

# Toxizität und Abbaubarkeit eines Bodenaktivators

R. Margesin und F. Schinner

## Toxicity and biodegradability of a soil conditioner

### 1. Einleitung

Bodenaktivatoren werden im Feld- und Gemüsebau sowie in Gärtnereibetrieben für ein besseres und gesünderes Wachstum der Pflanzen und zur Stimulation der bodenmikrobiologischen Umsetzungsprozesse angeboten. Bei Kompostierungen werden Bodenaktivatoren zum rascheren Abbau der Phytomasse und zur Geruchsverminderung eingesetzt. Zur Abschätzung des Gefährdungspotentials von Verbindungen, die in den Boden eingebracht werden, wird die Ermittlung der ökotoxikologischen Wirkung empfohlen (ALEF, 1994; KREYSA und WIESNER, 1995). Bodenaktivatoren bestehen aus einer Vielzahl organischer und anorganischer Bestandteile, die nach Applikation in minimalster Konzentration zur Wirkung gelangen. Wegen der äußerst geringen applizierten Wirkstoffkonzentrationen müssen zum Zwecke der Nachweisbarkeit der Abbaubarkeit einzelner Komponenten und deren potentieller Toxizität um das 100- bis 1 000-fach höhere Konzentrationen als die empfohlene Applikationsmenge für die Austestung eingesetzt werden.

Die vorliegenden Untersuchungen hatten die Beurteilung der Toxizität und Abbaubarkeit des Bodenaktivators Amalgerol<sup>®</sup>-Premium zum Ziel, der zur Förderung des Bodenlebens sowie der Blatt- und Wurzelbildung für den Einsatz im Feld-, Garten- und Weinbau entwickelt wurde.

Der Aktivator enthält Pflanzenextrakte, ätherische Öle, Pflanzenöle und Mineralöldestillat. Anhand dieser stofflichen Zusammensetzung wurde besonderes Augenmerk auf den Kohlenwasserstoff-Gehalt gelegt, da Mineralölkohlenwasserstoffe aus toxikologischer Sicht von Relevanz sind (BARTHA et al., 1992).

### 2. Material und Methoden

#### 2.1 Bodenaktivator

Der untersuchte Aktivator (Amalgerol<sup>®</sup>-Premium, Hechenbichler GmbH, Innsbruck) besteht zu 25–35 % aus elementarem Kohlenstoff und enthält Pflanzenextrakte, ätherische Öle, Pflanzenöle und Mineralöldestillat.

#### 2.2 Bodenmaterial

Bei dem verwendeten Testboden handelte es sich um einen Ackerboden (Oberboden) aus Vill/Innsbruck. Der C-Horizont war alluvialer Moränenschotter, der Bodentyp Leptosol. Der Boden hatte einen pH-Wert von 6,6 (CaCl<sub>2</sub>) und enthielt 0,6 % CaCO<sub>3</sub>, 5 % Humus (ÖNORM L1081), 2,97 % Gesamt-C (berechnet aus CaCO<sub>3</sub>-C und organi-

### Summary

The soil conditioner Amalgerol<sup>®</sup>-Premium was investigated with regard to its toxicity, its effect on the growth of microorganisms and the biodegradability of its hydrocarbon components in soil. Concentrations up to the 1 000-fold of the recommended amount of application were not to be toxic in water or in aqueous soil elutriate. Only a 1 000–2 000-fold higher concentration than the recommended amount demonstrated an inhibiting effect on the growth of *E. coli*, *V. fischeri* and a mixed population of soil bacteria; the inhibiting effect decreased with time. A lower concentration resulted partially even in a stimulation of growth. In soil, the hydrocarbon content of a 1 000-fold concentration of the recommended amount of application was reduced by about 90 % within 8 days at 10–30° C in an open system, 50 % had disappeared already after 24 h. In a closed system (gas-tight), the hydrocarbon content decreased by 24–31 % after 8 days at 10–30° C. The presence of a N-P-K fertilizer had no effect on the hydrocarbon loss in soil.

**Key words:** Soil conditioner, hydrocarbons, biodegradation, toxicity, bioluminescence.

### Zusammenfassung

Der Bodenaktivator Amalgerol®-Premium wurde hinsichtlich seiner Toxizität, seiner Wirkung auf das Wachstum von Mikroorganismen und der Abbaubarkeit der im Aktivator enthaltenen Kohlenwasserstoffe (KW) im Boden untersucht. Konzentrationen bis zum 1 000-fachen der vom Hersteller empfohlenen Applikationsmenge waren weder in Wasser noch in einem wäßrigen Bodeneluat als toxisch zu bezeichnen. Erst eine um das 1 000- bis 2 000fach höhere Konzentration als die empfohlene Applikationsmenge zeigte eine hemmende Wirkung auf das Wachstum von *E. coli*, *V. fischeri* und einer Mischpopulation aus Bodenbakterien, die Hemmwirkung nahm jedoch mit zunehmender Inkubationszeit ab. Geringere Konzentrationen bewirkten teilweise sogar eine Wachstumsförderung. Der KW-Gehalt einer 1 000-fachen Konzentration der empfohlenen Applikationsmenge im Boden wurde innerhalb von 8 Tagen bei 10–30° C im offenen System um ca. 90 % reduziert; 50 % waren bereits nach 24 h eliminiert. Im geschlossenen System (gasdicht) sank der KW-Gehalt nach 8 Tagen bei 10–30° C um 24–31 %. Die Anwesenheit eines N-P-K-Düngers beeinflusste die KW-Eliminierbarkeit nicht.

