

UFZ-Bericht

UFZ-Bericht • UFZ-Bericht • UFZ-Bericht • UFZ-Bericht

UFZ - Umweltforschungszentrum Leipzig-Halle GmbH

Nr. 17/1997

Dissertation

**¹⁵N-Traceruntersuchungen
zur Nitrifikation/Denitrifikation,
insbesondere zur Bildung
von Stickstoffoxiden in Böden
und wäßrigen Medien**

Inken Sich

ISSN 0948-9452

**^{15}N -Traceruntersuchungen zur Nitrifikation/Denitrifikation,
insbesondere zur Bildung von Stickstoffoxiden
in Böden und wäßrigen Medien**

Von der Mathematisch-Naturwissenschaftlich-Technischen Fakultät
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
zur Erlangung des akademischen Grades

doctor rerum naturalium (Dr. rer. nat.)

genehmigte

Dissertation

vorgelegt von
Diplomchemikerin Inken Sich
geboren am 17.01.1970 in Friedrichroda

Halle (Saale), Juli 1997

Die vorliegende Arbeit entstand zwischen November 1993 und Oktober 1996 extern am Umweltforschungszentrum Leipzig-Halle GmbH, Sektion Bodenforschung, AG Isotopen- und spezielle Umweltchemie.

Die Betreuung erfolgte durch Herrn Prof. Dr. G.-J. Krauß, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Fachbereich Biochemie/Biotechnologie, Abt. Allgemeine und Pflanzenbiochemie.

- 1. Gutachter: Prof. Dr. G.-J. Krauß
- 2. Gutachter: Prof. Dr. U. Stottmeister
- 3. Gutachter: Prof. Dr. F. Beese

Tag der Verteidigung: 15. Juli 1997

Mein herzlicher Dank gilt folgenden Personen, die alle nicht unerheblich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben:

- Herrn Prof. Dr. G.-J. Krauß (Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Fachbereich Biochemie/Biotechnologie, Abt. Allgemeine und Pflanzenbiochemie) für die Übernahme der Betreuung.
- Herrn Dr. R. Russow (Arbeitsgruppenleiter der AG Isotopen- und spezielle Umweltchemie, Sektion Bodenforschung, UFZ) für die Betreuung *vor Ort*, die unermüdliche Diskussionsbereitschaft, die Unterstützung jeglicher Art und die kritische Durchsicht der Arbeit.
- Herrn Prof. Dr. M. Körschens und Frau Dr. Schulz (Sektion Bodenforschung, UFZ) für die Durchsicht des Manuskripts.
- Herrn Dr. G. Martius für die gute Zusammenarbeit rund um den Fermenter und die kritische Durchsicht der Arbeit.
- allen Kollegen der Arbeitsgruppe für das angenehme Arbeitsklima und ihre Hilfe bei der Anfertigung der Arbeit.
 - Herrn G. Schmidt für seine stete Hilfe und genialen Ideen auf technischem Gebiet.
 - Frau H. Odrich, Frau G. Selditz und Frau S. Müller für die Unterstützung bei den Analysen und Messungen.
 - Herrn Dr. Segschneider für seine Unterstützung und Diskussionsbereitschaft während der Promotion.
- den Doktorandinnen der Sektion Bodenforschung, Svenje Mehlert, Katja Schäfer, Kathrin Heinrich und Eva Ritzkowski, für die gute Zusammenarbeit und Unterstützung während meiner Zeit am UFZ.
- Frau K. Lehmann für die gute Zusammenarbeit und das nette Arbeitsklima in den Laboren der Sanierungsforschung.
- Frau Dr. H. Sanftenberg für die intensive Durchsicht meiner Arbeit, die Anregungen und Ratschläge.
- meinem Freund Jan für seine Rücksicht und die Durchsicht der Arbeit.

Inhaltsverzeichnis

Symbolverzeichnis

1	Einleitung und Problemstellung	1
2	Grundlagen	3
2.1	Stand der Wissenschaft	3
2.1.1	Anthropogene Spurengase	3
2.1.2	Distickstoffmonoxid - N_2O	4
2.1.3	Stickstoffmonoxid - NO	6
2.1.4	Mikrobielle Bildungsprozesse des Distickstoffmonoxids und Stickstoffmonoxids	6
2.1.5	Einflußfaktoren auf die mikrobielle Bildung des Distickstoffmonoxids und Stickstoffmonoxids	10
2.2	Die ^{15}N -Tracertechnik	17
2.2.1	Prinzip der ^{15}N -Tracertechnik	17
2.2.2	Bestimmung der ^{15}N -Häufigkeit	18
3	Material und Methoden	20
3.1	Boden, Abwasser und Modellsystem	20
3.2	Bestimmung der Stickstoffkomponenten im Boden und in wäßrigen Medien	22
3.2.1	N_t - und C_t -Bestimmung im Boden und der Biomasse wäßriger Medien	22
3.2.2	Bestimmung des anorganischen Stickstoffs im Boden und in wäßrigen Medien	22
3.3	Bestimmung der Konzentration und ^{15}N -Häufigkeit der gasförmigen N-Produkte mittels einer GC-QMS-Kopplung	25
3.3.1	N_2 -, O_2 -, CO_2 - und N_2O -Bestimmung durch Probenaufgabe mittels Dosierschleife	27
3.3.2	NO- und N_2O -Bestimmung durch Probenaufgabe mittels vorgeschalteter Kryoanreicherung	29

3.4	Meß- und Inkubationssystem zur Bestimmung der Gasemission durch Böden	31
3.5	Fermentersystem zur Untersuchung der N-Transformationsvorgänge in wäßrigen Medien	33
3.5.1	Gas- und Flüssigprobenahme	34
3.5.2	Versuchsbedingungen	35
3.6.	Angewandte ¹⁵ N-Isotopentracermethoden	36
3.6.1	¹⁵ N-Gas-Flux-Methode	36
3.6.2	Kinetische Isotopenmethode (KIM)	41
4	Ergebnisse und Diskussion	44
4.1	Nitrifikation und Denitrifikation im Modellsystem	42
4.1.1	Untersuchungen zur Nitrifikation	44
4.1.2	Untersuchungen zur Denitrifikation	55
4.2	Nitrifikation und Denitrifikation im Abwasser	64
4.2.1	Untersuchung zur Nitrifikation	64
4.2.2	Untersuchung zur Denitrifikation	67
4.3	Nitrifikation und Denitrifikation im Boden	70
4.3.1	Untersuchungen zu den N-Transformationsprozessen unter wasserungesättigten Bedingungen (50 bis 55 % max. WK)	70
4.3.2	Untersuchungen zu den N-Transformationsprozessen unter wassergesättigten Bedingungen (> 90 % max. WK)	81
4.4	Zusammenfassende Diskussion der N-Transformationsprozesse in wäßrigen Medien und im Boden	91
4.4.1	N-Transformationsprozesse in wäßrigen Medien	91
4.4.2	N-Transformationsprozesse im Boden	94
4.4.3	Vergleich der N-Transformationsprozesse in wäßrigen Medien und im Boden	96
5	Zusammenfassung	98
6	Literaturverzeichnis	102

Anhang

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen und Symbole

a	Häufigkeit eines Isotopes
a _D	¹⁵ N-Häufigkeit des Denitrifikationsstickstoffs
a _L	¹⁵ N-Häufigkeit des molekularen Stickstoffs der Luft
a _m	gemessene ¹⁵ N-Häufigkeit im molekularen Stickstoff
A	Peakfläche der gemessenen Massen
AIM	Acetyleninhibierungsmethode
Am	Ammonium
At.-%	Atomprozent
α	molekulare ¹⁵ N-Verteilung
B	Boden
ber.	berechnet
BM	Biomasse
C _t	Gesamtkohlenstoff in %
d	Mischungskoeffizient
Den.	Denitrifikation
Δ	Differenz
FCKW	Fluor-Chlor-Kohlenwasserstoffe
fl.	flüssig
gem.	gemessen
GC	Gaschromatograph
h*ν	Strahlungsenergie der Sonne
KIM	Kinetische Isotopenmethode
KW	Kohlenwasserstoffe
l	Liter
m	Ionenmasse
max. WK	maximale Wasserkapazität in % bzw. Masse-%
min.	Minute
¹⁴ n	Stoffmenge des Stickstoffisotopes mit der Molmasse 14
¹⁵ n	Stoffmenge des Stickstoffisotopes mit der Molmasse 15
n _L	Stoffmenge des molekularen Stickstoffs der Luft in mol
n _D	Stoffmenge des Denitrifikationsstickstoffs in mol
n _m	Stoffmenge der Stickstoffmischung in mol

N _{an}	anorganischer Stickstoff
Nat	Nitrat
Nit	Nitrit
N _{org}	organisch gebundener Stickstoff
N _t	Gesamtstickstoff in %
OBS	organische Bodensubstanz
ppm	parts per million - ein millionstel Teil
ppt	parts per trillion - ein trillionstel Teil
PVC	Polyvinylchlorid
QMS	Quadrupolmassenspektrometer
ρ	Trockenrohdichte in g/cm ³
r	Umsatzrate in mg N/ kg Boden*d oder mg N/ l-fl.*h
r _{Am ges.}	Gesamtumsatzgeschwindigkeit des Ammoniums z.B. in mg N/ kg Boden*d
r _{Nat ges.}	Gesamtumsatzgeschwindigkeit des Nitrats z.B. in mg N/ kg Boden*d
R	Verhältnis der gemessenen Massenpeakflächen
RCFQMS	on-line Reaction Continuous-Flow Quadrupol Mass Spectrometry
RCHO	Aldehyde
SIM	Selected Ion Monitoring
ST	Standardabweichung
t	Bodentiefe in cm
Tg	Teragramm (10 ¹² g oder 10 ⁶ t)
vol.	Gasvolumen
z	Elementarladung
Z	Zwischenprodukt

1 Einleitung und Problemstellung

Seit Beginn der Industrialisierung ist durch menschliche Eingriffe in die Umwelt, wie die Verbrennung großer Mengen fossiler Brennstoffe im Energie- und Verkehrssektor, die Rodung der Wälder und die Intensivierung der Landwirtschaft, die natürliche Konzentration von Spurengasen in der Atmosphäre wie Kohlendioxid, Stickstoffoxiden (N_2O , NO , NO_2), Methan und FCKW stark angestiegen.

Die anthropogen bedingte Intensivierung des Stickstoffkreislaufes unter anderem durch Verbrennung von Biomasse und Einsatz von Stickstoffdünger in der Landwirtschaft ruft eine Reihe ökologischer Probleme hervor (Bouwman, 1990; Williams et al., 1992; Granli und Bøckman, 1994). So kommt es regional zu einem Anstieg der Konzentration flüchtiger Stickstoffverbindungen (NO_x , N_2O , NH_3 , Nitrosamine) in der Atmosphäre, gefolgt von einer Beschleunigung der atmosphärischen Reaktionszyklen wie der Ozonbildung in der Troposphäre und dem Ozonabbau in der Stratosphäre, der photochemischen Bildung von HNO_3 („saurer Regen“) und der Erhöhung des Treibhauseffektes.

Unter den gasförmigen N-Verbindungen gehören das Distickstoffmonoxid (N_2O), als auch das Stickstoffmonoxid (NO) zu den klimarelevanten Atmosphärenspurengasen.

Das Distickstoffmonoxid ist ein sogenanntes Treibhausgas und wirkt in der Stratosphäre ozonzerstörend. Sein Anteil an beiden klimarelevanten Veränderungen wird je auf $\approx 5\%$ geschätzt. Der überwiegende Teil des in die Atmosphäre eingetragenen Distickstoffmonoxids entsteht durch industrielle Prozesse und durch Landbewirtschaftung, wodurch es im Jahr um 0,2 bis 0,3 % zunimmt. Der Anteil der Landwirtschaft an der globalen N_2O -Emission in die Atmosphäre beträgt 30 bis 40 %.

Das Stickstoffmonoxid ist eine Schlüsselkomponente für die Oxidationschemie der Atmosphäre. Die anthropogene Emission von Stickstoffmonoxid wird vor allem durch die Industrie, den Verkehr und ebenfalls durch landwirtschaftliche Nutzung von Böden verursacht.

Der in der Biosphäre fixierte Stickstoff unterliegt einer Reihe biologisch katalysierter Prozesse, wie Mineralisierung und Immobilisierung, Ammonifikation, Nitrifikation und Denitrifikation. In Böden werden das Distickstoffmonoxid und Stickstoffmonoxid durch die komplexen, mikrobiellen Prozesse der Nitrifikation und Denitrifikation erzeugt, aber auch wieder verbraucht (Hutchinson und Davidson, 1993 a). Die Bildung des Distickstoffmonoxids erfolgt in hohem Maße unter Denitrifikationsbedingungen, jedoch auch unter aeroben, nitrifizierenden Bedingungen. Die Rolle des Stickstoffmonoxids in diesen mikrobiologischen Prozessen ist noch weitgehend unklar. Der Anteil der Nitrifikation und Denitrifikation an der Gesamtemission des Stickstoffmonoxids durch Böden wird sehr widersprüchlich einge-

schätzt. Einerseits gilt die Nitrifikation als Hauptquelle des Stickstoffmonoxids, andererseits der Denitrifikationsprozeß.

Das Ausmaß der N_2O - und NO -Emission durch Böden ist abhängig vom verfügbaren Gehalt an Ammonium, Nitrat, Nitrit und Kohlenstoff, sowie von anderen Bodenparametern, wie Bodentemperatur, -wassergehalt und -durchlüftung. Die prinzipiellen Abhängigkeiten der Bildung von Distickstoffmonoxid sind bekannt, können aber durch ihre zeitliche und räumliche Heterogenität in Böden unter Feldbedingungen zu extremen Unterschieden in der Emission führen. Dies bedeutet, daß für zuverlässige Daten zu N_2O - und NO -Entbindungsraten aus Böden, aufwendige Meßserien der N_2O - und NO -Emission mit mehreren Messungen am Tag über lange Zeiträume durchgeführt werden müßten. Aussagen zu Entstehungsmechanismen für Distickstoffmonoxid und Stickstoffmonoxid sind unter diesen Bedingungen kaum möglich.

Eine Alternative dazu bilden Untersuchungen zum Mechanismus der N-Umsetzungsprozesse unter definierten Laborbedingungen, die gesicherte Erkenntnisse zu den mikrobiellen Prozessen der Nitrifikation und Denitrifikation und den Entstehungsprozessen des Distickstoffmonoxids und Stickstoffmonoxids liefern. Aus den gewonnenen Labordaten zur N-Umsetzung in Abhängigkeit von den verschiedenen Parametern könnten mit Hilfe von Modellen auf der Basis der erhaltenen Prozeßkenntnisse die N_2O - und NO -Emissionsraten auf Feldbedingungen übertragen werden. Es werden dann nur ausgewählte Feldmessungen zur Validierung der Modellberechnungen notwendig.

Mit dieser Dissertation sollen vertiefende Erkenntnisse zu den komplexen N-Transformationsvorgängen Nitrifikation und Denitrifikation und den Entstehungsmechanismen des Distickstoffmonoxids und Stickstoffmonoxids sowohl in Böden, speziell in Schwarzerde, der typischen Bodenform des Mitteldeutschen Trockengebietes, als auch in homogenen, wäßrigen Medien unter definierten Bedingungen im Labormaßstab gewonnen werden. Von besonderem Interesse ist dabei, den Bildungsmechanismus des Distickstoffmonoxids und Stickstoffmonoxids unter aeroben, nitrifizierenden Bedingungen zu untersuchen.

2 Grundlagen

2.1 Stand der Wissenschaft

2.1.1 Anthropogene Spurengase

Die zunehmende anthropogene Emission klimawirksamer Spurengase (z.B. CO_2 , CH_4 , FCKW, N_2O) verursacht zum einen eine zusätzliche Erwärmung der Erdatmosphäre („anthropogener Treibhauseffekt“) (Tab.1; Jahresbericht des Umweltbundesamtes, 1992) und zum anderen beschleunigt sie in der Stratosphäre teilweise den Abbau der Ozonschicht.

Tabelle 1: Derzeitige Anteile der verschiedenen Verursacherbereiche weltweit am zusätzlichen, anthropogen bedingten Treibhauseffekt

Verursacherguppen	Anteile (grob gerundet)	Aufteilung auf die Spurengase
Energie einschließlich Verkehr	50 %	40 % CO_2 , 10 % CH_4 und O_3
Chemische Produkte (FCKW, Halone u.a.)	20 %	20 % FCKW, Halone etc.
Vernichtung der Tropenwälder	15 %	10 % CO_2 , 5 % weitere Spurengase, insb. N_2O , CH_4 und CO
Landwirtschaft und andere Bereiche (Mülldeponie etc.)	15 %	15 % in erster Linie CH_4 , N_2O und CO_2

Ursprünglich ist der „Treibhauseffekt“ ein natürliches Phänomen und ermöglicht das Leben auf unserem Planeten. Der „Treibhauseffekt“ beruht darauf, daß die Energie der auf die Erde treffenden Sonnenstrahlung von der Erde als langwellige Wärmestrahlung wieder abgegeben wird. Die Bestandteile der Atmosphäre, insbesondere Wasserdampf, Kohlendioxid, Ozon, Distickstoffmonoxid und Methan können diese Strahlung absorbieren. Damit die Energie in das Weltall abgestrahlt werden kann, müssen die Gasmoleküle eine entsprechend höhere Temperatur aufweisen, was zu einer Erwärmung der Erdatmosphäre führt. Die in der Atmosphäre von Natur aus vorhandenen Gase heben die mittlere Temperatur an der Erdoberfläche von -18°C auf 15°C an.

Der Abbau der Ozonschicht in der Stratosphäre ist dadurch möglich, daß Spurengase wie Distickstoffmonoxid und FCKW durch ihre chemische Stabilität in der Troposphäre, durch Konvektion und Diffusion in die Stratosphäre gelangen und dort photochemisch abgebaut werden. Durch photolytische Spaltung des Distickstoffmonoxids entsteht zu 90 % molekularer Stickstoff und zu 10 % Stickstoffmonoxid (Seiler und Conrad, 1981 a). Das Stick-

stoffmonoxid kann mit dem Ozon der Stratosphäre reagieren, was zu einer Abnahme der Ozonschicht führt (Crutzen, 1979 a, b; Crutzen, 1981).

Neben den direkt als Treibhausgas wirkenden Spurengasen gibt es indirekt wirkende Treibhausgas, wie Stickstoffmonoxid, Stickstoffdioxid und Kohlenmonoxid. Die weitaus größere Bedeutung dieser Spurengase, vor allem des Stickstoffmonoxids und Stickstoffdioxids, liegt in ihrer oxidierenden Wirkung in der Atmosphäre (Abb. 1). Stellvertretend seien hier nur die Bildung von Ozon und HNO_3 in der Troposphäre genannt. Die Emissionen dieser Gase erfolgt vor allem durch industrielle Feuerungsanlagen und den Straßenverkehr, aber auch durch natürliche Quellen wie Blitz, die mikrobiellen Prozesse in Böden und die Oxidation von atmosphärischem Ammoniak (Williams et al., 1992).

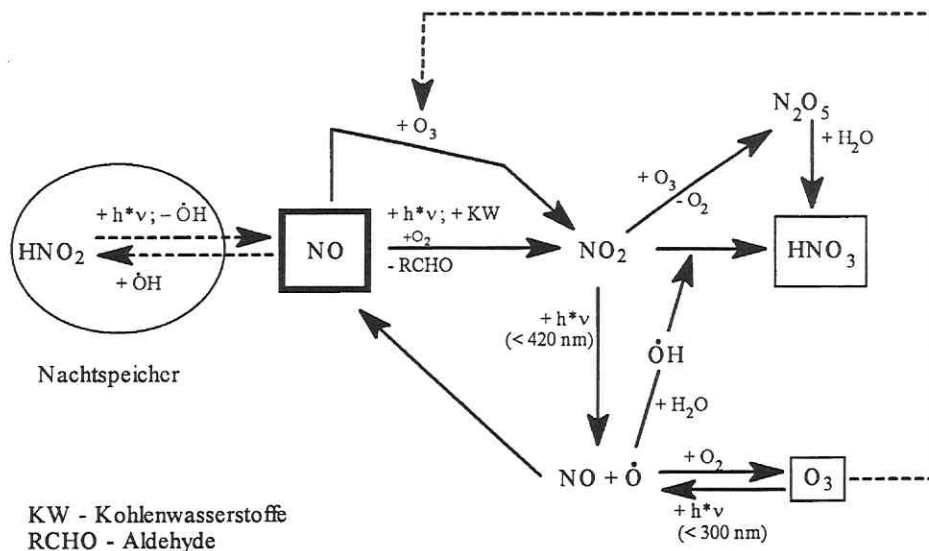


Abbildung 1: NO_x - Chemie der Atmosphäre

2.1.2 Distickstoffmonoxid - N₂O

Mit der aktuellen Diskussion über mögliche globale Klimaänderungen steht das Distickstoffmonoxid, da es sowohl ein sogenanntes Treibhausgas der Atmosphäre ist (Sauerbeck und Isermann, 1993), als auch zum Abbau der Ozonschicht (Crutzen, 1979 a, b) beiträgt, zunehmend im Zentrum des wissenschaftlichen Interesses. Die mittlere Konzentration des

Distickstoffmonoxids in der Atmosphäre betrug im Jahre 1990 ca. 310 ppbv und nimmt nach *Sauerbeck und Isermann* (Sauerbeck und Isermann, 1993) im Jahr durch industrielle und biogene Prozesse um 0,2 bis 0,3 % zu. Es wird erwartet, daß die N_2O -Konzentration im Jahr 2030 im Bereich 350 bis 450 ppbv liegt (Kralova et al., 1992).

Das Distickstoffmonoxid besitzt als Treibhausgas ein relatives Treibhauspotential mit dem Erwärmungsfaktor 206 (200fache der Wirkung des Kohlendioxid-Moleküls; Jahresbericht des Umweltbundesamtes, 1992). Der Anteil des Distickstoffmonoxids an der zukünftigen Erderwärmung wird auf 5 bis 6 % geschätzt (Williams et al., 1992; Granli und Bøckman, 1994). Die chemische Stabilität des Distickstoffmonoxids in der Troposphäre, die seine hohe Lebensdauer (110 bis 150 Jahre; Williams et al., 1992) erklärt, führt dazu, daß das Distickstoffmonoxid durch Diffusion in die Stratosphäre gelangen kann und dort zum Abbau des vorhandenen Ozons beiträgt (s. Abschn. 2.1.1). Die primär durch das Distickstoffmonoxid verursachte Abnahme der Ozonschicht in der Stratosphäre soll bei ungefähr 5 % liegen (Jahresbericht des Umweltbundesamtes, 1992).

Ein beträchtlicher Teil des in die Atmosphäre eingetragenen Spurengases Distickstoffmonoxid entsteht durch industrielle Prozesse, wie bei der Produktion von Salpetersäure (0,3 bis 0,6 Tg N_2O -N/a) und Adipinsäure (0,25 bis 0,42 Tg N_2O -N/a) (Thiemens und Trogler, 1991; Sauerbeck und Isermann, 1993; Granli und Bøckman, 1994). Eine weitere größere anthropogene N_2O -Quelle ist der Verkehr, was vor allem durch den Einsatz des Katalysators bei Kraftfahrzeugen verursacht wurde (0,002 bis 0,13 Tg N_2O -N/a) (Jahresbericht des Umweltbundesamtes, 1992; Granli und Bøckman, 1994).

Neben der industriell hervorgerufenen Bildung von Distickstoffmonoxid sind landwirtschaftlich genutzte und hoch mit Stickstoff versorgte Böden an der Zunahme der N_2O -Konzentration wesentlich beteiligt (Sauerbeck und Isermann, 1993; Granli und Bøckman, 1994; Isermann, 1991, 1993, 1994). Der Verlust an Stickstoffdünger ist neben der Klimarelevanz des Distickstoffmonoxids ein weiteres Problem der Emission des Distickstoffmonoxids aus agrarisch genutzten Böden. Dabei vermutet man N-Verluste als Distickstoffmonoxid zwischen 0,01 und 3,45 % des verabreichten Düngerstickstoffs (Conrad und Seiler, 1980; Seiler und Conrad, 1981 b; Sauerbeck und Isermann, 1993; Ruz-Jerez et al., 1994). Die Angaben der N_2O -Emission in die Atmosphäre schwanken allerdings in Größenordnungen (0,2 bis 20 Tg N_2O -N/a; Eichner, 1990).

2.1.3 Stickstoffmonoxid - NO

Das Stickstoffmonoxid (NO) ist eine sehr aktive Komponente der Atmosphärenchemie (s. Abb. 1) (Crutzen, 1979 a, b; Crutzen, 1981; Williams et al., 1992). Durch seine hohe Reaktivität besitzt es eine kurze Lebensdauer und ist in der Atmosphäre nur im unteren Spurenbereich (> 5 pptv) vorhanden. In der Troposphäre ist es für die Regulierung der Konzentration des Hauptoxidationsmittels der Atmosphäre, dem Hydroxylradikal, verantwortlich und wesentlich an der Entstehung von Ozon und HNO_3 beteiligt.

Das Stickstoffmonoxid kann wie das Distickstoffmonoxid sowohl durch industrielle, als auch durch natürliche Prozesse entstehen. Eine Hauptquelle der NO_x ($\text{NO} + \text{NO}_2$) -Emission stellt die Verbrennung von Biomasse dar (16 bis 76 Tg $\text{NO}_x\text{-N/a}$) (Granli und Bøckman, 1994; Crutzen, 1979 b). Der Anteil der NO-Freisetzung durch Böden liegt zwischen 3 bis 20 Tg NO-N/a (Lipschultz et al., 1981; Williams et al., 1992; Robertson, 1993; Granli und Bøckman, 1994). Die Hauptsinken für NO_x sind die nasse und die trockene Deposition (24 bis 64 Tg $\text{NO}_x\text{-N/a}$; Robertson, 1993).

Aus der Literatur ist bekannt, daß das Stickstoffmonoxid durch biologische Prozesse des Bodens (Nitrifikation und Denitrifikation) gebildet, aber auch wieder verbraucht wird. Böden können demnach einerseits eine merkliche Quelle sowie eine Senke für Stickstoffmonoxid sein (Krämer und Conrad, 1991; Skiba, 1993). Bei der Einschätzung, welcher der mikrobiellen Prozesse die Hauptquelle des Stickstoffmonoxids darstellt, gibt es gegensätzliche Auffassungen (Anderson und Levine, 1986; Remde et al., 1989; Hutchinson und Davidson, 1993; Hutchinson et al., 1993).

2.1.4 Mikrobielle Bildungsprozesse des Distickstoffmonoxids und Stickstoffmonoxids

Die Spurengase Distickstoffmonoxid und Stickstoffmonoxid entstehen in der Biosphäre hauptsächlich durch zwei mikrobielle Stoffwechselprozesse, die Nitrifikation und Denitrifikation (Abb. 2) (Blackmer und Bremner, 1978, 1979; Firestone et al., 1979, 1980; Letey et al., 1980; Nommik et al., 1984; Scheffer et al., 1984; Kleber und Schlee, 1988; Gisi et al., 1990).

Die Bildung des Distickstoffmonoxids und Stickstoffmonoxids in Böden ist durch die Nitrifikation autotropher und heterotropher Nitrifikanten, die Denitrifikation von Nitrifikanten und Denitrifikanten und die Chemodenitrifikation möglich (Blackmer et al., 1980; Bremner und Blackmer, 1981; Ingraham, 1981; Payne, 1985; Poth und Focht, 1985; Anderson und

Levine, 1986; Blackmer und Cerrato, 1986; Galbally, 1989; Tortoso und Hutchinson, 1990; Remde und Conrad, 1991; Skiba et al., 1993; Pennington und Ellis, 1993).

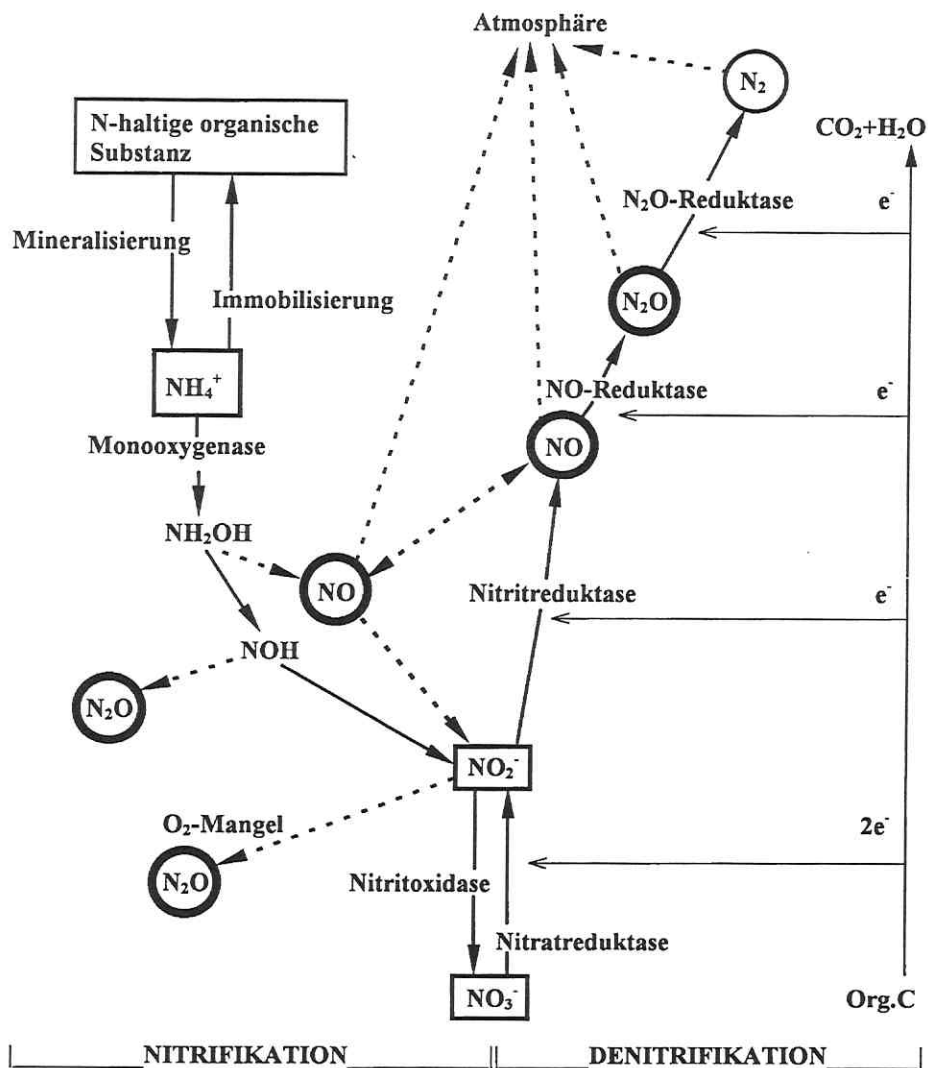


Abbildung 2: Stoffwechselschema für die Nitrifikation (aerob) und Denitrifikation (anaerob) gemäß Literatur

Das Ausmaß der N_2O -Emission durch die Denitrifikation wird in der Literatur gegenüber der Nitrifikation als bedeutender angesehen (Firestone et al., 1980; Letey et al., 1980; Seiler und Conrad, 1981 a; Nommik et al., 1984; Rudaz et al., 1991; Granli und Bøckman, 1994).

Der Beitrag der Nitrifikation zum N_2O -Austrag ist aber nicht als gering einzuschätzen, da wasserungesättigte Verhältnisse in Feldböden, besonders in sehr ariden Gebieten, auf das Jahr bezogen viel öfter auftreten, als wassergesättigte Bedingungen (Bremner und Blackmer, 1978; Firestone and Davidson, 1989; Rudaz et al., 1991; Kralova et al., 1992; Mumme et al., 1994).

Es gibt gegensätzliche Meinungen, welche der N-Transformationsprozesse den Hauptanteil an der NO-Emission bewirken. *Remde et al.* (Remde et al., 1989) sowie *Johansson und Galbally* (Johansson und Galbally, 1984) fanden heraus, daß die NO-Freisetzung aus Böden unter anaeroben Bedingungen höher war, als unter aeroben Voraussetzungen. Andere Arbeiten dagegen sagen, daß aerobe Böden die Hauptquelle von NO sind (Anderson und Levine, 1986; Skiba et al., 1992; Skiba et al., 1993; Hutchinson et al., 1993 b).

Nitrifikation

Die Nitrifikation (s. Abb. 2), die mikrobielle Oxidation des Ammoniums zu Nitrit bzw. Nitrat unter aeroben Bedingungen (Seiler und Conrad, 1981; Kleber und Schlee, 1988; Scheffer et al., 1984; Bouwman et al., 1990), kann man verkürzt wie folgt darstellen :



Die erste Reaktion, die Oxidation von Ammonium zu Nitrit, wird vorwiegend durch chemoautotrophe, obligat aerobe Bakterien der Gattung *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrospira* und *Nitrosolobus* vollzogen (Blackmer et al., 1980, Bremner und Blackmer, 1981). Als Zwischenprodukte treten Hydroxylamin (NH_2OH) und Nitroxyl (NOH) auf (Gisi et al., 1990). Die zweite Reaktion, die Oxidation von Nitrit zu Nitrat, erfolgt durch die Bakterien der Gattung *Nitrobacter* (Lipschultz, 1981). Da diese Reaktion schneller abläuft als die erste, findet man Nitrit im Boden meist nur in Spuren. Die freigesetzte Energie durch die Bildung von Nitrit (272 kJ) und Nitrat (79 kJ) wird von den Mikroorganismen zur Lebenserhaltung genutzt (Bouwman et al., 1990).

Die Ammoniumoxidation nitrifizierender Bakterien wird durch zahlreiche Faktoren beeinflusst, wie die Konzentration an Ammonium, Nitrit, Phosphat, Sauerstoff, pH-Wert, Temperatur und Wasserpotential (s. Abschn. 2.1.5) (Firestone und Davidson, 1989; Granli und Bøckman, 1994).

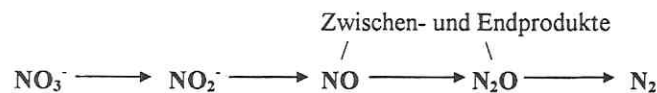
Unter aeroben, nitrifizierenden Bedingungen können das Distickstoffmonoxid und Stickstoffmonoxid als Neben- bzw. Zwischenprodukt gebildet werden (s. Abb. 2) (Zumft und Cardenas, 1979; Remde und Conrad, 1991; Schuster und Conrad, 1992; Ye et al., 1994).

Dabei wird angenommen, daß die N_2O -Bildung auf einer Zwischenstufe der Oxidation des Ammoniums zu Nitrit (Hydroxylamin, Nitroxyl) abzweigt (Blackmer et al., 1980; Mosier und Heinemeyer, 1985; Poth und Focht, 1985). Andere Arbeiten gehen davon aus, daß das Distickstoffmonoxid bei Sauerstoffmangel direkt aus dem Nitrit gebildet wird (Seiler und Conrad, 1981; Firestone und Davidson, 1989). Dies wird als reduktiver Prozeß beschrieben, bei dem Bakterien das Nitrit als Elektronenakzeptor nutzen, wenn Sauerstoffmangel herrscht und das Nitrit nicht zum Nitrat oxidiert werden kann. Damit wird auch verhindert, daß sich das Zellgift Nitrit im Boden akkumuliert und es zur Schädigung der Mikroorganismen und Pflanzen kommt (Firestone und Davidson, 1989).

Das Stickstoffmonoxid kann unter aeroben Bedingungen durch die Oxidation von Hydroxylamin gebildet (Hooper und Terry, 1979) und danach abgegeben oder unter diesen Bedingungen auch weiter zu Nitrit oxidiert werden (Skiba et al., 1993).

Denitrifikation

Die biologische Denitrifikation (s. Abb. 2), die dissimilatorische Reduktion von Nitrat oder Nitrit zu gasförmigen Stickstoffkomponenten (Stickstoffmonoxid, Distickstoffmonoxid, molekularer Stickstoff) (Seiler und Conrad, 1981; Kleber und Schlee, 1988; Scheffer et al., 1984; Bouwman et al., 1990) lautet vereinfacht :



Die Denitrifikation ist ein mikrobieller Prozeß, der fähig ist, Stickstoffmonoxid und Distickstoffmonoxid zu produzieren und zu reduzieren, wodurch diese Stickstoffgase sowohl End- als auch Zwischenprodukt sein können (Payne, 1981; Firestone und Davidson, 1989; Remde und Conrad, 1991; Schuster und Conrad, 1992; Williams et al., 1992; Skiba et al., 1993). Sie findet unter niedrigem Sauerstoffpartialdruck statt. Die dazu notwendige Energie gewinnen die Mikroorganismen durch den Abbau von organischen Kohlenstoffverbindungen (s. Abb. 2). Die Regulation der Denitrifikation erfolgt insbesondere über die Repression der Reduktasen durch Sauerstoff (Betlach und Tiedje, 1981; Dendooven und Anderson, 1994 b). Ist kein Sauerstoff vorhanden, herrschen also anaerobe Bedingungen vor, so werden die Reduktasen innerhalb weniger Stunden dereprimiert. Dabei werden die frühen Reduktasen, bezogen auf die Prozeßkette, in der Denitrifikationssequenz bei höheren Sauerstoffpartialdrücken dereprimiert als die späten. Die Denitrifikation setzt dann in verschiedenen Phasen ein. Diese Tatsache bewirkt, daß bei sinkender Sauerstoffkonzentration, also bei ein-

setzender Anaerobiose im Boden, im Verhältnis zu molekularem Stickstoff sehr viel Distickstoffmonoxid gebildet wird (Betlach und Tiedje, 1981). Fällt der Sauerstoffpartialdruck weiter ab, so wird auch die N_2O -Reduktase dereprimiert und die Produktion von molekularem Stickstoff nimmt auf Kosten des Distickstoffmonoxids zu.

Bakterien, die denitrifizieren können, sind z.B. die Bakterien der Gattung *Pseudomonas*, *Escherichia*, *Corynebacterium* und *Paracoccus*, sowie die Bakterien der Gattung *Thiobacillus denitrificans* und *Chromobacterium*, *Hyphomicrobium* oder *Serratia* (Ingraham, 1981; Payne, 1985). Denitrifizierende Bakterien sind fakultativ anaerob, d.h. sie nutzen für ihr Wachstum bei Abwesenheit von Sauerstoff die vorhandenen sauerstoffhaltigen N-Verbindungen (Nitrat, Nitrit, Stickstoffmonoxid, Distickstoffmonoxid) als Elektronenakzeptoren. Die meisten Mikroorganismen sind nur fähig, einen oder zwei Schritte der Reaktionsfolge der Denitrifikation auszuführen, wie beispielsweise die Reduktion von Nitrat zu Distickstoffmonoxid oder Nitrat zu Nitrit und Stickstoffmonoxid zu Distickstoffmonoxid oder Nitrit zu molekularem Stickstoff (Germon, 1985).

