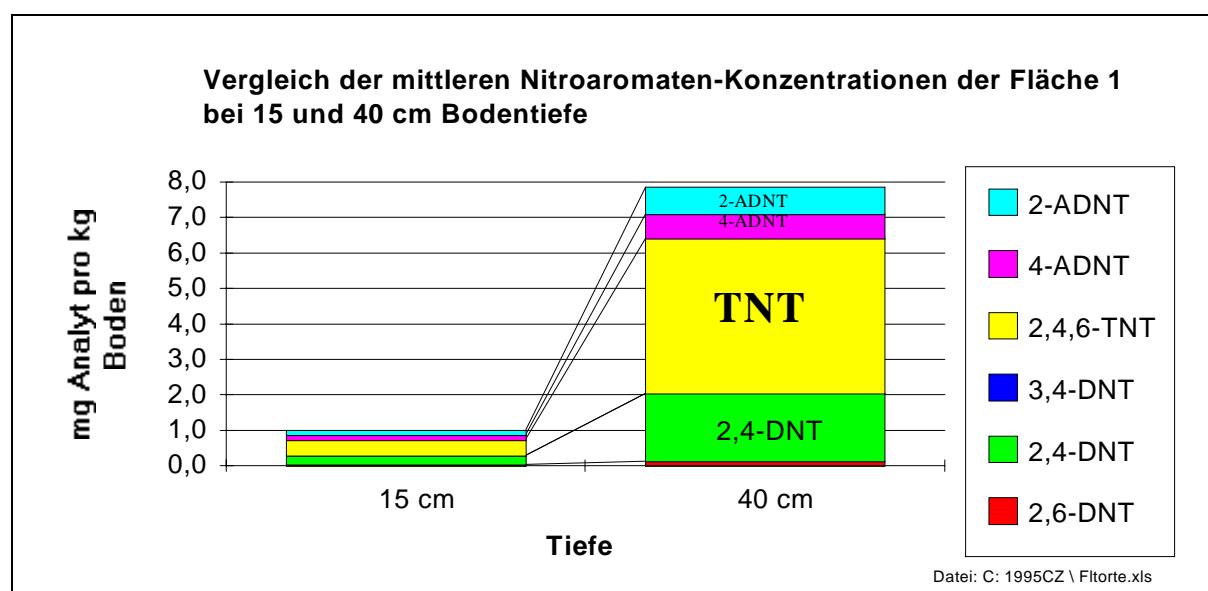


Abb. 8: Tiefen- und Anteilsverteilung der Nitroaromaten auf Fläche 1

Die Daten entstammen den vorangehenden Tabellen A. und B.