**Schlagworte:** Bodenaktivator, Kohlenwasserstoffe, Abbau, Toxizität, Biolumineszenz.

schem C), 0,29 % N (Kjeldahl, ÖNORM L1082), 0,006 % P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> und 0,006 % K<sub>2</sub>O (CAL). Die Korngrößenverteilung (ÖNORM L1061) war 7,5 % Ton (<2 µm), 47,3 % Schluff (davon 28,2 % 2–20 µm, 19,1 % 21–62 µm) und 45,2 % Sand (>63 µm).

### 2.3 Bestimmung der Toxizität des Aktivators in Bodeneluat und Wasser

#### 2.3.1 Hemmung der Lumineszenz von *Vibrio fischeri*

Das Verfahren nach DIN 38 412–L34 (1991) wurde für die Untersuchung von Wässern und wäßrigen Bodeneluaten konzipiert und beruht auf der Messung der Lichtemission des lumineszenten Bakteriums *Vibrio fischeri* (*Photobacterium phosphoreum*), die in Gegenwart von Schadstoffen (in Abhängigkeit von deren Toxizität) reduziert wird.

Testboden, entsprechend einer Menge von 20 g TS, wurde mit verschiedenen Konzentrationen von Aktivator (5, 10, 100, 500, 1 000, 5 000, 10 000 µl/kg TS) gelöst in 20 ml Wasser, versetzt und 20 h bei Raumtemperatur zur Herstellung von Bodeneluaten auf einem Überkopfschüttler gemischt. Anschließend wurden die Bodensuspensionen 10 Minuten bei 2100xg zentrifugiert, der Überstand wurde mit NaCl versetzt (2 %) und der pH-Wert, falls nötig, korrigiert (Soll-pH 6,5–8,3). Analog dazu wurden 10 ml Wasser mit verschiedenen Konzentrationen von Aktivator (5–10 000 µl/l) gemischt und über Nacht bei Raumtemperatur geschüttelt. Die Lichtemission von *V. fischeri* (BioOrbit, 1243–500 BioTox-Kit) wurde unmittelbar sowie 30 min

nach Zusatz verschiedener Verdünnungen der Bodeneluats bzw. Wasserproben bei 15° C luminometrisch gemessen. Als Kontrolle diente 2 % NaCl. Sämtliche Messungen erfolgten mit zwei Parallelen.

Als Ergebnis der Hemmung der Lumineszenz gilt der GL-Wert, dies ist der kleinste Verdünnungsfaktor (G) der Testlösung, bei dem die Lichtemission um ≤ 20 % gehemmt wird. Beträgt der GL-Wert 1 (Testlösung in der Meßküvette 1 : 1,25 verdünnt) oder 2 (Testlösung 1 : 2 verdünnt), wird die Probe als nicht toxisch bezeichnet. Eine Probe gilt als toxisch, wenn der GL-Wert >8 ist (d. h. erst bei einer 1 : 8-Verdünnung der Testlösung in der Meßküvette wird die Lichtemission um ≤20 % gehemmt; geringere Verdünnungen bewirken eine stärkere Hemmung) (KREYSA und WIESNER, 1995).

#### 2.3.2 Agarplattendiffusionstest

Testorganismen dieser Untersuchung waren *E. coli*, *Vibrio fischeri* und eine Mischpopulation von Bodenbakterien, die aus dem Testboden isoliert wurde. Eine Vorkultur der Teststämme wurde 18 h bei 30° C (*E. coli*, Bodenbakterien) bzw. 25° C (*V. fischeri*) angezüchtet. 0,1 ml der jeweiligen Kultur wurde mit 3 ml Weichagar (7 g Agar/l dest. Wasser) gemischt und auf geeignete Agarplatten (Nährbouillon für *E. coli* und Bodenbakterien, Photobacterium-Medium nach ATLAS (1995) für *V. fischeri*) ausgegossen. Sterile Filterblättchen aus Cellulose (6 mm Durchmesser, Schleicher & Schüll) wurden in wäßrige Testlösungen (5, 10, 100, 500, 1 000, 5 000, 10 000 µl Aktivator/l Wasser) getaucht und auf die

Agarplatten aufgelegt. Pro Konzentration wurden zwei Parallelen getestet, als Kontrolle diente steriles Wasser. Die Agarplatten wurden bei 30° C (*E. coli*, Bodenbakterien) bzw. 25° C (*V. fischeri*) inkubiert, nach 24 und 48 h wurde das Wachstum der Teststämme beurteilt; anhand des Durchmessers der Hemmhöfe sollte auf die wachstumshemmende Wirkung des Aktivators geschlossen werden.

## 2.4 Einfluß des Aktivators auf das Wachstum von Mikroorganismen

Eine Vorkultur der Teststämme *E. coli*, *Vibrio fischeri* und einer Mischpopulation von Bodenbakterien wurde 18 h über Nacht bei 30° C bzw. 25° C angezüchtet (siehe 2.3.2); 0,5 ml der Vorkultur wurde in 10 ml Nährlösung (Nährbouillon für *E. coli* und Bodenbakterien, Photobacterium-Medium nach ATLAS (1995) für *V. fischeri*) überimpft, die mit verschiedenen Konzentrationen von Aktivator (5, 10, 100, 500, 1 000, 5 000, 10 000 µl/l) versetzt wurde. Kontrollen enthielten keinen Zusatz. Pro Konzentration wurden zwei Parallelen angesetzt. Die Flüssigkulturen wurden bei 30° C und 180 rpm (*E. coli*, Bodenbakterien) bzw. 25° C und 150 rpm (*V. fischeri*) inkubiert. Nach 2, 4, 6, 24 und 30 h Inkubation wurde das Wachstum der Bakterien durch Messung der optischen Dichte bei 600 nm beurteilt.