Viele Faktoren, wie pH-Wert, Feuchtegehalt, Redoxpotential, Temperatur, Nitratkonzentration und Verfügbarkeit organischen Kohlenstoffs (s. Abschn. 2.1.5) wirken sich auf das Denitrifikationsverhalten und die Proportionen der entstehenden N-Gase Stickstoffmonoxid, Distickstoffmonoxid und molekularer Stickstoff in denitrifizierenden Mikroorganismen aus (Firestone und Davidson, 1989; von Rheinbaben, 1990; Kralova et al., 1992; Schäfer und Conrad, 1993; Granli und Bockman, 1994).

2.1.5 Einflußfaktoren auf die mikrobielle Bildung des Distickstoffmonoxids und Stickstoffmonoxids

Sauerstoffpartialdruck und Bodenwasser

Der Sauerstoffpartialdruck der Bodenatmosphäre ist abhängig vom Sauerstoffaustausch des Bodens mit der Atmosphäre, sowie dem Verbrauch an Sauerstoff durch die Wurzeln der Pflanzen und durch die Mikroorganismen (Letey et al., 1980; Seiler und Conrad, 1981; Isermann, 1994). Der Sauerstoffgehalt des Bodens ist reziprok eng verbunden mit dem Wassergehalt des Bodens. Die Entstehung und der Verbrauch von Distickstoffmonoxid und Stickstoffmonoxid hängen stark von diesen Bodenparametern ab.

Die Denitrifikation findet bei einem Feuchtegehalt des Bodens unterhalb 2/3 der maximalen Wasserkapazität (max. WK) kaum statt. Bei stark bewässerten Böden ist sie dagegen beträchtlich (Mulvaney und Kurtz, 1984; Bouwman et al., 1990; Rudaz et al., 1991). Sinkt der

Feuchtegehalt des Bodens unter 100 % max. WK, nimmt die Denitrifikationsaktivität merklich ab. So verringerte sich bei Untersuchungen von *Nommik et al.* (Nommik et al., 1989) die Denitrifikation um 71 %, als die max. WK von 100 % auf 78 bis 89 % gesenkt wurde. Das Verhältnis von N_2/N_2O steigt mit zunehmender Feuchtigkeit des Bodens (Eriksen und Holtem-Hartwig, 1993; Buresh et al., 1993). Dies bestätigt die Auffassung, daß Böden mit einem hohen Wassergehalt weniger Distickstoffmonoxid an die Atmosphäre abgeben, als entwässerte Böden. Es kann sogar eine Abnahme der N_2O -Emission bis gegen Null nach Überfluten organischen Bodens erfolgen. Im Gegensatz dazu wurden beträchtliche N_2O -Emissionen aus Reisfeldern gemessen (Bouwman et al., 1990). Das weist darauf hin, daß eine Erhöhung bzw. eine Verminderung der Distickstoffmonoxidentgasung die Reaktion verschiedenster, denitrifizierender Bakterien auf Sauerstoffgehalt und Bodenfeuchte sein kann (Munch und Ottow, 1987).

Auch wenn der Boden gut durchlüftet und die Bodenfeuchte niedrig ist - also unter Bedingungen, die die Denitrifikation inhibieren - setzt er Distickstoffmonoxid und Stickstoffmonoxid frei (Bremner und Blackmer, 1981). Die Emission von Distickstoffmonoxid und Stickstoffmonoxid aus ungedüngten Böden unter aeroben Bedingungen ist relativ gering. Dagegen erfolgt eine hohe NO -Aufnahme (Krämer und Conrad, 1991; Schuster und Conrad, 1992). Die Bildung von Distickstoffmonoxid und Stickstoffmonoxid in aeroben Böden ist ebenfalls durch im Boden punktuell befindliche anaerobe Zonen („hot spots“) möglich (Conrad und Seiler, 1985; Heinemeyer et al., 1988; Flessa und Beese, 1995). Dieser Effekt der N_2O -Bildung verstärkt sich dadurch, daß im aeroben Bereich um diese „hot spots“ durch Mineralisierung organischer, stickstoffhaltiger Substanzen und der nachfolgenden Nitrifikation stets ausreichend Nitrat für die Denitrifikation bereitgestellt wird. Der durch eine hohe Mineralisierungsrate in den aeroben Zonen zunehmende Gehalt an Elektronenakzeptoren kann die Denitrifikationsrate in größerem Maße bestimmen, als total anaerobe Bedingungen (Abou-Seada und Ottow, 1985).

Temperatur

Das Ausmaß der Nitrifikations- und Denitrifikationsaktivität sowie der damit verbundenen Freisetzung von Distickstoffmonoxid und Stickstoffmonoxid ist stark von der Temperatur abhängig. Bei der Nitrifikation liegt das Temperaturoptimum zwischen 30 und 35 °C. Unter 5 °C und über 40 °C ist die Aktivität hingegen sehr gering. Die optimale Temperatur für den Denitrifikationsprozeß liegt bei ≥ 25 °C. Bei tieferen Temperaturen (2 bis 15 °C) verläuft der Prozeß sehr langsam (Sitaula und Bakken, 1993). *Lippold et al.* (Lippold et al., 1989) berichtet im Gegensatz dazu von einer beträchtlichen Denitrifikation bei 0 °C. Auch bei we-

sentlich höheren Temperaturen (60 bis 65 °C) findet die Denitrifikation noch statt (Bouwman et al., 1990). So ergibt sich eine starke Tages- und saisonale Abhängigkeit der N₂O- und NO-Emissionsraten von der Temperatur (Blackmer et al., 1980; Seiler und Conrad, 1981; Aulakh et al., 1991).

Verschiedene Autoren berichten von einer hohen N₂O-Emission während der Winterperiode (4 bis 6 °C), verbunden mit einer hohen Wassersättigung des Bodens, und beim Auftauen gefrorenen Bodens (Edwards und Killham, 1986; Bouwman et al., 1990; Christensen und Christensen, 1991; Dörsch, 1994; Ruz-Jerez et al., 1994). Im letzteren Fall reichert sich das Distickstoffmonoxid, welches sich in der Frostperiode im Boden bildet, in den unteren gefrorenen Bodenschichten an und wird nicht an die Atmosphäre abgegeben. Mit dem Auftauen des Bodens emittiert das Distickstoffmonoxid aus dem Boden (Burton und Beauchamp, 1994).

Die NO-Produktion und der NO-Verbrauch sind individuell vom Temperaturregime abhängig. So ergaben Untersuchungen von *Saad und Conrad* (Saad und Conrad, 1993), daß die NO-Produktion aus saurem Boden kein Temperaturoptimum zwischen 5 und 40 °C aufwies, der Verbrauch von Stickstoffmonoxid dagegen ein Maximum bei 25 bis 30 °C besitzt. Bei Böden mit einem pH-Wert von ca. 7 gab es ein Maximum sowohl bei der Bildung von Stickstoffmonoxid, als auch beim Verbrauch bei einer Temperatur von 30 °C (Saad und Conrad, 1993).

Kohlenstoffgehalt des Bodens

Die gute Versorgung mit leicht zersetzbarer organischer Substanz zur Energiegewinnung der Mikroorganismen ist eine Grundvoraussetzung zum Ablaufen des vollständigen Denitrifikationsprozesses (El-Demerdash und Ottow, 1983; Christensen und Christensen, 1991; Simarmata et al., 1991, 1995). Der verfügbare Kohlenstoff stellt einen limitierenden Faktor bei der Denitrifikation dar (Weier et al., 1993 b, c). Wenn die Verfügbarkeit der zu reduzierenden N-Oxide die an zu oxidierenden, organischen Kohlenstoffverbindungen überschreitet, werden die N-Oxide unvollständig genutzt. Stickstoffmonoxid und Distickstoffmonoxid treten als Endprodukt auf und entweichen in die Atmosphäre (Bouwman et al., 1990). *Weier et al.* (Weier et al., 1993 a) fanden unter denitrifizierenden Bedingungen eine Abhängigkeit des Verhältnisses N₂/N₂O vom C-Gehalt des Bodens. So stieg das Verhältnis mit zunehmendem Gehalt an verfügbarem Kohlenstoff. Auch *Ambus* (Ambus, 1993 a, b) registrierte eine Zunahme der Denitrifikationsenzymaktivität nach Zugabe von Glucose um das 2,3 bis 2,5fache in der Bodenoberfläche und im Unterboden eines flußnahen Bodens.

Die Zugabe von Glucose zu einem nitrat- und nitritarmen anaeroben Boden hatte keinen Effekt auf die NO-Produktion und den NO-Verbrauch. Der Zusatz von Glucose und Nitrat bewirkte dagegen eine Zunahme beider Aktivitäten sowie einen Anstieg der N_2 - und N_2O -Emission (Baumgärtner und Conrad, 1992; Schuster und Conrad, 1992; Russow et al., 1995 d).

Chemische Parameter des Bodens

pH-Wert

Viele denitrifizierende Bakterien reagieren empfindlich auf eine hohe H^+ -Konzentration. Das Denitrifikationspotential im Boden korreliert mit dem pH-Wert, wobei nach *Nommik et al.* (Nommik et al., 1989) ein Optimum bei 7 bis 8 liegt. Unter bestimmten Bedingungen (10 ppm NO_3^-) nimmt die Denitrifikation mit kleiner werdendem pH-Wert rasch ab. Bei einem sehr niedrigen Nitratgehalt (< 5 ppm NO_3^-) hat der pH-Wert kaum einen Einfluß auf das Verhältnis von Distickstoffmonoxid zu molekularem Stickstoff (Blackmer und Bremner, 1978). Die sehr empfindliche Reaktion der N_2O -Reduktasesysteme bei einem niedrigen pH-Wert bewirkt, daß die Menge an Distickstoffmonoxid gegenüber dem molekularen Stickstoff mit abnehmendem pH-Wert zunimmt (Ryden und Lund, 1980; Nommik et al. 1989; Firestone et al. 1980). *Nommik et al.* (Nommik et al., 1989) zeigten, daß eine Kalkung des Bodens (100 % max. WK) die Denitrifikationsrate auf 167 % erhöht, eine Versauerung bewirkte einen Rückgang auf 79 % relativ zum Kontrollboden. Die NO-Produktion im Boden unter sauren Bedingungen (pH = 4,7) ist höher als unter weniger sauren Bedingungen (Remde et al., 1989).

Im Widerspruch dazu konnte bei denitrifizierenden Bakterien für die Zusammensetzung der Denitrifikationsgase Distickstoffmonoxid und molekularer Stickstoff kein direkter Zusammenhang mit dem pH-Wert festgestellt werden (Burth und Ottow, 1979, 1982). Das Verhältnis Distickstoffmonoxid zu molekularem Stickstoff ist eher organismenspezifisch (Burth und Ottow, 1983). Allerdings besteht eine Abhängigkeit der Denitrifikationsintensität vom pH-Wert, d.h. die größte N_2O -Entwicklung fand im neutralen bis schwach alkalischen Bereich statt, wobei die Organismen unterschiedliche pH-Optima aufweisen (von pH 6,5 bis 8,0).

Das Wachstum und die Stoffwechseltätigkeit von autotrophen, nitrifizierenden Bakterien ist im neutralen bis leicht basischen Bereich (pH 7 bis 8) optimal (Granli und Bøckman, 1994). Unter sauren Bedingungen (pH 5,5 bis 6) verläuft die Nitrifikation bei einer adequaten Versorgung mit organischem Substrat langsam. Bei einem pH-Wert von 4,5 bis 5,5 findet sie

kaum noch statt (Martikainen, 1993). Liegt der pH-Wert unter 4,5 sind die verantwortlichen Bakterien selten bzw. gar nicht aktiv.

Ammoniumgehalt

Mit der Zugabe von ammoniumhaltigem Dünger bzw. nitrifizierbaren Formen des Stickstoffs (Ammonium, Harnstoff, Alanin) nimmt die N_2O -Produktion im gut durchlüfteten Boden zu (Bremner und Blackmer, 1978, 1979, 1981; Schuster und Conrad, 1992). Bei der Düngung mit Nitrat konnte ein derartiger Effekt nicht nachgewiesen werden (Bremner und Blackmer, 1978). Studien von Blackmer *et al.* (Blackmer *et al.*, 1980) zeigen, daß die N_2O -Emission erhöht wird, wenn bei sterilen Böden eine Düngung mit Ammoniumsulfat und eine Impfung mit Reinkulturen ammoniumoxidierender, chemoautotropher Mikroorganismen (*Nitrosomonas*, *Nitrospira*, *Nitrosobolus*) erfolgte.

Unter aeroben Bedingungen werden in ungedüngten Böden große Verbrauchsraten an Stickstoffmonoxid festgestellt (Schuster und Conrad, 1992). Unter diesen Bedingungen wurde bei Düngung mit Ammonium bzw. Harnstoff die Produktion von Stickstoffmonoxid und Distickstoffmonoxid erhöht (Schuster und Conrad, 1992; Skiba *et al.*, 1993). Zwischen 0,3 und 10 % des verfügbaren Ammoniums können Bodenbakterien der Gattung *Nitrosomonas europaea* zu diesen N-Gasen oxidieren (Lipschultz *et al.*, 1981).

Nitratgehalt

Der Gehalt an Nitrat im Boden hat zwei Effekte auf die Denitrifikation durch Bodenmikroorganismen. Einerseits stimuliert es die Aktivität der N_2O -Reduktasen (Blackmer und Bremner, 1979), andererseits bewirkt eine hohe Konzentration an Nitrat eine Inhibierung dieser Enzymaktivität (Blackmer und Bremner, 1978; Firestone *et al.*, 1980; Nommik *et al.*, 1984). D.h., die Reduktion des Distickstoffmonoxids zu molekularem Stickstoff wird favorisiert, wenn die Nitratkonzentration abnimmt (Cho und Sakdian, 1978; Dendooven *et al.*, 1994 a) bzw. die N_2O -Emission korreliert mit dem im Boden verfügbaren Nitrat (Keller und Reiners, 1994). Der Effekt des Nitrats auf die Denitrifikation ist eng verbunden mit dem pH-Wert des Bodens. Bei einem niedrigen pH-Wert erfolgt eine Inhibierung der Reduktion vom Distickstoffmonoxid zum molekularen Stickstoff bei fast jeder Nitratkonzentration (Blackmer und Bremner, 1978).

Die Produktion und der Verbrauch von Stickstoffmonoxid unter anaeroben Bedingungen in Böden wird ebenfalls stark vom Angebot an Nitrat und Nitrit bestimmt. Bei geringen Nitrat- und Nitritkonzentrationen ist die Umsetzung zu Stickstoffmonoxid und damit der Verbrauch sehr gering (Baumgärtner und Conrad, 1992). Nach der Zugabe von Glucose wur-

den keine Effekte in der N-Entgasung festgestellt. Erst die Zufuhr von Glucose und Nitrat stimulierte sowohl die NO-Produktion als auch den NO-Verbrauch.

Die N₂O-Emission aus gut durchlüfteten Böden korreliert nicht mit der Nitratkonzentration, wohl aber mit dem Gehalt an nitrifizierbarem Stickstoff (Bouwman et al., 1990).

Nitritgehalt

Aus verschiedenen Untersuchungen ist ersichtlich, daß die NO- und N₂O-Freisetzung ihr Maximum erreicht, wenn unter anaeroben Bedingungen der Nitritgehalt im Boden relativ hoch ist (VanCleemput und Baert, 1984; Bouwman et al., 1990; Baumgärtner und Conrad, 1992). Hohe Konzentrationen an Nitrit wurden teilweise bei anaeroben Böden gefunden, wenn Ammoniumdünger in höheren Dosen verabreicht wurde. Liegen das Nitrit und auch das Nitrat wieder in sehr geringen Konzentrationen im Boden vor, wird das Stickstoffmonoxid zu 62 bis 97 % zu Distickstoffmonoxid umgesetzt (Baumgärtner und Conrad, 1992). Die Akkumulation von Nitrit ist organismenspezifisch. Bei Denitrifikanten gibt es zum einen Spezies, die bei der Reduktion von Nitrat zu Nitrit dieses im Medium akkumulieren können (*Pseudomonas fluorescens*), und andere, die diese Anreicherung nicht vornehmen (*Flavobacterium*) (Betlach und Tiedje, 1981).

Unter aeroben Bedingungen kann eine hohe Konzentration an Nitrit eine Inhibierung der Nitritoxidation bewirken (Bouwman et al., 1990). Bei Nitrifikantenkulturen wurde nur unter sehr hohen Konzentrationen an Nitrit, entstanden durch eigene Bildung oder Zugabe zum Medium, eine Entwicklung von Stickstoffmonoxid und Distickstoffmonoxid durch Chemo-denitrifikation registriert (Anderson und Levine, 1986; Blackmer und Cerrato, 1986).

Redoxpotential

Redoxpotentiale können zur Kennzeichnung des Luft-, Wasser-, Nähr- und Schadstoffhaushaltes von Böden herangezogen werden (Mansfeldt, 1993). Generell kann aus dem Redoxpotential des Bodens geschlossen werden, ob aerobe oder anaerobe Bedingungen vorliegen und somit die Nitrifikation oder die Denitrifikation begünstigt ist. Die Redoxpotentiale für oxidierende Böden (aerob) liegen bei +400 bis +600 mV und für reduzierende Böden (anaerob) bei -300 bis +100 mV. So ist bei hohen Redoxpotentialen (+300 bis +400 mV) die Nitrifikation der dominierende N-Umsetzungsprozeß, wobei Kralova et al. (Kralova et al., 1992) dabei auch kleine Mengen Distickstoffmonoxid nachweisen konnten. Die maximale N₂O-Emission wurde bei einem Redoxpotential von 0 mV gemessen. Sie nahm mit geringer werdendem Redoxpotential ab und die N₂-Emission zu, d.h., die Denitrifikation verläuft vorrangig bis zum molekularen Stickstoff.

Nitrifizierende und denitrifizierende Mikroorganismen

Die Entbindung der Stickoxide Distickstoffmonoxid und Stickstoffmonoxid ist nicht nur bodenspezifisch, sondern auch organismenspezifisch (Abou-Seada und Ottow, 1988). Sowohl nitrifizierende als auch denitrifizierende Mikroorganismen tragen zur Produktion von Distickstoffmonoxid und Stickstoffmonoxid bei.

Ammoniumoxidierende, chemoautotrophe Bakterien der Gattung *Nitrospira* und *Nitrosobolus* erzeugen Distickstoffmonoxid bei Zugabe von Ammonium (Blackmer et al., 1980). Bei Anwesenheit ammoniumoxidierender Bakterien der Gattung *Nitrosomonas* sp. wurde unter abnehmendem Sauerstoffpartialdruck eine erhöhte Bildung von Distickstoffmonoxid festgestellt. Die Nitritbildung ging dabei zurück, d.h., sie nutzten das Nitrit als Elektronenakzeptor und wirkten damit als Denitrifikanten (Poth und Focht, 1985; Poth, 1986; Bremner und Blackmer, 1979; Goreau et al., 1980).

Untersuchungen zur NO- und N₂O-Bildung verschiedener Nitrifikanten (*Nitrosomonas europaea*, *Nitrosomonas* strain ATCC 25981), Denitrifikanten (*Pseudomonas fluorescens*, *Alcaligenes faecalis*, *Rhizobium japonicum*) und Nitratatmer (*Serratia marcescens*) ergaben, daß die höchste Emissionsrate von Stickstoffmonoxid, unabhängig vom Sauerstoffpartialdruck, bei autotrophen Nitrifikanten liegt (Anderson und Levine, 1986). Die N₂O-Entwicklung dagegen verlief proportional zum Sauerstoffpartialdruck. Unter anaeroben Bedingungen wurde die höchste N₂O-Emissionsrate bei den Denitrifikanten wie *Pseudomonas fluorescens* gemessen.

Die Denitrifikanten wie *Alcaligenes odorans*, *Pseudomonas fluorescens* und *Flavobacterium* können unter Zugabe von Nitrit und Nitrat sofort Distickstoffmonoxid erzeugen und auch kleine Mengen an Stickstoffmonoxid (Betlach und Tiedje, 1981).

Aus Untersuchungen zur NO-Freisetzung und zum NO-Verbrauch durch Denitrifikanten in Reinkulturen ist bekannt, daß unter anaeroben Bedingungen das gegebene Nitrat unter Bildung des Zwischenprodukts Nitrit zu Stickstoffmonoxid und Distickstoffmonoxid umgewandelt wird. Nachdem das Nitrat und das Nitrit verbraucht waren, wurden das Stickstoffmonoxid und das Distickstoffmonoxid als Elektronenakzeptoren genutzt und reduziert. Dies wiesen Remde und Conrad sowie Schäfer und Conrad (Remde und Conrad, 1991; Schäfer und Conrad, 1993) z.B. für die Bakterien der Gattung *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas stutzeri*, *Azospirillum brasilense*, *A. lipoferum* und *Paracoccus denitrificans* nach. Die NO-Reduktase denitrifizierender Bakterien ist ein sehr aktives Enzym, so daß es nie zu einem toxischen Zustand durch Stickstoffmonoxid kommt (Goretski et al., 1990).

Rudaz et al. (Rudaz et al., 1991) zeigten, daß sich die Aktivität der denitrifizierenden Enzyme nach der Befeuchtung eines sehr trockenen Bodens innerhalb von 26 Stunden verdoppelte, d.h., daß die denitrifizierenden Bakterien ihren Stoffwechselzustand sehr schnell von der Dürrebelastung zur Ausnutzung der durch das Befeuchten gewechselten Ressourcen umstellen können. Diese Fähigkeit der Mikroorganismen, schnell auf den Wechsel trocken-feucht zu reagieren, ist von besonderer Bedeutung für die N_2O -Produktion unter Freilandbedingungen (Davidson, 1992).

Denitrifikantenkulturen können bei der Nitratatmung im Beisein von Sauerstoff und Nitrat beides gleichzeitig als Elektronenakzeptor nutzen (Robertson und Kuenen, 1984; Ottow, 1990; Lloyd, 1993). Dieses Phänomen der „aeroben Denitrifikation“ wurde bei den denitrifizierenden Bakterien *Thiosphaera pantotropha* bis zu einer Sauerstoffsättigung von 90 % des Kulturmediums festgestellt (Robertson und Kuenen, 1984).

Rhizobien, in Symbiose mit Leguminosen lebende Bakterien, liefern einen bedeutenden Beitrag zum N-Eintrag in den Boden. Sie können sowohl den physiologischen Prozeß der N_2 -Fixierung, als auch die Denitrifikation durchführen. *Rhizobium meliloti* sind beispielsweise fähig Nitrat einerseits zu Distickstoffmonoxid und andererseits weiter bis zu molekularem Stickstoff zu reduzieren (Garcia-Plazaola et al., 1993 a, b). Ihre Bedeutung als Denitrifikanten und somit als N_2O -Quelle wird eher gering eingeschätzt.

2.2 Die ^{15}N -Tracertechnik

2.2.1 Prinzip der ^{15}N -Tracertechnik

Die Isotopentracertechnik wird genutzt, um das Schicksal eines Atoms, einer Atomgruppe, eines Moleküls oder eines homogenen Pools im Verlaufe eines komplexen biologischen oder chemischen Prozesses zu verfolgen. Üblicherweise werden solche Aufgaben durch eine Markierung mit radioaktiven Nukliden gelöst. Beim Stickstoff besteht dabei das Problem, daß das Radionuklid ^{13}N eine sehr kurze Halbwertszeit von rund 10 Minuten hat und somit für langandauernde Untersuchungen von Lebensvorgängen ungeeignet ist. Außerdem setzt man sich bei derartigen Experimenten immer den potentiellen Gefahren der radioaktiven Strahlung aus. Eine Alternative bietet hier das stabile Stickstoffisotop ^{15}N . Es ist im natürlichen Isotopengemisch des Stickstoffs zu 0,366 At.-% enthalten.

Isotope Kerne haben bei gleicher Kernladungszahl eine verschiedene Anzahl von Neutronen (Massenzahl des Atomkerns = Kernladungszahl + Neutronen) (Stroppe et al., 1988). Die

Grundvoraussetzung zum Arbeiten mit der Isotopentracertechnik, hier speziell der ^{15}N -Tracertechnik, besteht darin, daß sich die Isotope z.B. des Stickstoffs (^{14}N und ^{15}N) trotz der verschiedenen Massenzahl chemisch praktisch gleich verhalten. Die aber dennoch bestehenden Differenzen in den physikalischen und physikochemischen Eigenschaften der Isotope („Isotopieeffekt“), wie unterschiedliche Massen, Wärmeleitfähigkeit oder Lichtemission, werden bei den Nachweismethoden für die unterschiedlichen Isotope, wie Massen- und Emissionsspektrometrie genutzt (s. Abschn. 2.2.2).

Jede Veränderung der natürlichen Häufigkeit des ^{14}N - oder des ^{15}N -Isotops bedeutet im Sinn der Tracertechnik eine Markierung des Stickstoffs.

Die ^{15}N -Isotopenmethoden können nach:

- dem Problem (Bestimmung von Brutto-Abläufen, Verfolgung und Vergleich der Häufigkeit für die an einer Reaktionsfolge beteiligten Moleküle),
- dem Zeitbezug (Statische Betrachtung -Charakterisierung eines Zustandes-, Dynamische Betrachtung -Aufnahme der Zeitabhängigkeit der ^{15}N -Häufigkeit-) und
- der Art der Auswertung (Bilanzmethode; Isotopenverdünnungs-Methode) unterschieden werden (Faust et al., 1981).

Die praktische Realisierung der ^{15}N -Tracertechnik ist prinzipiell stets gleich: Die zu untersuchende Stickstoffverbindung bzw. der -pool wird durch eine bestimmte Anreicherung an ^{15}N markiert. Dadurch können ihre Reaktionen bzw. Transportvorgänge anhand der Häufigkeit von ^{15}N im jeweiligen Reaktionsprodukt bzw. Pool beobachtet werden.

2.2.2 Bestimmung der ^{15}N -Häufigkeit

Die Unterschiede in den physikalischen Eigenschaften des ^{14}N und des ^{15}N beruhen allein auf dem Massenunterschied der Stickstoffatome ($M_{^{14}\text{N}} = 14,003\text{g/mol}$, $M_{^{15}\text{N}} = 15,010\text{g/mol}$). Bei der Bestimmung der ^{15}N -Häufigkeit nutzt man je nach Meßmethode die daraus resultierenden Unterschiede geeigneter physikalischer Eigenschaften aus (s. Abschn. 2.2.1). Heute haben sich hauptsächlich zwei Meßverfahren durchgesetzt:

1. Massenspektrometrie als die ursprüngliche Methode zur Bestimmung der Molekülmassen gasförmiger Verbindungen und
2. Emissionsspektrometrie als optische Methode.

Die Sektorfeld-Massenspektrometrie nutzt die massenabhängige Ablenkung von in einer Ionenquelle erzeugten positiven Ionen in einem Magnetfeld (Schröder, 1991). Dabei wird das Magnetfeld zeitlich so verändert, daß die verschieden schweren Ionen zeitlich nachein-

ander auf einen Auffänger treffen, wobei das gemessene Spektrum mehrmals in der Sekunde durchlaufen wird (Scan). Weiterhin kann auch das Magnetfeld fest eingestellt werden und so treffen ständig Ionen derselben Masse auf einen Auffänger. Der Vorteil dieser Methode besteht in der höheren Präzision der Messung, da für die Messung einer Masse das gesamte Zeitintervall zur Verfügung steht. Der Nachteil liegt hierbei in der von der Anzahl der Auffänger begrenzten Zahl der zu analysierenden Massenspuren. Sektorfeld-Massenspektrometrie mit 2 bis 6 Auffängern setzt man vorzugsweise in der Isotopenanalytik ein, insbesondere dann, wenn die Isotopenhäufigkeit nahe der des natürlichen Bereiches liegt.

Das Quadrupolmassenspektrometer (QMS) ist ein Massenspektrometer, das neben den Sektorfeld-Massenspektrometern zu den wichtigsten Analysatoren in der massenspektrometrischen Praxis zählt. Die Funktionsweise des QMS besteht darin, daß an jeweils zwei benachbarten Stäben eines Quadrupolsystems eine Gleichspannung und eine Wechselspannung anliegt. Dadurch entsteht zwischen den Quadrupolen ein Potential. In Abhängigkeit von der Wechselspannungsamplitude kann nur ein bestimmtes Masse-zu-Ladungs-Verhältnis dieses Potential durchlaufen (Massenfilter, Schröder, 1991). Das Gerät kann dabei sowohl das Abtasten eines Massenspektrums (Scanen) durchführen oder durch die Wahl geeigneter Detektionsmassen (Selected Ion Monitoring, SIM) selektiv auf die jeweiligen Probesubstanzen eingestellt werden. Der Einsatz von Quadrupolmassenspektrometern erfolgt bevorzugt in der organisch-chemischen Analytik und in der Gasanalytik (Russow und Förstel, 1993).

Die Emissionsspektrometrie nutzt zur Bestimmung des Verhältnisses von ^{14}N zu ^{15}N Elektronenschwingungsbanden der angeregten Stickstoffmoleküle. Diese Banden liegen für die verschieden schweren Stickstoffmoleküle bei verschiedenen Wellenlängen: für $^{14}\text{N}^{14}\text{N}$ bei 297,7 nm, für $^{14}\text{N}^{15}\text{N}$ bei 298,3 nm und für $^{15}\text{N}^{15}\text{N}$ bei 298,9 nm. Aus den Intensitäten der einzelnen Banden läßt sich die Isotopenhäufigkeit berechnen. Voraussetzung für diese Messungen ist, daß der zu untersuchende Stickstoff in molekularer Form vorliegt. So kann diese Methode zum einen zur Analyse von molekularem Stickstoff und Distickstoffmonoxid (Eriksen und Holtem-Hartwig, 1993) und zur Bestimmung von N_{an} bzw. N_{ges} des Bodens genutzt werden. Bei der Bestimmung von N_{an} bzw. N_{ges} wird der Stickstoff erst in Ammonium überführt (Faust et al., 1981; Scharf, 1988), das dann mittels der Hypobromit-Methode (Meier, 1986) im Meßgerät zu molekularem Stickstoff umgewandelt wird. Für die Emissionsspektrometrie stehen heute leistungsfähige Meßgeräte wie das NOI-6 und NOI-7 zur Verfügung (Meier, 1986; Fischer und Meier, 1992).

3 Material und Methoden

3.1 Boden, Abwasser und Modellsystem

Boden

Für die vorliegenden Untersuchungen wurde Boden von den Versuchsfeldern des Umweltforschungszentrums Leipzig-Halle GmbH am Standort Bad Lauchstädt (Sachsen-Anhalt) genutzt. Der Standort Bad Lauchstädt repräsentiert mit seiner ausgeprägten Löß-Schwarzerde (Haplic Phaeozem) das Mitteldeutsche Trockengebiet. Durch den Regenschatten des Harzes gehört es mit 484 mm ($\bar{x}$ 1896-1995) durchschnittlichem Jahresniederschlag zu den trockensten Gebieten Deutschlands. Bei dem Boden handelt es sich um Löß-Schwarzerde mit der Ackerzahl von 94 bis 98. Die Bodenart ist Lehm.

Der Untersuchungsboden wurde genommen von der ehemaligen Stallung-Gülledeponie (V 503) Anlagejahr 1986, Parzelle 100. Die Charakterisierung des Bodens ist aus Tabelle 2 ersichtlich.

Tabelle 2: Charakterisierung des genutzten Bodens (durchschnittliche, typische Werte in 0 bis 30 cm Bodentiefe)

	Stallung-Gülledeponie
N _t (%)	0,31
C _t (%)	3,45
max. WK (Masse-%)	34,21

Bestimmung physikalischer Bodenparameter

Der zu untersuchende Boden wurde aus der Schicht 0 bis 30 cm entnommen, auf 2 mm abgesiebt und luftgetrocknet.

Die Bodenfeuchte ermittelte man, indem 2 bis 3 g des frischen Bodens genau abgewogen und bis zur Gewichtskonstanz bei 105 °C im Trockenschrank getrocknet wurden. Über die Massendifferenz errechnete sich der Wassergehalt in Masse-% (Fiedler, 1973).

Die Bestimmung der maximalen Wasserkapazität (max. WK) des Bodens erfolgte nach einer abgewandelten Methode von *Mitscherlich*. Eine genau bestimmte Menge des auf 2 mm abgesiebten, luftgetrockneten Bodens wurde in 250 cm³-Stechzylinder, die an der Unterseite mit feinem Dederongewebe bespannt sind, mit einer speziellen Apparatur bei konstanter Frequenz und Hubhöhe eingerüttelt. Zur Wassersättigung wurden die Zylinder auf Drahtgewebe gestellt und entsprechend der Wasseraufwärtsbewegung bis zur Überstauung mit

Wasser gesättigt. So blieben die Proben 24 h im Wasser stehen, wurden dann mit dem Drahtgewebe aus dem Wasser gehoben und auf eine Schicht nassen Fließsand gestellt. Nach 2 h erfolgte die Gewichtsbestimmung. Die ermittelte Differenz zwischen dem Ausgangsgewicht des Bodens und dem des gesättigten Bodens wurde gleich 100 % Wasserkapazität gesetzt (Fiedler, 1973). Die für den Untersuchungsboden ermittelte max. WK ist in Tabelle 2 aufgeführt.

Abwasser

Das untersuchte Abwasser stammt aus einer Braunkohle-Schmelzwasserdeponie (Wießner et al., 1993, 1994). Das Wasser wurde aus der anaeroben Zone in 20 m Tiefe entnommen. Die Parameter der analytische Charakterisierung des Braunkohlepyrolyse-Abwassers sind der Tabelle 3 zu entnehmen.

Zur Untersuchung der Nitrifikation bzw. der Denitrifikation im Abwasser wurden Nitrifikanten- bzw. Denitrifikantenkulturen verwendet, die bereits in einem kontinuierlich betriebenen Fermenter an die aeroben bzw. anaeroben Bedingungen adaptiert waren.

Tabelle 3: Analytische Charakterisierung des Braunkohlepyrolyse-Abwassers (Martius et al., 1996)

Parameter	Konzentration (mg/l)
Stickstoff (NH ₃)	180
organischer Gesamtkohlenstoff	630
chemischer Sauerstoffbedarf	2030
gelöster organischer Kohlenstoff	555
Phenol (wasserdampfflüchtig)	135

Modellsystem

Zur Untersuchung der Nitrifikation und Denitrifikation in einem Modellsystem wurde das Beersche Medium als Nährlösung gewählt (Beer, 1977). Die für die Nitrifikations- und Denitrifikationsversuche verwendete Bakterienmischkultur war eine auf das Beersche Medium adaptierte Nitrifikantenkultur des Abwassers. Diese Nitrifikantenkultur wurde während der gesamten Versuchsdurchführungen unter aeroben Bedingungen in einem kontinuierlich betriebenen Fermenter gehalten.

3.2 Bestimmung der Stickstoffkomponenten im Boden und in wäßrigen Medien

3.2.1 N_T- und C_T-Bestimmung des Bodens und der Biomasse wäßriger Medien

Zur Bestimmung des Gesamtgehalts an Stickstoff und Kohlenstoff des Bodens bzw. der Biomasse wäßriger Medien stand ein C/N-Analysator Vario-EL (Elementar GmbH) zur Verfügung. Die Ermittlung des Gesamtstickstoffgehalts mit anschließender ¹⁵N-Bestimmung erfolgte durch eine Kopplung des gleichen Elementaranalysators mit einem Quadrupolmassenspektrometer QP 2000 (SHIMADZU) (Russow et al., 1995 c). Es wurden stets Doppelbestimmungen durchgeführt.

3.2.2 Bestimmung des anorganischen Stickstoffs im Boden und in wäßrigen Medien

Bestimmung der Konzentration und der ¹⁵N-Häufigkeit des Ammoniums und Nitrats

Zur Ermittlung der Konzentration an Ammonium und Nitrat im Boden mußte dieser mit 1 N KCl-Lösung (Boden/1 N KCl = 1/5) für 2 h in einem Überkopfschüttler extrahiert werden. Die Konzentrationen an Ammonium und Nitrat sowie der ¹⁵N-Häufigkeiten in KCl-Bodenextrakten bzw. in wäßrigen Medien wurde durch Wasserdampfdestillation nach Bremner (Bremner, 1982; Faust et al., 1981) mit anschließender Messung der ¹⁵N-Häufigkeit durch das Emissionsspektrometer NOI-6 (Fischer und Meier, 1992; s. Abschn. 2.2.2) bestimmt.

Bestimmung der Konzentration und der ¹⁵N-Häufigkeit des Nitrits

Die Bestimmung des Nitrits im Boden bzw. im Wasser ist schwierig, da dessen Konzentration in diesen Medien meist sehr gering ist. Gründe dafür sind die Instabilität des Nitrits und der verstärkte Abbau des Nitrits durch die Mikroorganismen, da höhere Nitritkonzentrationen eine toxische Wirkung auf Mikroorganismen besitzen. Hinzu kommt, daß die Ermittlung der ¹⁵N-Häufigkeit in kleinen Mengen an Nitrit neben einem großen Nitratüberschuß kompliziert ist.

Es gibt nur wenige Methoden zur Bestimmung kleiner Nitritmengen und dessen ¹⁵N-Häufigkeit neben Nitrat. Diese Methoden haben den Nachteil, daß die Konzentration und ¹⁵N-Häufigkeit des Nitrits aus der Differenz zwischen Nitrat plus Nitrit und Nitrat allein berechnet wird (Keeney und Nelson, 1982; Brooks et al., 1989; Burke et al., 1990). Sie sind

sehr ungenau, da die Mengen des Nitrats die des Nitrits in den meisten Fällen um Größenordnungen überschreiten.

Besser sind Methoden, bei denen das Nitrit selektiv in eine chemische Form umgewandelt wird, die durch eine bekannte ^{15}N -Analysetechnik meßbar ist und bei der keine Störung durch andere N-Verbindungen auftritt. Die Reduktion des Nitrits zu Ammonium durch Fe^{2+} in alkalischem Medium (Russow und Faust, 1988) stellt eine Variante dieses Prinzips dar. Die genutzte Wasserdampfdestillation ist aber sehr zeitaufwendig. Weiterhin wirkt sich bei dieser Methode die Nichteinhaltung der Reaktionsbedingungen nachteilig aus, da kleine Mengen des Nitrats ebenfalls reduziert werden können und somit die ^{15}N -Häufigkeit des Nitrits verfälschen.

Eine neuere und hoch selektive Methode ist die Umsetzung des Nitrits mit Hydroxylamin zu Distickstoffmonoxid und die Ermittlung der ^{15}N -Häufigkeit des Distickstoffmonoxids durch ein Massenspektrometer (Stevens und Laughlin, 1994; Stevens et al., 1993). Der Nachteil dieser Methode besteht in der sehr langsam ablaufenden Reaktion, die nicht quantitativ ist.