DendroRem-Home

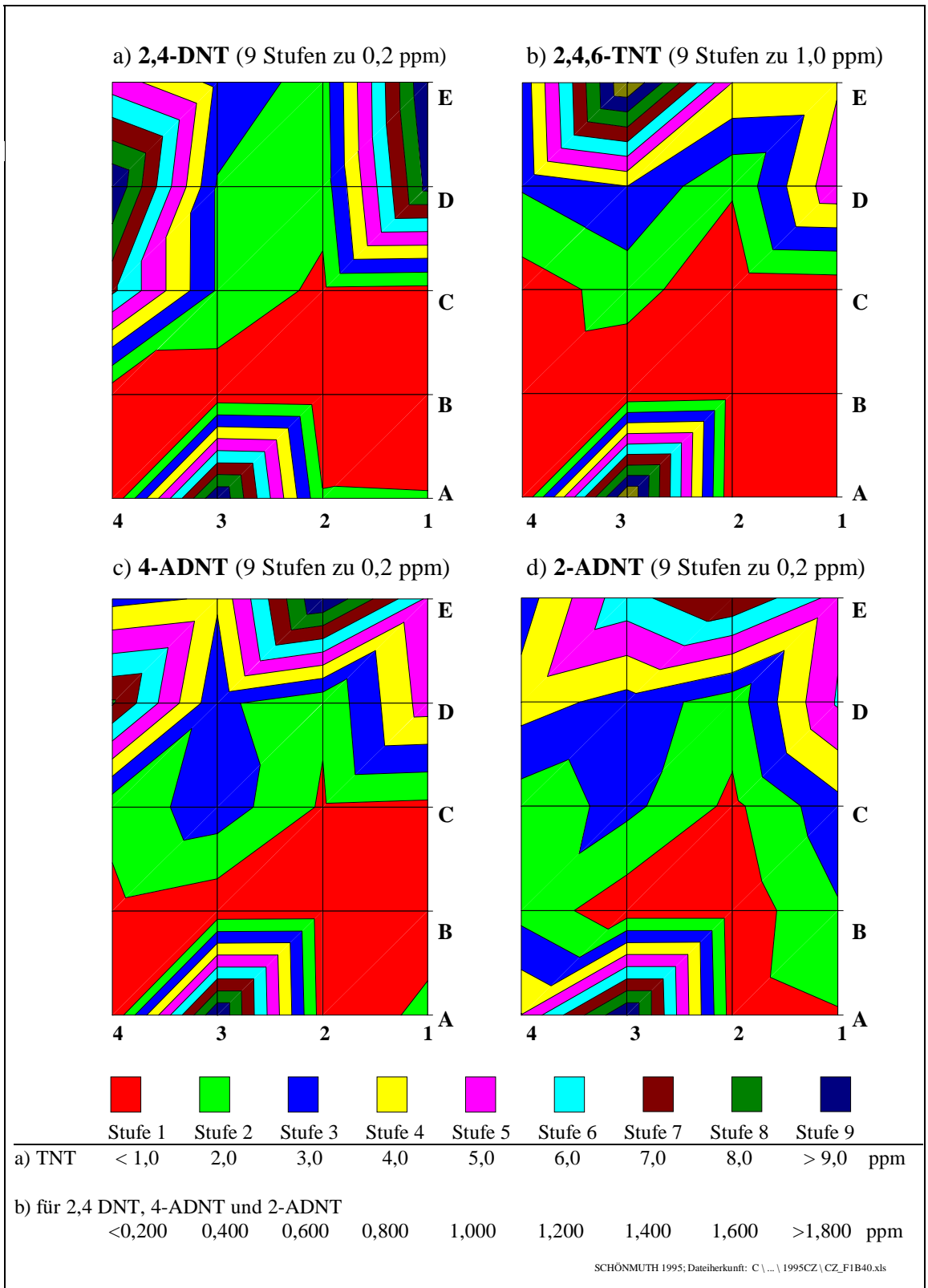


Abb. 9: Horizontale Verteilung der 4 Hauptkontaminanten auf Fläche 1

Die Daten entstammen der vorangehenden Tab. 7. Die Flächenquadrate sind nach den Analysedaten der 4 Eckpunktproben berechnet.



DendroRem-Home



Chrom. 1: *Salix* EW-27, Blätter (300 mg TS je Probe, n = 5)

Die Gehölze wurden sechs Monate in Altlastboden aus Clausthal-Zellerfeld (Werk „Tanne“) kultiviert. Es sind die Chromatogramme der GC-ECD-Analysen von *Salix* EW-27 nach Essigsäure/Dichlormethan-Ultraschallextraktion belasteter Pflanzen und unbelasteter Referenzproben gegenübergestellt. GC-Bedingungen und quantitative Auswertung: siehe Tab. 5 auf Seite 27



DendroRem-Home



Chrom. 2: *Salix* EW-27, Zweige (300 mg TS je Probe, n = 3)

Die Gehölze wurden sechs Monate in Altlastboden aus Clausthal-Zellerfeld (Werk „Tanne“) kultiviert. Es sind die Chromatogramme der GC-ECD-Analysen von *Salix* EW-27 nach Essigsäure/Dichlormethan-Ultraschallextraktion belasteter Pflanzen und unbelasteter Referenzproben gegenübergestellt. GC-Bedingungen und quantitative Auswertung: siehe Tab. 5 auf Seite 27