## 2.5 Untersuchungen zur Abbaubarkeit des Aktivators im Boden

### 2.5.1 Abbau unter nicht-gasdichten Bedingungen

Testboden, entsprechend 10 g TS, wurde in 108 Stück 100-ml Erlenmeyerkolben eingewogen und mit 5000 µl Aktivator/kg TS, gelöst in 500 µl dest. Wasser, versetzt. Zur Bestimmung der abiotischen Eliminierung wurde zu 36 Kolben Natriumazid (Endkonzentration 1 %) zugesetzt. 36 Kolben erhielten keinen Zusatz, um die natürliche Attenuierung (Abnahme der KW-Konzentration infolge chemisch-physikalischer Prozesse plus Abbauaktivität der Bodenmikroorganismen ohne den Zusatz eines Düngers) beurteilen zu können. Zur Beurteilung der Biostimulation der Bodenmikroorganismen wurden 36 Kolben mit einem landwirtschaftlichen N-P-K-Dünger [15-15-15, Agrolinz Melamin GmbH, Linz; der Dünger enthielt 15 % N (9,5 % NH<sub>3</sub>-N, 5,5 % NO<sub>3</sub>-N), 15 % P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 15 % K<sub>2</sub>O] versetzt, wobei das C:N-Verhältnis auf 10 : 1 eingestellt

wurde; Maß für die C-Konzentration war der C-Gehalt der zugesetzten Menge an Aktivator.

Der Wassergehalt des Bodens wurde auf ca. 50 % der maximalen Wasserhaltekapazität eingestellt, die Kolben wurden mit Wattestopfen verschlossen. Zur Bestimmung des Einflusses der Temperatur auf den Abbau von Aktivator durch Bodenmikroorganismen wurden je 12 der 36 Kolben mit Natriumazid, ohne Dünger bzw. mit Dünger bei 10, 20 und 30° C inkubiert. Nach 1, 2, 4 und 8 Tagen Inkubation wurden je Temperatur und Behandlungsmaßnahme 3 Kolben entnommen und der restliche KW-Gehalt bestimmt. Als Bezug ( $\tau_0$ ) diente ein Ansatz, in dem unmittelbar nach dem Zusatz des Aktivators der KW-Gehalt bestimmt wurde.

### 2.5.2 Abbau unter gasdichten Bedingungen

Der unter 2.5.1 beschriebene Ansatz wurde unter Verwendung von Headspace-Glasvials wiederholt. Die Vials wurden sofort nach Zusatz von Aktivator gasdicht verschlossen und 1, 2, 4, und 8 Tage bei 10, 20 und 30°C inkubiert; anschließend wurde der restliche KW-Gehalt bestimmt.

## 2.6 Quantifizierung des Aktivators im Boden

Der KW-Gehalt des Aktivators wurde nach DIN 38 409-H18 (1981), einer summenparametrischen Analyse der Mineralölkohlenwasserstoffe mittels Infrarotspektroskopie, nachgewiesen. Bodenproben, entsprechend 10 g TS, wurden nach Trocknung mit ca. 6-8 g Natriumsulfat mit 30 ml 1,1,2-Trichlortrifluorethan versetzt und 30 Minuten bei Raumtemperatur über Kopf geschüttelt, der organische Extrakt wurde mittels Filtration abgetrennt. Mitextrahierte interferierende Komponenten (Nicht-Kohlenwasserstoffe, pflanzliche Öle und Fette) wurden durch Behandlung mit einem polaren Adsorbens (Aluminiumoxid 90 aktiv, neutral, Aktivitätsstufe I) in einer Säule entfernt (HOLLERBACH et al., 1992). Die Massenkonzentration an KW in den Extrakten wurde unter Einbeziehung der charakteristischen Absorption der CH<sub>3</sub>-Gruppen bei 3,38 µm und der CH<sub>2</sub>-Gruppen bei 3,42 µm berechnet.

Der Hersteller empfiehlt den Aktivator in einer Menge von 3-5 l, verdünnt in 300-500 l Wasser, pro Hektar zu applizieren. Bei Annahme einer Bodendichte von 1,5 g/cm<sup>3</sup> und einer maximalen Eindringungstiefe von 10 cm entspricht dies einer Menge von 3,33 µl Aktivator/kg Boden.

Konzentrationen von 0, 5, 10, 100, 500, 1000, 5 000 und 10 000 µl Aktivator/kg Boden-TS wurden dem Testboden (10 g TS) zugesetzt, nach Extraktion wurde der KW-Gehalt mittels Infrarotspektroskopie quantifiziert. Sämtliche Ansätze erfolgten mit 10 g TS unter Austestung von zwei Parallelen je Konzentrationsstufe.