Eine weitere Möglichkeit der Nitritbestimmung nach diesem Prinzip besteht in der selektiven Reduktion zu Stickstoffmonoxid mittels Kaliumiodid im sauren Medium (Cox, 1980; Goretski et al., 1990) :



Die Reaktion verläuft schnell und quantitativ. Das entstandene Stickstoffmonoxid wird online zu einem Quadrupolmassenspektrometer geführt und analysiert (RCFQMS- on line Reaction Continuous-Flow Quadrupol Mass Spectrometry; Russow et al., 1995 b; Abb. 3).

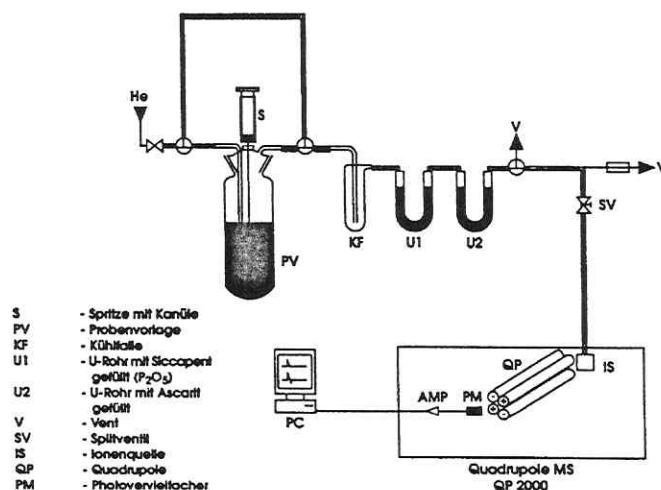


Abbildung 3: Schematische Darstellung der RCFQMS-Apparatur

Diese während der Promotion neu entwickelte Methode zur empfindlichen und selektiven Erfassung von Nitrit und dessen ^{15}N -Häufigkeit in Bodenextrakten und Wasserproben stellt eine Innovation für die Untersuchung der Nitrifikation und Denitrifikation dar. Damit ist ein wichtiger N-Pool dieser mikrobiellen Prozesse ^{15}N -analytisch exakt erfassbar.

Durchführung der Nitritanalyse mittels RCFQMS

Chemikalien und Reagenzien:

Ursprünglich (Cox, 1980) wurde zur Reduktion von Nitrit zu Stickstoffmonoxid ein Gemisch aus 0,2 M Natriumiodidlösung und konzentrierter Essigsäure eingesetzt. Statt der Essigsäure wurde in dieser Arbeit konzentrierte Phosphorsäure genutzt, da diese beständiger ist und keine sauren Dämpfe erzeugt, die die Ionenquelle des QMS zerstören könnten. Das Reaktionsgemisch bestand aus 3 Volumenanteile 12 M H_3PO_4 und 1 Volumenanteil 0,2 M NaI (KI), die am Tag der Messung frisch zusammengegeben wurden (alle Chemikalien p.a. von MERCK (Darmstadt)).

Verfahrensweise:

Nach Anbringen des Reaktionsgefäßes (s. Abb. 3, PV) an die Apparatur wurden die 10 ml des KCl-Extrakts bzw. des Wassers mit Helium gespült, um die Luft aus der Apparatur zu verdrängen. Dies ist notwendig, da aus molekularem Stickstoff und Sauerstoff, gelangen sie zusammen in die Ionenquelle, in dieser ebenfalls Stickstoffmonoxid gebildet und damit die Messung verfälscht wird. Die Spülung erfolgte solange bis das Untergrundniveau des molekularen Stickstoffs im QMS auf das Normallevel gesunken war. Dann wurden 3 ml des Reaktionsgemisches (gespült mit Helium) mittels einer Spritze (S) in das Reaktionsgefäß injiziert. Das Stickstoffmonoxid entstand sofort und wurde durch den kontinuierlich fließenden Heliumstrom (100 ml/min) über eine Kühlfalle (KF), ein Trocknungsrohr (U1) und eine CO_2 -Falle (U2) zum QMS geleitet. Das QMS war durch ein Dreiwegemikronadelventil (SV) mit der Apparatur verbunden. In das QMS konnten bis zu 3 ml/min des Heliumstroms eingebracht werden. D.h., etwa 3 % des freigesetzten Stickstoffmonoxids gelangten zur Analyse in die Ionenquelle des QMS. Mit dem QMS konnte eine quantitative Analyse und die Bestimmung der ^{15}N -Häufigkeit des Stickstoffmonoxids gleichzeitig durchgeführt werden.

Der Einsatz dieses einfachen QMS, das eine Messung der ^{15}N -Häufigkeit mit einer Standardabweichung von $\leq 3\%$ erlaubte (Russow und Förstel, 1993), war ausreichend, da mit dieser Methode hauptsächlich Proben aus Tracerversuchen (Exzesshäufigkeit $> 0,05 \text{ At.-%}$) untersucht wurden und bei Untersuchungen von biologischen Prozessen die hohe biologische Variabilität eine weitaus größere Varianz in die Untersuchungen einbrachte.

Berechnung der ¹⁵N-Häufigkeit

Ermittelt werden die Peakflächen der Massen 30 und 31. Zur Berechnung der ¹⁵N-Häufigkeit wird das Verhältnis $R_{31} = A_{31}/A_{30}$ herangezogen. Eine Korrektur der experimentell ermittelten R_{31} -Werte erfolgt durch lineare Regression mit den theoretischen R_{31} -Werten (Russow et al., 1995 b). Die Berechnungsformel für die ¹⁵N-Häufigkeit lautet:

$$a = \frac{R_{31}}{1 + R_{31}} * 100 \quad \text{in At.-%} \quad (1)$$

Da Sauerstoff ebenfalls ein Isotopengemisch (¹⁶O, ¹⁷O, ¹⁸O) ist, muß hier der Beitrag des ¹⁷O zur Masse 31 mit eingerechnet werden (> 10 At.-% vernachlässigbar):

$$a = \frac{R_{31} * 0,99754 - 0,00038}{0,99754 + R_{31} * 0,99754 - 0,00038} * 100 \quad \text{in At.-%} \quad (2)$$

3.3 Bestimmung der Konzentration und ¹⁵N-Häufigkeit der gasförmigen N-Produkte mittels einer GC-QMS-Kopplung

Die N-Verbindungen der Gasphase (Distickstoffmonoxid, Stickstoffmonoxid, molekularer Stickstoff) und deren ¹⁵N-Häufigkeit wurden durch ein GC-QMS-Kopplungssystem mit einer speziellen Dosiervorrichtung analysiert (Abb. 4, Russow und Förstel, 1993; Russow et al., 1995 a). Die Kombination eines Gaschromatographen mit einem Quadrupolmassenspektrometer ermöglicht sowohl die Bestimmung der Konzentration der zu untersuchenden Komponenten (N₂O, NO, N₂, CO₂, O₂), als auch der ¹⁵N-Häufigkeiten der N-Gase.

Die gaschromatographische Trennung der Gaskomponenten erfolgte durch die Schaltung einer gepackten Säule (Hay Sep D 80/120 mesh, S1) mit einer Molsiebkapillarsäule PLOT (CHROMPACK, S2) (Abb. 4). Die gepackte Säule trennt molekularen Stickstoff + Sauerstoff, Stickstoffmonoxid, Kohlendioxid und Distickstoffmonoxid und die nachgeschaltete Molsiebkapillarsäule molekularen Stickstoff und Sauerstoff.

Die Säulenschalttechnik erlaubt durch Nutzung des Split/Splitless-Injektor (SPL) des GC, den Gasstrom vor Eintritt in die Molsiebkapillarsäule in Abhängigkeit vom Gehalt der Hauptkomponenten der Luft von unverdünnt (100 %) bis zu einem Verhältniss von 1/100 (1 %) mit Helium zu verdünnen.

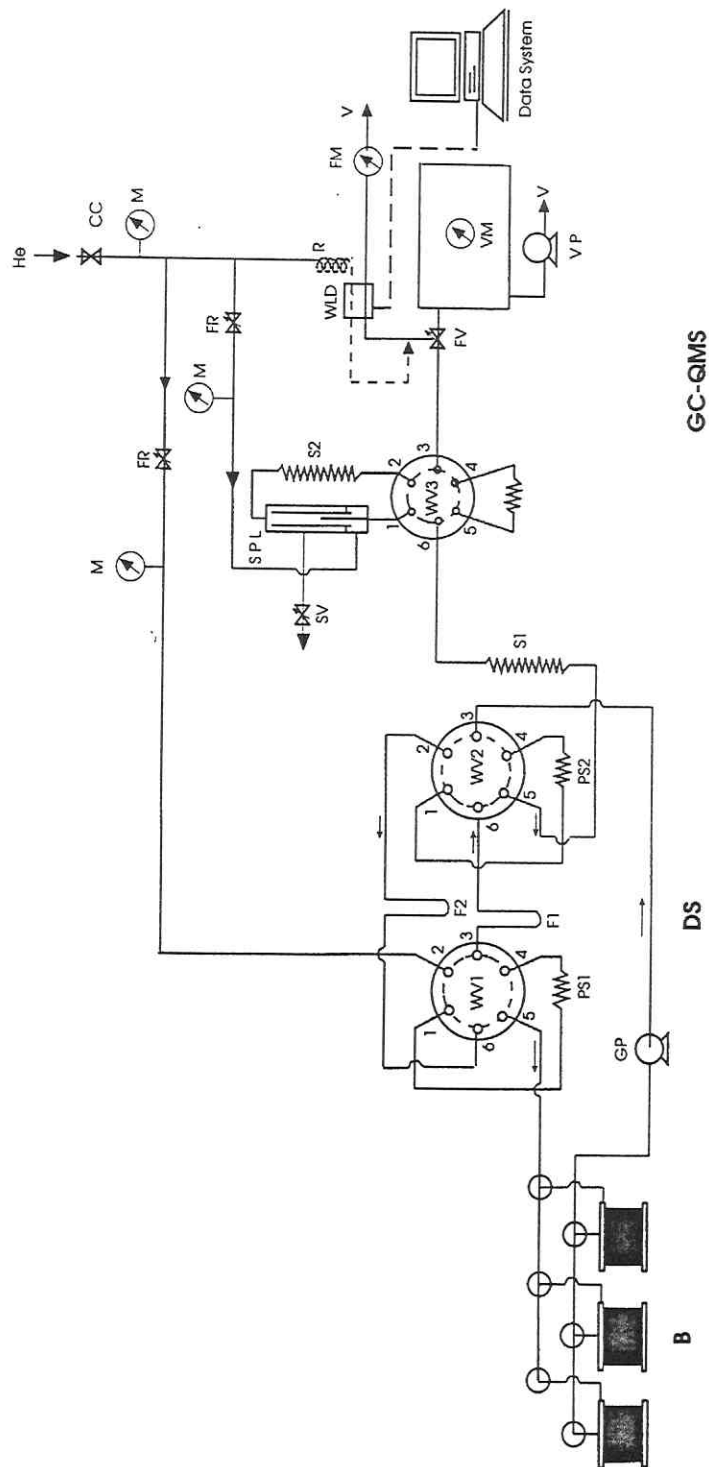


Abbildung 4: Schema des GC-QMS-Kopplungssystems verbunden mit der Bodeninkubationseinheit

S1 - GC-Säule PORAPAK Q, S2 - GC-Molsiebkapillarsäule (PLOT), FR - Flußregler, FM - Gasdurchflußmesser, M - Manometer, R - Restriktor, SV - Splitventil, FV - 3-Wege-Feinadelventil, GP - Gasumlaufpumpe, PS1/2 - Probenschleifen, SPL - Split/Splitless Injektor, F1/2 - CO₂/H₂O-Fallen (Ascarite), WLD - Wärmeleitfähigkeitsdetektor, WV1/2/3 - 6-Wege-Ventile, V - Vent, VM - Vakuummeßgerät, VP - Vakuumpumpe, B - Bodeninkubationseinheit, DS - Dosierschleifensystem, GC-QMS - Gaschromatograph-Quadrupolmassenspektrometer

Zu dieser GC-QMS-Kopplung sind folgende Daten anzugeben:

GC-QMS:	GC-Temperatur: 50 °C (isotherm)
	Trägergas: Helium
	gepackte Säule: 4 m * 2 mm, gefüllt mit Hay Sep D 80/120 mesh
	Kapillarsäule: 10 m * 0,51 mm, Molsieb 5A
	Trägergasstrom für die gepackte Säule : 20 ml/min
	Trägergasstrom für die Molsiebkapillarsäule : 9 ml/min
	Einstrommenge in die Ionenquelle des QMS : $\approx$ 3 ml/min
Retentionszeiten:	O ₂ - 1,8 min (gepackte Säule + Molsiebkapillarsäule)
	N ₂ - 2,0 min (gepackte Säule + Molsiebkapillarsäule)
	NO - 2,5 min (gepackte Säule)
	CO ₂ - 4,5 min (gepackte Säule)
	N ₂ O - 6,5 min (gepackte Säule)

Durch die Weiterentwicklung der Probenahme, der Meß- und Dosierverfahren im Verlauf dieser Arbeit, speziell für die Bestimmung des Stickstoffmonoxids, konnte die Analyse der Gase optimiert werden (s. Abschn. 3.3.2).

3.3.1 N₂-, O₂-, CO₂- und N₂O-Bestimmung durch Probenaufgabe mittels Dosierschleife

Die unterschiedlichen Konzentrationen der Komponenten in der Luft (z.B. molekularer Stickstoff zu 79,8 Vol.-% in der Luft vorhanden, Distickstoffmonoxid nur mit ca. 0,32 ppm) bzw. der zu untersuchenden Inkubationsatmosphäre machten den Einsatz von zwei unterschiedlichen Dosiervolumina und damit Schleifengrößen erforderlich.

Zur Dosierung für die N₂O-Analyse wurde eine 2 ml-Schleife (s. Abb. 4, PS1) eingesetzt. Bei dieser großen Volumendosierung haben Wasser und der hohe Kohlendioxidgehalt einen störenden Einfluß auf die N₂O-Bestimmung. Das Kohlendioxid wird auf der gepackten Säule nicht vollständig von Distickstoffmonoxid getrennt. Zur Beseitigung dieser Störung war nach der 2 ml-Schleife eine mit Ascarite (Fluka Chemie, Schweiz) gefüllte Schleife (F1) angeschlossen.

Eine 10 µl-Schleife (PS2) wurde zur Dosierung für die Bestimmung der Komponenten molekularer Stickstoff, Sauerstoff und Kohlendioxid genutzt. Die gaschromatographische Trennung des molekularen Stickstoffs vom Sauerstoff ist erforderlich, da sich bei gleichzeitigem Eintritt von molekularem Stickstoff und Sauerstoff in die Ionenquelle Stickstoffmonoxid (Masse 30) bildet und es so zu einer Verfälschung der Masse 30 des molekularen Stickstoffs (¹⁵N¹⁵N) kommen kann. Eine sehr gute Trennung dieser Komponenten konnte durch eine PLOT Molsiebkapillarsäule (CHROMPACK) erreicht werden (S2) (Russow et al., 1995 a).

Meßregime

Zuerst erfolgt die N_2O -Analyse durch Dosierung der Gasprobe mit der 2 ml-Schleife. Das Distickstoffmonoxid wird von dem molekularen Stickstoff und Sauerstoff durch die gepackte Säule getrennt. Das Splitventil zum QMS (FV) ist am Anfang der Analyse geschlossen, damit die großen Mengen der Lufthauptkomponenten ($\text{N}_2 + \text{O}_2$) nicht in das QMS gelangen und eine Überlastung, d.h. eine Abschaltung, des Filaments bewirken. Nach ca. 4 min wird das Splitventil zum QMS geöffnet, so daß etwa 3 ml/min des Trägergasstromes (20 ml/min) in das QMS zur Registrierung der Konzentration und ^{15}N -Häufigkeit des Distickstoffmonoxids einströmen.

Nachfolgend wird das WV3-Ventil auf Durchlaß zur Molsiebkapillarsäule gestellt, wobei das Feinnadelventil (FV) zum QMS geöffnet bleibt. Nun erfolgt die Dosierung mit der 10 µl-Schleife zur Bestimmung von molekularem Stickstoff, Sauerstoff und Kohlendioxid. Der molekulare Stickstoff und Sauerstoff durchqueren die gepackte Säule und anschließend die Molsiebkapillarsäule. Nachdem diese Komponenten die Molsiebkapillarsäule verlassen haben und im QMS analysiert sind (ca. 3 min), wird das 6-Wege-Ventil (WV3) auf „gepackte Säule“ gestellt und das Kohlendioxid kann nach ca. 4,5 min im QMS registriert werden. Das Kohlendioxid durchläuft somit nur die gepackte Säule. Das SIM Chromatogramm von molekularem Stickstoff (m/z 28, 29, 30), Sauerstoff (m/z 32) und Kohlendioxid (m/z 44) nach einer Dreifachdosierung von je 10 µl Probegas ist in Abbildung 5 zu sehen.

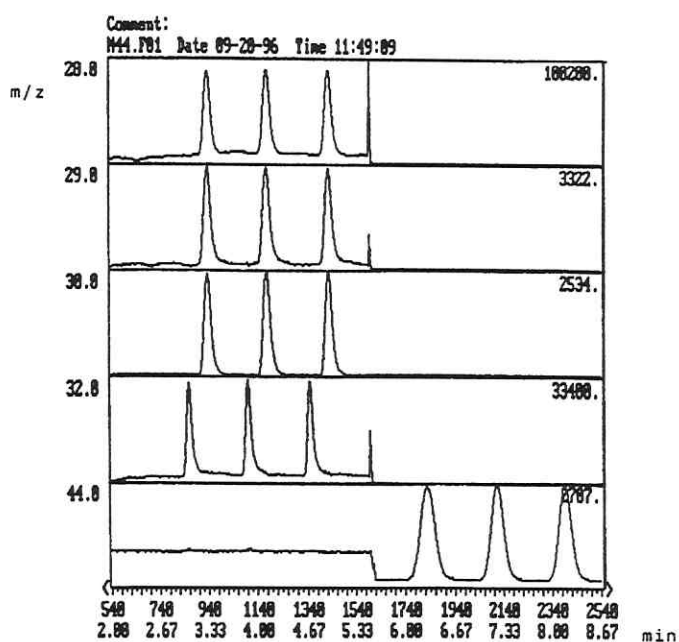


Abbildung 5: SIM Chromatogramm von molekularem Stickstoff (m/z 28, 29, 30), Sauerstoff (m/z 32) und Kohlendioxid (m/z 44)

3.3.2 NO- und N₂O-Bestimmung durch Probenaufgabe mittels vorgeschalteter Kryoanreicherung

Aus bereits durchgeführten Untersuchungen zur Emission von Distickstoffmonoxid und molekularem Stickstoff aus Böden (Höfer, 1993) war zunächst nicht ersichtlich, daß hohe NO-Emissionen auftreten könnten. Die Literatur der letzten Jahre gab Hinweise, daß auch durch die Freisetzung von Stickstoffmonoxid, Stickstoffverluste aus Böden möglich sind (Lipschultz et al., 1981; Schuster und Conrad, 1992; Skiba et al., 1993). So war es für die Untersuchungen zu den Mechanismen der N-Umsetzung im Boden und zum N-Transfer Boden-Atmosphäre notwendig, das Stickstoffmonoxid zusätzlich zum Distickstoffmonoxid und molekularen Stickstoff zu erfassen.

Zur Bestimmung des Stickstoffmonoxids mußte die ¹⁵N-Analytik der gasförmigen N-Komponenten hinsichtlich hinreichend empfindlicher Erfassung des [¹⁵N]Stickstoffmonoxids modifiziert werden. Eine Bestimmung des Stickstoffmonoxids war bis dahin nicht möglich, da dessen Konzentration (> 5 pptv) deutlich niedriger liegt, als die des Distickstoffmonoxids (0,32 ppmv). Ein weiteres Problem besteht in der Anwesenheit von großen Mengen an molekularem Stickstoff und Sauerstoff. Eine Abtrennung so geringer Mengen an Stickstoffmonoxid von molekularem Stickstoff und Sauerstoff auf der gepackten Säule ist kaum möglich. Dies stört die ¹⁵NO-Analytik durch Bildung von Stickstoffmonoxid aus molekularem Stickstoff und Sauerstoff in der Ionenquelle. Das Stickstoffmonoxid ist quantitativ und ¹⁵N-analytisch nur bestimmbar, wenn das Gas durch eine Anreicherungstechnik aufkonzentriert und das Stickstoffmonoxid der Probe von der Hauptmenge an molekularem Stickstoff und Sauerstoff aus der Luft bereits vor der GC-Säule abgetrennt wird. Es kamen zwei Anreicherungstechniken zum Einsatz, die Anreicherung auf Molsieb 5A und durch Ausfrieren mit flüssigem Stickstoff (Kryoanreicherung).

Als erste Variante einer Anreicherungstechnik wurde die Adsorption des Stickstoffmonoxids und Distickstoffmonoxids auf Molsieb 5A erprobt. Das Molsieb 5A wurde in eine 1 ml-Gasdosierschleife gefüllt, die anstelle der 2 ml-Schleife (s. Abb. 4, PS1) in das Dosiersystem geschaltet wurde. Mittels Ascarite (Fluka Chemie, Schweiz), das vor die Kühlfalle geschaltet war (F2), konnten die störenden Komponenten Wasser und Kohlendioxid aus der Gasprobe entfernt werden. Nach der Adsorption einer bestimmten Gasmenge wurde das Ventil (WV1) auf Dosieren gestellt. Durch Spülen mit dem GC-Trärgas (Helium) wurden die Restmengen an Stickstoff und Sauerstoff herausgespült. Eine thermische Desorption ermöglichte die punktuelle Dosierung des Stickstoffmonoxids und Distickstoffmonoxids in den GC-Trärgasstrom. Die gaschromatographische Trennung erfolgte über die gepackte

Säule. Das SIM Chromatogramm von Stickstoffmonoxid und Distickstoffmonoxid eines Probengases ist in Abbildung 6 zu sehen.

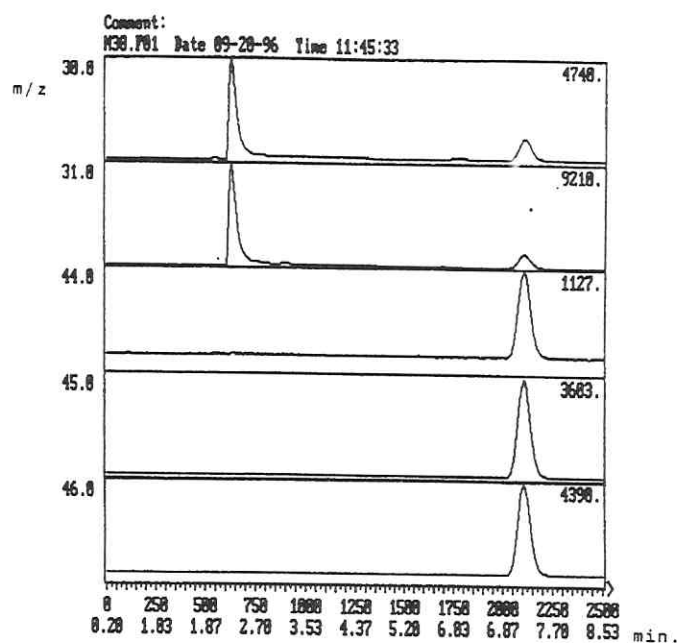


Abbildung 6: SIM Chromatogramm von Stickstoffmonoxid (m/z 30, 31) und Distickstoffmonoxid (m/z 44, 45, 46)

Damit waren die gaschromatographischen Probleme, die bei der Detektion von Stickstoffmonoxid in Gegenwart von molekularem Stickstoff und Sauerstoff auftreten (Bildung von Stickstoffmonoxid in der Ionenquelle, Masse 30) beseitigt und die NO-Menge auf eine sicher detektierbare Menge erhöht. Der Nachteil dieser Methode ist ein hoher Memoryeffekt für Stickstoffmonoxid, der durch die noch an dem Molsieb adsorbierten NO-Restmengen und deren ^{15}N -Häufigkeit verursacht wird. Dies führte zu fehlerhaften Ergebnissen, vorallem in dem ^{15}N -Wert der nachfolgenden Proben.

Diese Verfälschungen der ^{15}N -Häufigkeiten konnten beseitigt werden, indem das Stickstoffmonoxid und Distickstoffmonoxid durch Ausfrieren mit flüssigem Stickstoff in einer Edelstahlkapillare als Kühlfalle (anstelle der 2 ml-Schleife PS1) angereichert wurden (Kryoanreicherung, Sich und Russow, 1996). Die He-Spülung und die Probenaufgabe erfolgten nach dem gleichen Regime wie bei der Adsorption auf Molsieb 5A.

Mit dieser Analysenmethode durch Kryoanreicherung ist eine Bestimmung von Stickstoffmonoxiddmengen $\geq 0,02 \mu\text{g N-NO}$ (entsprechendes Probevolumen 0,032 ppmv NO) mit einer relativen Standardabweichung von $\leq 7 \%$ möglich. Die Meßgenauigkeit der Erfassung

der ^{15}N -Häufigkeit im Stickstoffmonoxid liegt ab einer ^{15}N -Häufigkeit von ca. 1 At.-% bei einer relativen Standardabweichung von $\leq 2,5\%$. Dies entspricht den Anforderungen für ^{15}N -Traceruntersuchungen zu biologischen Prozessen.

Mit dieser ^{15}N -Analytik steht eine Analysenmethode zur Verfügung, die eine empfindliche und hinreichend genaue Erfassung des ^{15}N -Stickstoffmonoxids in Spurenkonzentrationen für ^{15}N -Häufigkeiten > 1 At.-% ermöglicht und ebenfalls eine Verbesserung der ^{15}N -Stickstoffmonoxid-Analytik darstellt (bessere Empfindlichkeit).

3.4 Meß- und Inkubationssystem zur Bestimmung der Gasemission durch Böden

Das Meß- und Inkubationssystem (s. Abb. 4) zur Bestimmung der N_2O - und NO -Emissionsraten aus dem Boden ist so aufgebaut, daß die aus dem Boden emittierten Gase eine bestimmte Zeit in dem System Container-Membranpumpe-Dosierschleife akkumuliert werden, um sie dann on line in das GC-QMS zu leiten und zu analysieren. Das schließt Fehler durch Probenahme mit der Spritze und Injektion in das GC-System aus (Russow et al., 1994, 1995 a).

Zur Charakterisierung der N-Transformationsvorgänge in Böden mittels der kinetischen Isotopenmethode (s. Abschn. 3.6.2) mußte ein Inkubationssystem geschaffen werden, das eine rationelle Probenahme des Bodens und der emittierten N-Gase mit hinreichend zeitlicher Auflösung ermöglicht. Das dafür entwickelte System („Röhrchensystem“) besteht aus kleinen Inkubationsröhrchen (Abb. 7), die sich zur Bestimmung der Gasemission in einem Container befinden (Abb. 8). Die Inkubationsgefäße sind PVC-Rohre mit einem Durchmesser von 2,5 cm und einer Höhe von 4 cm. Der PVC-Netz-Boden gewährleistet eine Belüftung des unteren Bodens.

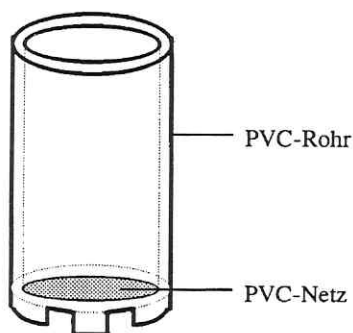


Abbildung 7: Inkubationsröhrchen

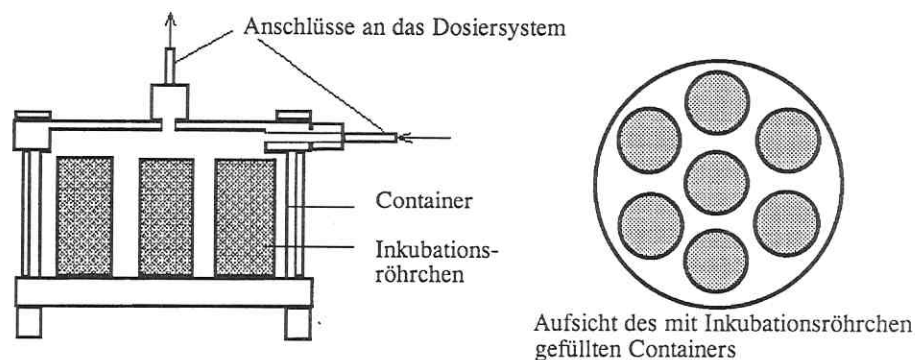


Abbildung 8: Container mit Inkubationsröhrchen zur Bestimmung der Emissionsraten

Zur Untersuchung wurden 15 g des Bodens (Trockenmasse) nach der Vorinkubationsphase (s.u.) in die Röhrchen gefüllt und verdichtet ($1,3 \text{ g/cm}^3$).

Die Applikation des N-Düngers auf den Boden erfolgte in Form von in Wasser gelösten Ammonium-, Nitrit- und Nitrat-Salzen mit Hilfe einer Pipette. Die Wassermenge wurde so gewählt, daß die gewünschte Auffüllung der Wasserkapazität des Bodens (bei Nitrifikationsversuchen 50 bis 55 % max. WK; bei Denitrifikationsversuchen $> 90 \%$ max. WK) nach Düngerzugabe erreicht waren.

Zu einer Versuchsreihe gehörten 12 bis 13 gleichbehandelte Probenröhrchen, wobei mit drei Wiederholungen gearbeitet wurde. Während der Versuche befanden sich alle Röhrchen in einem Brutschrank bei 30°C . Sieben Röhrchen paßten in einen Container (s. Abb. 8), der im Inkubationsschrank zur Messung der Emissionsraten für ca. 2 h an das Meßsystem (Abb. 4) angeschlossen und die Anreicherungsrate der N-Gase (N_2O , NO , N_2) analytisch verfolgt werden konnte. Die restlichen Röhrchen wurden parallel im Brutschrank inkubiert. Nach der Emissionsmessung wurde ein Röhrchen aus dem Container entnommen und in flüssigem Stickstoff bis zur Analyse eingefroren, um die mikrobielle Aktivität zu stoppen. Für jedes entnommene Röhrchen wurde ein parallel inkubiertes Röhrchen in den Container gestellt. Die weiteren Bestimmungen der N-Emissionsraten erfolgten in bestimmten Zeitintervallen, die ersten 3 bis 4 Tage täglich, danach in einem Abstand von 2 bis 3 Tagen. Zu jedem Meßzeitpunkt wurde ein Inkubationsröhrchen der jeweiligen Wiederholung zur Bodenanalyse entnommen. Die Inkubationszeit betrug insgesamt bis zu 17 Tagen.

Zur Bestimmung der N_{an} -Gehalte wurden die einzelnen, eingefrorenen Röhrchenbodenfraktionen in der 5fachen Menge 1N KCl-Lösung extrahiert und der KCl-Extrakt auf Ammonium, Nitrat und Nitrit und deren ^{15}N -Häufigkeiten hin untersucht (s. Abschn. 3.2.2).

Vorinkubation

Zur Vorinkubation wurde der zu untersuchende, luftgetrocknete Boden unter Zugabe von Ammonium (8 mg N/kg Boden als Ammoniumchlorid) auf 40 % max. WK befeuchtet und für 2 bis 3 Tage im Inkubationsschrank (30 °C) aufbewahrt. Dies aktivierte die mikrobielle Tätigkeit des zwischenzeitlich gelagerten, lufttrockenen Bodens.

Düngergabe

Die Berechnung der Düngermenge in mg N/kg Boden erfolgte ausgehend von einem Richtwert in kg N/ha unter folgenden Voraussetzungen:

Bodentiefe (t) = 15 cm
Trockenrohdichte (ρ) = 1,2 g/cm³

$$\frac{\text{mg N}}{\text{kg Boden}} = \frac{\text{kg N}}{\text{ha}} * \frac{10}{t * \rho} \quad (3)$$

Die Röhrenversuche wurden, ausgehend von Voruntersuchungen (Höfer, 1993) mit einer Düngung von 154 mg N/kg Boden (ca. 280 kg N/ha) und einer Temperatur von 30 °C durchgeführt. Der Dünger wurde in Form von Ammonium, Nitrat und Nitrit in einem bestimmten Verhältnis gegeben. Für die Nitrifikationsuntersuchungen im Verhältnis $\text{N-NH}_4^+/\text{N-NO}_3^- = 2/1$, um die Reaktionsfolge Ammonium-Nitrit-Nitrat zu begünstigen und für die Denitrifikation das Verhältnis $\text{N-NH}_4^+/\text{N-NO}_3^- = 1/2$, um die Reaktionsfolge Nitrat-Nitrit-N-Gase positiv zu beeinflussen. In allen Versuchen wurde eine Ausgangskonzentration an Nitrit von 5 mg N/kg Boden gegeben. Nur auf diesem Weg war eine ausreichende Nitritmarkierung überhaupt möglich und somit die Umsetzung über einen längeren Zeitraum verfolgbar.

3.5 Fermentersystem zur Untersuchung der N-Transformationsvorgänge in wäßrigen Medien

Wie aus der Literatur bekannt und durch Voruntersuchungen bestätigt, können bei Messungen der N₂O-Emissionsraten Standardabweichungen bis zu 100 % auftreten (Parkin et al. 1984, Höfer, 1993; Robertson, 1994). Das ist zum einen auf den Boden als ein sehr heterogenes Medium und zum anderen auf die Komplexität mikrobieller sowie bodenchemischer Prozesse zurückzuführen. Zudem hat man bei Bodenuntersuchungen nicht die Möglichkeit

die Bodeneigenschaften, wie Redoxverhalten, Sauerstoffgehalt und pH-Wert, umfassend und exakt zu kontrollieren.

Um dieses Problem der Heterogenität und Komplexität weitgehend zu beheben, wurden die Nitrifikation und Denitrifikation in einem homogenen Medium (Flüssigkeit) verfolgt. In der Abwasser- und Lebensmitteltechnik werden die Nitrifikation und Denitrifikation zur Beseitigung des Ammoniums und Nitrats bereits großtechnisch genutzt (Schroeder, 1981; Bever et al., 1993; Henze et al., 1993; Wiesmann, 1994; Wilk und Schubert, 1996).

Ergänzend zu den Untersuchungen in Böden fanden daher Experimente zur Nitrifikation und Denitrifikation in wäßrigen Modellsystemen in einem Fermenter BRAUN BIOSTAT[®]MD5 (Abb. 9) unter ständiger Kontrolle von pH-Wert, Redoxpotential, Sauerstoffpartialdruck und Temperatur diskontinuierlich statt.

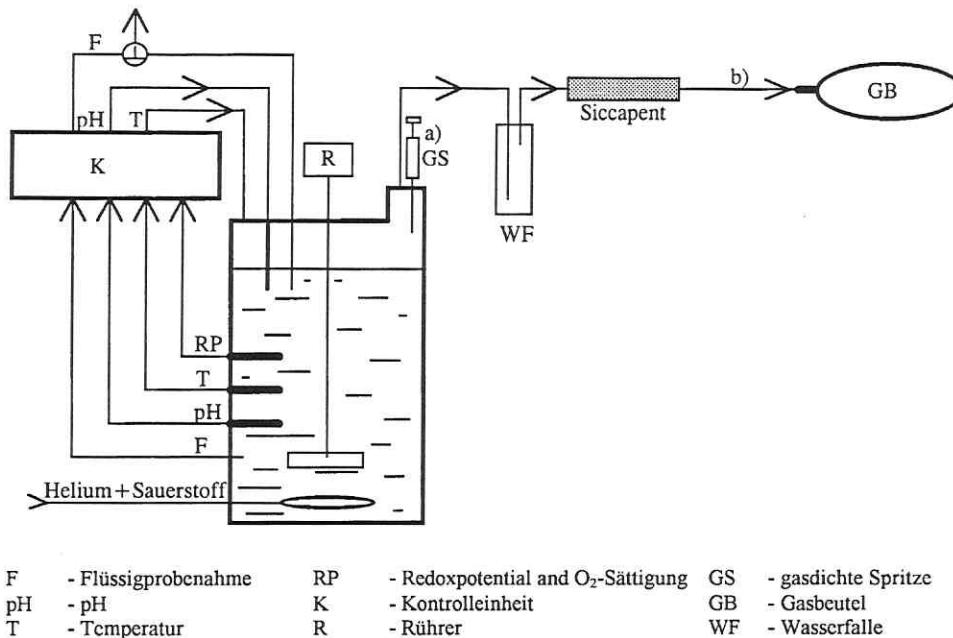


Abbildung 9: Schematische Darstellung des Fermentersystems mit Kontroll- und Regeleinrichtungen, sowie Flüssig- und Gasprobenahme;
Gasprobenahme: a) gasdichte Spritze,
b) Gasprobenahmebeutel.

3.5.1 Gas- und Flüssigprobenahme

Ausgehend von verschiedenen Verfahrensweisen der Versuchsdurchführungen zur Nitrifikation bzw. Denitrifikation und den unterschiedlichen Probenahme- und Analysetechniken

(s. Abschn. 3.3) mußten auch unterschiedliche Gasprobenahmetechniken bei den Fermenterversuchen angewandt werden.

Die Versuche zur Denitrifikation im Abwasser fanden in einem geschlossenen Fermenter unter Heliumatmosphäre statt. Die Probenahme der entstandenen Gase im Raum über dem Abwasser erfolgte mit einer gasdichten Spritze (SGE, Abb. 9, a)).

Bei den Nitrifikationsversuchen im Abwasser und im Modellsystem konnte nicht mit einem geschlossenen Fermenter gearbeitet werden, da die Gefahr bestand, daß die Mikroorganismen den gesamten Sauerstoff des Gasraumes aufbrauchen und unter Sauerstoffstreß geraten. Darum mußte kontinuierlich Sauerstoff in Form einer künstlichen Atmosphäre (He-O₂-Gemisch) durch das Abwasser bzw. das Modellsystem gepumpt werden, so daß stets eine Sauerstoffsättigung > 80 % im Untersuchungsmedium vorlag.

Zur Gasprobenahme wurde das Gas aus dem Fermenter über die Trocknungstrecke (Kühlfalle und Siccapent) geleitet und in einem Gasbeutel (SUPELCO) (s. Abb. 9, b)) über mehrere Stunden gesammelt. Anschließend erfolgte die Analyse von Stickstoffmonoxid und Distickstoffmonoxid durch Kryofokussierung (s. Abschn. 3.3.2) und von molekularem Stickstoff, Sauerstoff und Kohlendioxid mittels direkter Gasdosierung über eine 10 µl-Schleife (s. Abschn. 3.3.1).