DendroRem-Home

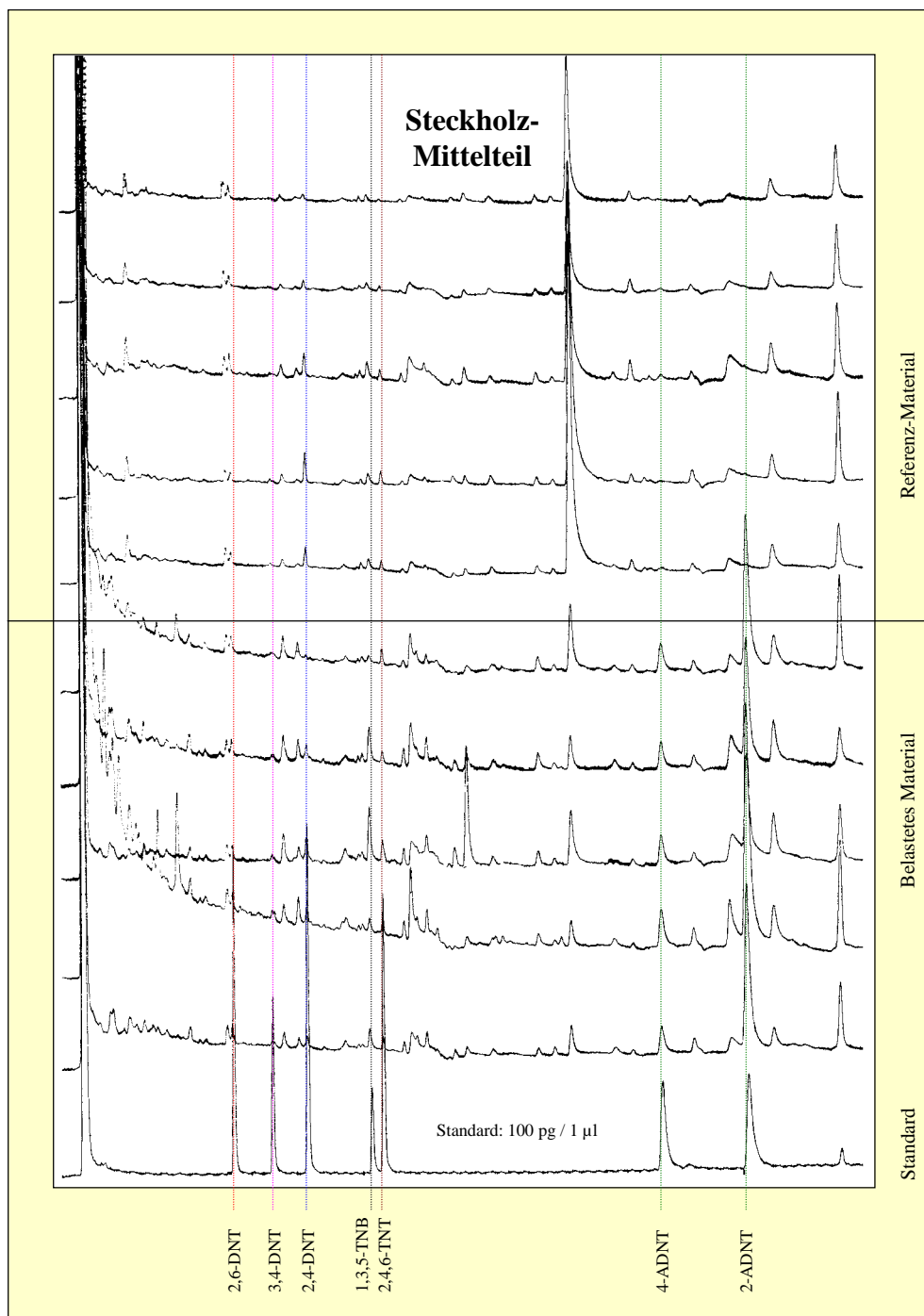


Chrom. 3: Salix EW-27, Steckholz-Oberteil (300 mg TS je Probe, n = 3)

Die Gehölze wurden sechs Monate in Altlastboden aus Clausthal-Zellerfeld (Werk „Tanne“) kultiviert. Es sind die Chromatogramme der GC-ECD-Analysen von *Salix* EW-27 nach Essigsäure/Dichlormethan-Ultraschallextraktion belasteter Pflanzen und unbelasteter Referenzproben gegenübergestellt. GC-Bedingungen und quantitative Auswertung: siehe Tab. 5 auf Seite 27