### 3. Ergebnisse und Diskussion

#### 3.1 Toxizitätstests

Testmethoden zur Beurteilung der potentiellen Toxizität von organischen und anorganischen Verbindungen, die in Boden und Wasser eingebracht werden, erfassen den mobilisierbaren und bioverfügbaren Anteil der Fremdstoffe, der im Hinblick auf die Betrachtung der ökosystemaren und ökotoxischen Auswirkungen relevant ist (KREYSA und WIESNER, 1995). Grundsätzlich stellen Bakterien ideale Testorganismen dar, u.a. weil aufgrund ihrer kurzen Generationszeiten und ihrer hohen Stoffwechselaktivität kurze Ansprechzeiten für biologische Tests möglich sind (BITTON und KOOPMAN, 1992). Die Problematik dieser Testverfahren besteht darin, daß alle resultierenden Aussagen auf jene Bakterien beschränkt sind, die im Testverfahren eingesetzt werden; allgemein-toxikologische Aussagen sind nicht möglich (HÜTTER, 1994; KREYSA und WIESNER, 1995; BIERKENS et al., 1998). Wir beurteilten daher die potentielle Toxizität des Aktivators anhand seiner Wirkung auf drei grundsätzlich verschiedene Mikroorganismen (*E. coli*, *V. fischeri* und eine Mischpopulation aus Bodenbakterien) mit zwei unterschiedlichen Methoden.

##### 3.1.1 Hemmung der Lumineszenz von *V. fischeri*

Von besonderem Interesse für Toxizitätsuntersuchungen ist der Leuchtbakterientest (HORVATH und GRUIZ, 1995), ein genormter Biotest zur Messung der Toxizität von Schadstoffen, der sich in der Praxis als zuverlässig und empfindlich erwiesen hat. Dieser Test beruht auf der Hemmung der Biolumineszenz von Leuchtbakterien in Gegenwart von toxischen Stoffen: je stärker die Hemmung, desto toxischer die Probe.

In Wasser waren Konzentrationen bis zu 1 000 µl Aktivator/l nicht toxisch (GL-Wert 1), höhere Konzentrationen beeinflussten die Lumineszenz. Erst eine Konzentration von 10 000 µl Aktivator/l Wasser (dies entspricht der 2 000-

fachen Konzentration der real applizierten Aktivatormenge) erwies sich mit einem GL-Wert >8 als toxisch (Tabelle 1).

Tabelle 1: Einfluß verschiedener Aktivator-Konzentrationen im wäßrigen Bodeneluat und in Wasser auf die Hemmung der Lumineszenz von *V. fischeri* (DIN 38412-L34; Mittelwerte aus zwei Parallelen); GL≤2: Probe nicht toxisch, GL>8: Probe toxisch

Table 1: Effect of different soil conditioner concentrations in aqueous soil elutriate and water on the inhibition of luminescence of *V. fischeri* (DIN 38412-L34; mean values of two replicates); GL≤2: sample is not toxic, GL>8: sample is toxic

Konzentration (µl Aktivator/l)	Bodeneluat GL-Wert	Wasser GL-Wert
0	1	1
5	1	1
10	1	1
100	1	1
500	1	1
1 000	1	1
5 000	1	3
10 000	2	>8

Im wäßrigen Bodeneluat, welches ein Maß für die potentielle Gefährdung des Grundwassers durch Bodenauswaschung darstellt, wies nur die höchste getestete Konzentration von 10 000 µl Aktivator/l einen GL-Wert von 2 auf, der jedoch noch nicht als toxisch zu bezeichnen ist; geringere Konzentrationen bewirkten keine Hemmung der Lumineszenz (GL-Wert 1) (Tabelle 1). Die geringere Toxizität im Bodeneluat als in Wasser ist auf Adsorption des Aktivators an Bodenkolloide zurückzuführen.

##### 3.1.2 Agarplattendiffusionstest

Im Agarplattendiffusionstest zeigte keine der getesteten Aktivator-Konzentrationen eine wachstumshemmende Wirkung auf die getesteten Mikroorganismen, auch wurde die (optisch im Dunkeln sichtbare) Leuchtintensität von *V. fischeri* nicht beeinträchtigt. Auch bei einer Applikation der 2 000-fachen Menge der empfohlenen Konzentration des Aktivators wäre demnach keine schädliche Wirkung auf die getesteten Mikroorganismen zu erwarten.

Die im Plattendiffusionstest nicht vorhandene wachstumshemmende Wirkung i. U. zu Flüssigkulturen (siehe 3.2) kann darauf zurückgeführt werden, daß die Verfügbarkeit von Testsubstanzen in festen Medien (Agar) auf-

grund ihrer Sorption an Agar und Filterblättchen abgeschwächt ist.

### 3.2 Einfluß des Aktivators auf das Wachstum von Mikroorganismen

Eine weitere Möglichkeit der Beurteilung der Toxizität ist die Kultivierung von bakteriellen Rein- oder Mischkulturen über mehrere Generationen in Anwesenheit verschiedener Verdünnungsstufen der Testsubstanz. Inhaltsstoffe können in Abhängigkeit von ihrer Konzentration die Vermehrungsfähigkeit der Bakterien hemmen. Als Maß für die Zellzahl gilt die optische Dichte (BITTON und KOOPMAN, 1992). Durch Vergleich zwischen Kontroll- und Testansatz wird die Hemmung bzw. Förderung des Wachstums beurteilt. Nach einem DIN-Entwurf wird ein Test zur Hemmung des Wachstums von *V. fischeri* zur Validierung des Lumineszenzhemmtestes im GL-Wertebereich zwischen 3 und 8 empfohlen, wobei die Inkubationszeit 16 h beträgt (KREYSA und WIESNER, 1995).