Dieses dynamische Gasregime wurde, da es sich versuchstechnisch bewährt hatte, ebenfalls bei den Denitrifikationsuntersuchungen im Modellsystem angewandt, wobei hier nur Helium anstatt des Helium-Sauerstoff-Gemisches benutzt wurde.

Die Flüssigprobe zu den Meßzeitpunkten wurde nach mehrminütigem Umpumpen mittels Schlauchpumpen (s. Abb. 9, F) genommen und auf [¹⁵N]Ammonium, [¹⁵N]Nitrat und [¹⁵N]Nitrit untersucht.

3.5.2 Versuchsbedingungen

Modellsystem

- Nitrifikation :
- aerobe Bedingungen (He-O₂-Atmosphäre, dynamisches Gasregime, Sauerstoffsättigung > 80 %)
 - pH = 7,5
 - 20 °C
 - Ausgangskonzentrationen
 - N-NH₄⁺ = 50 mg N/l
 - N-NO₃⁻ = 25 mg N/l
 - N-NO₂⁻ = 1 mg N/l
 - C (HCO₃⁻) = 210 mg HCO₃⁻/l
 - eingesetzte ¹⁵N-Tracer: ¹⁵NH₄⁺, ¹⁵NO₃⁻, ¹⁵NO₂⁻
 - Volumen 1,5 l (1 l Beersches Medium, 0,5 l Nitrifikantenkultur, s. Abschn. 3.1)

- Denitrifikation :
- anaerobe Bedingungen (He-Atmosphäre, dynamisches Gasregime)
 - pH = 7,5
 - 20 °C
 - Ausgangskonzentrationen

N-NH ₄ ⁺	=	25 mg N/l
N-NO ₃ ⁻	=	50 mg N/l
N-NO ₂ ⁻	=	1 mg N/l
C (CH ₃ COO ⁻)	=	100 mg C/l
 - eingesetzte ¹⁵N-Tracer: ¹⁵NH₄⁺, ¹⁵NO₃⁻, ¹⁵NO₂⁻
 - Volumen 1,5 l (1 l Beersches Medium, 0,5 l Nitrifikantenkultur s. Abschn. 3.1)

Abwasser

- Nitrifikation:
- aerobe Bedingungen (He-O₂-Atmosphäre, dynamisches Gasregime, Sauerstoffsättigung > 80 %)
 - pH = 7,5
 - 20 °C
 - Ausgangskonzentrationen

N-NH ₄ ⁺	=	30 mg N/l
N-NO ₃ ⁻	=	167,5 mg N/l
N-NO ₂ ⁻	=	0 mg N/l
 - eingesetzter ¹⁵N-Tracer: ¹⁵NH₄⁺
 - Animpfkultur (s. Abschn. 3.1)

- Denitrifikation:
- anaerobe Bedingungen (He-Atmosphäre, geschlossener Fermenter)
 - pH = 8
 - 20 °C
 - Ausgangskonzentrationen

N-NH ₄ ⁺	=	102 mg N/l
N-NO ₃ ⁻	=	59 mg N/l
N-NO ₂ ⁻	=	0 mg N/l
 - eingesetzter ¹⁵N-Tracer: ¹⁵NO₃⁻
 - Animpfkultur (s. Abschn. 3.1)

Bei der Untersuchung der Denitrifikation im Abwasser wurde bereits nitrifiziertes Abwasser eingesetzt. D.h., das Ammonium im Ausgangsabwasser ist durch einen Nitrifikationsprozeß zu Nitrat umgesetzt worden. Dem nitrifizierten Abwasser wurde Ausgangsabwasser zugesetzt, um die natürliche Kohlenstoffquelle zu simulieren.

3.6 Angewandte ¹⁵N-Isotopenmethoden

3.6.1 ¹⁵N-Gas-Flux-Methode

Methoden zur Bestimmung von N₂-Verlusten in Böden durch Denitrifikation sind die Acetyleninhibierungsmethode (AIM; Bremner und Blackmer, 1979; Aulakh et al., 1991) und die ¹⁵N-Verdünnungsmethode (¹⁵N-Gas-Flux; Hauck und Melsted, 1958; Hauck und Bouldin, 1961). Das Prinzip der AIM ist, daß durch das Acetylen die N₂O-Reduktase und somit der Reduktionsschritt vom Distickstoffmonoxid zum molekularen Stickstoff inhibiert wird. Aus

Differenzmessungen der N_2O -Emissionsraten aus dem mit Acetylen behandelten Boden und dem unbehandelten Boden kann der Verlust an molekularem Stickstoff bestimmt werden. Der Nachteil der Acetyleninhibierungsmethode besteht in:

1. Das Acetylen inhibiert nicht nur die N_2O -Reduktase, sondern auch Teilschritte der Nitrifikation.
2. Die Verteilung des Acetylens bei wassergesättigten Böden ist nicht vollständig.
3. Das Acetylen kann bei Mangel an leicht verfügbarem Kohlenstoff als C-Quelle dienen und zu Kohlendioxid veratmet werden (Haider et al., 1983).
4. Der Boden, der mit C_2H_2 behandelt wurde, ist für lange Zeit für Untersuchungen zu mikrobiellen Umsetzungen unbrauchbar.

Eine elegantere Möglichkeit der Bestimmung der N_2 -Verluste aus Böden ist die ^{15}N -Gas-Flux-Methode. Obwohl diese Methode schon in den 50er Jahren von Hauck (Hauck et al., 1958) vorgestellt wurde, findet sie bis heute nur selten ihre Anwendung (Boast, 1988; Arah, 1992; Russow et al., 1995 d). Der Hauptgrund dafür liegt darin, daß zusätzlich zu den üblicherweise für die ^{15}N -Bestimmung registrierten Massen 28 und 29 des molekularen Stickstoffs auch die Masse 30 - $^{15}\text{N}^{15}\text{N}$ - gemessen werden muß. Da die Masse 30 bei Nichttrennung von molekularem Stickstoff und Sauerstoff der Luftprobe durch das in der Ionenquelle gebildete Stickstoffmonoxid, ebenfalls Masse 30, verfälscht wird, muß vor dem Einlaß in die Ionenquelle entweder der Sauerstoff beseitigt oder molekularer Stickstoff und Sauerstoff gaschromatographisch getrennt werden. Die gaschromatographische Trennung gelang in dieser Arbeit durch den Einsatz einer Molsiebkapillarsäule (s. Abschn. 3.3.1).

Nachfolgend sollen die Grundlagen der ^{15}N -Gas-Flux-Methode kurz erläutert werden. Wird ^{15}N -markierter, molekularer Stickstoff (statistische ^{15}N -Verteilung), der durch Denitrifikation im Boden entstanden ist, mit dem molekularen Stickstoff der Luft (natürliche ^{15}N -Häufigkeit, statistische ^{15}N -Verteilung) vermischt, so ist das ^{15}N im N_2 -Gemisch nichtstatistisch verteilt (Abb. 10).

Mit Hilfe der ^{15}N -Verdünnungsmethode unter zusätzlicher Nutzung dieser nichtstatistischen ^{15}N -Verteilung im molekularen Stickstoff, kann der Stickstoff, der durch Denitrifikation entstanden ist, rechnerisch bestimmt werden. Das natürliche Verhältnis der Molmassen 30/28 (R_{30}) des molekularen Stickstoffs in der Luft ist sehr gering ($\approx 1,3 \cdot 10^{-5}$), so daß kleine hochangereicherte Mengen an Denitrifikationsstickstoff das Verhältnis R_{30} exponentiell ansteigen lassen (Siegel et al., 1982). Aus den massenspektrometrisch registrierten Massenflächen des molekularen Stickstoffs (A_{28} , A_{29} , A_{30}) werden die Verhältnisse A_{29}/A_{28} (R_{29}) und A_{30}/A_{28} (R_{30}) gebildet.

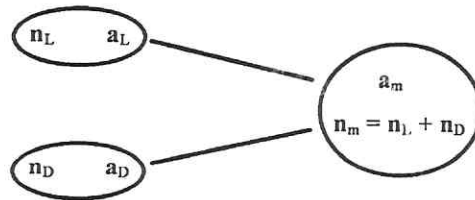


Abbildung 10: Einfaches Gasmischungsmodell für den molekularen Stickstoff der Luft und den molekularen Stickstoff entstanden durch Denitrifikation aus dem Boden
 n_L - Stoffmenge des molekularen Stickstoffs der Luft,
 a_L - ^{15}N -Häufigkeit des molekularen Stickstoffs der Luft,
 n_D - Stoffmenge des Denitrifikation- N_2 ,
 a_D - ^{15}N -Häufigkeit des Denitrifikation- N_2 ,
 n_m - Stoffmenge der Stickstoffmischung,
 a_m - gemessene ^{15}N -Häufigkeit in der Stickstoffmischung.

Zur Berechnung nach der ^{15}N -Verdünnungsmethode benötigt man die atomare (normale ^{15}N -Häufigkeit, Gl. 4) und molekulare ^{15}N -Verteilung (Gl. 5) nach folgenden Gleichungen:
 Die atomare ^{15}N -Verteilung a (^{15}N -Häufigkeit):

$$a = \frac{{}^{15}\text{n}}{{}^{15}\text{n} + {}^{14}\text{n}} \quad (4)$$

$$a = \frac{2 \cdot R_{30} + R_{29}}{2(1 + R_{29} + R_{30})} \quad (4.1)$$

Bei statistischer Verteilung des ^{15}N (statistische ^{15}N -Verteilung in einem 2-atomigen Molekül ist binominalverteilt $({}^{14}\text{n})^2 + 2{}^{14}\text{n}{}^{15}\text{n} + ({}^{15}\text{n})^2$) ergibt sich:

$$a = \frac{R_{29}}{2 + R_{29}} \quad (4.2)$$

Die molekulare ^{15}N -Verteilung für die Masse 30, α :

$$\alpha = \frac{{}^{30}\text{n}}{{}^{28}\text{n} + {}^{29}\text{n} + {}^{30}\text{n}} \quad (5)$$

$$\alpha = \frac{R_{30}}{1 + R_{29} + R_{30}} \quad (5.1)$$

$$\text{Für die statistische Verteilung gilt : } \alpha = a^2 \quad (5.2)$$

Aus den gemessenen Massenverhältnissen R_{29} und R_{30} kann die ^{15}N -Häufigkeit (a_m , atomare ^{15}N -Verteilung) dieses Gemisches nach Gleichung 4.1 berechnet werden.

Die atomare Mischhäufigkeit des N_2 -Gemisches läßt sich wie folgt berechnen :

$$n_L * a_L + n_D * a_D = (n_L + n_D) * a_m \quad (6)$$

Um diese Gleichung zu vereinfachen wird der Mischungskoeffizient d eingeführt :

$$d = \frac{n_D}{n_D + n_L} = \frac{n_D}{n_m} \quad (7)$$

Durch Einsetzen der Gleichung 7 in Gleichung 6 erhält man :

$$(1 - d) * a_L + d * a_D = a_m \quad (8)$$

Auflösung nach d :

$$d = \frac{a_m - a_L}{a_D - a_L} \quad (8.1)$$

In Gleichung 8.1 sind zwei Unbekannte enthalten, d und a_D . Eine Berechnung von d aus Gleichung 8.1 ist demzufolge nicht möglich. Zur Ermittlung von d kann eine zweite Gleichung für d mittels der molekularen ^{15}N -Verteilung, α (Gl. 5), aufgestellt werden (Hauck et al., 1958) :

$$(1 - d) * \alpha_L + d * \alpha_D = \alpha_m \quad (9)$$

$$d = \frac{\alpha_m - \alpha_L}{\alpha_D - \alpha_L} \quad (9.1)$$

Entsprechend Gleichung 5.2 wird in Gl. 9.1 für α_L a_L^2 und für α_D a_D^2 eingesetzt :

$$d = \frac{\alpha_m - a_L^2}{a_D^2 - a_L^2} \quad (9.2)$$

Durch Gleichsetzen der Gleichung 8.1 und Gleichung 9.2 und Auflösung nach a_D erhält man:

$$a_D = \frac{\alpha_m - a_L^2}{a_m - a_L} \quad (10)$$

Dieses a_D wird nun in Gleichung 8.1 eingesetzt und vereinfacht nach

$$d = \frac{(a_m - a_L)^2}{\alpha_m - a_L^2} \quad (11)$$

Mit Gleichung 11 ist es nun möglich das Verhältnis n_D (Stickstoff entstanden durch Denitrifikation) zu $(n_D + n_L)$ (Gemisch aus Denitrifikationstickstoff und Luftstickstoff) (Gl. 7) in Form des Koeffizienten d aus den gemessenen Massenwerten (Gl. 4.1 und Gl. 5.1) zu berechnen.

Die statistische und nichtstatistische Verteilung des ^{15}N in Molekülen kann auch bei der Untersuchung des Bildungspools des Distickstoffmonoxids aus ^{15}N -markierten Verbindungen herangezogen werden. Entsteht das Distickstoffmonoxid aus der Umsetzung eines ^{15}N -markierten N-Pools, so ist das ^{15}N im Distickstoffmonoxid statistisch verteilt. Bildet sich das Distickstoffmonoxid dagegen aus zwei oder mehreren N-Pools, entsteht eine Mischung von Distickstoffmonoxid unterschiedlicher Herkunft. Die ^{15}N -Verteilung, die im Distickstoffmonoxid gemessen wird, ist demzufolge nichtstatistisch. So kann die ^{15}N -Markierung einzelner N-Pools zur Identifizierung des N_2O -Entstehungspools beitragen.

Ausgehend davon werden die folgenden Verhältnisse A_{45}/A_{44} (R_{45}) und A_{46}/A_{44} (R_{46}) gebildet. Die Berechnung der ^{15}N -Häufigkeit im Distickstoffmonoxid erfolgt für die nichtstatistische Verteilung dann nach:

$$a = \frac{R_{45} + 2 * R_{46}}{2 * (1 + R_{45} + R_{46})} * 100 \quad \text{in At-\%} \quad (12)$$

und für die statistische Verteilung nach:

$$a = \frac{1}{(2 / R_{45}) + 1} * 100 \quad \text{in At-\%} \quad (13)$$

Eine Beeinflussung der ^{15}N -Häufigkeit des Distickstoffmonoxids durch ^{17}O und ^{18}O ist für Tracerversuche mit > 10 At.-% vernachlässigbar klein.

Erhält man aus Gleichung 12 und 13 dasselbe Ergebnis, so ist das die Bestätigung, daß das ^{15}N im Distickstoffmonoxid binominal verteilt und demnach aus einer N-Verbindung entstanden ist. Sind die Resultate der Berechnung der ^{15}N -Häufigkeit verschieden, weist dies darauf hin, daß das ^{15}N im Distickstoffmonoxid nichtstatistisch verteilt ist. Dies ist nur durch die Entstehung des Distickstoffmonoxids aus unterschiedlichen N-Pools möglich.

3.6.2 Kinetische Isotopenmethode (KIM)

Zur Beschreibung von Reaktionsmechanismen in der Chemie und Biochemie spielen kinetische Untersuchungen eine wichtige Rolle. Oft sind dieser Methode Grenzen in der Aussage für die bei einer Reaktionsfolge auftretenden Zwischenprodukte gesetzt. Eine Möglichkeit dieses Problem zu lösen, beruht auf der Zugabe von markierten Molekülen. Bereits 1943 wurde von *Zilversmit et al.* (in Neiman und Gal, 1971) diese Methode in der Biochemie eingesetzt und als Kinetische Isotopenmethode (KIM) bezeichnet. Später fand sie auch in der Chemie ihre Anwendung (Neiman und Gal, 1971).

Die Ableitungen der isopenkinetischen Gleichungen nach *Zilversmit et al.* (in Neiman und Gal, 1971) gehen von einer vorherigen qualitativen Analyse der untersuchten Prozesse aus. Nach denen wird ein Reaktionsschema postuliert.

Zu mikrobiellen N-Umsetzungen im Boden ist aus der Literatur bekannt, daß sich durch Mineralisierung das Ammonium bildet, welches weiter durch Nitrifikation unter aeroben Voraussetzungen über Nitrit zu Nitrat umgesetzt wird (s. Abschn. 2.1.4). Unter anaeroben Bedingungen wird das Nitrat über Nitrit zu N-Gasen reduziert. Ein einfaches Reaktionsschema (Abb. 11) lautet daher:

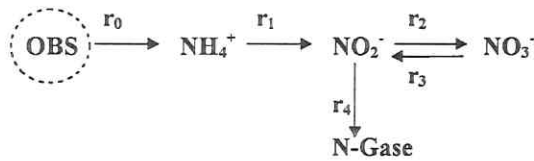


Abbildung 11: Reaktionsschema für die Nitrifikation und Denitrifikation nach Literaturaussagen (s. Abschn. 2.1.4)

- r_0 - Umsatzrate der Mineralisierung
- r_1 - Umsatzrate der Nitrifikation des Ammoniums (Am) zu Nitrit (Nit)
- r_2 - Umsatzrate der Nitrifikation des Nitrits (Nit) zu Nitrat (Nat)
- r_3 - Umsatzrate der Denitrifikation des Nitrats (Nat) zu Nitrit (Nit)
- r_4 - Umsatzrate der Denitrifikation zu N-Gasen (NO , N_2O , N_2)

Die isopenkinetischen Gleichungen sollen am Beispiel des Umsatzes von $[^{15}\text{N}]$ Ammonium und von $[^{15}\text{N}]$ Nitrat hergeleitet werden:

Umsetzung des Ammoniums (Am) in Abhängigkeit von der Zeit

$$\frac{dC_{\text{Am}}}{dt} = r_0 - r_1 \quad (14)$$

Diese Gleichung enthält zwei Unbekannte. Zur Lösung wird eine Gleichung zur Umsetzung des [¹⁵N]Ammoniums in Abhängigkeit von der Zeit aufgestellt.

$$\frac{d^{15}C_{Am}}{dt} = a_{OBS} * r_0 - a_{Am} * r_1 \quad (15)$$

Die OBS ist nicht markiert. Man erhält bei Einsatz der Exzeßhäufigkeiten :

$$\frac{d^{15}C_{Am}}{dt} = - a_{Am}' * r_1 \quad (16)$$

$$\text{mit } ^{15}C_{Am} = a_{Am}' * C_{Am} \quad (16.1)$$

Totales Differential in Abhängigkeit von der Zeit:

$$\frac{d^{15}C_{Am}}{dt} = a_{Am}' * \frac{dC_{Am}}{dt} + C_{Am} * \frac{da_{Am}'}{dt} \quad (17)$$

Gleichsetzen von (16) und (17) und Auflösung nach r_1 :

$$r_1 = - \frac{dC_{Am}}{dt} - \frac{C_{Am}}{a_{Am}'} * \frac{da_{Am}'}{dt} \quad (18)$$

$$r_0 = \frac{dC_{Am}}{dt} + r_1 \quad (19)$$

Umsetzung des [¹⁵N]Nitrats (Nat) nach der Zeit

$$\frac{dC_{Nat}}{dt} = r_2 - r_3 \quad (20)$$

$$\frac{d^{15}C_{Nat}}{dt} = a_{Nit}' * r_2 - a_{Nat}' * r_3 \quad (21)$$

$$\text{mit } ^{15}C_{Nat} = a_{Nat}' * C_{Nat} \quad (21.1)$$

Differenzierung nach der Zeit

$$\frac{d^{15}C_{Nat}}{dt} = a_{Nat}' * \frac{dC_{Nat}}{dt} + C_{Nat} * \frac{da_{Nat}'}{dt} \quad (22)$$

Gleichsetzen von (21) und (22) und Auflösung nach r_2 und Einsetzen in (20):

$$r_2 = \frac{C_{\text{Nat}}}{a_{\text{Nit}}' - a_{\text{Nat}}'} * \frac{da_{\text{Nat}}'}{dt} \quad (23)$$

$$r_3 = r_2 - \frac{dC_{\text{Nat}}}{dt} \quad (24)$$

Die Voraussetzung zum Arbeiten auf der Basis der KIM ist, daß jeweils gleiche Versuchsbedingungen und Ausgangskonzentrationen der zu untersuchenden Komponenten bei allen Versuchen gegeben sein muß, um gleiche Umsätze und Ausbeuten zu erzielen.

Durch die sehr guten versuchstechnischen und analytischen Möglichkeiten konnten bei den Untersuchungen zur Nitrifikation und Denitrifikation reproduzierbare Ergebnisse erhalten werden, so daß beispielhaft isotopekinetische Auswertungen vorgenommen werden konnten.

4 Ergebnisse und Diskussion

4.1 Nitrifikation und Denitrifikation im Modellsystem

4.1.1 Untersuchungen zur Nitrifikation

Ergebnisse

Konzentrationsverlauf der untersuchten N-Komponenten und die N- bzw. ^{15}N -Bilanzen

Die Abbildungen 12 a, 13 a und 14 a zeigen die Konzentrationsverläufe der untersuchten N-Verbindungen über die jeweilige Versuchsdauer (Anhang A, Tab. A.1 bis A.3). In Tabelle 4 und 5 sind die N- und ^{15}N -Bilanzen der drei Versuche mit $[^{15}\text{N}]$ Ammonium, $[^{15}\text{N}]$ Nitrit und $[^{15}\text{N}]$ Nitrat zusammengefaßt.

In allen Versuchen ist der typische Nitrifikationsverlauf zu sehen. Das Ammonium wird über Nitrit zu Nitrat mikrobiell oxidiert und am Versuchsende liegt das Nitrat als einzigstes Reaktionsprodukt vor. Das Nitrit verhält sich wie ein Zwischenprodukt. Da zu Versuchsbeginn hauptsächlich der erste Schritt der Nitrifikation, die mikrobielle Umsetzung des Ammoni-ums zu Nitrit abläuft, erreicht letzteres ein Konzentrationsmaximum, dessen Höhe in den drei Versuchen aber nicht reproduzierbar war (19,9 bis 37,9 mg $\text{N-NO}_2/\text{l-fl.}$). Die zweite Stufe der mikrobiellen Nitrifikation, die Oxidation des Nitrits zu Nitrat, verlief verstärkt ab, nachdem das Ammonium fast abgebaut war.

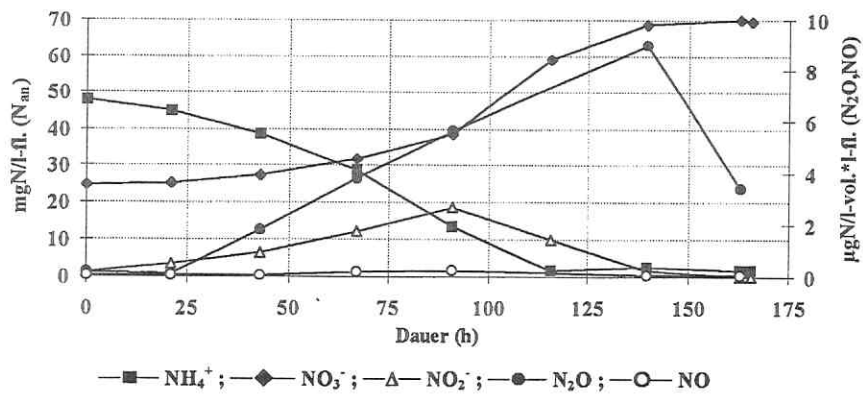
Bei der Nitrifikation entstanden als gasförmige N-Produkte das Distickstoffmonoxid (N_2O) und in sehr geringen Mengen auch das Stickstoffmonoxid (NO). Die Emission des Distickstoffmonoxids nahm während der Versuche zu. Am Ende erfolgte in allen drei Versuchen ein starker Abfall der N_2O -Emission.

^{15}N -Tracerversuch mit $[^{15}\text{N}]$ Ammonium

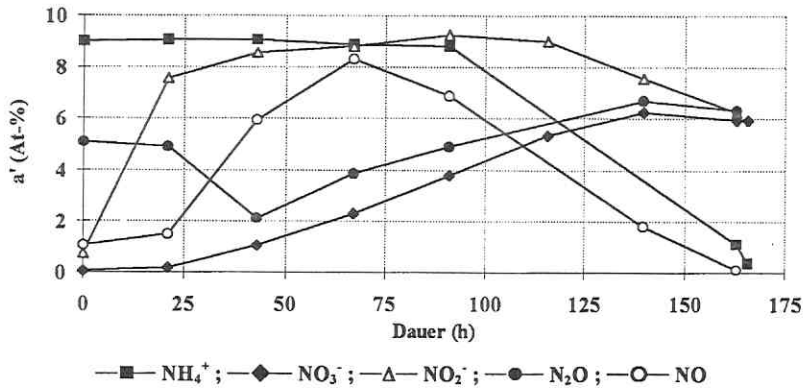
Aus den ermittelten ^{15}N -Markierungen der untersuchten N-Komponenten über die Zeit sind Aussagen zu den Umwandlungsprozessen der N-Komponenten und zu den Bildungsme-
chanismen des Distickstoffmonoxids und Stickstoffmonoxids möglich.

An den ^{15}N -Häufigkeiten der anorganischen N-Komponenten Ammonium, Nitrit und Nitrat (Abb. 12 b) ist der Nitrifikationsverlauf sehr gut nachvollziehbar. Die zuerst verstärkt ablau-fende Umsetzung des Ammoni-ums zu Nitrit wird deutlich, da die ^{15}N -Häufigkeit des Nitrits sehr schnell die des Ammoni-ums erreicht. Nach 100 h überschreitet das Nitrit den ^{15}N -Häufigkeitswert des Ammoni-ums und folgt etwas erhöht dessen ^{15}N -Häufigkeit.

[12a]



[12b]



[12c]

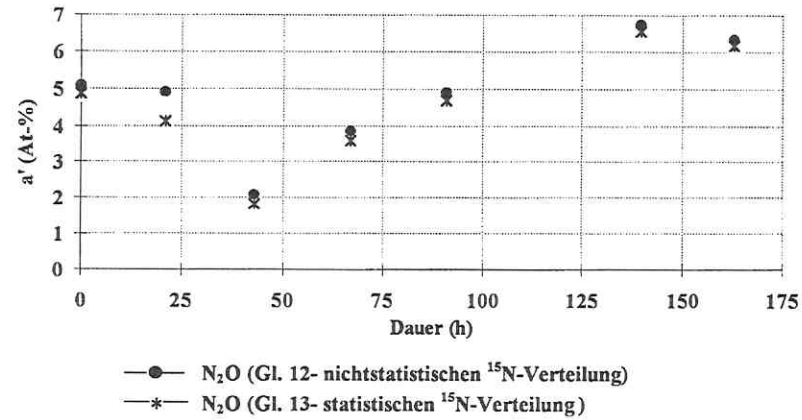


Abbildung 12: Versuch zur Nitrifikation im Modellsystem mit [¹⁵N]Ammonium
a - Konzentrationsverlauf der bestimmten N-Komponenten,
b - ¹⁵N-Häufigkeitsverlauf der bestimmten N-Komponenten,
c - ¹⁵N₂O-Häufigkeitsverlauf der aus der nichtstatistischen und statistischen ¹⁵N-Verteilung berechneten ¹⁵N-Häufigkeitswerte.

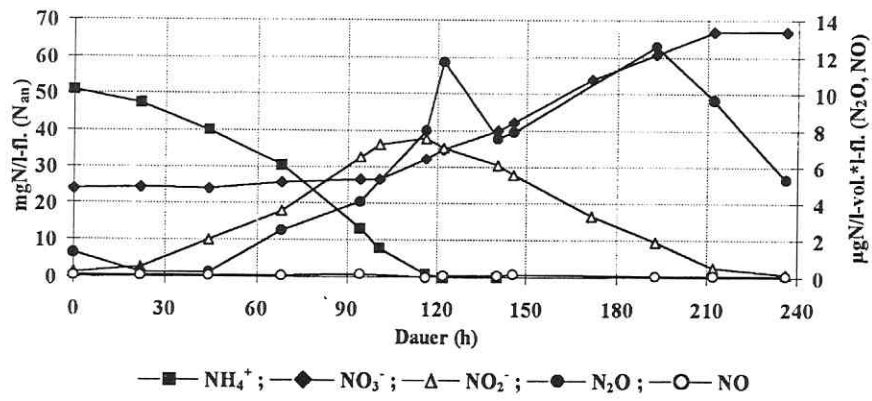
Das Nitrit ist hiermit eindeutig als Zwischenprodukt charakterisiert (s. Zilversmit, 1943, in Neiman und Gal, 1971).

Das Nitrat trägt ebenfalls zur Nitritbildung (Reduktion des Nitrats zu Nitrit, Denitrifikation) unter den aeroben Bedingungen bei. Besonders deutlich wird dies am Versuchsende, da die Werte der ^{15}N -Häufigkeit für das Nitrat und das Nitrit gleich sind. Die ^{15}N -Anreicherung des Nitrats nimmt über den gesamten Versuchszeitraum zu. Durch die Oxidation des Ammoniums über Nitrit zu Nitrat wird ständig markierter Stickstoff in den Nitratpool eingetragen. Am Ende findet sich der größte Anteil des gegebenen ^{15}N im Nitrat wieder (s. Tab. 5). Die Verdünnung des $[^{15}\text{N}]$ Ammoniumpools weist darauf hin, daß eine geringe Mineralisierung während des Versuchs stattfand. Diese minimale Mineralisierung konnte nur am Versuchsende nachgewiesen werden, da zu diesem Zeitpunkt nur noch sehr kleine Mengen an Ammonium im Modellsystem vorhanden waren. Der Verdünnungseffekt auf das $[^{15}\text{N}]$ Ammonium durch das neugebildete Ammonium aus der Mineralisierung wirkte sich somit stärker aus.

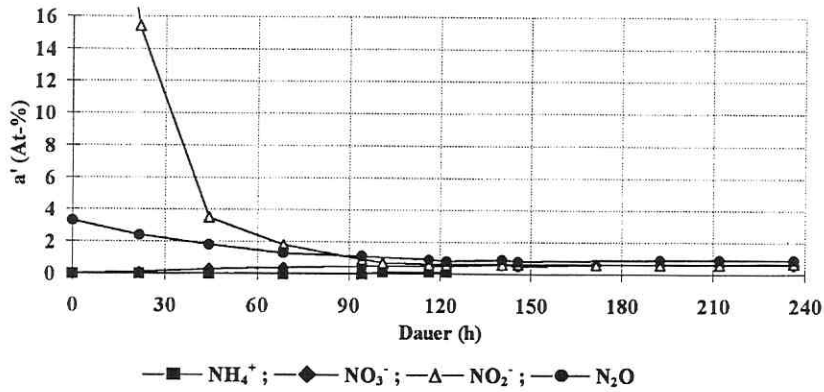
Der Verlauf der ^{15}N -Häufigkeiten des Distickstoffmonoxids zeigt, daß eine Bildung dessen aus verschiedenen N-Pools erfolgt. Ab dem dritten Meßpunkt folgt die ^{15}N -Häufigkeit des Distickstoffmonoxids der des Nitrats. Das Nitrat ist in diesem Fall der N-Pool aus dem das Distickstoffmonoxid hauptsächlich entsteht. Das Distickstoffmonoxid wird aber auch aus einer weiteren N-Quelle, wahrscheinlich auf dem Weg vom Ammonium zum Nitrit gebildet. Dies zeigt die höhere ^{15}N -Anreicherung im Distickstoffmonoxid gegenüber dem Nitrat insbesondere zu Versuchsbeginn. Aus den ^{15}N -Häufigkeiten des Distickstoffmonoxids, berechnet aus der statistischen ^{15}N -Verteilung und der nichtstatistischen ^{15}N -Verteilung im Distickstoffmonoxid (s. Abschn. 3.6.1) ist zu sehen, daß diese zu Beginn eine zwar geringe aber deutliche Differenz aufweisen (Abb. 12 c, Anhang A, Tab. A.7). Die Entstehung des Distickstoffmonoxids erfolgt somit zu Versuchsbeginn verstärkt auf dem Weg der Oxidation des Ammoniums zu Nitrit und ≥ 40 h hauptsächlich aus dem Nitrat.

Aussagen zur Entstehung des Stickstoffmonoxids sind sehr schwierig, da es unter diesen Modellbedingungen bei allen drei Versuchen nur in geringsten Mengen nachgewiesen werden konnte (s. Abb. 12 a, 13 a, 14 a). Aus dem Verlauf der ^{15}N -Häufigkeit ist aber ersichtlich, daß das Stickstoffmonoxid der ^{15}N -Anreicherung des Nitrats bzw. Ammoniums folgt. Das deutet darauf hin, daß die Bildung des Stickstoffmonoxids während der mikrobiellen Oxidation des Ammoniums zu Nitrit erfolgt.

[13a]



[13b]



[13c]

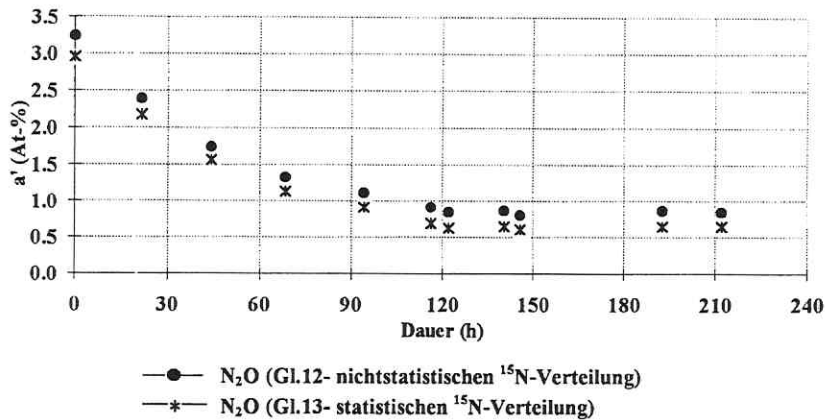
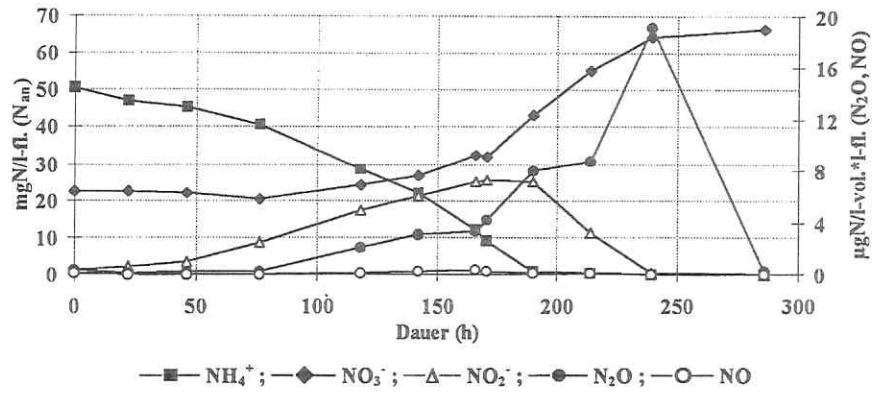
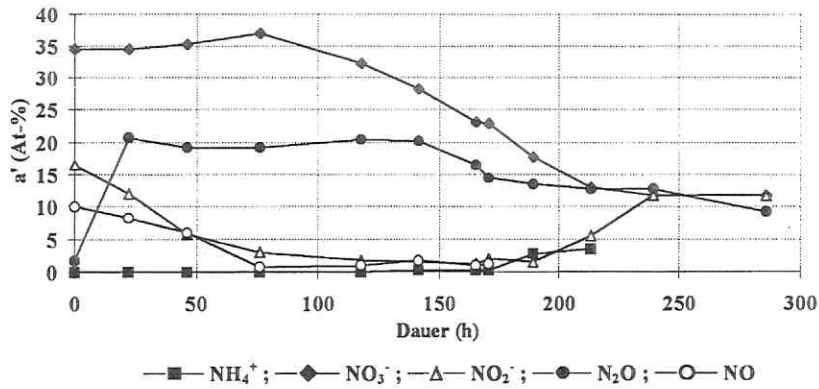


Abbildung 13: Versuch zur Nitrifikation im Modellsystem mit [¹⁵N]Nitrit
a - Konzentrationsverlauf der bestimmten N-Komponenten,
b - ¹⁵N-Häufigkeitsverlauf der bestimmten N-Komponenten,
c - ¹⁵N₂O-Häufigkeitsverlauf der aus der nichtstatistischen und statistischen ¹⁵N-Verteilung berechneten ¹⁵N-Häufigkeitswerte.

[14a]



[14b]



[14c]

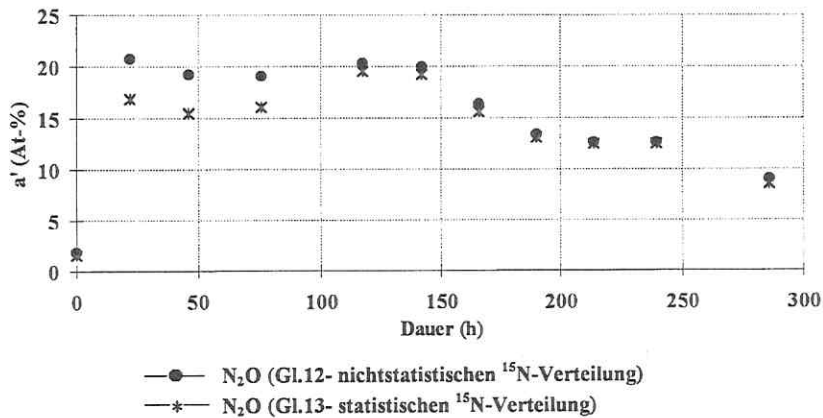


Abbildung 14: Versuch zur Nitrifikation im Modellsystem mit [^{15}N]Nitrat
a - Konzentrationsverlauf der bestimmten N-Komponenten,
b - ^{15}N -Häufigkeitsverlauf der bestimmten N-Komponenten,
c - $^{15}N_2O$ -Häufigkeitsverlauf der aus der nichtstatistischen und statistischen ^{15}N -Verteilung berechneten ^{15}N -Häufigkeitswerte.

¹⁵N-Tracerversuch mit [¹⁵N]Nitrit

Auch bei diesem Experiment zur Nitrifikation mit [¹⁵N]Nitrit konnte der mikrobielle Hauptumsetzungsweg Ammonium-Nitrit-Nitrat sehr gut verfolgt werden.

Die sehr hohe ¹⁵N-Markierung im Nitrit nimmt durch den Eintrag an unmarkiertem Stickstoff in den Nitritpool im Zuge der zuerst vorrangig ablaufende Oxidation des Ammoniums zu Nitrit schnell ab (Abb. 13 b). Im Nitrat konnte am Versuchsende die größte ¹⁵N-Menge, die als ¹⁵N-Nitrit eingesetzt wurde, nachgewiesen werden (s. Tab. 5). Die Reduktion des Nitrats zu Nitrit (Denitrifikation) erfolgte auch in diesem Versuch unter aeroben Bedingungen, was an den gleichen ¹⁵N-Häufigkeiten des Nitrats und Nitrits ab 120 h deutlich erkennbar ist.