DendroRem-Home

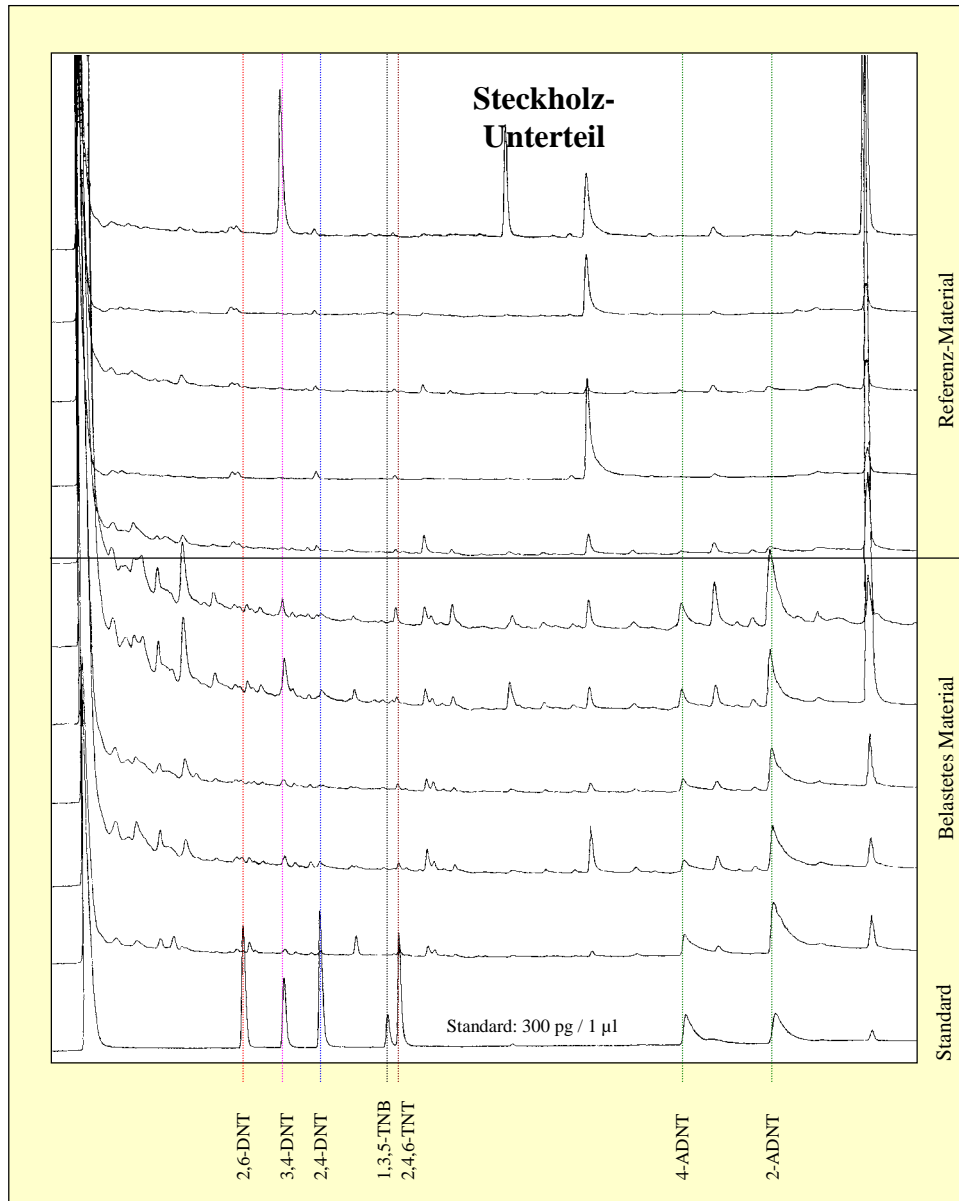


Chrom. 4: *Salix* EW-27, Steckholz-Mittelteil (300 mg TS je Probe, n = 5)

Die Gehölze wurden sechs Monate in Altlastboden aus Clausthal-Zellerfeld (Werk „Tanne“) kultiviert. Es sind die Chromatogramme der GC-ECD-Analysen von *Salix* EW-27 nach Essigsäure/Dichlormethan-Ultraschallextraktion belasteter Pflanzen und unbelasteter Referenzproben gegenübergestellt. GC-Bedingungen und quantitative Auswertung: siehe Tab. 5 auf Seite 27



DendroRem-Home



Chrom. 5: *Salix* EW-27, Steckholz-Unterteil (300 mg TS je Probe, n = 5)

Die Gehölze wurden sechs Monate in Altlastboden aus Clausthal-Zellerfeld (Werk „Tanne“) kultiviert. Es sind die Chromatogramme der GC-ECD-Analysen von *Salix* EW-27 nach Essigsäure/Dichlormethan-Ultraschallextraktion belasteter Pflanzen und unbelasteter Referenzproben gegenübergestellt. GC-Bedingungen und quantitative Auswertung: siehe Tab. 5 auf Seite 27



DendroRem-Home



Chrom. 6: *Salix* EW-27, Wurzeln (100 mg TS je Probe, n = 5)

Die Gehölze wurden sechs Monate in Altlastboden aus Clausthal-Zellerfeld (Werk „Tanne“) kultiviert. Es sind die Chromatogramme der GC-ECD-Analysen von *Salix* EW-27 nach Essigsäure/Dichlormethan-Ultraschallextraktion belasteter Pflanzen und unbelasteter Referenzproben gegenübergestellt. GC-Bedingungen und quantitative Auswertung: siehe Tab. 5 auf Seite 27