Wir beobachteten den Einfluß verschiedener Aktivator-Konzentrationen (bis zum 2 000-fachen der empfohlenen Applikationsmenge) auf das Wachstum zweier grundsätzlich verschiedener Mikroorganismen sowie einer Mischpopulation von Bodenmikroorganismen während einer Inkubationszeit von 30 h. Nach 2 h Inkubation waren noch keinerlei Unterschiede zwischen den getesteten Aktivator-Konzentrationen und den Kontrollen (Wachstum ohne Aktivator) sichtbar.

*E. coli* (einer der wichtigsten Teststämme in der Mikrobiologie) zeigte die höchste Toleranz unter den Testmikroorganismen, Konzentrationen von 5–1 000 µl Aktivator/l (d. h. bis zum 200-fachen der empfohlenen Applikationsmenge) beeinflussten das Wachstum während der gesamten Inkubationszeit nicht. Die höchsten Testkonzentrationen (5 000–10 000 µl/l, dies entspricht der 1 000- bis 2 000-fachen Menge der empfohlenen Applikationsmenge) bewirkten lediglich nach 4 h Inkubation eine Wachstumshemmung von 23 % bzw. 46 %, die jedoch mit zunehmender Inkubationszeit abnahm: die hemmende Wirkung von 5 000 µl/l war bereits nach 6 h nicht mehr vorhanden; eine Konzentration von 10 000 µl/l bewirkte nach 6 und 24 h nur mehr eine Wachstumshemmung von 33 % und nach 30 h sogar eine leichte Wachstumsstimulierung (Abb. 1).

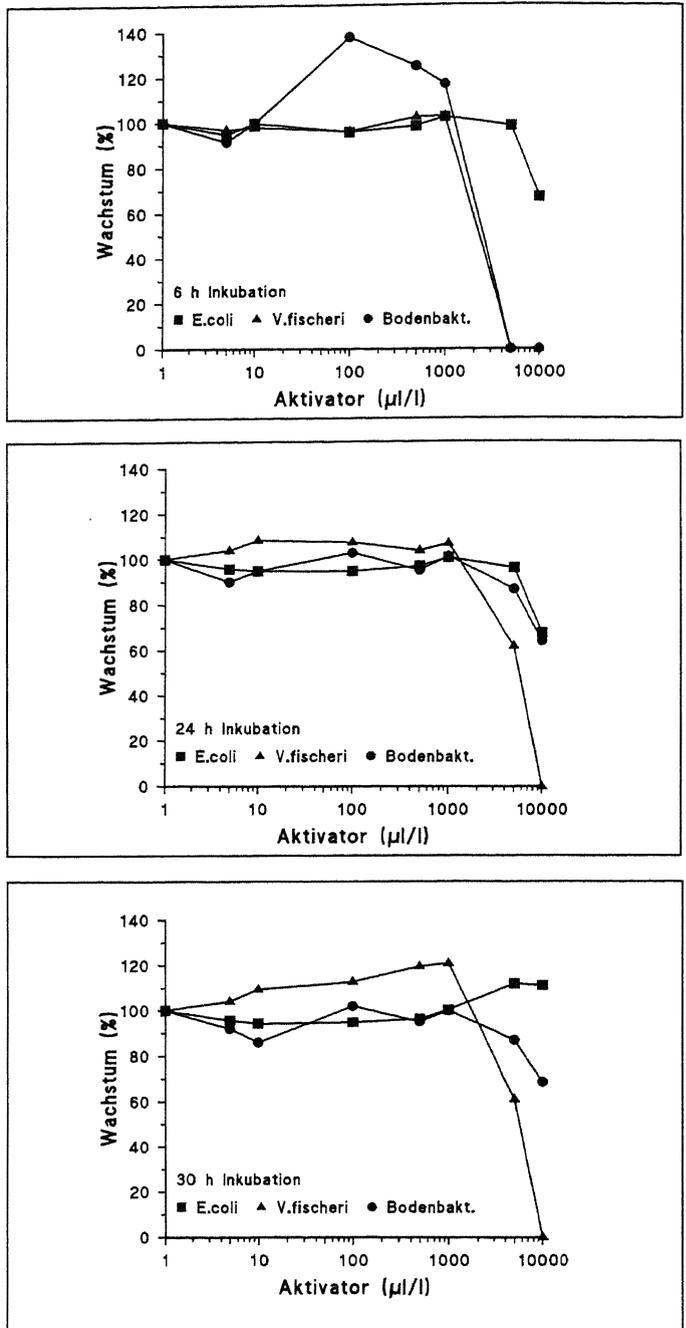


Abbildung 1: Einfluß verschiedener Aktivator-Konzentrationen auf das Wachstum von *E. coli*, *V. fischeri* und einer Mischpopulation aus Bodenbakterien nach 6, 24 und 30 h Inkubation (Mittelwerte aus zwei Parallelen); Kontrolle = 100 %; Wachstum >100 % entspricht einer fördernden Wirkung des Aktivators, während Wachstum <100 % mit einer hemmenden Wirkung gleichzusetzen ist  
 Figure 1: Effect of different soil conditioner concentrations on the growth of *E. coli*, *V. fischeri* and a mixed culture of soil bacteria after 6, 24 and 30 h of incubation (mean values of two replicates); Control = 100 %; growth >100 % corresponds to a stimulating effect of the conditioner while growth <100 % means an inhibiting effect

*V. fischeri* (aufgrund seiner Sensitivität für die Beurteilung der physiologischen Wirkung von Substanzen besonders gut geeignet) wurde innerhalb der ersten 6 h durch den Zusatz von Aktivator in Konzentrationen von bis zu 1 000 µl/l nicht in seinem Wachstum beeinflusst, höhere Konzentrationen waren aber auch für dieses Bakterium letal. Nach 24 h und 30 h bewirkten jedoch 5 000 µl Aktivator/l nur mehr eine Wachstumshemmung von ca. 40 %, während die doppelte Konzentration weiterhin letal blieb. Nach 30 h zeigten Konzentrationen bis zu 1 000 µl/l sogar eine wachstumsfördernde Tendenz (Abb. 1).