Die ¹⁵N-Markierung des Distickstoffmonoxids zeigt jetzt eindeutig, daß dieses nicht hauptsächlich aus dem freien Nitrit entsteht. Ein unmarkierter N-Pool trägt maßgeblich zur N₂O-Bildung bei. Ab 100 h ist die ¹⁵N-Häufigkeit des Distickstoffmonoxids gleich der des Nitrits und des Nitrats, so daß man zwischen Nitrit und Nitrat als N-Pools nicht unterscheiden kann. Dafür läßt dies die Aussage zu, daß der unmarkierte N-Pool, der zur Bildung des Distickstoffmonoxids beiträgt, das Nitrat ist. Auch aus den verschiedenen berechneten ¹⁵N-Häufigkeiten des Distickstoffmonoxids und deren Differenzen (Abb. 13 c, Anhang A, Tab. A.7) ist ersichtlich, daß stets ein unmarkierter N-Pool zur N₂O-Emission beiträgt.

Eine Aussage über den Bildungsweg des Stickstoffmonoxids ist nicht möglich, da, wie bereits erwähnt, kaum Stickstoffmonoxid registriert werden konnte.

¹⁵N-Tracerversuch mit [¹⁵N]Nitrat

Bei dieser Markierungsvariante kann man am Konzentrationsverlauf der N_{an}-Komponenten (Abb. 14 a) bereits feststellen, daß anfänglich kaum Nitrit zu Nitrat umgesetzt wurde. Es fand vorrangig die mikrobielle Oxidation des Ammoniums zu Nitrit statt. Die Verdünnung des markierten Nitrits (hohe ¹⁵N-Markierung zu Beginn durch Verunreinigung des K¹⁵NO₃ mit K¹⁵NO₂) zu Versuchsbeginn, kennzeichnet ebenfalls den verstärkten Umsetzungsprozeß des Ammoniums zu Nitrit (Abb. 14 b). Ab 75 h erfolgt eine verstärkte N-Umsetzung von Nitrit zu Nitrat, was sich in einer abnehmenden ¹⁵N-Häufigkeit des Nitrats zeigt. Die bei dem Versuch mit [¹⁵N]Nitrit festgestellte Reduktion vom Nitrat zum Nitrit (Denitrifikation) ist in diesem Fall besonders gut zu erkennen. Ab 170 h steigt die ¹⁵N-Häufigkeit des Nitrits wieder an und am Ende ist sie gleich dem Nitrat.

Aus der unterschiedlichen ¹⁵N-Anreicherung des Distickstoffmonoxids und Stickstoffmonoxids ist deutlich nachweisbar, daß sie nicht aus einem gemeinsamen N-Pool entstanden sind

und das Stickstoffmonoxid folglich auch kein Vorprodukt des Distickstoffmonoxids sein kann.

Die ^{15}N -Häufigkeit des Distickstoffmonoxids liegt zwischen dem markierten Nitrat und den un- bzw. niedrigmarkierten N-Pools Ammonium und Nitrit. Dies deutet wieder darauf hin, daß das Distickstoffmonoxid auf zwei Wegen gebildet wird:

1. während der Oxidation des Ammoniums zu Nitrit bzw.,
2. aus dem Nitrat, d.h. während der Rückreaktion Nitrat zu Nitrit, wobei der letztere Teilprozeß besonders nach dem Abbau des Ammoniums ab 170 h deutlich wird.

Die ^{15}N -Häufigkeiten berechnet aus der nichtstatistischen und der statistischen ^{15}N -Verteilung (Abb. 14 c) lassen den gleichen Schluß zu. Am Anfang liegen die Werte deutlich auseinander. Dies ist darauf zurückzuführen, daß bis zu 75 h die Emission an Distickstoffmonoxid sehr gering ist und das Distickstoffmonoxid bis dahin zu annähernd gleichen Teilen während der Reaktion des Ammoniums zum Nitrit und aus dem Nitrat entstanden sein muß. Die Emissionsrate des Distickstoffmonoxids nimmt ab 75 h mit zunehmender Nitratkonzentration zu. Die ^{15}N -Häufigkeit des Distickstoffmonoxids nähert sich der des Nitrats an und ist ab 210 h gleich dem Nitrat. Daß das Distickstoffmonoxid zu diesem Zeitpunkt nur aus dem Nitrat entsteht, zeigen auch die unterschiedlich berechneten ^{15}N -Häufigkeiten (Abb. 14 c, Anhang A, Tab. A.7), die ab 170 h gleich sind.

Die ^{15}N -Anreicherung im Stickstoffmonoxid ist in diesem Versuch immer etwas niedriger bzw. gleich der des Nitrats. Das läßt die Schlußfolgerung zu, daß die NO-Bildung während der Reaktion des Ammoniums zu Nitrit bzw. direkt aus dem Nitrit stattfindet.

Tabelle 4: N-Bilanzen der Versuche mit dem Modellsystem unter Nitrifikationsbedingungen

	Markierung mit ^{15}N		
	^{15}N Ammonium	^{15}N Nitrit	^{15}N Nitrat
Versuchsdauer (h)	165,8	236,3	285,8
Ausgangskonzentrationen (mg N/l-fl.)			
N-NH ₄ ⁺	47,88	50,68	50,68
N-NO ₃ ⁻	24,81	24,10	22,67
N-NO ₂ ⁻	1,23	1,09	1,27
gesamt	73,92 (100 %)	75,88 (100 %)	74,62 (100 %)
Endkonzentrationen (mg N/l-fl.)			
N-NH ₄ ⁺	1,68 (2,27 %)	0	0
N-NO ₃ ⁻	69,43 (93,93 %)	66,84 (88,09 %)	66,47 (89,08 %)
N-NO ₂ ⁻	0,01 (0,01 %)	0,92 (1,21 %)	0,03 (0,04 %)
N-Biomasse	5,19 (7,02 %)	6,54 (8,62 %)	3,73 (5,00 %)
N-N ₂ O (kumulativ)	1,84 (2,49 %)	4,84 (6,38 %)	0,87 (1,17 %)
N-NO (kumulativ)	0,07 (0,09 %)	0,09 (0,12 %)	0,02 (0,03 %)
gesamt	78,22 (105,81 %)	79,23 (104,42 %)	70,23 (95,32 %)

% - Prozent der N-Gesamtausgangskonzentration

Tabelle 5: ^{15}N -Bilanzen der Versuche mit dem Modellsystem unter Nitrifikationsbedingungen

	^{15}N Ammonium	Markierung mit ^{15}N	
		Nitrit	Nitrat
Versuchsdauer (h)	165,8	236,3	285,8
Ausgangskonzentrationen ($\text{mg } ^{15}\text{N/l-fl.}$)			
$^{15}\text{N-NH}_4^+$	4,32	0,02	0,02
$^{15}\text{N-NO}_3^-$	0,01	0	7,80
$^{15}\text{N-NO}_2^-$	0,01	0,46	0,21
gesamt	4,34 (100 %)	0,48 (100 %)	8,03 (100 %)
Endkonzentrationen ($\text{mg } ^{15}\text{N/l-fl.}$)			
$^{15}\text{N-NH}_4^+$	0,01 (0,23 %)	0	0
$^{15}\text{N-NO}_3^-$	4,15 (95,62 %)	0,40 (83,33 %)	7,77 (96,76 %)
$^{15}\text{N-NO}_2^-$	0	0,01 (2,08 %)	0
$^{15}\text{N-Biomasse}$	0,34 (7,83 %)	0,06 (12,50 %)	0,36 (4,48 %)
$^{15}\text{N-N}_2\text{O}$ (kumulativ)	0,11 (2,53 %)	0,05 (10,42 %)	0,12 (1,49 %)
$^{15}\text{N-NO}$ (kumulativ)	0,004 (0,09 %)	0	0,0004 (0,005 %)
gesamt	4,61 (106,31 %)	0,52 (108,33 %)	8,25 (102,74 %)

% - Prozent der ^{15}N -Gesamtausgangskonzentration

Diskussion

Die durchgeführten ^{15}N -Traceruntersuchungen zur Nitrifikation in einem wäßrigen Modellsystem bestätigen, bezogen auf die Hauptkomponenten Ammonium, Nitrit und Nitrat, die Nitrifikation als Zweistufenprozeß (1. Stufe - mikrobielle Oxidation des Ammoniums zu Nitrit, 2. Stufe - mikrobielle Oxidation des Nitrits zu Nitrat) (Seiler und Conrad, 1981; Kleber und Schlee, 1988; Bouwman et al., 1990; s. Abschn. 2.1.4). Das Ammonium wird über Nitrit zu Nitrat mikrobiell umgesetzt, wobei das Nitrit als Zwischenprodukt ein Konzentrationsmaximum aufweist. Das Nitrat war in allen Versuchen das hauptsächliche Endprodukt der Reaktionsfolge, da stets am Versuchsende die größte Menge des gegebenen ^{15}N im Nitrat wiedergefunden wurde (s. Tab. 5).

Aus dem ^{15}N -Anteil der Biomasse zu Versuchsende kann man schließen, daß verstärkt Nitrit und Ammonium und zu einem geringeren Umfang das Nitrat von den Nitrifikanten assimiliert und folglich in der Biomasse als N-15 wiedergefunden wurde.

Aus den Konzentrationsverläufen der N-Gase (N_2O , NO) ist zu sehen, daß nur das Distickstoffmonoxid erhöhte Emissionsraten aufweist (zwischen 1,17 und 6,38 % bezogen auf den N-Einsatz, s. Tab. 4). Die Bildung von Distickstoffmonoxid, abgesehen von der Anfangsphase, erfolgt vorrangig aus dem Nitrat bzw. während der Reduktion des Nitrats zu Nitrit. Es ist zwar schwer vorstellbar, daß unter den vorliegenden Bedingungen (Sauerstoffsättigung > 80 %) eine Reduktion stattfindet, doch wird in der Literatur eine „aerobe Denitrifikation“ beschrieben (Robertson und Kuenen, 1984; Ottow, 1990; Lloyd, 1993; s.

Abschn. 2.1.5). Die geringen NO-Mengen (0,03 bis 0,12 % bezogen auf den N-Einsatz, s. Tab. 4) entstehen hauptsächlich auf dem Weg der Oxidation des Ammoniums zu Nitrit.

Zu erwähnen ist hier, daß das Distickstoffmonoxid nur bei Vorhandensein von Nitrit bzw. Ammonium in größeren Mengen emittiert. Wenn die N-Komponenten Nitrit bzw. Ammonium mikrobiell abgebaut sind, wird kaum noch Distickstoffmonoxid gebildet. Da das Distickstoffmonoxid hauptsächlich während der Reduktion des Nitrats zu Nitrit entsteht, weist darauf hin, daß die Mikroorganismenkultur in Abwesenheit einer organischen Kohlenstoffquelle die Bildung des Distickstoffmonoxids auf diesem Reduktionsweg nur gemeinsam mit der Ammoniumoxidation als Energiequelle durchführen.

Genauere Aussagen zu den einzelnen N-Umsetzungsprozessen und den Entstehungsmechanismen der N-Gase lassen sich nur ableiten, wenn man die ^{15}N -Tracerversuche kinetisch auswertet (s. Abschn. 3.6.2).

Aus den gewonnenen Erkenntnissen zur N-Umwandlung im Modellsystem unter aeroben Verhältnissen und der resultierenden Emission von Distickstoffmonoxid und Stickstoffmonoxid läßt sich ein qualitatives Schema zu den N-Transformationsprozessen erstellen (Abb. 15).

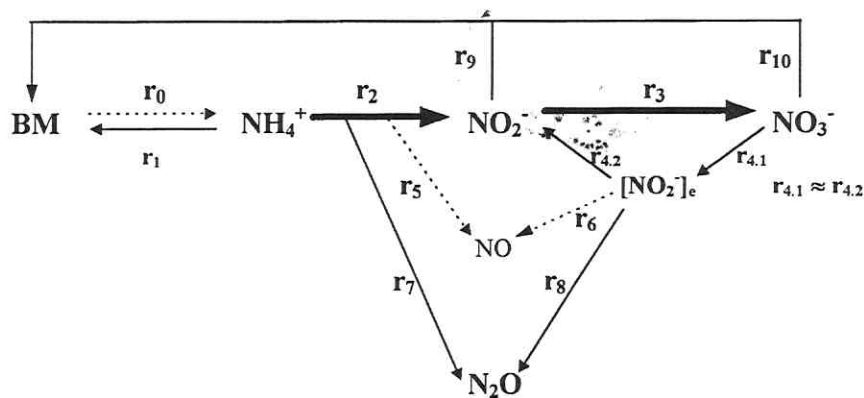


Abbildung 15: Reaktionsschema der N-Umsetzung im Modellsystem unter Nitrifikationsbedingungen

- N-Umsatzraten (r) der
- Mineralisierung (r_0)
- Immobilisierung des Ammoniums (r_1)
- Nitrifikation des Ammoniums zu Nitrit (r_2)
- Nitrifikation des Nitrats zu Nitrat (r_3)
- Denitrifikation des Nitrats zu Nitrit ($r_4 = r_{4.1} + r_{4.2}$)
- Bildung des Stickstoffmonoxids während der Oxidation der Ammoniums zum Nitrit (r_5)
- Bildung des Stickstoffmonoxids aus dem enzymgebundenen Nitrit durch Denitrifikation (r_6)
- Bildung des Distickstoffmonoxids während der Oxidation des Ammoniums zum Nitrit (r_7)
- Bildung des Distickstoffmonoxids aus dem enzymgebundenen Nitrit durch Denitrifikation (r_8)
- Immobilisierung des Nitrats (r_9)
- Immobilisierung des Nitrats (r_{10})

Als Beispiel, da ursprünglich nicht in der Aufgabenstellung enthalten, sollen auf der Basis des Reaktionsschemas nach der Kinetischen Isotopenmethode (KIM, s. Abschn. 3.6.2) für den $[^{15}\text{N}]$ Ammoniumversuch die Brutto-Umsatzraten des Ammoniums und aus dem $[^{15}\text{N}]$ Nitratversuch die Brutto-Umsatzraten des Nitrats, ermittelt und mit den Netto-Umsätzen verglichen werden. Berechnet wurden die Umsätze mit folgenden unter Abschn. 3.6.2 abgeleiteten Gleichungen:

Brutto-Umsatzraten des Ammoniums:

$$r_{\text{Am ges.}} = - \frac{dC_{\text{Am}}}{dt} - \frac{C_{\text{Am}}}{a_{\text{Am}}'} * \frac{da_{\text{Am}}'}{dt} \quad (18)$$

$$r_0 = \frac{dC_{\text{Am}}}{dt} + r_{\text{Am ges.}} \quad (19)$$

Wobei $r_{\text{Am ges.}}$ den Gesamtabbau des Ammoniums darstellt (r_1, r_2, r_5, r_9). Die Berechnung der Umsatzraten erfolgte nicht aus den Differentialen (d), sondern aus den Differenzen (Δ) der Konzentrationen bzw. ^{15}N -Häufigkeiten. Die Resultate sind in Tabelle 6 dargestellt.

Tabelle 6: Umsatzraten des Ammoniums während des Versuchs mit dem Modellsystem unter Nitrifikationsbedingungen mit $[^{15}\text{N}]$ Ammonium

Zeit (h)	Brutto-Umsatzraten (mgN/l-fl.*h)		Netto-Umsatzraten (mgN/l-fl.*h)
	r_0	$r_{\text{Am ges.}}$	$\Delta C_{\text{Am}}/\Delta t$
0 - 20,7	0	0,149	-0,149
20,7 - 42,8	0	0,284	-0,284
42,8 - 66,8	0,014	0,410	-0,397
66,8 - 90,8	0,006	0,642	-0,636
90,8 - 162,8	0,191	0,354	-0,163
162,8 - 165,8	0,637	0,693	-0,056

Für den $[^{15}\text{N}]$ Nitratversuch können nach folgenden Gleichungen die Nitrat-Umsatzraten berechnet werden.

$$r_3 = \frac{C_{\text{Nat}}}{a_{\text{Nit}}' - a_{\text{Nat}}'} * \frac{\Delta a_{\text{Nat}}'}{\Delta t} \quad (23)$$

$$r_{\text{Nat ges.}} = r_3 - \frac{\Delta C_{\text{Nat}}}{\Delta t} \quad (24)$$

$$r_{\text{Nat ges.}} = r_{4,1} + r_{11}$$

Die Ergebnisse sind in Tabelle 7 dargestellt.

Tabelle 7: Umsatzraten des Nitrats während des Versuchs mit dem Modellsystem unter Nitrifikationsbedingungen mit [¹⁵N]Nitrat

Zeit (h)	Brutto-Umsatzraten des Nitrats (mgN/l-fl. *h)		Netto-Umsatzraten des Nitrats (mgN/l-fl. *h)	N ₂ O-Netto-Bildungsraten (mgN/l-fl. *h)	prozentualer Anteil der Nitratreduktion an der N ₂ O-Bildung (Gl. 27)
	r ₃	r _{Nges}	ΔC _{Nat} /Δt	ΔC _{N2O} /Δt	
0 - 21,8	-0,008	-0,001	-0,007	0,0010	5,35 %
21,8 - 45,8	-0,021	-0,003	-0,018	0,0003	59,95 %
45,8 - 75,8	-0,036	0,020	-0,056	0,0006	54,36 %
75,8 - 117,8	0,091	-0,004	0,094	0,0009	51,63 %
117,8 - 141,8	0,162	0,068	0,094	0,0062	62,78 %
141,8 - 165,8	0,317	0,073	0,244	0,0094	70,70 %
165,8 - 170,8	0,092	0,200	-0,108	0,0100	70,88 %
170,8 - 189,8	0,755	0,161	0,594	0,0120	62,71 %
189,8 - 213,8	1,499	0,986	0,512	0,0240	76,97 %
213,8 - 239,5	n.b.	n.b.	0,344	0,0260	100 %
239,5 - 285,8	n.b.	n.b.	0,045	0,0570	100 %

n.b. - nicht berechenbar, da Division durch 0

Aus diesem [¹⁵N]Nitratversuch und den [¹⁵N]Ammonium- und [¹⁵N]Nitrit-Tracerversuchen ist abzuleiten, daß das Distickstoffmonoxid hauptsächlich direkt aus der Nitratreduktion und in geringerem Maß während der mikrobiellen Oxidation des Ammoniums zu Nitrit gebildet wird. Daraus ergibt sich im Fall der Markierung mit [¹⁵N]Nitrat die Möglichkeit der Berechnung des Anteils des Nitrats an der N₂O-Bildung über die Isotopenverdünnungsgleichung (Gl. 25). Anstatt der Konzentrationen können zur Berechnung die Netto-Bildungsraten des Distickstoffmonoxids herangezogen werden.

$$\frac{dC_{N2O(Nat)}}{dt} * a_{Nat} + \frac{dC_{N2O(Am)}}{dt} * a_{Am} = \frac{dC_{N2O(\Sigma)}}{dt} * a_{N2O} \quad (25)$$

bei Einsatz der Exzeßhäufigkeiten erhält man, da $a_{Am}' = 0$:

$$\frac{dC_{N2O(Nat)}}{dt} = \frac{dC_{N2O(\Sigma)}}{dt} * \frac{a_{N2O}'}{a_{Nat}'} \quad (26)$$

bzw.

$$\frac{\Delta C_{N2O(Nat)}}{\Delta t} = \frac{\Delta C_{N2O(\Sigma)}}{\Delta t} * \frac{a_{N2O}'}{a_{Nat}'} \quad (27)$$

Die Resultate, als prozentualer Anteil der Nitratreduktion an der N_2O -Bildung angegeben, sind ebenfalls in Tabelle 7 aufgeführt.

An den Netto-Umsatzraten des Ammoniums ist zu erkennen, daß verstärkt der Abbau des Ammoniums stattfindet und nur in minimalem Maß ein Eintrag von Ammonium aus der Mineralisierung erfolgt. Aus den Netto-Umsatzraten des Nitrats ist zu sehen, daß erwartungsgemäß hauptsächlich Nitrat gebildet wird. Diese Berechnungen bestätigen die qualitativen Abschätzungen aus dem Verlauf der Konzentrationen und ^{15}N -Häufigkeiten der bestimmten N-Komponenten, daß als Hauptumsetzungsprozeß die Nitrifikation abläuft (Reaktionsschema, s. Abb. 15).

Beim Nitrat ist anhand der Brutto-Umsatzraten ($r_{\text{Nat ges.}}$) aber auch eine mikrobielle Reduktion zu erkennen, was ebenfalls darauf hinweist, daß reduktive Prozesse, wie Bildung von Nitrit aus Nitrat, in diesem wäßrigen Medium unter aeroben Bedingungen stattfinden müssen. Diese mikrobiellen Reduktionsprozesse finden aber, wie bereits diskutiert, nur bei Vorhandensein einer Energiequelle statt (Ammonium).

Für das Distickstoffmonoxid konnte aus Gleichung 27 nachgewiesen werden, daß es hauptsächlich aus dem Nitrat bzw. aus dem angenommenen enzymgebundenen Nitrit gebildet wird.

4.1.2 Untersuchungen zur Denitrifikation

Ergebnisse

Konzentrationsverlauf der untersuchten N-Komponenten und die N- bzw. ^{15}N -Bilanzen

Die aus drei Experimenten mit verschiedenen ^{15}N -Markierungen erhaltenen Konzentrationsverläufe der untersuchten N-Komponenten sind in den Abbildungen 16 a, 17 a und 18 a dargestellt (Anhang A, Tab. A.4 bis A.6). Die N- und ^{15}N -Bilanzen stehen zusammengefaßt in Tabelle 8 und 9.

Bei allen Denitrifikationsversuchen ist der gleiche Verlauf in den Konzentrationen der N_{an} -Komponenten zu sehen. Ein ähnlicher Verlauf konnte bei den Emissionsraten von Distickstoffmonoxid und Stickstoffmonoxid festgestellt werden. $^{15}\text{N}_2$ als Denitrifikationsstickstoff wurde nur bei dem [^{15}N]Nitratversuch nachgewiesen. Zu Beginn der Versuche (0 bis 5 h) findet kaum ein Nitratabbau durch Denitrifikation statt. Nach 5 h traten allerdings in allen drei Versuchen die höchsten N_2O -Emissionsraten auf.

Ab 20 h beginnt ein verstärkter reduktiver Umsatz von Nitrat. Gleichzeitig setzt eine mikrobielle Umsetzung des Ammoniums und eine Konzentrationszunahme des Nitrits ein.

Tabelle 8: N-Bilanzen der Versuche mit dem Modellsystem unter Denitrifikationsbedingungen

	[¹⁵ N]Ammonium		Markierung mit [¹⁵ N]Nitrit		[¹⁵ N]Nitrat	
Versuchsdauer (h)	45,8		71		51	
Ausgangskonzentrationen (mg N/l-fl.)						
N-NH ₄ ⁺	24,64		24,08		25,20	
N-NO ₃ ⁻	49,61		47,62		50,98	
N-NO ₂ ⁻	1,21		0,82		1,10	
gesamt	75,46 (100 %)		72,52 (100 %)		77,28 (100 %)	
Endkonzentrationen (mg N/l-fl.)						
N-NH ₄ ⁺	13,72 (18,18 %)		12,04 (16,60 %)		12,88 (16,67 %)	
N-NO ₃ ⁻	0		0		0	
N-NO ₂ ⁻	0,52 (0,69 %)		0		0	
N-Biomasse	3,56 (4,72 %)		6,06 (8,36 %)		4,26 (5,51 %)	
N-N ₂ O (kumulativ)	0,26 (0,34 %)		0,64 (0,88 %)		0,25 (0,33 %)	
N-NO (kumulativ)	0,10 (0,13 %)		0,10 (0,13 %)		0,06 (0,08 %)	
gesamt	18,16 (27,06 %)		18,84 (25,97 %)		17,45 (22,59 %)	
Verlust als N ₂	n.n. (75,94 %) ¹		n.n. (74,03 %) ¹		(77,41 %) ¹	

% - Prozent der N-Gesamtausgangskonzentration

n.n. - nicht nachweisbar

¹ - errechnet aus N-Verlust

Tabelle 9: ¹⁵N-Bilanzen der Versuche mit dem Modellsystem unter Denitrifikationsbedingungen

	[¹⁵ N]Ammonium		Markierung mit [¹⁵ N]Nitrit		[¹⁵ N]Nitrat	
Versuchsdauer (h)	45,8		71		51	
Ausgangskonzentration (mg ¹⁵ N/l-fl.)						
¹⁵ N-NH ₄ ⁺	11,50		0,01		0,01	
¹⁵ N-NO ₃ ⁻	0,01		0,10		34,10	
¹⁵ N-NO ₂ ⁻	0,01		0,71		0,51	
gesamt	11,52 (100 %)		0,82 (100 %)		34,62 (100 %)	
Endkonzentration (mg ¹⁵ N/l-fl.)						
¹⁵ N-NH ₄ ⁺	5,93 (51,48 %)		0,01 (1,22 %)		0,09 (0,26 %)	
¹⁵ N-NO ₃ ⁻	0		0		0	
¹⁵ N-NO ₂ ⁻	0,01 (0,09 %)		0		0	
¹⁵ N-Biomasse	1,58 (13,72 %)		0,002 (0,24 %)		0,05 (0,14 %)	
¹⁵ N-N ₂ O (kumulativ)	0,003 (0,03 %)		0,049 (5,98 %)		0,164 (0,47 %)	
¹⁵ N-NO (kumulativ)	0,002 (0,02 %)		0,01 (1,22 %)		0,040 (0,12 %)	
gesamt	7,52 (65,34 %)		0,07 (8,66 %)		0,34 (0,99 %)	
¹⁵ N ₂	n.n. (34,66 %) ¹		n.n. (91,34 %) ¹		(99,01 %) ¹	

% - Prozent der ¹⁵N-Gesamtausgangskonzentration

n.n. - nicht nachweisbar

¹ - errechnet aus ¹⁵N-Verlust

Die NO-Emissionraten steigen an, verbunden mit einer erneuten Zunahme der N₂O-Emission. Bei dem [¹⁵N]Nitratversuch konnte zu diesem Zeitpunkt ebenfalls eine N₂-Emissionszunahme registriert werden. Innerhalb von 20 h sind das Nitrat und Nitrit vollständig abgebaut und in der Lösung befindet sich nur Ammonium. Die N-Gasemission ist am Versuchsende auf ein Minimum zurückgegangen.

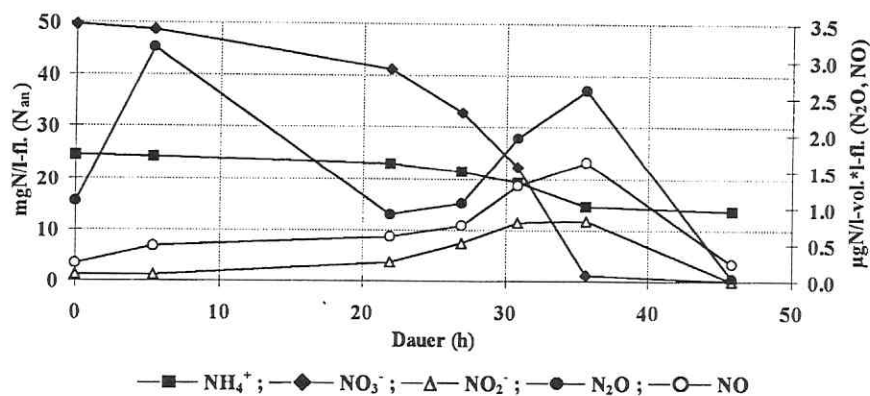
Die N- und ^{15}N -Bilanzen zeigen (Tab. 8 und 9), daß bei allen Versuchen ein großer N-Verlust auftritt, der nur durch N_2 -Emissionen zu erklären ist. Der prozentuale N-Verlust an molekularem Stickstoff durch Denitrifikation konnte nur durch N- und ^{15}N -Bilanzierung ermittelt werden. Eine Aufsummierung der Emissionsraten wie im Fall der N_2O - und NO -Emission führte bei dem Denitrifikationsstickstoff (^{15}N -Nitratversuch) zu einer Überbestimmung der N-Verluste. Somit konnte auch bei dem ^{15}N -Nitratversuch nicht die exakte Gesamtmenge an Denitrifikationsstickstoff berechnet werden. Aus den ^{15}N -Verlusten (Tab. 9) ist aber zu erkennen, daß 99.% des gegebenen ^{15}N -Nitrat als Denitrifikationsstickstoff emittiert sein müssen.

^{15}N -Tracerversuch mit ^{15}N -Ammonium

Aus den ^{15}N -Häufigkeiten des Nitrits, des Distickstoffmonoxids und des Stickstoffmonoxids zu Versuchsbeginn ist zu sehen (Abb. 16 b), daß nicht nur die Denitrifikation, sondern auch in geringem Umfang die Nitrifikation des Ammoniums abläuft. Die ^{15}N -Häufigkeit des Nitrits steigt zu Beginn an und es entsteht sowohl ^{15}N -markiertes Distickstoffmonoxid, als auch Stickstoffmonoxid. Dies ist ein Hinweis darauf, daß zu Beginn des Denitrifikationsversuchs, da noch Restsauerstoff zur Verfügung steht, eine mikrobielle Ammoniumoxidation auftritt. Aus dieser Oxidation gelangt ^{15}N aus dem ^{15}N -Ammonium in den Nitritpool. Während dieses Oxidationsschritts wird in Übereinstimmung mit den Ergebnissen zur Nitrifikation im Modellsystem Distickstoffmonoxid und Stickstoffmonoxid gebildet (s. Abschn. 4.1.1). Ab 20 h sind die ^{15}N -Anreicherungen für das Nitrat, Nitrit, Distickstoffmonoxid und Stickstoffmonoxid praktisch gleich. Ab diesem Zeitpunkt findet, wie bereits aus den Konzentrationsverläufe erkennbar war, hauptsächlich die Denitrifikation statt.

Die Ergebnisse zum letzten Meßpunkt in diesem Versuch zeigen, daß unter den anaeroben Bedingungen ebenfalls in geringem Umfang eine Nitrifikation stattfindet. Das Nitrat ist zu diesem Zeitpunkt ganz abgebaut, das Nitrit liegt nur noch in Spuren vor und es entstehen noch kleine Mengen an Stickstoffmonoxid und Distickstoffmonoxid. Die ^{15}N -Häufigkeiten des Nitrits, Stickstoffmonoxids und Distickstoffmonoxids steigen stark an. Dies kann nur damit erklärt werden, daß ^{15}N aus dem ^{15}N -Ammonium im Zuge der Nitrifikation in den Nitritpool gespeist wird, und sich aus dem Nitrit Stickstoffmonoxid und Distickstoffmonoxid bildet. Diese „anaerobe Nitrifikation“ findet nur in geringstem Maß statt und wurde während der N-Hauptumsetzung durch die Denitrifikation überdeckt. Erst als das Nitrat und Nitrit fast vollständig mikrobiell abgebaut waren, gewann diese N-Umsetzung an Bedeutung und konnte ^{15}N -analytisch nachgewiesen werden.

[16a]



[16b]

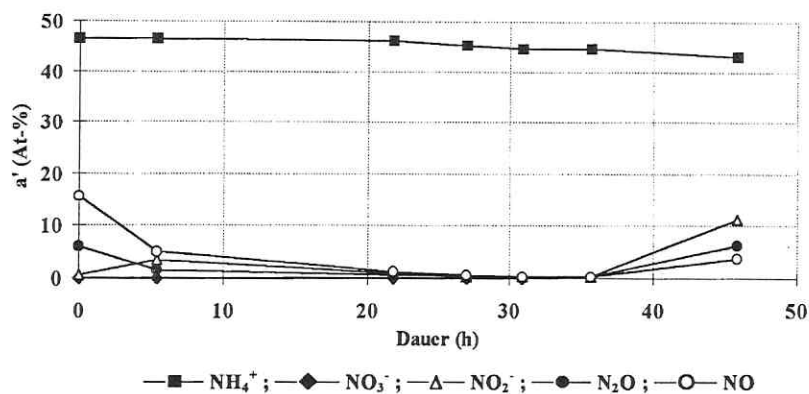


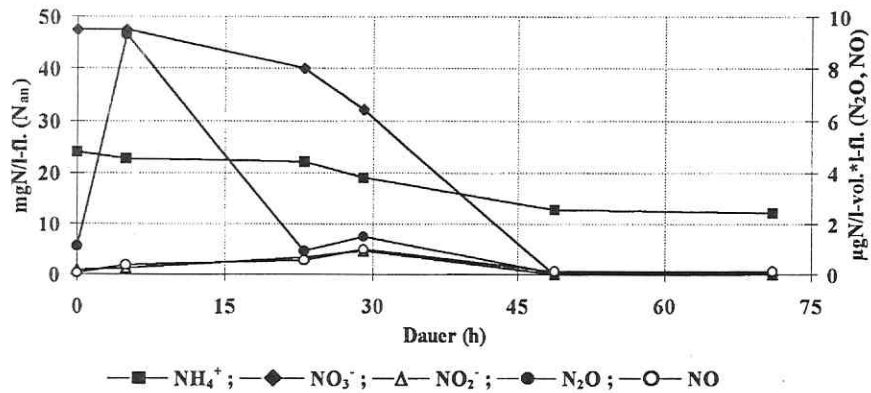
Abbildung 16: Versuch zur Denitrifikation im Modellsystem mit [^{15}N]Ammonium
a - Konzentrationsverlauf der bestimmten N-Komponenten,
b - ^{15}N -Häufigkeitsverlauf der bestimmten N-Komponenten.

Mit diesem minimalen Beitrag des Ammoniums an der Nitrit-, N_2O - und NO -Entstehung ist jedoch nicht die deutliche Abnahme des Ammoniums während dieses Versuchs zu erklären. Man sieht ebenfalls aus den ^{15}N -Häufigkeiten des Nitrits und Nitrats, daß das ^{15}N aus dem Ammonium nicht hauptsächlich in Nitrit bzw. Nitrat umgewandelt wird. Wie die ^{15}N -Bilanzen (s. Tab. 9) zeigen, wird ein Großteil des ^{15}N aus dem Ammonium in die Biomasse eingebaut (13,72 % des gegebenen ^{15}N). Trotzdem konnte bei dem Versuch mit [^{15}N]Ammonium nur 65,34 % des eingesetzten ^{15}N am Versuchsende wiedergefunden werden. Dies deutet darauf, daß das [^{15}N]Ammonium stets ^{15}N in den Nitritpool einspeist und das Nitrit zu Distickstoffmonoxid, Stickstoffmonoxid und hauptsächlich molekularen Stickstoff umgewandelt wird (34,66 % der ^{15}N -Verluste, $^{15}\text{N}_2$ analytisch nicht erfaßbar).

¹⁵N-Tracerversuch mit [¹⁵N]Nitrit

Am Anfang dieses ¹⁵N-Versuchs ist aus der erhöhten ¹⁵N-Anreicherung im Stickstoffmonoxid und Distickstoffmonoxid zu sehen (Abb. 17 b), daß sie zum einen aus dem ¹⁵N-Markierungspool Nitrit zum anderen aus einem unmarkierten N-Pool, dem Nitrat oder dem Ammonium, gebildet werden.

[17a]



[17b]

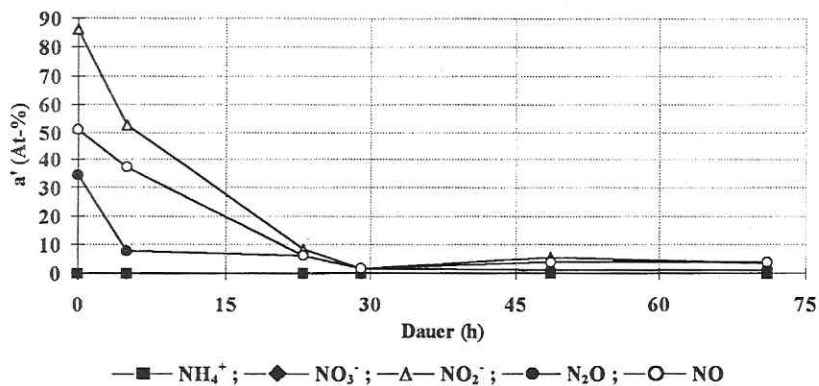


Abbildung 17: Versuch zur Denitrifikation im Modellsystem mit [¹⁵N]Nitrit
a - Konzentrationsverlauf der bestimmten N-Komponenten,
b - ¹⁵N-Häufigkeitsverlauf der bestimmten N-Komponenten.

Betrachtet man die Konzentrationsabnahme des Ammoniums, die -zunahme des Nitrits und die gleichbleibende Konzentration des Nitrats bis zu 5 h, ist offensichtlich, daß zu diesem Zeitpunkt hauptsächlich die Nitrifikation abläuft. Der ¹⁵N-markierte Nitritpool wird durch unmarkiertes Nitrit, gebildet aus Ammonium, verdünnt. Dies bestätigt den Versuch mit

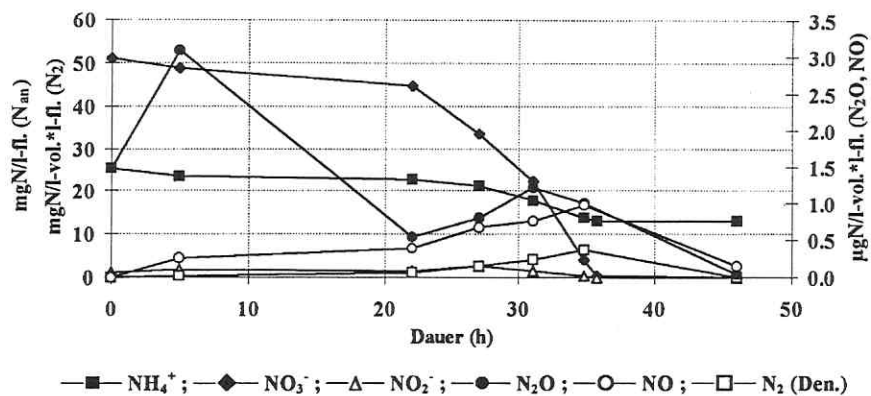
$[^{15}\text{N}]$ Ammonium, daß zu Beginn noch Sauerstoff im System vorhanden war und somit die Nitrifikation ablaufen konnte.

Ab 20 h ist eine Einschätzung des Entstehungspools für das Stickstoffmonoxid und Distickstoffmonoxid schwer möglich, da die ^{15}N -Häufigkeiten des Nitrits, Distickstoffmonoxids und Stickstoffmonoxids relativ gleich sind.

^{15}N -Tracerversuch mit $[^{15}\text{N}]$ Nitrat

Zu Beginn dieses Versuchs läuft, wie bereits bei den vorhergehenden ^{15}N -Versuchen festgestellt, zu einem gewissen Anteil die Nitrifikation ab (Abb. 18 b).

[18a]



[18b]

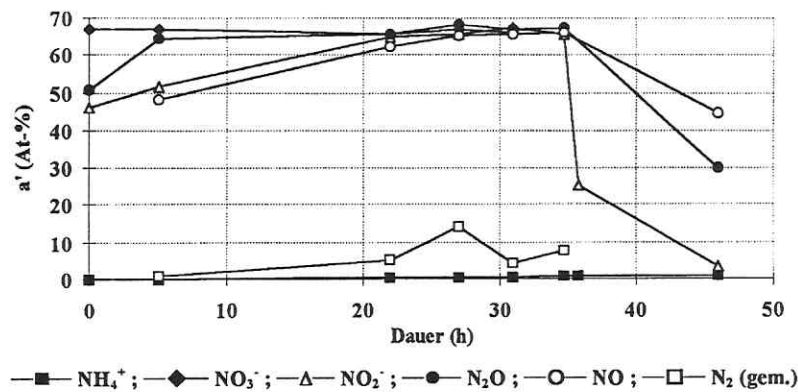


Abbildung 18: Versuch zur Denitrifikation im Modellsystem mit $[^{15}\text{N}]$ Nitrat
a - Konzentrationsverlauf der bestimmten N-Komponenten,
b - ^{15}N -Häufigkeitsverlauf der bestimmten N-Komponenten.

Dies ist daran zu sehen, daß das Nitrit nach 5 h sich zwar der ^{15}N -Häufigkeit des Nitrats nähert, aber nicht die gleiche ^{15}N -Häufigkeit besitzt. Die hohe ^{15}N -Anfangshäufigkeit des Nitrits kommt wiederum dadurch zustande, daß in dem eingesetzten K^{15}NO_3 auch ^{15}N -markiertes Nitrit enthalten ist. Dies verfälscht somit die Ausgangswerte.

Die ^{15}N -Häufigkeit des Distickstoffmonoxids zu Versuchsbeginn deutet zusätzlich zur Denitrifikation auf einen zweiten Weg der N_2O -Bildung aus einem unmarkierten N-Pool, wahrscheinlich aus der Oxidation des unmarkierten Ammoniums, hin. Das Nitrat, Nitrit, Stickstoffmonoxid und Distickstoffmonoxid haben ab 20 h die gleichen ^{15}N -Häufigkeiten, so daß ab diesem Zeitpunkt eine Unterscheidung der Bildungspools für das Distickstoffmonoxid und Stickstoffmonoxid nicht mehr getroffen werden kann.

Dagegen ist am Ende des Versuchs, durch die ^{15}N -Verdünnung im Nitrit, zu sehen, daß ein unmarkierter N-Pool an der Neubildung von Nitrit beteiligt ist. Dieser kann nur das Ammonium sein. Auch hier bestätigt sich wieder die Vermutung, daß während des ganzen Denitrifikationsversuchs das Ammonium in sehr geringem Maß zur Bildung des Nitrits als auch zur N_2O -, NO - und N_2 -Emission beiträgt.

Diskussion

Die Ergebnisse zu den ^{15}N -Traceruntersuchungen zur Denitrifikation im Modellsystem zeigen, daß als Hauptumsetzungsprozeß, wie zu erwarten, die mikrobielle Reduktion des Nitrats über das Nitrit zu den N-Gasen Stickstoffmonoxid, Distickstoffmonoxid und molekularem Stickstoff stattfindet (N_2 -Verluste > 74 % der N-Gesamtausgangskonzentration in allen Versuchen, s. Tab. 8). Neben dieser Denitrifikation konnte eine in geringem Maß ablaufende Nitrifikation bis zum Nitrit und eine damit verbundene NO -, N_2O - und N_2 -Emission unter den anaeroben Bedingungen festgestellt werden. Die hohe Abnahme der Ammoniumkonzentration in allen Versuchen ist zum größten Teil mit dem Einbau des Ammoniums in die Biomasse zu erklären (s. Tab. 9).

Aus den gewonnenen Erkenntnissen zur N-Umwandlung unter anaeroben Verhältnissen und der resultierenden Emission von Stickstoffmonoxid, Distickstoffmonoxid und molekularem Stickstoff läßt sich folgendes Schema (Abb. 19) zu den N-Transformationsprozessen erstellen:

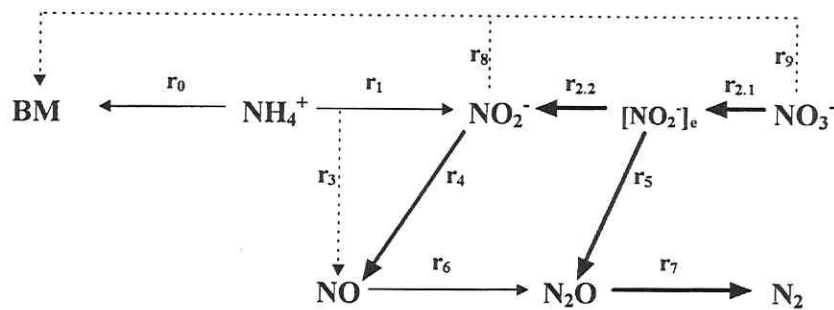


Abbildung 19: Reaktionsschema der N-Umsetzung im Modellsystem unter Denitrifikationsbedingungen

N-Umsatzraten (r) der

- Immobilisierung des Ammoniums (r_0)
- Nitrifikation des Ammoniums zu Nitrit (r_1)
- Denitrifikation des Nitrats zu Nitrit ($r_2 = r_{2.1} + r_{2.2}$)
- Bildung des Stickstoffmonoxids während der Oxidation des Ammoniums zum Nitrit (r_3)
- Bildung des Stickstoffmonoxids aus Nitrit durch Denitrifikation (r_4)
- Bildung des Distickstoffmonoxids aus dem enzymgebundenen Nitrit durch Denitrifikation (r_5)
- Bildung des Distickstoffmonoxids aus Stickstoffmonoxid durch Denitrifikation (r_6)
- Bildung des Denitrifikationsstickstoffs aus Distickstoffmonoxid (r_7)
- Immobilisierung des Nitrats (r_8)
- Immobilisierung des Nitrats (r_9)

Aus diesem Reaktionsschema ist ersichtlich, daß sowohl das Ammonium, als auch das Nitrat mikrobiell nur abgebaut und nicht neu gebildet wurden. Darum können die Umsatzraten des Ammoniums und des Nitrats einfach aus dem Differenzenquotient ($\Delta C/\Delta t$) berechnet werden.

$$r_{\text{Am ges.}} = \frac{dC_{\text{Am}}}{dt} = \frac{\Delta C_{\text{Am}}}{\Delta t} \quad (28)$$

$$r_{\text{Am ges.}} = r_0 + r_1 + r_3$$

$$r_{\text{Nat ges.}} = r_{2.1} = \frac{dC_{\text{Nat}}}{dt} = \frac{\Delta C_{\text{Nat}}}{\Delta t} \quad (29)$$

$$r_{\text{Nat ges.}} = r_{2.1} + r_9$$

Somit kann ein Vergleich der Umsatzraten des Ammoniums und des Nitrats der drei ^{15}N -Versuche stattfinden. Die Resultate sind in Tabelle 10 und 11 zu sehen.

Tabelle 10: Netto-Umsatzraten des Ammoniums mit dem Modellsystem während der Versuche unter Denitrifikationsbedingungen

$[^{15}\text{N}]$ Ammonium		Markierung mit $[^{15}\text{N}]$ Nitrit		$[^{15}\text{N}]$ Nitrat	
Zeit (h)	$\Delta C_{\text{Am}}/\Delta t$ (mgN/l-fl.*h)	Zeit (h)	$\Delta C_{\text{Am}}/\Delta t$ (mgN/l-fl.*h)	Zeit (h)	$\Delta C_{\text{Am}}/\Delta t$ (mgN/l-fl.*h)
0 - 5,4	-0,052	0 - 5	-0,224	0 - 5	-0,336
5,4 - 21,8	-0,085	5 - 23	-0,047	5 - 22	-0,041
21,8 - 26,9	-0,276	23 - 29	-0,513	22 - 27	-0,336
26,9 - 30,8	-0,607			27 - 31	-0,770
30,8 - 35,7	-0,954	29 - 48,8	-0,312	31 - 34,8	-1,142
				34,8 - 35,8	-0,884
35,7 - 45,8	-0,083			35,8 - 46	0
		48,8 - 71	-0,038	46 - 51	0

Tabelle 11: Netto-Umsatzraten des Nitrats mit dem Modellsystem während der Versuche unter Denitrifikationsbedingungen

$[^{15}\text{N}]$ Ammonium		Markierung mit $[^{15}\text{N}]$ Nitrit		$[^{15}\text{N}]$ Nitrat	
Zeit (h)	$\Delta C_{\text{Nat}}/\Delta t$ (mgN/l-fl.*h)	Zeit (h)	$\Delta C_{\text{Nat}}/\Delta t$ (mgN/l-fl.*h)	Zeit (h)	$\Delta C_{\text{Nat}}/\Delta t$ (mgN/l-fl.*h)
0 - 5,4	-0,181	0 - 5	-0,008	0 - 5	-0,446
5,4 - 21,8	-0,455	5 - 23	-0,424	5 - 22	-0,230
21,8 - 26,9	-1,618	23 - 29	-1,269	22 - 27	-2,270
26,9 - 30,8	-2,717			27 - 31	-2,749
30,8 - 35,7	-4,357	29 - 48,8	-1,637	31 - 34,8	-4,879
				34,8 - 35,8	-3,670
35,7 - 45,8	-0,118			35,8 - 46	-0,045
		48,8 - 71	0	46 - 51	0

Die Netto-Umsatzraten sowohl des Ammoniums als auch des Nitrats bestätigen die bereits qualitativ gewonnenen Ergebnisse. Zum einen zeigen sie zum Ammoniumumsatz, daß zu Versuchsbeginn, vorallem während des $[^{15}\text{N}]$ Nitrit- und $[^{15}\text{N}]$ Nitratversuchs, Ammonium mikrobiell abgebaut wird. Dieser Abbau kann der Nitrifikation zugeschrieben werden, da bei dem $[^{15}\text{N}]$ Ammoniumversuch eine Zunahme der ^{15}N -Häufigkeit im Nitrit festgestellt wurde (s. Abb. 16 b). Nach dieser Anfangsphase nimmt der Ammoniumumsatz wieder ab. Zu Beginn des verstärkten Nitratabbaus (ab 22 h) wird wieder das Ammonium zunehmend umgesetzt. Diese Umsetzung des Ammoniums erfolgt hauptsächlich nicht durch die Nitrifikation, da, zu sehen bei dem $[^{15}\text{N}]$ Ammoniumversuch, die ^{15}N -Häufigkeiten im Nitrit und Nitrat nicht ansteigen. Diese Abnahme des Ammoniums ist dem Einbau des Ammoniums in die Biomasse zuzuschreiben, da die Denitrifikanten vorzugsweise Ammonium assimilieren (Kleber und Schlee, 1988; Gisi et al., 1990). Der Nitratabbau durch Denitrifikation erreicht sein Maximum nach ungefähr 30 h. Die Umsatzraten des Ammoniums und des Nitrats (s.

Tab. 10 und 11) und die NO- und N₂O-Bildungsraten (s. Tab. 12) zeigen noch besser die sehr gute Übereinstimmung der Verläufe der durchgeführten Denitrifikationsversuche. Im Vergleich mit anderen Arbeiten (Firestone und Davidson, 1989; Ye et al., 1994) gab es in dieser Untersuchung keinen direkten Hinweis darauf, daß das Distickstoffmonoxid aus dem freien Stickstoffmonoxid als Vorprodukt entsteht.

Tabelle 12: NO- und N₂O-Netto-Bildungsraten während der Versuche mit dem Modellsystem unter Denitrifikationsbedingungen

¹⁵ N]Ammonium			Markierung mit ¹⁵ N]Nitrit			¹⁵ N]Nitrat			
	(mgN/l-fl.*h)			(mgN/l-fl.*h)			(mgN/l-fl.*h)		1
Zeit (h)	$\Delta C_{NO}/\Delta t$	$\Delta C_{N_2O}/\Delta t$	Zeit (h)	$\Delta C_{NO}/\Delta t$	$\Delta C_{N_2O}/\Delta t$	Zeit (h)	$\Delta C_{NO}/\Delta t$	$\Delta C_{N_2O}/\Delta t$	
0 - 5,4	0,0007	0,0033	0 - 5	0,0003	0,0035	0 - 5	0	0,0044	75,57 %
5,4 - 21,8	0,0014	0,0095	5 - 23	0,0010	0,0279	5 - 22	0,0008	0,0093	96,10 %
21,8 - 26,9	0,0018	0,0028	23 - 29	0,0016	0,0029	22 - 27	0,0012	0,0016	100 %
26,9 - 30,8	0,0023	0,0032				27 - 31	0,0020	0,0024	100 %
30,8 - 35,7	0,0039	0,0059	29 - 48,8	0,0031	0,0045	31 - 34,8	0,0023	0,0037	100 %
						34,8 - 35,8	0,0029	0,0030	100 %
35,7 - 45,8	0,0049	0,0078				35,8 - 46			
			48,8 - 71	0,0003	0,0002	46 - 51	0,0005	0,0001	

l - Anteil der Nitratreduktion an der N₂O-Bildung (Gl. 27)

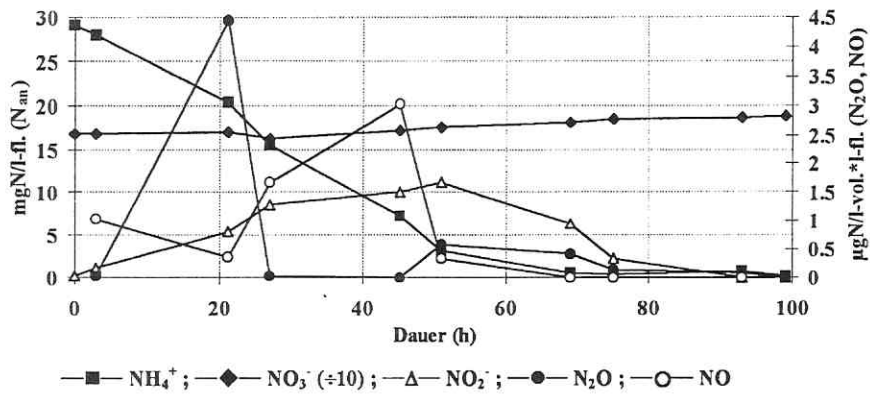
4.2 Nitrifikation und Denitrifikation im Abwasser

4.2.1 Untersuchung zur Nitrifikation

Die Konzentrations- und ¹⁵N-Häufigkeitsverläufe der in diesem Nitrifikationsversuch bestimmten N-Verbindungen sind in den Abbildungen 20 a bzw. b dargestellt (Anhang B, Tab. B.1). In Tabelle 13 ist die N- und ¹⁵N-Bilanz zu diesem Versuch aufgeführt.

Der Konzentrationsverlauf zeigt eine ständige Abnahme des Ammoniums und eine Zunahme des Nitrats, ein typischer Verlauf für die Nitrifikation. Das Nitrit tritt, wie bereits im Modellsystem festgestellt, als Zwischenprodukt auf. Es wird am Anfang mehr gebildet als verbraucht und nimmt bis zu einem Maximum bei 11,15 mg N-NO₂/l-fl. zu, wobei zu diesem Zeitpunkt kaum noch Ammonium vorhanden ist. Ab diesem Zeitpunkt erfolgt verstärkt die mikrobielle Oxidation des Nitrits zu Nitrat. Das Nitrit nimmt ab, bis es vollständig umgesetzt ist.

[20a]



[20b]

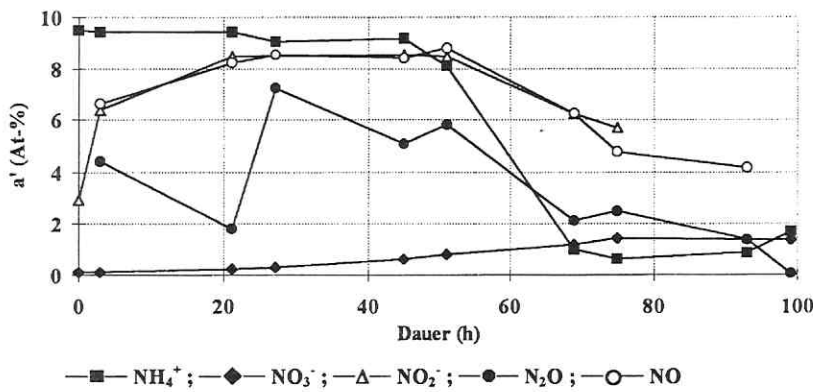


Abbildung 20: Versuch zur Nitrifikation im Abwasser mit [¹⁵N]Ammonium
a - Konzentrationsverlauf der bestimmten N-Komponenten,
b - ¹⁵N-Häufigkeitsverlauf der bestimmten N-Komponenten.

Im Gegensatz zu dem Versuch zur Nitrifikation im Modellsystem wurde neben Distickstoffmonoxid auch Stickstoffmonoxid in merklichen Mengen nachgewiesen. Ein vergleichbarer konstanter Anstieg der Emissionsraten der N-Gaskomponenten über die Versuchszeit konnte nicht festgestellt werden. Aus der Bilanz kann geschlußfolgert werden, daß wesentlich mehr Stickstoff durch die Emission von Stickstoffmonoxid abgegeben wurde, als durch Distickstoffmonoxid ($N\text{-NO}/N\text{-N}_2\text{O} = 2,99$, s. Tab. 13). Hier liegt der Schluß nahe, daß die Emission von Stickstoffmonoxid mit der Akkumulation von Nitrit bzw. dessen Bildung zusammenhängt. Dies wird auch dadurch bestätigt, daß wenig bzw. kein Stickstoffmonoxid mehr nachgewiesen werden konnte, als kaum noch bzw. kein Ammonium oder Nitrit im Abwasser vorhanden waren.

Aus den Verläufen der ^{15}N -Häufigkeiten der N_{an} -Verbindungen im Abwasser ist der Hauptreaktionsweg der Nitrifikation deutlich nachweisbar (Abb. 20 b). Analog der Versuche im Modellsystem mit [^{15}N]Ammonium (s. Abschn. 4.1.1) wird anfänglich das mit dem Ammonium gegebene ^{15}N hauptsächlich in den Nitritpool eingetragen. Das Nitrit erreicht und überschreitet die ^{15}N -Häufigkeit des Ammoniums, was den typischen Verlauf für Nitrit als Zwischenprodukt der Nitrifikation darstellt.

Zeitgleich erfolgt die mikrobielle Weiterreaktion des Nitrits zu Nitrat und die ^{15}N -Häufigkeit im Nitrat nimmt ständig zu. Am Ende der Versuche ist der Hauptanteil des eingesetzten ^{15}N im Nitrat vorhanden (s. Tab. 13). Das Nitrat ist erwartungsgemäß auch hier das Hauptendprodukt der Nitrifikation.

Tabelle 13: N- und ^{15}N -Bilanzen des Versuchs mit Abwasser unter Nitrifikationsbedingungen

Versuchsdauer (h)	99			
Ausgangskonzentrationen (mg N/l-fl.)			(mg ^{15}N /l-fl.)	
N- NH_4^+	29,12		^{15}N - NH_4^+	2,77
N- NO_3^-	167,48		^{15}N - NO_3^-	0,02
N- NO_2^-	0,22		^{15}N - NO_2^-	0,01
gesamt	196,82	(100 %)	gesamt	2,80 (100 %)
Endkonzentrationen (mg N/l-fl.)			(mg ^{15}N /l-fl.)	
N- NH_4^+	0,21	(0,11 %)	^{15}N - NH_4^+	0
N- NO_3^-	187,60	(95,32 %)	^{15}N - NO_3^-	2,59 (92,50 %)
N- NO_2^-	0		^{15}N - NO_2^-	0
			^{15}N -Biomasse	0,11 (3,93 %)
N- N_2O (kumulativ)	0,06	(0,03 %)	^{15}N - N_2O (kumulativ)	0,07 (0,07 %)
N- NO (kumulativ)	0,40	(0,20 %)	^{15}N - NO (kumulativ)	1,21 (1,21 %)
gesamt	188,27	(95,66 %)	gesamt	2,74 (97,71 %)

% - Prozent der N- bzw. ^{15}N -Gesamtausgangskonzentration

Der Zusammenhang der erhöhten NO -Emission bei hohen Nitritgehalten wird durch die ^{15}N -Verteilung in den N-Verbindungen bestätigt. Die ^{15}N -Häufigkeiten von Nitrit und Stickstoffmonoxid verlaufen miteinander. Die ^{15}N -Häufigkeiten des Distickstoffmonoxids liegen deutlich tiefer, als die vom Nitrit. Zu Versuchsende ist sie der vom Nitrat gleich. Der Verlauf der ^{15}N -Häufigkeit des Distickstoffmonoxids kann nur mit einem erheblichen Anteil aus der Nitratreduktion (Denitrifikation) erklärt werden. Dieses Ergebnis stimmt mit dem der Nitrifikationsuntersuchung im Modellsystem überein (s. Abb. 15).

Bemerkenswert bei diesen Versuchen zur Nitrifikation im Abwasser ist, daß unter aeroben Bedingungen neben der Emission von Distickstoffmonoxid auch erhebliche Mengen an Stickstoffmonoxid nachgewiesen werden konnten, die die N_2O -Emission zeitweilig um den Faktor 330 übertraf.

Reproduzierbare zeitliche Verläufe der N-Umwandlung und der Höhe der N-Emission, die vergleichbar mit denen im Modellsystem wären, konnten nicht erreicht werden. Die Ursache dafür wird hauptsächlich in der Vielfalt der im Abwasser vorhandenen Verbindungen (Phenole u.a., s. Tab. 3) liegen, die den Prozeß der Nitrifikation und der Entstehung der N-Gase begünstigen oder auch inhibieren können.

Die gewonnenen Ergebnisse zur N-Umwandlung im Abwasser unter aeroben Verhältnissen (> 80 % Sauerstoffsättigung) und der resultierenden Emission von Distickstoffmonoxid und Stickstoffmonoxid stehen in Übereinstimmung mit dem Schema für die N-Transformationsprozesse im Modellsystem (s. Abb. 15). Mit den Formeln der KIM (Gl. 18 und 19) lassen sich für das Abwasser die Brutto-Umsatzraten des Ammoniums berechnen (Tab. 14).

Tabelle 14: Umsatzraten des Ammoniums während des Versuchs zur Nitrifikation im Abwasser

Zeit (h)	Brutto-Umsatzraten (mgN/l·l·h)		Netto-Umsatzraten (mgN/l·l·h)
	r_0	$r_{Am\ ges.}$	$\Delta C_{Am}/\Delta t$
0 - 3	0	0,373	-0,373
3 - 21	0,012	0,440	-0,428
21 - 27	0,085	0,902	-0,817
27 - 45	0	0,455	-0,455
45 - 51	0,063	0,751	-0,688
51 - 69	0,193	0,337	-0,144
69 - 75	0,016	0,025	-0,009
75 - 93	-0,010	-0,024	0,015
93 - 99	-0,018	0,064	-0,082

Die Werte der Brutto-Umsatzraten des Ammoniums zeigen, daß das Ammonium nur geringfügig durch Mineralisation gebildet wird. Der mikrobielle Abbau durch Nitrifikation erfolgte kontinuierlich. Diese Ergebnisse sind sehr gut vergleichbar mit den Werten zur Ammoniumumsetzung im Modellsystem (s. Tab. 6).

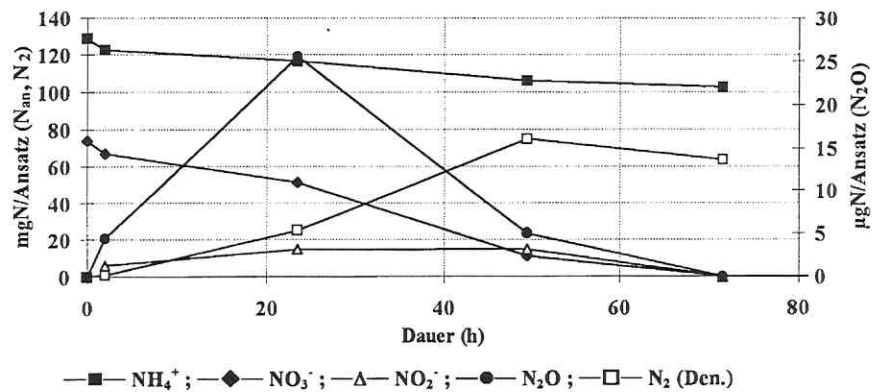
4.2.2 Untersuchung zur Denitrifikation

Die Konzentrations- und ^{15}N -Häufigkeitsverläufe der in diesem Fermenterversuch bestimmten N-Verbindungen sind in Abbildung 21 dargestellt (Anhang B, Tab. B.2). Die N- und ^{15}N -Bilanzen enthält Tabelle 15.

In diesem Experiment zur Denitrifikation in einem geschlossenen Fermenter nimmt die Konzentration an Nitrat ständig ab (Abb. 21 a). Die Konzentrationsverläufe des Nitrits und Di-

stickstoffmonoxids zeigen die typische Form eines Zwischenprodukts mit einem Maximum und am Ende des Experiments nehmen sie in ihrer Konzentration wie das Nitrat ab. Nach 71,5 h konnte kein Nitrat, Nitrit und Distickstoffmonoxid mehr nachgewiesen werden. Am Versuchsende verbleibt der Denitrifikationsstickstoff als einzigstes Denitrifikationsprodukt im Fermenter.

[21a]



[21b]

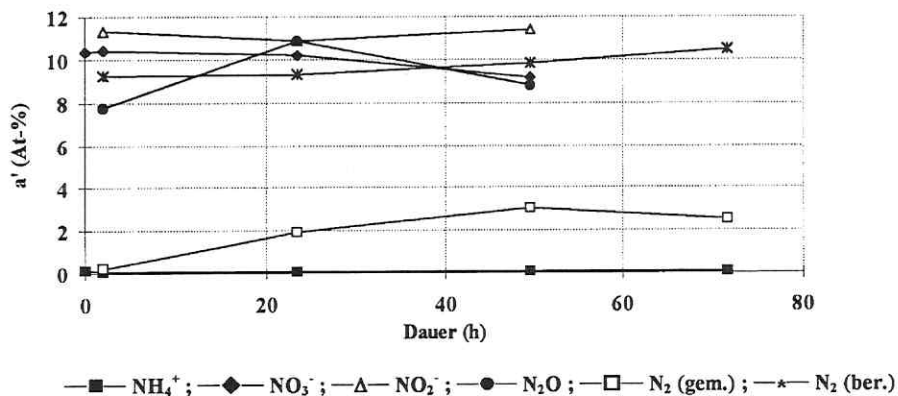


Abbildung 21: Versuch zur Denitrifikation im Abwasser mit [^{15}N]Nitrat
a - Konzentrationsverlauf der bestimmten N-Komponenten,
b - ^{15}N -Häufigkeitsverlauf der bestimmten N-Komponenten.

Es ist weiterhin zu sehen, daß die ^{15}N -Häufigkeiten des Nitrats, Nitrits und Distickstoffmonoxids fast gleich sind (Abb. 21 b). Dies weist darauf hin, daß bei dieser Untersuchung der in der Literatur beschriebene Weg des Nitratabbaus durch Denitrifikation (Nitrat-Nitrit-Distickstoffmonoxid-molekularer Stickstoff) abgelaufen ist. Die leicht abnehmende ^{15}N -

Häufigkeit des Nitrats ist aber, wie im Modellsystem, ein Hinweis auf einen geringen Nitrifikationsanteil.

Zum Zeitpunkt dieser Untersuchung (sie wurden zeitlich vor den Untersuchungen im Modellsystem durchgeführt) war es noch nicht absehbar, daß auch Stickstoffmonoxid in merklichen Mengen abgegeben werden könnte. Deshalb und da die ^{15}N -analytische Bestimmung des Stickstoffmonoxids noch nicht routinemäßig zur Verfügung stand, erfolgte keine Bestimmung des Stickstoffmonoxids.

Die ^{15}N -Häufigkeiten des molekularen Stickstoffs liegen nicht so hoch wie die des Nitrats, Nitrits und Distickstoffmonoxids (s. Abb. 21 b). Deshalb muß angenommen werden, daß eine zusätzliche unmarkierte N-Quelle vorhanden sein muß. Die Entstehung von molekularem Stickstoff aus Ammonium unter streng anaeroben Bedingungen ist nicht anzunehmen. Wahrscheinlich drang Stickstoff der Außenluft durch ein Leck in den Fermenter ein und verdünnte den Denitrifikationsstickstoff in seiner ^{15}N -Häufigkeit. Mit Hilfe der ^{15}N -Gas-Flux-Methode unter Nutzung der nichtstatistischen ^{15}N -Verteilung im molekularen Stickstoff (s. Abschn. 3.6.1) konnte diese Verfälschung sehr gut rechnerisch korrigiert und der Stickstoff, der effektiv durch Denitrifikation entstanden ist, quantitativ exakt bestimmt werden.

Tabelle 15: N- und ^{15}N -Bilanzen des Versuchs mit Abwasser unter Denitrifikationsbedingungen

Versuchsdauer (h)	71,5			
Ausgangskonzentrationen (mgN/Ansatz)			(mg ^{15}N /Ansatz)	
N-NH ₄ ⁺	128,60		^{15}N -NH ₄ ⁺	0,16
N-NO ₃ ⁻	73,91		^{15}N -NO ₃ ⁻	7,66
N-NO ₂ ⁻	0		^{15}N -NO ₂ ⁻	0
gesamt	202,51	(100 %)	gesamt	7,82 (100 %)
Endkonzentrationen (mgN/Ansatz)			(mg ^{15}N /Ansatz)	
N-NH ₄ ⁺	102,30	(50,52 %)	^{15}N -NH ₄ ⁺	0,06 (0,77 %)
N-NO ₃ ⁻	0		^{15}N -NO ₃ ⁻	0
N-NO ₂ ⁻	0		^{15}N -NO ₂ ⁻	0
			^{15}N -Biomasse	0,05 (0,64 %)
N-N ₂ O	0		^{15}N -N ₂ O	0
N ₂	63,75	(31,48 %)	^{15}N -N ₂	6,68 (85,42 %)
gesamt	166,05	(82,00 %)	gesamt	6,79 (86,83 %)

% - Prozent der N- bzw. ^{15}N -Gesamtausgangskonzentration

Der Fermenterversuch zur Denitrifikation im Abwasser hat gezeigt, daß unter idealen anaeroben Bedingungen in einem geschlossenen Gefäß nach dem Verbrauch des Nitrats, das Nitrit und ebenfalls das Distickstoffmonoxid als Elektronenakzeptoren genutzt und zu molekularem Stickstoff reduziert werden. Dies bestätigt Aussagen aus der Literatur (Remde und Conrad, 1991; Schäfer und Conrad, 1993).

4.3 Nitrifikation und Denitrifikation im Boden

4.3.1 Untersuchungen zu den N-Transformationsprozessen unter wasserungesättigten Bedingungen (50 bis 55 % max. WK)

Ergebnisse

Konzentrationsverlauf der untersuchten N-Komponenten und die N- bzw. ^{15}N -Bilanzen

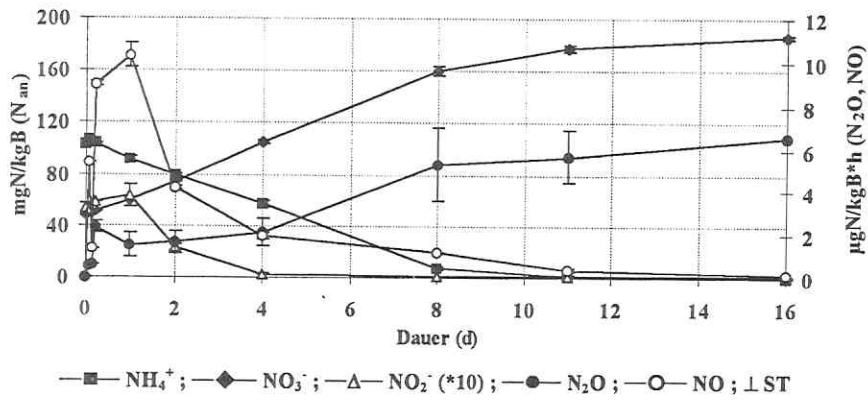
Das Verhalten der untersuchten N-Komponenten während der Versuchsdauer ist in den Abbildungen 22 a, 23 a und 24 a zu sehen (Anhang C, Tab. C.1 bis C.3). In Tabelle 16 und 17 sind die N- und ^{15}N -Bilanzen aufgeführt.

Bei allen drei Experimenten kann man sehr gut die Nitrifikation, die mikrobielle Umsetzung des Ammoniums zu Nitrat, als Hauptprozeß verfolgen. Die anfänglich höhere Nitritkonzentration ist nach 3 bis 4 Tagen auf die natürliche Konzentration im Boden zurückgegangen. Unter diesen Bedingungen wurde sowohl eine NO- als auch eine N₂O-Bildung registriert, aber keine N₂-Emission. Die Höhe der Emission der N-Gase war zeitlich unterschiedlich. Zu Beginn der Versuche erfolgte eine sehr hohe Emission an Stickstoffmonoxid (bis 27 µg N-NO/kg Boden*h, Abb. 23 a), die im Verlauf der Versuche abnahm. Bei der N₂O-Emission konnte ein entgegengesetzter Effekt beobachtet werden. Am Anfang liegen die N₂O-Emissionsraten bei 1 bis 2 µg N/kg Boden*h und steigen nach 4 bis 5 Tagen auf über das Doppelte an.

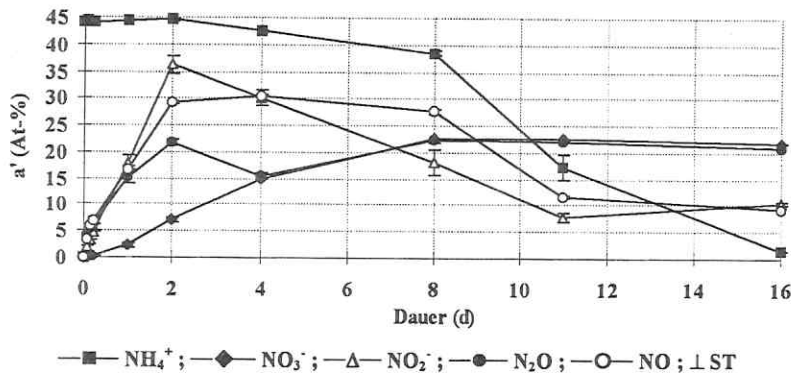
^{15}N -Tracerversuch mit [^{15}N]Ammonium

Die ^{15}N -Häufigkeitsverläufe der N_{an}-Komponenten bestätigen den bereits oben beschriebenen Konzentrationsverlauf, die mikrobielle Oxidation des Ammoniums über Nitrit zum Nitrat (Abb. 22 b). Zu Beginn des Versuchs findet kaum eine Mineralisierung statt, erkennbar an den nahezu konstanten ^{15}N -Häufigkeiten des Ammoniums. Mit Fortschreiten der Bodenkubation nimmt die ^{15}N -Häufigkeit des Ammoniums stark ab. Durch verstärkte Mineralisierung der organischen Bodensubstanz kommt es zur Verdünnung des eingesetzten [^{15}N]Ammoniums. Da die Menge an Ammonium durch den Nitrifikationsprozeß ständig abnimmt, tragen auch kleinere nichtmarkierte Ammoniummengen aus der Mineralisierung verstärkt zum ^{15}N -Verdünnungseffekt bei. Aus dem Verlauf des ^{15}N im Nitrit ist erkennbar, daß der Nitritpool sowohl aus dem Ammonium im Zuge der Nitrifikation und aus dem Nitrat auf dem Wege der Denitrifikation gespeist wird.

[22a]



[22b]



[22c]

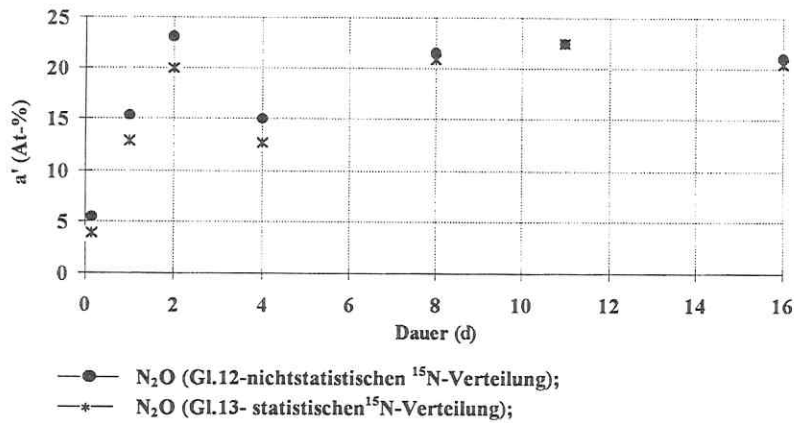
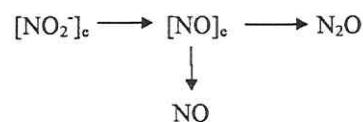


Abbildung 22: Versuch zu den N-Transformationsprozessen im Boden unter wasserungesättigten Bedingungen mit [^{15}N]Ammonium
a - Konzentrationsverlauf der bestimmten N-Komponenten,
b - ^{15}N -Häufigkeitsverlauf der bestimmten N-Komponenten,
c - $^{15}\text{N}_2\text{O}$ -Häufigkeitsverlauf der aus der nichtstatistischen und statistischen ^{15}N -Verteilung berechneten ^{15}N -Häufigkeitswerte.

Die ^{15}N -Häufigkeit des Nitrats nahm während des Experiments stets zu. Das Nitrat als Endprodukt der Nitrifikation ist auch daran erkennbar, daß im Nitrat über 88 % des eingesetzten ^{15}N wiedergefunden werden konnten (s. Tab. 17).

Aus dem zeitlichen Verlauf der ^{15}N -Häufigkeiten der analysierten N-Gase kann auf unterschiedliche Bildungswege des Stickstoffmonoxids und Distickstoffmonoxids geschlossen werden. Die ^{15}N -Häufigkeit des Distickstoffmonoxids folgt am Anfang des Versuchs gemeinsam mit dem Stickstoffmonoxid der des Nitrits, was bedeutet, daß das Distickstoffmonoxid wie das Stickstoffmonoxid zu Beginn auf dem Weg vom Ammonium zum Nitrit entstanden sein könnte. Mit dem Vergleich der statistischen und nichtstatistischen ^{15}N -Verteilung im Distickstoffmonoxid (s. Abschn. 3.6.1) wurde nachgewiesen, daß das Distickstoffmonoxid am Anfang aus mehr als einem N-Pool entstanden ist (Abb. 22 c, Anhang C, Tab. C.7). Das Distickstoffmonoxid kann damit zum einen während der bereits vermuteten mikrobiellen Oxidation des Ammoniums zu Nitrit und zum anderen als Zwischenprodukt des reduktiven Nitratabbaus (Denitrifikation) gebildet worden sein. Ab dem 8. Tag wird das Distickstoffmonoxid nur noch aus einem N-Pool gebildet. Da das Distickstoffmonoxid am Ende praktisch die gleiche ^{15}N -Häufigkeit besitzt wie das Nitrat, entsteht es nur noch direkt aus dem Nitrat bzw. während der Reduktion des Nitrats zu Nitrit.