Auf Bodenbakterien (Mischpopulation) zeigte der Zusatz von Aktivator bis zu einer Konzentration von 500–1 000 µl/l nach 4 h und 6 h eine deutliche, wachstumsfördernde Wirkung, während Konzentrationen von 5 000–10 000 µl/l letal waren. Nach 24 h und nach 30 h hemmte nur mehr die höchste Testkonzentration das Wachstum dieser Bakterien um 31–36 %, alle anderen Testkonzentrationen beeinflussten das Wachstum nicht (Abb. 1).

Insgesamt konnte beobachtet werden, daß lediglich sehr hohe Konzentrationen von Aktivator (5 000–10 000 µl/l, also die 1 000- bis 2 000-fache Menge der empfohlenen Applikationsmenge) das Wachstum der getesteten Mikroorganismen beeinträchtigten. Die wachstumshemmende Wirkung wurde jedoch mit zunehmender Inkubationszeit und somit Adaption der Mikroorganismen an den Aktivator reduziert bzw. aufgehoben, teilweise erfolgte eine Stimulation des mikrobiellen Wachstums. Konzentrationen bis zum 200-fachen der empfohlenen Aufwandmenge bewirkten zeitweise sogar eine Wachstumsförderung, welche besonders bei der Mischpopulation von Bodenbakterien deutlich ausgeprägt war.

### 3.3 Abbau des KW-Gehaltes des Aktivators im Boden

Die in der Praxis applizierte Konzentration entsprach der kleinsten Testkonzentration (5 µl/kg TS) und war mittels Infrarotspektroskopie nicht quantifizierbar. Für die Abbau-studie wurde daher eine Konzentration von 5 000 µl Aktivator/kg TS eingesetzt.

Unter nicht-gasdichten Bedingungen, d. h. in einem offenen System, wie es realen Bedingungen entspricht, wurde der KW-Gehalt des Aktivators, unabhängig von der Inkubationstemperatur, bereits zu einem Großteil (43–55 %) innerhalb von 24 h eliminiert. Innerhalb dieser Zeit war nahezu die gesamte Eliminierung auf abiotische, physikalisch-chemische Prozesse (Verflüchtigung volatiler Bestand-

teile, Adsorption an Bodenkolloide) zurückzuführen. Der Zusatz von Natriumazid bewirkte eine Hemmung der mikrobiellen Abbauaktivität (MARGESIN und SCHINNER, 1997). Die abiotische Eliminierung nahm im Lauf der restlichen Inkubationszeit nur mehr geringfügig zu. Der Zusatz des anorganischen N-P-K-Düngers zeigte bei keiner Inkubationstemperatur eine signifikante Förderung der Abbauaktivität der Bodenmikroorganismen. Nach 8 Tagen Inkubation waren nur mehr 7–8 % (Inkubationstemperatur 30° C) bzw. 8–11 % (20° C) bzw. 14–15 % (10° C) des KW-Gehaltes im Aktivator nachweisbar (Abb. 2).

Im geschlossenen System (gasdicht), das jedoch realen Bedingungen nicht entspricht, betrug der Anteil der abiotischen Eliminierung von KW im Aktivator lediglich 5–20 % (Restgehalt 80–95 %); je höher die Inkubationstemperatur, umso höher war auch die abiotische Eliminierung. Da die Verflüchtigung volatiler Verbindungen unter gasdichten Bedingungen ausgeschlossen werden kann, ist die gemessene abiotische Eliminierung v.a. auf Sorptionsprozesse im Boden zurückzuführen. In ungedüngten Bodenproben nahm der KW-Gehalt nach 8 Tagen bei 10–30°C um 24–31 % ab (Restgehalt 69–76 %); da jedoch ein Großteil der Eliminierung auf abiotische Prozesse zurückzuführen ist, kann nur in einem geringen Ausmaß (6–19 %) von mikrobiellem Abbau gesprochen werden. Der Zusatz eines anorganischen Düngers ergab bei keiner Inkubationstemperatur eine Förderung oder Hemmung der Abbauaktivität der Bodenmikroorganismen (Abb. 3).

## 4. Schlußfolgerung

Den vorliegenden Untersuchungsergebnissen zufolge konnte festgestellt werden, daß der getestete Bodenaktivator in empfohlener Applikationsmenge auf Bodenmikroorganismen keine toxische Wirkung ausübt. Potentiell toxische Bestandteile des Bodenaktivators wie Mineralölestillat werden in wenigen Tagen aus dem Boden durch volatiles Entweichen, Adsorption an Bodenkolloide und mikrobiellen Abbau eliminiert.