Die ^{15}N -Häufigkeit des Stickstoffmonoxids folgt stets der des Nitrits und liegt ab dem 8. Tag sogar höher. Dies weist auf eine Bildung des Stickstoffmonoxids während der Oxidation des Ammoniums zum Nitrit oder eventuell direkt aus dem Nitrit hin. Für die Anfangsphase des Versuchs (bis 2 d) lassen die ^{15}N -Häufigkeiten auch den Schluß zu, daß die Bildung von Stickstoffmonoxid und Distickstoffmonoxid kettenförmig verknüpft ist (Ye et al., 1994):



Daß das freie Stickstoffmonoxid ein direktes Vorprodukt des Distickstoffmonoxids ist, konnte nicht nachgewiesen werden.

Tabelle 16: N-Bilanzen der Bodenversuche unter wasserungesättigten Bedingungen

	[¹⁵ N]Ammonium	Markierung mit [¹⁵ N]Nitrit	[¹⁵ N]Nitrat
Versuchsdauer (d)	16	14	17
Ausgangskonzentrationen (mg N/kg B)			
N-NH ₄ ⁺	103,53	107,01	109,86
N-NO ₃ ⁻	48,22	47,73	54,28
N-NO ₂ ⁻	5,31	10,99	6,85
gesamt	157,06	165,73	170,99
Endkonzentrationen (mg N/kg B)			
N-NH ₄ ⁺	0,33	1,32	0,61
N-NO ₃ ⁻	186,23	179,01	182,58
N-NO ₂ ⁻	0,12	0,16	0,12
N-N ₂ O (kumulativ)	1,47	0,71	1,00
N-NO (kumulativ)	0,95	1,92	0,67
gesamt	189,1	183,12	184,98

Tabelle 17: ¹⁵N-Bilanzen der Bodenversuche unter wasserungesättigten Bedingungen

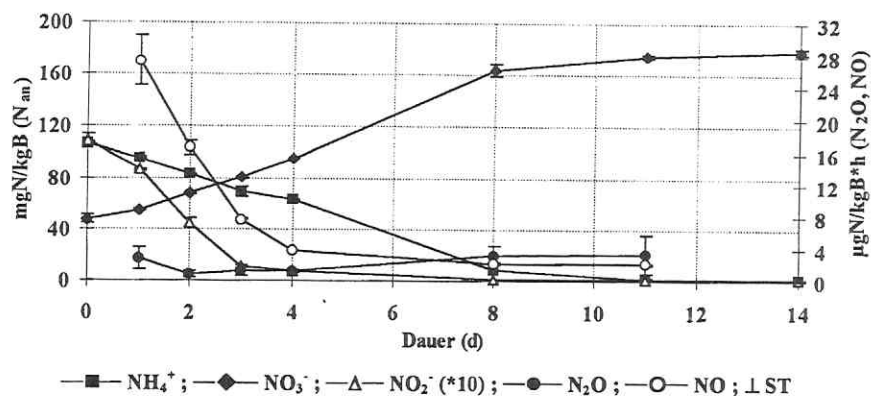
	[¹⁵ N]Ammonium	Markierung mit [¹⁵ N]Nitrit	[¹⁵ N]Nitrat
Versuchsdauer (d)	16	14	17
Ausgangskonzentrationen (mg ¹⁵ N/kg B)			
¹⁵ N-NH ₄ ⁺	45,53	0,03	0,01
¹⁵ N-NO ₃ ⁻	0,02	0,11	16,11
¹⁵ N-NO ₂ ⁻	0,04	5,49	0,41
gesamt	45,59 (100 %)	5,63 (100 %)	16,53 (100 %)
Endkonzentrationen (mg ¹⁵ N/kg B)			
¹⁵ N-NH ₄ ⁺	0	0	0
¹⁵ N-NO ₃ ⁻	40,37 (88,55 %)	4,21 (74,78 %)	16,48 (99,70 %)
¹⁵ N-NO ₂ ⁻	0,01 (0,02 %)	0	0
¹⁵ N-org. N	3,82 (8,38 %)	0,91 (16,16 %)	0,89 (5,38 %)
¹⁵ N-N ₂ O (kumulativ)	0,30 (0,66 %)	0,02 (0,41 %)	0,09 (0,54 %)
¹⁵ N-NO (kumulativ)	0,20 (0,43 %)	0,10 (1,79 %)	0,042 (0,25 %)
gesamt	44,70 (98,04 %)	5,24 (93,14 %)	17,50 (105,87 %)

% - Prozent der ¹⁵N-Gesamtausgangskonzentration

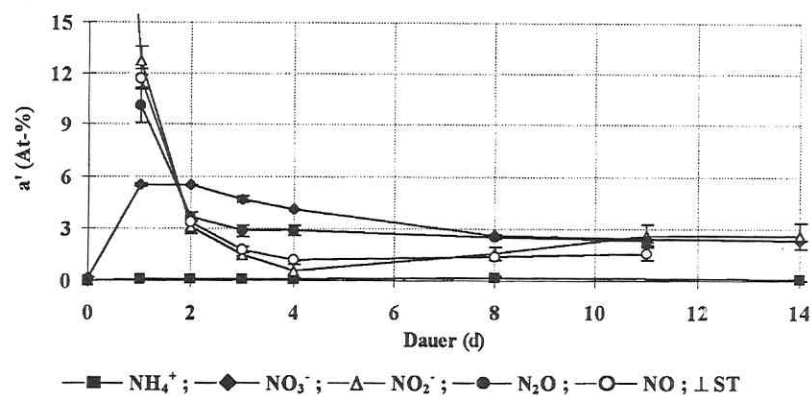
¹⁵N-Tracerversuch mit [¹⁵N]Nitrit

Auch in diesem Versuch ist der Hauptumwandlungsprozeß Ammonium über Nitrit zu Nitrat (Nitrifikation) deutlich zu erkennen (Abb. 23 b). Bereits am Anfang nimmt die ¹⁵N-Häufigkeit im Nitrit sehr schnell ab, da unmarkierter Stickstoff durch die Oxidation des Ammoniums in den Nitritpool gelangt. Das mit dem Nitrit gegebene ¹⁵N ist am Versuchsende zum größten Teil im Nitrat vorhanden (s. Tab. 17). Es ist ebenfalls ab dem 4. Tag wieder zu sehen, daß das Nitrit sowohl aus dem Ammonium- als auch aus dem Nitratpool gebildet wird.

[23a]



[23b]



[23c]

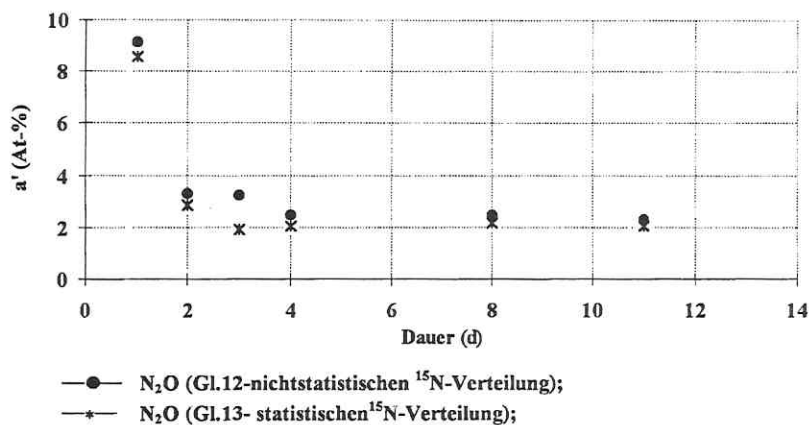


Abbildung 23: Versuch zu den N-Transformationsprozessen im Boden unter wasserungesättigten Bedingungen mit $[^{15}\text{N}]$ Nitrit
a - Konzentrationsverlauf der bestimmten N-Komponenten,
b - ^{15}N -Häufigkeitsverlauf der bestimmten N-Komponenten,
c - $^{15}\text{N}_2\text{O}$ -Häufigkeitsverlauf der aus der nichtstatistischen und statistischen ^{15}N -Verteilung berechneten ^{15}N -Häufigkeitswerte.

Am Anfang überwiegt, wie bereits erwähnt, die Oxidation des Ammoniums zum Nitrit. Ist das Ammonium weitestgehend abgebaut, ist der Einfluß des Nitrats, das später im Überschuß vorliegt, auf die Nitritbildung deutlich sichtbar. Durch die Rückreaktion von Nitrat (Denitrifikation) steigt die ^{15}N -Häufigkeit des Nitrats wieder an. Am Ende des Versuchs sind die ^{15}N -Häufigkeiten des Nitrats und Nitrats gleich.

Die ^{15}N -Häufigkeit des Distickstoffmonoxids zeigt das analoge Verhalten wie im Versuch mit ^{15}N -Ammonium. Am Anfang folgt die ^{15}N -Häufigkeit des Distickstoffmonoxids der des Nitrats, nach 2 bis 3 Tagen wird der Einfluß des Nitrats (Denitrifikation) auf die N_2O -Bildung sehr deutlich. Eine Unterscheidung des bzw. der Entstehungspools des Distickstoffmonoxids am Anfang des Versuchs konnte nicht eindeutig getroffen werden, da sich die ^{15}N -Häufigkeiten des Distickstoffmonoxids berechnet aus der statistischen und nichtstatistischen ^{15}N -Verteilung nicht signifikant unterscheiden (Abb. 23 c, Anhang C, Tab. C.7). Dies führt in diesem Versuch zu der Aussage, daß das Distickstoffmonoxid am Anfang nur aus einem N-Pool, dem Nitrit gebildet wird. Am Ende ist wieder das Nitrat als einziger N-Pool der N_2O -Entstehung nachgewiesen, da die Werte der ^{15}N -Häufigkeiten gleich sind.

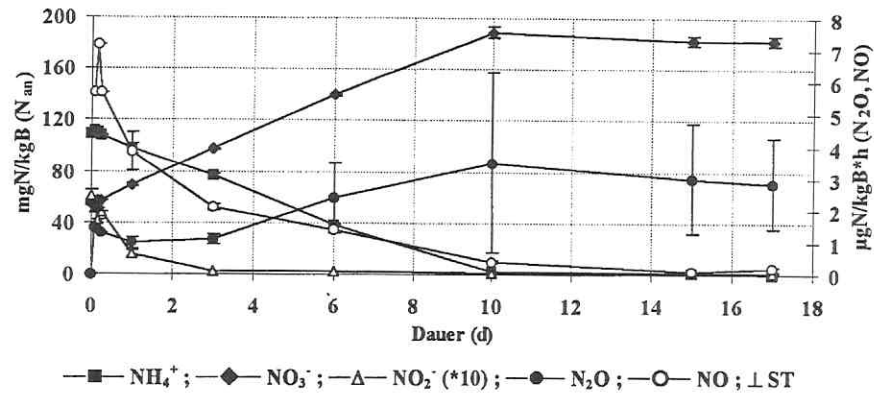
Die ^{15}N -Häufigkeit des Stickstoffmonoxids folgt während des Versuchs fast immer der des Nitrats bzw. liegt etwas unterhalb. Dies läßt im Vergleich zum Versuch mit ^{15}N -Ammonium die gleichen Schlüsse zu, daß das Stickstoffmonoxid auf dem Weg zum Nitrit oder direkt aus dem Nitrit gebildet wird. Auch hier ist zu Versuchsbeginn eine Bildung des Distickstoffmonoxids aus Stickstoffmonoxid nicht auszuschließen.

Der Verlauf der ^{15}N -Häufigkeit des Nitrats zeigt generell, daß das Nitrit ein Pool mit einer hohen Umsatzgeschwindigkeit ist. Nach 2 bis 3 Tagen ist das „ ^{15}N -Markierungsnitrit“ vollständig umgesetzt.

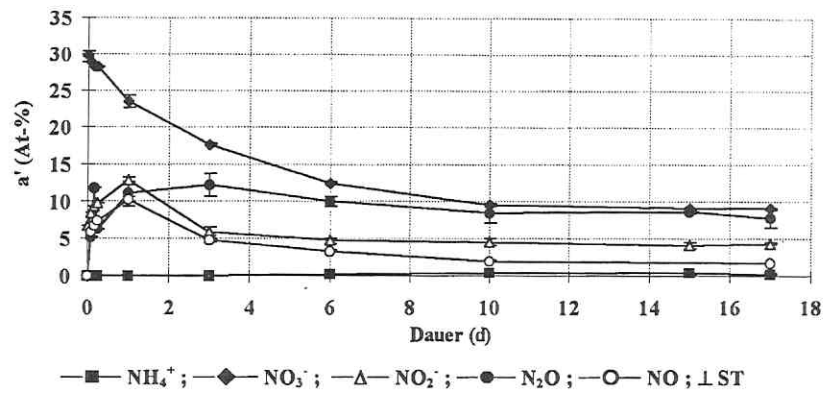
^{15}N -Tracerversuch mit ^{15}N -Nitrat

Die ^{15}N -Verläufe der untersuchten N-Komponenten sind in Abbildung 24 b zu sehen. Durch ständige Umwandlung des Ammoniums zu Nitrit (1. Stufe der Nitrifikation) und nachfolgend des Nitrats zu Nitrat (2. Stufe der Nitrifikation), wird kontinuierlich unmarkierter Stickstoff in den Nitratpool eingebracht, was sich in einer konstanten Abnahme der ^{15}N -Häufigkeit des Nitrats äußert. Am Versuchsende wird wiederum der Großteil des ^{15}N im Endprodukt der Nitrifikation dem Nitrat wiedergefunden (s. Tab. 17). Die Bildung des Nitrats sowohl aus dem Ammonium, als auch aus dem Nitrat ist hier nochmals bestätigt worden, da die ^{15}N -Häufigkeit des Nitrats stets zwischen der des Ammoniums und Nitrats liegt.

[24a]



[24b]



[24c]

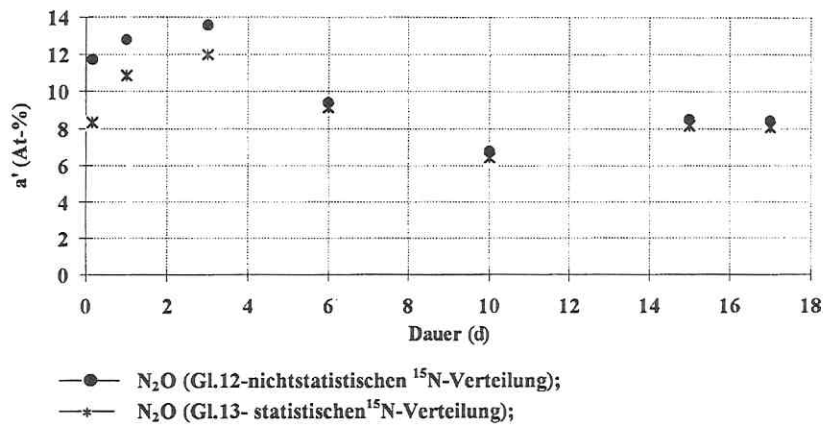


Abbildung 24: Versuch zu den N-Transformationsprozessen im Boden unter wasserungesättigten Bedingungen mit [¹⁵N]Nitrat
a - Konzentrationsverlauf der bestimmten N-Komponenten,
b - ¹⁵N-Häufigkeitsverlauf der bestimmten N-Komponenten,
c - ¹⁵N₂O-Häufigkeitsverlauf der aus der nichtstatistischen und statistischen ¹⁵N-Verteilung berechneten ¹⁵N-Häufigkeitswerte.

Die unterschiedlichen ^{15}N -Häufigkeiten des Distickstoffmonoxids über die ersten 3 Versuchstage, berechnet aus der statistischen und der nichtstatistischen ^{15}N -Verteilung im Distickstoffmonoxid (Abb. 24 c, Anhang C, Tab. C.7), weisen wieder auf mindestens zwei Bildungswege (-pools) in dieser Anfangsphase hin. Zum einen ist der mikrobielle Oxidationsschritt vom Ammonium zum Nitrit als Entstehungsweg des Distickstoffmonoxids anzunehmen, zum anderen die Reduktion des Nitrats zu Nitrit.

Ab dem 6. Tag ist kein signifikanter Unterschied in den ^{15}N -Häufigkeiten zu sehen. Wie in den anderen Versuchen wird ungefähr ab dem 5. bis 7. Tag das Distickstoffmonoxid aus einem N-Pool (Nitrat) über die Denitrifikation gebildet.

Die ^{15}N -Häufigkeit des Stickstoffmonoxids verläuft während des Versuchs immer parallel zum Nitrit, aber etwas niedriger. Dies bestätigt die Annahme, daß das Stickstoffmonoxid aus dem Nitrit entsteht, läßt aber auch die Aussage zu, daß das Stickstoffmonoxid vor der Bildung des Nitrats aus dem Ammonium abgegeben wird.

Diskussion

Alle drei Versuche haben gezeigt, daß unter wasserungesättigten Bedingungen (50 bis 55 % max. WK) oxidierende Prozesse (Nitrifikation) dominieren, aber auch reduzierende Prozesse (Denitrifikation) in merklichem Umfang ablaufen. Der Hauptumsetzungsprozeß ist die Nitrifikation des Ammoniums über Nitrit zum Endprodukt Nitrat. Das Nitrit wird aber nicht nur aus dem Ammonium gebildet, sondern auch reduktiv aus dem Nitrat (Denitrifikation). Das wird besonders zu Versuchsende deutlich, wenn das Nitrat gegenüber dem Ammonium im Konzentrationsüberschuß vorliegt. Wie bei den Modellversuchen zur Nitrifikation wurde auch hier der größte prozentuale ^{15}N -Eintrag durch Immobilisierung bei dem Versuch mit $[^{15}\text{N}]$ Nitrit festgestellt, gefolgt vom Versuch mit $[^{15}\text{N}]$ Ammonium und $[^{15}\text{N}]$ Nitrat (s. Tab. 17).

Aus allen drei ^{15}N -Tracerversuchen ist annähernd der gleiche Bildungsweg des Distickstoffmonoxids ableitbar. Anfänglich entsteht das Distickstoffmonoxid aus unterschiedlichen N-Pools, was zusätzlich mit der Berechnung der ^{15}N -Häufigkeit aus der statistischen und nichtstatistischen Verteilung des ^{15}N im Distickstoffmonoxid (s. Abschn. 3.6.1) bewiesen werden konnte. Dies ist damit zu erklären, daß am Anfang unter diesen aerobe Verhältnisse und hohen Ammoniumgehalten im Boden ideale Bedingungen für die Nitrifikation vorliegen, so daß bevorzugt die N_2O -Bildung auf dem Weg der Oxidation des Ammoniums zu Nitrit oder auch aus dem Nitrit selbst erfolgt. Die zweite N_2O -Quelle ist die Reduktion von Nitrat, die besonders nach 6 bis 7 Tagen bei gleichzeitigem Anstieg der Nitratkonzentration den Hauptbeitrag zur N_2O -Bildung liefert. Dies steht im Gegensatz zu Untersuchungen aus

der Literatur, die in gut durchlüfteten Böden keine Korrelation der N_2O -Emission mit zunehmender Nitratkonzentration feststellen konnten (Bremner und Blackmer, 1978; Bouwman, 1990).

Der Reduktionsmechanismus unter wasserungesättigten Bodenbedingungen läßt sich damit erklären, daß sich in den Mikroporen des untersuchten Bodens im Laufe der Inkubation anaerobe Zonen ausbilden, sogenannte „hot-spots“, zu denen die Diffusion von Sauerstoff behindert ist (Conrad und Seiler, 1985; Heinemeyer et al., 1988; Flessa und Beese, 1995; s. Abschn. 2.1.5). Die Mikroorganismen müssen nun anstatt des Sauerstoffs das Nitrat als Elektronenakzeptor nutzen und reduzieren es so zu Distickstoffmonoxid. Es ist aber unwahrscheinlich, daß direkt aus dem Nitrat das Distickstoffmonoxid entsteht. Wie aber bereits bei der Bildung des Nitrits nachgewiesen, entsteht das Nitrit auch durch Reduktion des Nitrats in diesen „hot-spots“. Die Entstehung des Distickstoffmonoxids ist somit während dieses Reduktionsschritts möglich. Es wird dabei vermutlich das enzymgebundene Nitrit leichter zu Distickstoffmonoxid reduziert, als das freie Nitrit. Dies erklärt auch die gleiche ^{15}N -Häufigkeit des Nitrats und des Distickstoffmonoxids, denn die ^{15}N -Häufigkeit des freien Nitrits ist kleiner als die des Distickstoffmonoxids. Durch die Nitrifikation, die außerhalb dieser „hot-spots“ in den gut mit Sauerstoff versorgten Zonen stattfindet, wird stets Nitrat nachgebildet, so daß ein großer Nitratpool zur punktuell ablaufenden Denitrifikation immer vorhanden ist. Im Verlauf der Experimente zeigte sich durch die Zunahme der Nitratkonzentration auch eine erhöhte N_2O -Emission.

Aus dem Verlauf der Emission und der ^{15}N -Häufigkeiten des Stickstoffmonoxids ist nachgewiesen worden, daß das Stickstoffmonoxid zum einen während der Oxidation des Ammoniums zu Nitrit gebildet und abgegeben wird, wobei es auch direkt aus dem Nitrit entstanden sein könnte (^{15}N -Nitrit- und ^{15}N -Ammoniumversuch, Abb. 23 und 22).

Aus den gewonnenen Erkenntnissen zur N-Umwandlung im Boden unter wasserungesättigten Verhältnissen (50 bis 55 % max.WK) und der daraus resultierenden Emission von Distickstoffmonoxid und Stickstoffmonoxid, läßt sich folgendes Schema (Abb. 25) zu den N-Transformationsprozessen aufstellen:

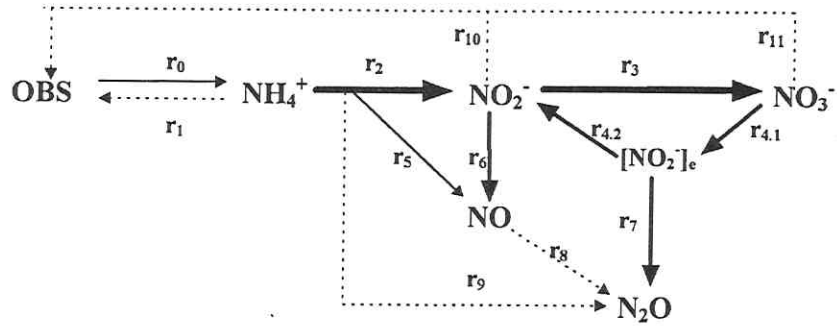


Abbildung 25: Reaktionsschema der N-Transformationsprozesse im Boden unter wasserungesättigten Bedingungen

N-Umsatzraten (r) der

- Mineralisierung der organischen Bodensubstanz (r_0)
- Immobilisierung des Ammoniums (r_1)
- Nitrifikation des Ammoniums zu Nitrit (r_2)
- Nitrifikation des Nitrits zu Nitrat (r_3)
- Denitrifikation des Nitrats zu Nitrit ($r_4 = r_{4.1} + r_{4.2}$)
- Bildung des Stickstoffmonoxids während der Oxidation des Ammoniums zum Nitrit (r_5)
- Bildung des Stickstoffmonoxids aus Nitrit durch Denitrifikation (r_6)
- Bildung des Distickstoffmonoxids aus dem enzymgebundenen Nitrit durch Denitrifikation (r_7)
- Bildung des Distickstoffmonoxids aus Stickstoffmonoxid durch Denitrifikation (r_8)
- Bildung des Distickstoffmonoxids während der Oxidation des Ammoniums zum Nitrit (r_9)
- Immobilisierung des Nitrits (r_{10})
- Immobilisierung des Nitrats (r_{11})

Auf der Basis dieses Reaktionsschemas kann für den Versuch mit $[^{15}\text{N}]$ Ammonium die Brutto-Mineralisierung und der Brutto-Abbau des Ammoniums ermittelt werden. Berechnet wurden die Umsatzraten mit den unter Abschnitt 3.6.2 abgeleiteten isopenkinetischen Gleichungen:

$$r_{\text{Am ges.}} = - \frac{\Delta C_{\text{Am}}}{\Delta t} - \frac{C_{\text{Am}}}{a_{\text{Am}}'} * \frac{\Delta a_{\text{Am}}'}{\Delta t} \quad (18)$$

$$r_0 = \frac{\Delta C_{\text{Am}}}{\Delta t} + r_{\text{Am ges.}} \quad (19)$$

Wobei $r_{\text{Am ges.}}$ den Gesamtabbau des Ammoniums darstellt (r_1, r_2, r_5, r_9). Die Resultate sind in Tabelle 18 zusammengefaßt.

Tabelle 18: Umsatzraten des Ammoniums während des Bodenversuchs unter wasserungesättigten Bedingungen mit [¹⁵N]Ammonium

Zeit (d)	Brutto-Umsatzraten des Ammoniums (mgN/kgB*d)		Netto-Umsatzraten des Ammoniums (mgN/kgB*d)	NO-Netto-Bildungsraten (mgN/kgB*d)
	r ₀	r _{Am ges.}	$\Delta C_{Am}/\Delta t$	$\Delta C_{NO}/\Delta t$
0 - 1	0	11,33	-11,33	0,126
1 - 2	0	12,42	-12,42	0,248
2 - 4	1,37	12,51	-11,14	0,100
4 - 8	0,19	12,72	-12,53	0,046
8 - 11	0,75	2,60	-1,85	0,028
11 - 16	1,06	1,36	-0,30	0,009

Für den [¹⁵N]Nitratversuch können nach folgenden isotopekinetischen Gleichungen die Netto-Umsatzraten berechnet werden.

$$r_3 = \frac{C_{Nat}}{a_{Nit} - a_{Nat}} * \frac{\Delta a_{Nat}}{\Delta t} \quad (23)$$

$$r_{4.1} = r_3 - \frac{\Delta C_{Nat}}{\Delta t} \quad (24)$$

Die Ergebnisse sind in Tabelle 19 aufgeführt.

Wie im Abschn. 4.1.1 ergibt sich im Fall des Versuchs mit [¹⁵N]Nitrat die Möglichkeit der Berechnung des Anteils des Nitrats an der N₂O-Bildung über die Isotopenverdünnungsgleichung (s. Gl. 25 bis 27). Die Resultate sind ebenfalls in Tabelle 19 dargestellt.

Tabelle 19: Umsatzraten des Nitrats während des Bodenversuchs unter wasserungesättigten Bedingungen mit [¹⁵N]Nitrat

Zeit (d)	Brutto-Umsatzraten des Nitrats (mgN/kgB*d)		Netto-Umsatzraten des Nitrats (mgN/kgB*d)	N ₂ O-Netto-Bildungsraten (mgN/kgB*d)	prozentualer Anteil der Nitratreduktion an der N ₂ O-Bildung (Gl. 27)
	r ₃	r ₄	$\Delta C_{Nat}/\Delta t$	$\Delta C_{N_2O}/\Delta t$	
0 - 0,09	24,68	0,239	24,44		
0,09 - 0,17	25,12	12,62	12,50	0,034	17,77 %
0,17 - 0,24	-5,34	-0,84	-4,49	0,049	41,49 %
0,24 - 1	41,48	25,01	16,47	0,031	22,18 %
1 - 3	49,10	35,10	14,01	0,024	46,81 %
3 - 6	31,19	17,09	14,10	0,026	69,32 %
6 - 10	26,53	14,25	12,28	0,057	80,80 %
10 - 15	2,36	3,63	-1,26	0,085	88,54 %
15 - 17	0,10	0,22	-0,12	0,073	97,78 %
17				0,068	85,56 %

Aus den berechneten Brutto- und Netto-Umsatzraten des Ammoniums und des Nitrats konnten die qualitativen Aussagen zur N-Umsetzung im Boden unter wasserungesättigten Bedingungen, gewonnen aus der Diskussion der Verläufe der Konzentrationen und ^{15}N -Häufigkeiten, teilweise quantifiziert werden.

An der Umsetzung des Ammoniums ist deutlich erkennbar, daß im Vergleich zum Abbau des Ammoniums ($r_{\text{Am ges.}}$) nur eine geringe Neubildung des Ammoniums durch Mineralisierung stattfand. Die N-Hauptumsetzung ist die Umwandlung des Ammoniums (r_0) über Nitrit zu Nitrat, was ebenfalls anhand der Brutto-Bildungsraten des Nitrats (r_3) zu sehen ist. Neben der Bildung von Nitrat (r_3) findet auch ein erheblicher mikrobieller Abbau durch Reduktion (r_4 - Denitrifikation) statt. Dies bestätigt die Vorstellung, daß das Nitrat und Nitrit im Gleichgewicht im Boden vorliegen. Das Gleichgewicht ist jedoch aufgrund der sehr hohen Umsatzgeschwindigkeit des Nitrats weit zum Nitrat verschoben.

4.3.2 Untersuchungen zu den N-Transformationsprozessen unter wassergesättigten Bedingungen (> 90 % max. WK)

Ergebnisse

Konzentrationsverlauf der untersuchten N-Komponenten und die N- bzw. ^{15}N -Bilanzen

In den Abbildungen 26 a, 27 a und 28 a sind die Konzentrationsverläufe der untersuchten N-Verbindungen dargestellt (Anhang C, Tab. C.4 bis C.6). In Tabelle 20 und 21 sind die N- und ^{15}N -Bilanzen zusammengefaßt.

Aus den Konzentrationsverläufen ist zu erkennen, daß sowohl die Konzentration an Ammonium, als auch an Nitrat im Versuchsverlauf abnimmt. D.h., daß unter diesen wassergesättigten Bodenbedingungen neben der Denitrifikation als Hauptprozeß auch die Nitrifikation stattfindet. Es ist auffallend, daß die Kontinuität und auch die Reproduzierbarkeit der Konzentrationsverläufe wie bei den Versuchen unter wasserungesättigten Bedingungen hier nicht erreicht wurde.

Unter den wassergesättigten Bedingungen konnte die Emission von Distickstoffmonoxid, Stickstoffmonoxid und molekularem Stickstoff beobachtet werden (N_2 -Emission berechnet durch die ^{15}N -Gas-Flux-Methode, s. Abschn. 3.6.1). Im Vergleich zu den Untersuchungen unter wasserungesättigten Bedingungen entstehen zu Beginn der Inkubation sehr große Mengen an Distickstoffmonoxid. Die N_2O -Emissionsraten nehmen aber im Verlauf der Inkubation ab. Ebenfalls im Gegensatz zu den Untersuchungen unter wasserungesättigten Bedingungen konnten nur geringste Emissionen an Stickstoffmonoxid festgestellt werden.

Tabelle 20: N-Bilanzen der Bodenversuche unter wassergesättigten Bedingungen

	[¹⁵ N]Ammonium		Markierung mit [¹⁵ N]Nitrit		[¹⁵ N]Nitrat	
Versuchsdauer (d)	16		20		17	
Ausgangskonzentrationen (mg N/kg B)						
N-NH ₄ ⁺	54,12		45,49		61,70	
N-NO ₃ ⁻	116,17		84,28		111,98	
N-NO ₂ ⁻	4,28		6,38		7,34	
gesamt	174,57	(100 %)	136,15	(100 %)	181,02	(100 %)
Endkonzentrationen (mg N/kg B)						
N-NH ₄ ⁺	4,16	(2,38 %)	8,06	(5,92 %)	10,50	(5,80 %)
N-NO ₃ ⁻	95,74	(54,84 %)	5,55	(4,08 %)	42,66	(23,57 %)
N-NO ₂ ⁻	0,21	(0,12 %)	0,22	(0,16 %)	0,27	(0,15 %)
N-N ₂ O	7,56	(4,33 %)	13,66	(10,03 %)	29,65	(16,38 %)
N-NO	0,22	(0,13 %)	0,05	(0,04 %)	0,20	(0,11 %)
gesamt	107,89	(61,80 %)	27,54	(20,23 %)	83,28	(46,01 %)
Verlust als N ₂	n.n.	(38,20 %) ¹	n.n.	(79,77 %) ¹		(53,99 %) ¹

% - Prozent der N-Gesamtausgangskonzentration

n.n. - nicht nachweisbar

¹ - errechnet aus N-Verlust

Tabelle 21: ¹⁵N-Bilanzen der Bodenversuche unter wassergesättigten Bedingungen

	[¹⁵ N]Ammonium		Markierung mit [¹⁵ N]Nitrit		[¹⁵ N]Nitrat	
Versuchsdauer (d)	16		20		17	
Ausgangskonzentrationen (mg ¹⁵ N/kg B)						
¹⁵ N-NH ₄ ⁺	30,10		0,01		0,02	
¹⁵ N-NO ₃ ⁻	0,04		0,04		50,95	
¹⁵ N-NO ₂ ⁻	0,04		1,55		1,24	
gesamt	30,18	(100 %)	1,60	(100 %)	52,21	(100 %)
Endkonzentrationen (mg ¹⁵ N/kg B)						
¹⁵ N-NH ₄ ⁺	0,63	(2,09 %)	0,01	(0,62 %)	0,07	(0,13 %)
¹⁵ N-NO ₃ ⁻	12,07	(39,99 %)	0,02	(1,25 %)	8,64	(16,55 %)
¹⁵ N-NO ₂ ⁻	0,02	(0,07 %)	0,01	(0,62 %)	0,05	(0,10 %)
¹⁵ N-org.N	5,58	(18,49 %)	0,12	(7,50 %)	1,29	(2,47 %)
¹⁵ N-N ₂ O (kumulativ)	0,54	(1,78 %)	0,27	(16,81 %)	10,57	(20,24 %)
¹⁵ N-NO (kumulativ)	0,03	(0,09 %)	0,01	(0,38 %)	0,02	(0,04 %)
gesamt	18,86	(62,51 %)	0,44	(27,18 %)	20,64	(39,53 %)
Verlust als ¹⁵ N ₂	n.n.	(37,49 %) ¹	n.n.	(72,82 %) ¹		(60,47 %) ¹

% - Prozent der ¹⁵N-Gesamtausgangskonzentration

n.n. - nicht nachweisbar

¹ - errechnet aus ¹⁵N-Verlust

Aus den N- und ¹⁵N-Bilanzen ist erkennbar (Tab. 20 und 21), daß sehr hohe gasförmige N-Verluste aufgetreten sind. Diese können nicht durch eine Hochrechnung der N₂O- und NO-Emission erklärt werden. Nur die Emission von Denitrifikationsstickstoff kann zu diesen N-Verlusten führen.

¹⁵N-Tracerversuch mit [¹⁵N]Ammonium

An der abnehmenden ¹⁵N-Häufigkeit des Ammoniums ist sehr gut der Verdünnungseffekt durch eine hohe N-Mineralisierung zu erkennen (Abb. 26 b). Diese liegt weitaus höher als bei den Versuchen unter wasserungesättigten Bedingungen mit [¹⁵N]Ammonium. Der Nitratpool wird durch die Oxidation des Ammoniums (Nitrifikation), wie unter wasserungesättigten Bedingungen, stets mit ¹⁵N-markiertem Stickstoff versorgt und die ¹⁵N-Häufigkeit steigt an.

Das Nitrit, dessen ¹⁵N-Häufigkeit zwischen der des Ammoniums und Nitrats liegt, wird auch hier aus zwei N-Pools, dem Nitrat (Reduktion - Denitrifikation) und dem Ammonium (Oxidation - Nitrifikation) gebildet.

Zu Beginn des Versuchs ist eine deutliche Unterscheidung des Entstehungswegs von Distickstoffmonoxid und Stickstoffmonoxid möglich. Kurz nach der Ammoniumdüngung folgen die ¹⁵N-Häufigkeiten beider N-Gase der ¹⁵N-Häufigkeit des Nitrats. Durch die Unterschiede der ¹⁵N-Häufigkeiten des Distickstoffmonoxids aus der Berechnung nach Gl. 13 für die statistische ¹⁵N-Verteilung und nach Gl. 12 für die nichtstatistische ¹⁵N-Verteilung im Distickstoffmonoxid (Abb. 26 c, Anhang C, Tab. C.8) kann zu Versuchsbeginn auf mindestens zwei Bildungswege für das Distickstoffmonoxid geschlossen werden. Aber schon nach dem ersten Tag wird deutlich, da die ¹⁵N-Häufigkeit des Distickstoffmonoxids gleich der des Nitrats ist, daß wieder das Nitrat der Hauptpool für die Bildung des Distickstoffmonoxids ist. Dies war unter den wassergesättigten Bedingungen zu erwarten. Die Bildung der sehr geringen NO-Mengen erfolgt dagegen hauptsächlich aus dem Nitrit. Ab dem 7. Tag ist eine Differenzierung der N₂O- und NO-Entstehungspools nicht mehr möglich, da im Rahmen der hohen Standardabweichung die ¹⁵N-Häufigkeiten als gleich anzusehen sind.

¹⁵N-Tracerversuch mit [¹⁵N]Nitrit

Aus diesem Versuch ist eine eindeutige Aussage zu den N-Transformationsprozessen nur schwer möglich, da die hohe ¹⁵N-Markierung des Nitrats bereits am Anfang extrem abnimmt (hohes Nitritturnover) (Abb. 27 b). Dies ist aus den N_{am}-Konzentrationsverläufen nachvollziehbar. Zum einen fließt unmarkierter Stickstoff aus dem Nitrat im Zuge der Denitrifikation und zum anderen aus dem Ammonium durch die Nitrifikation in den Nitritpool ein und verdünnt sehr stark die ¹⁵N-Anreicherung im Nitrit.

Die im Bezug auf das Nitrit sehr hohen ¹⁵N-Anreicherungen im Distickstoffmonoxid und Stickstoffmonoxid zu Versuchsbeginn und auch des Stickstoffmonoxids im weiteren Versuchsverlauf weisen darauf hin, daß hier zumindest in der frühen Versuchsphase zwei getrennte Nitritpools im Boden entstehen. Diese können in der ¹⁵N-Analyse nicht getrennt

werden und werden damit als ^{15}N -Mischhäufigkeit der Nitritpools ermittelt. Diese beiden Nitritpools, gespeist aus der Nitrifikation bzw. der Denitrifikation, könnten entstehen, weil die Umsatzgeschwindigkeit des Nitrits viel höher als die Migrationsgeschwindigkeit des Nitrits im Boden ist.