## Danksagung

Die Arbeit wurde durch den FFF (Fonds zur Förderung der gewerblichen Wirtschaft) und die Fa. HECHENBICHLER GmbH, Innsbruck, gefördert. Wir bedanken uns bei P. THURNBICHLER für die technische Bearbeitung.

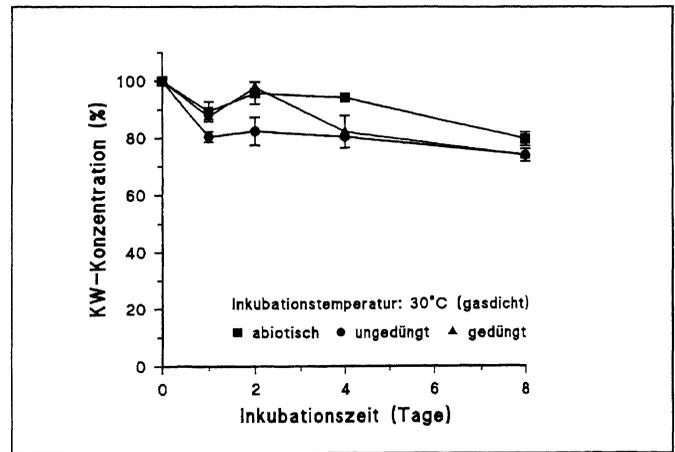
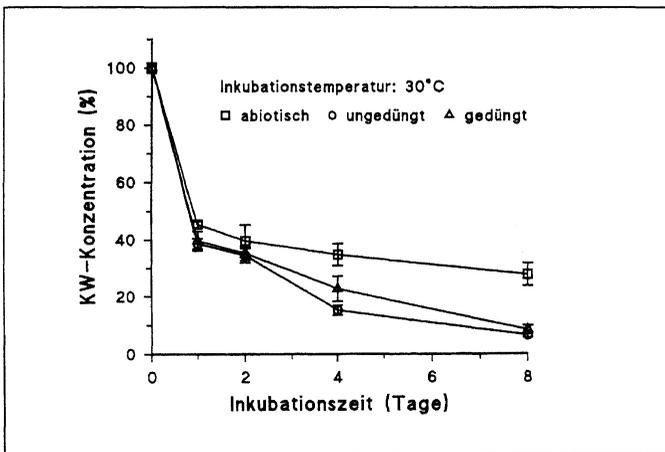
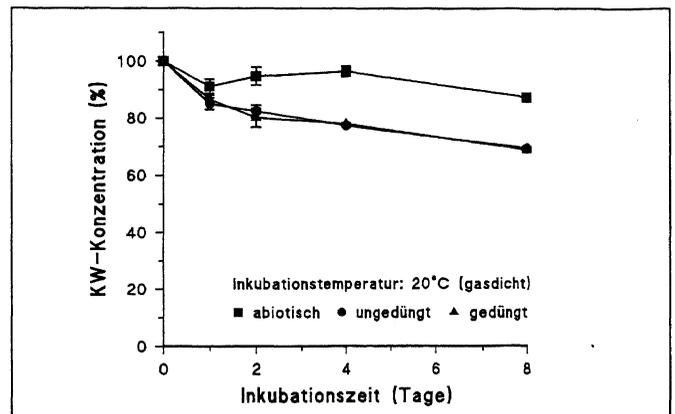
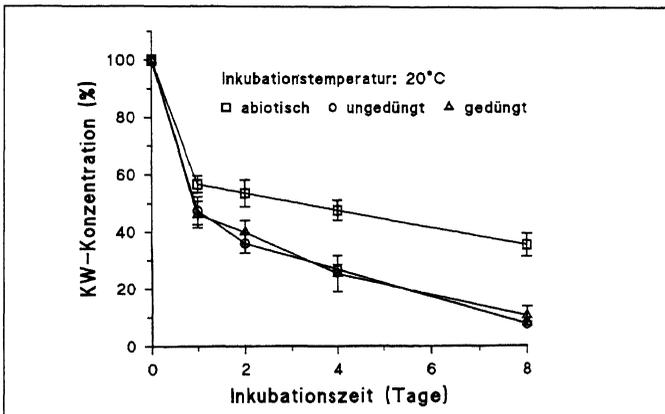
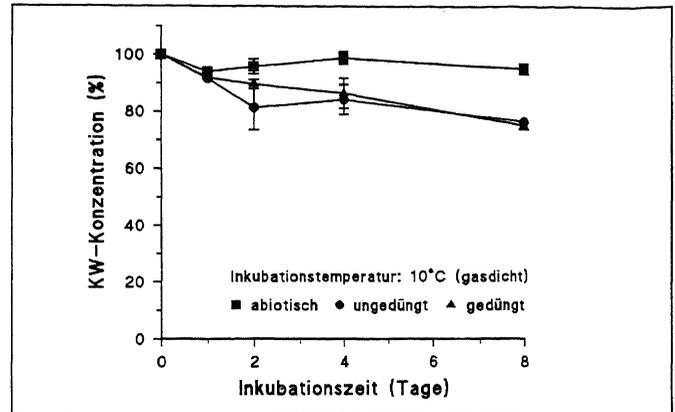
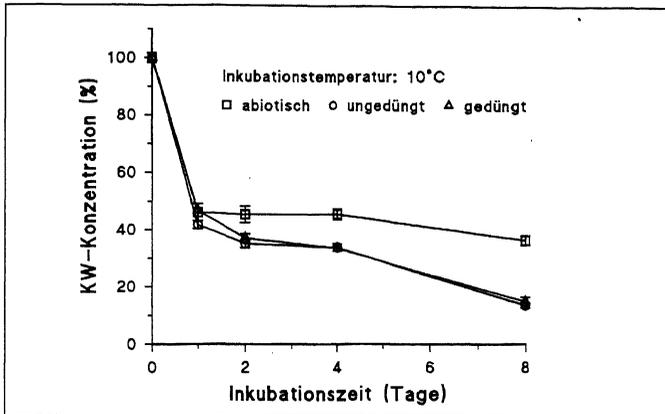


Abbildung 2: Eliminierung des KW-Gehaltes des Aktivators (100 % = KW-Gehalt in 5 000 µl Aktivator/kg TS) im Boden bei 10, 20 und 30° C unter nicht-gasdichten Bedingungen (Mittelwerte aus drei Parallelen ± SD (n-1))

Figure 2: Elimination of the hydrocarbon content of the conditioner (100 % = hydrocarbon content in 5 000 µl conditioner/kg soil dry weight) in soil at 10, 20 and 30° C under non-gas-tight conditions (mean values of three replicates ± SD (n-1))

Abbildung 3: Eliminierung des KW-Gehaltes des Aktivators (100 % = KW-Gehalt in 5 000 µl Aktivator/kg TS) im Boden bei 10, 20 und 30° C unter gasdichten Bedingungen (Mittelwerte aus drei Parallelen ± SD (n-1))

Figure 3: Elimination of the hydrocarbon content of the conditioner (100 % = hydrocarbon content in 5 000 µl conditioner/kg soil dry weight) in soil at 10, 20 and 30° C under gas-tight conditions (mean values of three replicates ± SD (n-1))

## Literatur

- ALEF, K. (1994): Ökotoxikologische Verfahren. In ALEF, K. (Hrsg.): Biologische Bodensanierung. Verlag Chemie, Weinheim, S. 180–185.
- ATLAS, R. M. (1995): Handbook of Media for Environmental Microbiology. CRC Press, Boca Raton, New York, London, Tokyo.
- BARTHA, R., J. SHEN und X. WANG (1992): Effects of bioremediation on toxicity and mutagenicity of soil contaminated by hydrocarbon fuels. In DECHEMA e.V. (Hrsg.): Int. Symposium on Soil Decontamination Using Biological Processes. Dechema e.V., Frankfurt a.M., pp. 168–175.
- BIERKENS, J., G. KLEIN, P. CORBISIER, R. VAN DEN HEUVEL, L. VERSCHAEVE, R. WELTENS und G. SCHOETERS (1998): Comparative sensitivity of 20 bioassays for soil quality. *Chemosphere* 37, 2935–2947.
- BITTON, G. und B. KOOPMAN (1992): Bacterial and enzymatic bioassays for toxicity testing in the environment. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 125, 1–22.
- DIN 38 409–H18 (1981): Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung. Summarische Wirkungs- und Stoffkenngrößen (Gruppe H). Bestimmung von Kohlenwasserstoffen (H18). Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin.
- DIN 38412–L34 (1991): Testverfahren mit Wasserorganismen (Gruppe L); Bestimmung der Hemmwirkung von Abwasser auf die Lichtemission von *Photobacterium phosphoreum* – Leuchtakterien-Abwassertest mit konservierten Bakterien. Deutsches Institut für Normung e.V., Berlin.
- HOLLERBACH A., P. RIPPER, G. RIPPEN und L. FRIEDRICH (1992): Kritische Anmerkungen zur Beurteilung des Kohlenwasserstoffgehaltes in Böden mittels DIN 38409 H17 und H18. In DECHEMA e.V. (Hrsg.): Bewertung und Sanierung mineralöl-kontaminierter Böden. Dechema e.V., Frankfurt a. M., S. 565–573.
- HORVATH, B. und K. GRUIZ (1995): Exotoxicological testing of contaminated soil. In: VAN DEN BRINK, W. J., R. BOSMAN und F. ARENDT (Hrsg.): Contaminated Soil '95. Kluwer Academic Publ., Dordrecht, pp. 619–620.
- HÜTTER, L. A. (1994): Wasser und Wasseruntersuchung, 6. Auflage. Salle + Sauerländer, Frankfurt a. M., Aarau.
- KREYSA, G. und J. WIESNER (1995): Biologische Testmethoden für Böden. Dechema e.V., Frankfurt a. M.
- MARGESIN, R. und F. SCHINNER (1997): Efficiency of indigenous and inoculated cold-adapted soil microorganisms for biodegradation of diesel-oil in alpine soils. *Appl. Environ. Microbiol.* 63, 2660–2664.
- ÖNORM L1061 (1988): Bestimmung der Korngrößenverteilung des mineralischen Feinbodens.
- ÖNORM L1081 (1989): Humusbestimmung durch Naßoxidation.
- ÖNORM L1082 (1989): Bestimmung von Gesamtstickstoff.

## Anschrift der Verfasser

Ao. Univ.-Prof. Mag. Dr. Rosa Margesin und Univ.-Prof. Dr. Franz Schinner, Institut für Mikrobiologie (N.F.) der Universität Innsbruck, Technikerstraße 25, A-6020 Innsbruck.  
e-mail: rosa.margesin@uibk.ac.at  
franz.schinner@uibk.ac.at

Eingelangt am 9. Mai 2000  
Angenommen am 24. Juli 2000