Mit diesem ^{15}N -Versuch konnte bestätigt werden, daß die sehr geringen Mengen an Stickstoffmonoxid, wie bei der Ammoniummarkierung, hauptsächlich aus dem Nitrit entstehen. Das Distickstoffmonoxid wird in den ersten Stunden nach der Düngergabe aus unterschiedlichen N-Pools (Abb. 27 c, Anhang C, Tab. C.8) dem ^{15}N -markierten Nitrit und einem nichtmarkierten N-Pool (Nitrat) gebildet.

Nach dem 2.Tag war eine Unterscheidung der Entstehungspools nicht mehr möglich, da alle N-Komponenten die gleiche ^{15}N -Häufigkeit aufwiesen.

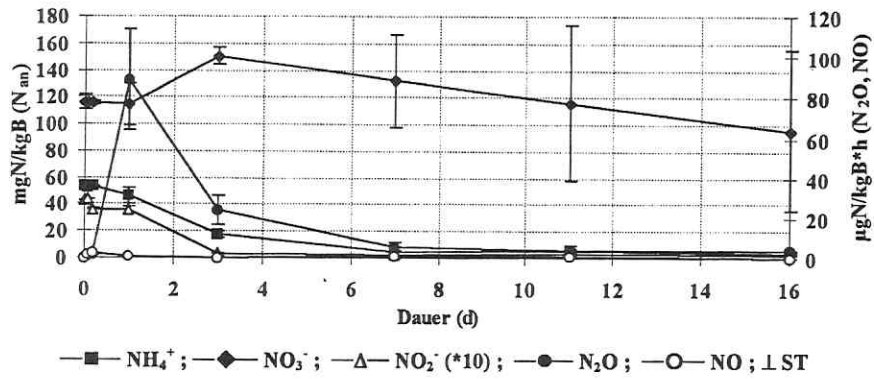
^{15}N -Tracerversuch mit [^{15}N]Nitrat

Auch dieser ^{15}N -Tracerversuch zeigt, daß trotz der hohen Wassersättigung (anaerobe Bedingungen) neben der Denitrifikation ebenfalls die Nitrifikation abläuft. Zum einen verdünnt unmarkierter Stickstoff aus der Nitrifikation des Ammoniums über das Nitrit die ^{15}N -Anreicherung des Nitrats. Zum anderen wird der Nitritpool durch die Denitrifikation des Nitrats mit ^{15}N versorgt.

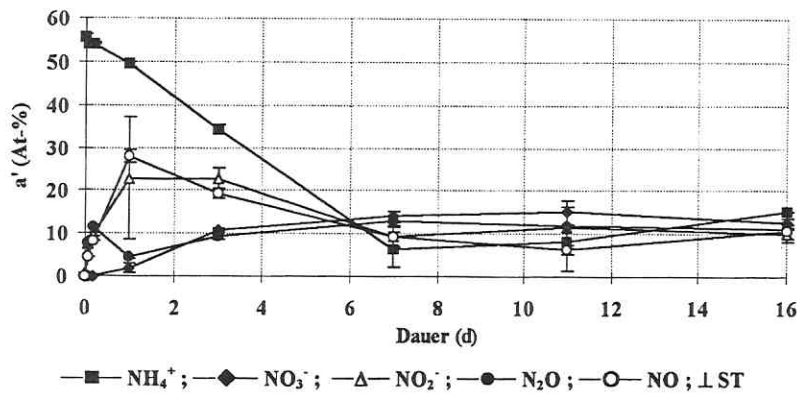
Die ^{15}N -Markierung im Distickstoffmonoxid steigt zu Beginn stark an und liegt ab dem 6. Tag leicht über dem Nitrit und über bzw. gleich dem Nitrat. Das bedeutet, daß das Distickstoffmonoxid durch reduktive Prozesse (Denitrifikation) aus diesen N-Pools gebildet wurde. Das Stickstoffmonoxid dagegen liegt in seiner ^{15}N -Häufigkeit zwischen der des Ammoniums und des Nitrits. Es entsteht somit aus dem Nitrifikationsprozeß und dabei, wie bei den Untersuchungen unter wasserungesättigten Bedingungen festgestellt, wahrscheinlich während der Oxidation des Ammoniums zu Nitrit. Das Stickstoffmonoxid wird aber auch direkt aus dem Nitritpool gebildet.

Nur bei diesem Versuch konnte durch die hohe ^{15}N -Anreicherung im Nitrat ^{15}N -markierter molekularer Stickstoff nachgewiesen und damit auch die N_2 -Denitrifikationsrate mittels der ^{15}N -Gas-Flux-Methode bestimmt werden.

[26a]



[26b]



[26c]

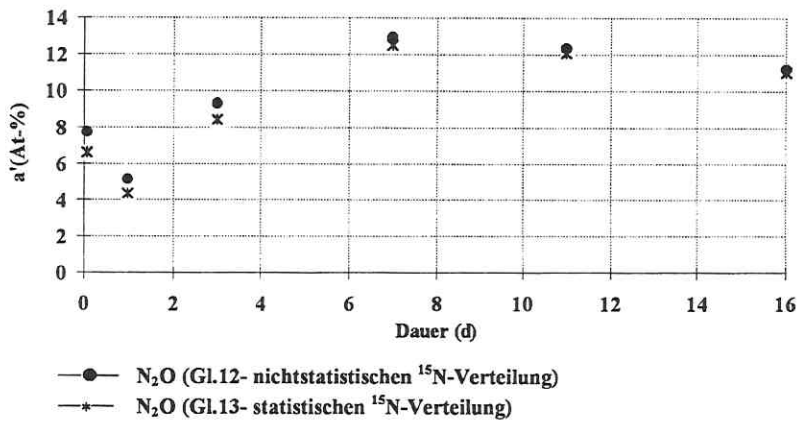
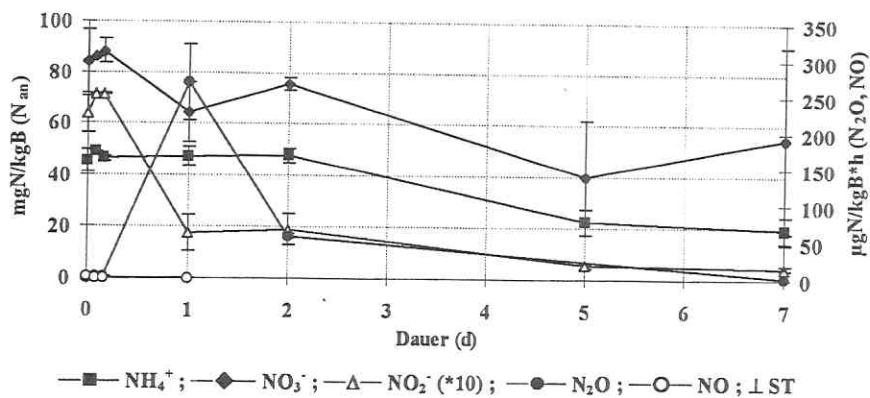
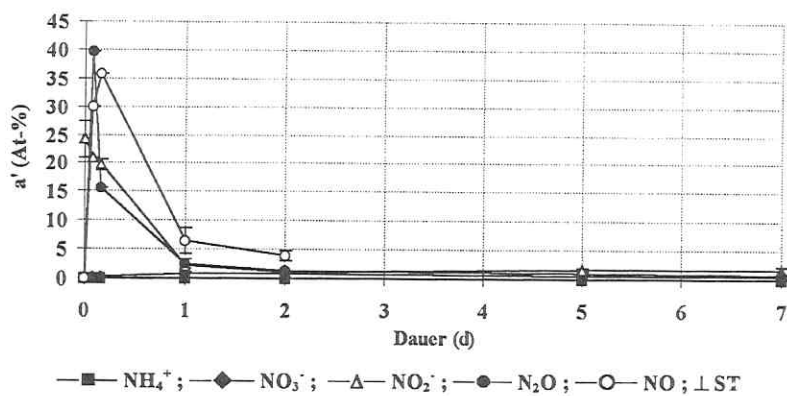


Abbildung 26: Versuch zu den N-Transformationsprozessen im Boden unter wassergesättigten Bedingungen mit ^{15}N Ammonium
a - Konzentrationsverlauf der bestimmten N-Komponenten,
b - ^{15}N -Häufigkeitsverlauf der bestimmten N-Komponenten,
c - $^{15}\text{N}_2\text{O}$ -Häufigkeitsverlauf der aus der nichtstatistischen und statistischen ^{15}N -Verteilung berechneten ^{15}N -Häufigkeitswerte.

[27a]



[27b]



[27c]

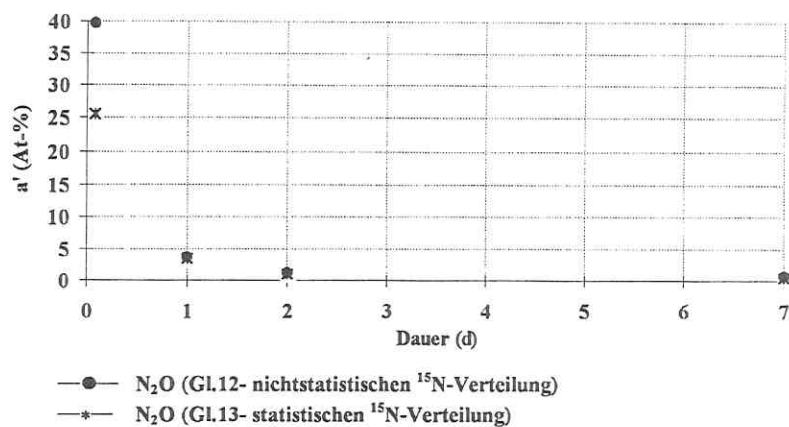
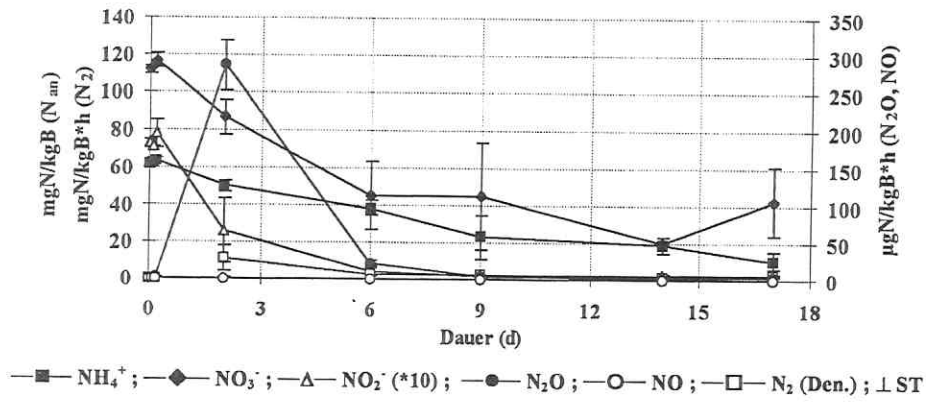
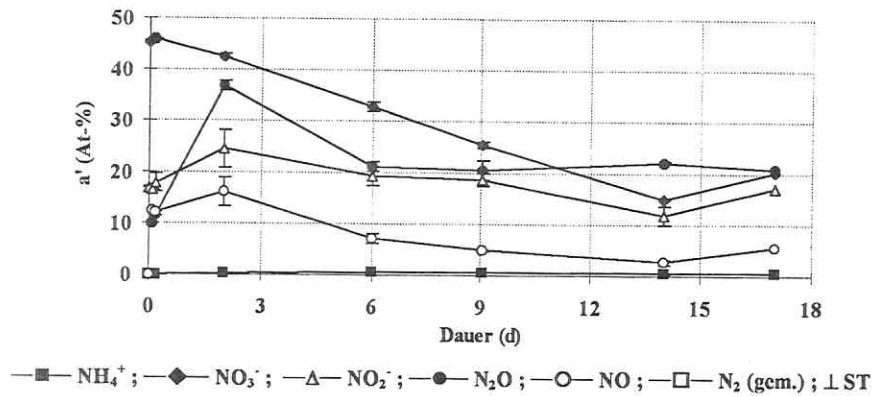


Abbildung 27: Versuch zu den N-Transformationsprozessen im Boden unter wassergesättigten Bedingungen mit [¹⁵N]Nitrit
a - Konzentrationsverlauf der bestimmten N-Komponenten,
b - ¹⁵N-Häufigkeitsverlauf der bestimmten N-Komponenten,
c - ¹⁵N₂O-Häufigkeitsverlauf der aus der nichtstatistischen und statistischen ¹⁵N-Verteilung berechneten ¹⁵N-Häufigkeitswerte.

[28a]



[28b]



[28c]

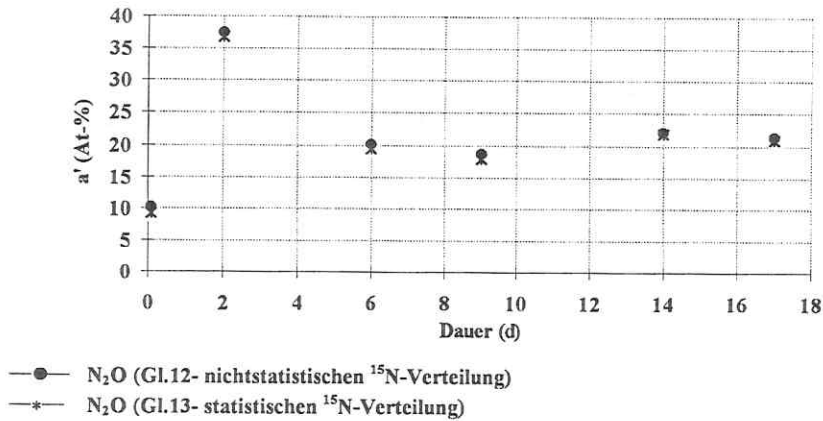


Abbildung 28: Versuch zu den N-Transformationsprozessen im Boden unter wassergesättigten Bedingungen mit [¹⁵N]Nitrat
a - Konzentrationsverlauf der bestimmten N-Komponenten,
b - ¹⁵N-Häufigkeitsverlauf der bestimmten N-Komponenten,
c - ¹⁵N₂O-Häufigkeitsverlauf der aus der nichtstatistischen und statistischen ¹⁵N-Verteilung berechneten ¹⁵N-Häufigkeitswerte.

Diskussion

Es konnte festgestellt werden, daß unter wassergesättigten Bodenbedingungen neben der Denitrifikation auch die Nitrifikation stattfindet. Im Verhältnis zu den wasserungesättigten Bedingungen entstehen besonders am 1. Tag bedeutend größere Mengen an Distickstoffmonoxid. Die Abnahme der N_2O -Emissionsraten ist damit zu erklären, daß die N_2O -Reduktasen später aktiviert werden, und das Distickstoffmonoxid erst dann im Boden zu molekularem Stickstoff weiter reduziert wird (Betlach und Tiedje, 1981; Dendooven und Anderson, 1994 b; s. Abschn. 2.1.4). Diese Reduktion des Distickstoffmonoxids zu molekularem Stickstoff konnte über die ^{15}N -Gas-Flux-Methode (s. Abschn. 3.6.1) wegen mangelnder Empfindlichkeit des QMS nicht bei den Versuchen mit $[^{15}\text{N}]$ Ammonium und $[^{15}\text{N}]$ Nitrit, sondern nur bei dem $[^{15}\text{N}]$ Nitratversuch nachgewiesen werden. Sowohl aus den N- als auch aus den ^{15}N -Bilanzen ist zu sehen, daß ein N-Defizit am Versuchsende im Boden besteht. Der fehlende Stickstoff im Boden ist nur durch gasförmige Verluste zu erklären. Die Summe der N_2O - und NO-Emission kann dies nicht. Der größte N-Verlust muß durch die Emission von molekularem Stickstoff erfolgt sein. Im Versuch mit der Markierung durch $[^{15}\text{N}]$ Nitrat konnte neben der Emission von Distickstoffmonoxid und Stickstoffmonoxid dieser hohe N-Verlust durch N_2 -Bildung aus der Denitrifikation direkt nachgewiesen werden.

Bei der Entstehung des Distickstoffmonoxids muß davon ausgegangen werden, wie bereits bei den Untersuchungen unter wasserungesättigten Bedingungen diskutiert, daß es nicht direkt aus dem Nitrat oder dessen Folgeprodukt Nitrit entstanden ist, sondern auf dem Weg der Reduktion des Nitrats zu Nitrit, wahrscheinlich aus dem enzymgebundenen Nitrit.

Das Stickstoffmonoxid wird in allen drei Versuchen nur in Spuren emittiert, so daß zu vermuten ist, daß das Stickstoffmonoxid unter diesen anaeroben, denitrifizierenden Bedingungen nur als enzymgebundenes Intermediat auftritt und nicht an die Bodenatmosphäre abgegeben wird. Eine weitere Erklärung wäre, daß durch die hohe Wassersättigung des Bodens die Diffusion des Stickstoffmonoxids behindert ist und es somit im Boden weiter zu Distickstoffmonoxid und molekularem Stickstoff umgewandelt wird. Die geringe NO-Emission steht im Gegensatz zu Literaturangaben, die hohe NO-Emissionen unter anaeroben Bodenbedingungen beobachtet haben, wenn der Nitritgehalt im Boden hoch war (VanCleemput und Baert, 1984; Baumgärtner und Conrad, 1992).

Bei diesen Versuchen konnte eine wesentlich höhere Mineralisierung, sowie höhere Immobilisierung des Ammoniums als unter wasserungesättigten Bedingungen festgestellt werden (s. Tab. 18 und 22). Letztere Aussage wurde bereits bei den Untersuchungen im Modellsystem getroffen. Dies bedeutet, wie bereits bekannt (Scheffer et al., 1984; Kleber und

Schlee, 1988), daß die Denitrifikanten das Ammonium bevorzugt zum Aufbau ihrer Proteine nutzen.

Aus den gewonnenen Erkenntnissen zur N-Umwandlung im Boden unter wassergesättigten, weitestgehend anaeroben Verhältnissen (> 90 % max.WK) und der damit verbundenen Emission von Stickstoffmonoxid, Distickstoffmonoxid und molekularem Stickstoff aus dem Boden läßt sich folgendes Schema (Abb. 29) zu den N-Transformationsprozessen wiedergeben:

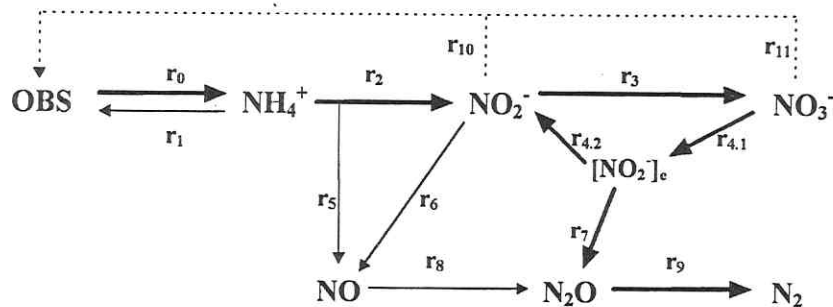


Abbildung 29: Reaktionsschema der N-Transformationsprozesse im Boden unter wassergesättigten Bedingungen

N-Umsatzraten (r) der

- Mineralisierung der organischen Bodensubstanz (r_0)
- Immobilisierung des Ammoniums (r_1)
- Nitrifikation des Ammoniums zu Nitrit (r_2)
- Nitrifikation des Nitrits zu Nitrat (r_3)
- Denitrifikation des Nitrats zu Nitrit ($r_4 = r_{4.1} + r_{4.2}$)
- Bildung des Stickstoffmonoxids während der Oxidation des Ammoniums zum Nitrit (r_5)
- Bildung des Stickstoffmonoxids aus Nitrit durch Denitrifikation (r_6)
- Bildung des Distickstoffmonoxids aus dem enzymgebundenen Nitrit (r_7)
- Bildung des Distickstoffmonoxids aus Stickstoffmonoxid durch Denitrifikation (r_8)
- Bildung des Denitrifikationsstickstoffs molekularer Stickstoff aus Distickstoffmonoxid (r_9)
- Immobilisierung des Nitrits (r_{10})
- Immobilisierung des Nitrats (r_{11})

Zur NO-Bildung ist daraus ersichtlich, daß die im Verhältnis zum Distickstoffmonoxid sehr kleinen NO-Mengen im Gegensatz zur Literatur (Ye et al., 1994) nicht als Zwischenprodukt der Denitrifikation, sondern auf dem Weg der Nitrifikation (r_2 - Oxidation des Ammoniums) entstehen. Sollte das Stickstoffmonoxid wirklich ein Zwischenprodukt in der N_2O -Bildung sein, so wird es vom entsprechenden Enzymkomplex nicht in die Bodenatmosphäre desorbiert und folglich mit der KIM nicht nachgewiesen.

Eine Quantifizierung der wichtigsten Stoffflüsse soll mittels der isotopekinetischen Gleichungen nachstehend vorgenommen werden. Für den Umsatz des Ammoniums ergibt sich:

$$r_{\text{Am ges.}} = - \frac{\Delta C_{\text{Am}}}{\Delta t} - \frac{C_{\text{Am}}}{a_{\text{Am}}'} * \frac{\Delta a_{\text{Am}}'}{\Delta t} \quad (18)$$

$$r_0 = \frac{\Delta C_{\text{Am}}}{\Delta t} + r_{\text{Am ges.}} \quad (19)$$

Wobei $r_{\text{Am ges.}}$ den Gesamtabbau des Ammoniums darstellt (r_1 , r_2 , r_5). Die Resultate sind in Tabelle 22 zusammengefaßt.

Tabelle 22: Umsatzraten des Ammoniums während des Bodenversuchs unter wassergesättigten Bedingungen mit [^{15}N]Ammonium

Zeit (d)	Brutto-Umsatzraten (mgN/kgB*d)		Netto-Umsatzraten (mgN/kgB*d)
	r_0	$r_{\text{Ages.}}$	$\Delta C_{\text{Am}}/\Delta t$
0 - 0,17	8,27	12,04	-3,77
0,17 - 1	5,26	14,10	-8,85
1 - 3	4,00	18,12	-14,11
3 - 7	4,94	8,31	-3,37

Aus dem [^{15}N]Nitratversuch erhält man:

$$r_3 = \frac{C_{\text{Nat}}}{a_{\text{Nit}}' - a_{\text{Nat}}'} * \frac{\Delta a_{\text{Nat}}'}{\Delta t} \quad (23)$$

$$r_4 = r_3 - \frac{\Delta C_{\text{Nat}}}{\Delta t} \quad (24)$$

Die ermittelten Ergebnisse stehen in Tabelle 23.

Tabelle 23: Umsatzraten des Nitrats während des Bodenversuchs unter wassergesättigten Bedingungen mit [^{15}N]Nitrat

Zeit (d)	Brutto-Umsatzraten des Nitrats (mgN/kgB*d)		Netto- Umsatzraten des Nitrats (mgN/kgB*d)	N_2O - Bildungsraten (mgN/kgB*d)	prozentualer Anteil der Nitrat- reduktion an der N_2O -Bildung (Gl. 27)
	r_3	r_4	$\Delta C_{\text{Nat}}/\Delta t$	$\Delta C_{\text{N}_2\text{O}}/\Delta t$	
0 - 0,08	-22,89	-49,56	25,69		
0,08 - 0,17	4,78	-26,63	31,41	0,018	21,91 %
0,17 - 2	8,35	24,92	-16,57	0,031	24,96 %
2 - 6	8,13	18,52	-10,38	6,879	86,51 %
6 - 9	16,43	16,36	0,07	0,526	63,95 %
9 - 14	12,53	17,67	-5,14	0,099	80,52 %

Die ermittelten Netto-Umsatzraten des Ammoniums und Nitrats bestätigen, daß unter wassergesättigten Bodenbedingungen sowohl eine Denitrifikation, als auch eine Nitrifikation ablaufen. Bei der Ammonium-Umsatzrate (r_0) ist zu sehen, daß unter diesen Bedingungen eine bis zu 26fach höhere Mineralisierung auftrat als unter wasserungesättigten Verhältnissen (s. Tab. 18 und 22). Die Oxidation des Ammoniums erfolgte fast im gleichen Maß wie unter wasserungesättigten Bedingungen. Bei den Nitrat-Umsatzraten (r_3 , r_4) wurde, wie schon unter wasserungesättigten Bodenbedingungen festgestellt, daß sowohl eine Bildung als auch ein Abbau an Nitrat auftritt. Im Gegensatz zu den wasserungesättigten Bedingungen sind hier die Abbauraten (r_4) wesentlich höher als die Bildungsrate (r_3) des Nitrats, so daß netto eine Nitratabnahme auftritt.

Die N_2O -Bildungsraten übertreffen zu Versuchsbeginn (1. bis 2. Tag) die Emissionsraten bei den Versuchen unter wasserungesättigten Bedingungen bis zum Faktor 140 (s. Tab. 19 und 23). Eine NO -Emission ist im Gegensatz zu den Versuchen unter wasserungesättigten Bedingungen hier kaum registriert worden.

4.4 Zusammenfassende Diskussion der N-Transformationsprozesse in wäßrigen Medien und im Boden

4.4.1 N-Transformationsprozesse in wäßrigen Medien

Nitrifikation (aerobe Bedingungen, Sauerstoffsättigung > 80 %)

Die ^{15}N -Traceruntersuchungen zur mikrobiellen Nitrifikation im Modellsystem und im Abwasser bestätigten die Nitrifikation als Zweistufenprozeß (Gisi et al., 1990). Die erste Stufe, die Oxidation des Ammoniums zu Nitrit, verlief zu Beginn der Versuche verstärkt ab, so daß das Nitrit stets ein Konzentrationsmaximum durchläuft. Die zweite Stufe der Nitrifikation, die Oxidation des Nitrits zu Nitrat, war der Hauptumsetzungsprozeß nachdem das Ammonium mikrobiell fast abgebaut war. Zu Versuchsende konnte stets der größte Anteil des eingesetzten ^{15}N im Nitrat wiedergefunden werden. Diese N-Umwandlungsprozesse der Hauptkomponenten Ammonium, Nitrit und Nitrat verliefen in den drei Modellversuchen reproduzierbar und sind vergleichbar mit denen der Nitrifikation im Abwasser (Netto-Umsatzraten des Ammoniums in gleicher Größenordnung, s. Tab. 6 und 14).

Ein wesentlich größerer Unterschied der beiden wäßrigen Medien war in deren NO - und N_2O -Emission zu beobachten. Bei allen Nitrifikationsversuchen im Modellsystem (keine organische Kohlenstoffquelle) konnte eine mit Versuchsverlauf kontinuierlich zunehmende

Emission an Distickstoffmonoxid registriert werden. Eine NO-Bildung trat kaum auf. Diese Emissionen, vorrangig durch Distickstoffmonoxid, führte zu ^{15}N -Verlusten zwischen 1,5 und 10,5 % des eingesetzten ^{15}N . Im Versuch zur Nitrifikation im Abwasser (natürliche organische Kohlenstoffquelle vorhanden) übertraf hingegen die NO-Emission die des Distickstoffmonoxids um den Faktor 3. Die ^{15}N -Verluste durch gasförmige Emission lagen bei insgesamt $\approx 1,3$ % (^{15}N -Stickstoffmonoxid, ^{15}N -Distickstoffmonoxid). Eine N_2 -Bildung unter aeroben Bedingungen war in beiden Medien nicht nachweisbar.

Die geringen NO-Mengen aus dem Modellsystem entstanden hauptsächlich während der Oxidation des Ammoniums zu Nitrit bzw. direkt aus dem Nitrit (Hooper und Terry, 1979; Zumft und Cardenas, 1979). Im Abwasser wurde für die NO-Bildung das Nitrit als Hauptquelle nachgewiesen. Aus den Verläufen der ^{15}N -Häufigkeit des Distickstoffmonoxids ist während der Versuche im Modellsystem und Abwasser zu sehen, daß es zu einem kleinen Teil aus der Oxidation des Ammoniums zum Nitrit, hauptsächlich aber aus der mikrobiellen Reduktion des Nitrats stammt. Die zuerst genannte Bildungsmöglichkeit des Distickstoffmonoxids unter aeroben Bedingungen ist bereits aus der Literatur bekannt (Zumft und Cardenas, 1979; Blackmer et al., 1980; Mosier und Heinemeyer, 1985; Poth und Focht, 1985). Die Bildung des Distickstoffmonoxids direkt aus dem Nitrat bzw. dem enzymgebundenen Nitrit und nicht aus dem freien Nitritpool des Bodens, wie in der Literatur angenommen (Seiler und Conrad, 1981; Firestone und Davidson, 1989; Kroneck und Zumft, 1990) ist eine neue Erkenntnis dieser Arbeit.

Denitrifikation (anaerobe Bedingungen, Heliumatmosphäre)

Bei der Denitrifikation im Modellsystem findet die mikrobielle Reduktion des Nitrats (Denitrifikation), teilweise über das Nitrit als Zwischenprodukt, zu den N-Gasen (Stickstoffmonoxid, Distickstoffmonoxid, molekularer Stickstoff) als Hauptumsetzungsprozeß statt (Scheffer et al., 1984; Bouwman, 1990). Dies konnte durch die Konzentrations- und ^{15}N -Häufigkeitsverläufe qualitativ, und durch die Berechnung der Umsatzraten auch quantitativ nachgewiesen werden. Bei den Denitrifikationsversuchen mit ^{15}N -Nitrit und ^{15}N -Nitrat ist das eingesetzte ^{15}N zum größten Teil in Denitrifikationsstickstoff umgewandelt worden (91 bis 99 % des eingesetzten ^{15}N). Aber auch bei dem Versuch mit ^{15}N -Ammonium kam es zu ^{15}N -Verlusten von 35 % durch die Emission von molekularem Stickstoff. Dies weist darauf hin, daß unter den streng anaeroben Bedingungen neben der Denitrifikation auch in einem gewissen Umfang die Nitrifikation bis zum Nitrit stattfand und das Nitrit zu den N-Gasen (Stickstoffmonoxid, Distickstoffmonoxid, molekularer Stickstoff) mikrobiell reduziert wurde. Neben dieser „anaeroben Nitrifikation“ wurde das Ammonium

während der Denitrifikationsversuche hauptsächlich durch Immobilisierung in die Biomasse eingebaut, die weitaus höher war als unter aeroben Bedingungen (s. Tab. 9 und 5).

Im Vergleich mit anderen Arbeiten (Firestone und Davidson, 1989; Ye et al., 1994) gab es bei diesen Untersuchungen keinen direkten Hinweis darauf, daß das Distickstoffmonoxid aus dem freien Stickstoffmonoxid entsteht.

Der Fermenterversuch mit Abwasser hat gezeigt, daß unter idealen anaeroben Bedingungen in einem geschlossenen Gefäß nach dem Verbrauch des Nitrats, das Nitrit und Distickstoffmonoxid als Elektronenakzeptoren genutzt und zu molekularem Stickstoff reduziert werden. Dies bestätigte Aussagen aus der Literatur (Remde und Conrad, 1991; Schäfer und Conrad, 1993).

Ein Vergleich der Denitrifikation in den beiden wäßrigen Medien Modellsystem und Abwasser ist nicht möglich, da die Versuche unter verschiedenen Versuchsbedingungen stattfanden (s. Abschn. 3.5.2).

Nitrifikation und Denitrifikation in wäßrigen Medien

Beide N-Umwandlungsprozesse der Hauptkomponenten Ammonium, Nitrit und Nitrat fanden unter den jeweiligen Bedingungen relativ unabhängig vom anderen Prozeß statt (Abb. 30, s. Abschn. 4.1 und 4.2).

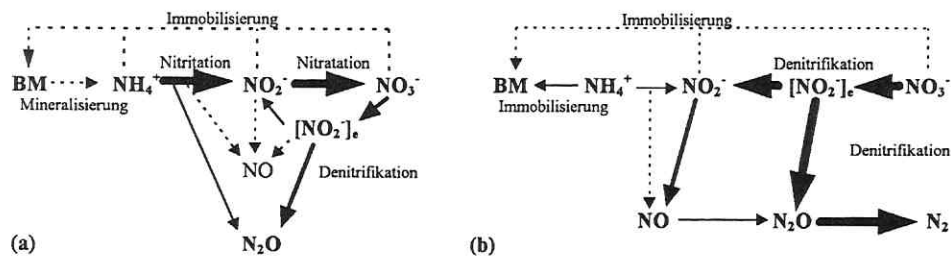


Abbildung 30: Schemata der N-Umsetzung im wäßrigen Medium unter Nitrifikations- (a) und Denitrifikationsbedingungen (b)

Bei allen Versuchen unter Nitrifikations- und Denitrifikationsbedingungen im Modellsystem oder im Abwasser konnte aber neben der jeweiligen N-Hauptumsetzung auch zu einem geringen Anteil der gegenläufige Prozeß, die Denitrifikation unter Nitrifikationsbedingungen („aerobe Denitrifikation“) oder die Nitrifikation unter Denitrifikationsbedingungen („anaerobe Nitrifikation“) festgestellt werden.

Der Ammoniumstickstoff wurde im Vergleich zu den anderen N_{an} -Verbindungen unter anaeroben Bedingungen wesentlich stärker in die Biomasse eingebaut als unter aeroben Bedingungen. Dies bestätigt, daß die Mikroorganismen zum Aufbau ihrer Proteine hauptsächlich das Ammonium nutzen (Kleber und Schlee, 1988; Gisi et al. 1990).

Die mikrobielle Oxidation des Ammoniums über Nitrit zu Nitrat verlief wesentlich langsamer als die mikrobielle Reduktion des Nitrats. Die Oxidation von ca. 50 mg $N-NH_4^+/l$ -fl. zu Nitrat dauerte über 200 h mit einer maximalen Netto-Umsatzrate von 0,64 mg N/l -fl.*h. Bei den Untersuchungen zur Denitrifikation wurde nach einer lag-Phase von ca. 20 h das Nitrat (ca. 50 mg $N-NO_3^-/l$ -fl.) und auch das Nitrit zu den gasförmigen N-Komponenten innerhalb der nächsten 24 h vollständig mikrobiell abgebaut. Die Netto-Umsatzrate stieg dabei bis auf 4,9 mg N/l -fl.*h an.

Die Versuche unterschieden sich wesentlich in der Höhe der Emission der N-Gase. Bei den Versuchen unter aeroben Bedingungen konnte im Modellsystem ein N-Verlust durch gasförmige Emission von 1,2 bis 6,5 % (Stickstoffmonoxid, Distickstoffmonoxid), unter anaeroben Verhältnissen zwischen 75 und 78 % (Stickstoffmonoxid, Distickstoffmonoxid, molekularer Stickstoff) des eingesetzten Stickstoffs festgestellt werden. Dabei lag das Verhältnis $N-NO/N-N_2O$ unter aeroben Bedingungen bei 0,02 bis 0,04 und unter anaeroben Bedingungen bei 0,16 bis 0,38, also um den Faktor 9 höher.

4.4.2 N-Transformationsprozesse im Boden

Die aus den ^{15}N -Tracerversuchen zu den N-Transformationsprozessen unter wasserungesättigten und wassergesättigten Bodenbedingungen erhaltenen Ergebnisse zeigen, daß unter beiden Verhältnissen sowohl oxidierende Prozesse (Nitrifikation), als auch reduzierende Prozesse (Denitrifikation) ablaufen (Abb. 31, s. Abschn. 4.3).

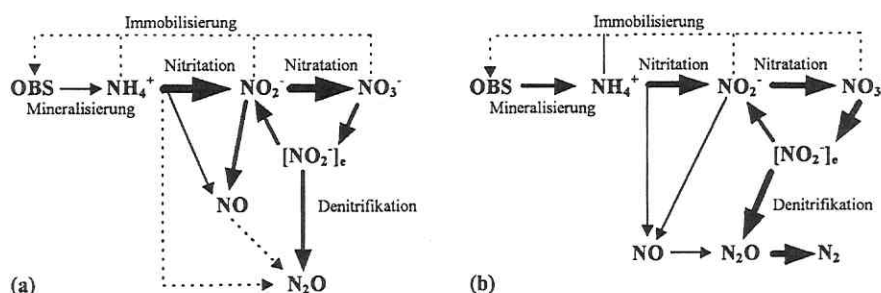


Abbildung 31: Reaktionsschemata der N-Transformationsprozesse im Boden unter wasserungesättigten (a) und wassergesättigten Bedingungen (b)

In Abhängigkeit von der Wassersättigung im Boden verschoben sich nur die Verhältnisse der mikrobiellen Prozesse.

Unter wasserungesättigten Bedingungen (50 bis 55 % max. WK) ist die Nitrifikation der dominierende N-Umsetzungsprozeß (75 bis 99 % des eingesetzten ^{15}N im Nitrat wiedergefunden). Es finden aber auch denitrifizierende Prozesse statt. Dies konnte durch die Bildung des Nitrits aus dem Nitrat und die N_2O -Bildung aus dem Nitrat nachgewiesen werden. Es wurde durch diese Versuche zum ersten Mal gezeigt, daß die Bildung des Distickstoffmonoxids im gut belüfteten Boden hauptsächlich durch die mikrobielle Reduktion des Nitrats wahrscheinlich aus dem enzymgebundenen Nitrit (Denitrifikation) und nicht über den freien Nitritpool des Bodens erfolgt. Damit konnte nachgewiesen werden, daß das Distickstoffmonoxid bei Sauerstoffmangel entgegen einigen Autoren (Seiler und Conrad, 1981; Firestone und Davidson, 1989) nicht direkt aus dem Nitrit gebildet wird. Die NO-Bildung erfolgte vor allem während der Oxidation des Ammoniums zu Nitrit (Hooper und Terry, 1979). Dabei übertraf die NO-Emission die des Distickstoffmonoxids teilweise um den Faktor 20 (Anhang C, Tab. C.2). Die absoluten ^{15}N -Verluste durch gasförmige N-Emissionen waren aber nur gering (0,8 bis 2,2 % des eingesetzten ^{15}N im Stickstoffmonoxid und Distickstoffmonoxid wiedergefunden).

Unter wassergesättigten Bedingungen liefen verstärkt reduzierende mikrobielle Prozesse ab. Zwischen 40 und 89 % des eingesetzten ^{15}N gingen durch gasförmigen N-Austrag verloren. Bei diesen Versuchen konnte eine weitaus höhere Mineralisierung an Ammonium (26fach höhere Brutto-Bildungsrate des Ammoniums), sowie eine größere Brutto-Immobilisierung des Ammoniums (18,5 % gegenüber 8,4 % bei wasserungesättigten Bedingungen des eingesetzten ^{15}N im N_{org} wiedergefunden) festgestellt werden. Es ist aber auch nachgewiesen worden, daß sich bei dem Versuch mit [^{15}N]Ammonium ein großer Teil des eingesetzten ^{15}N im Nitrat wiederfand (40 % des eingesetzten ^{15}N). Das weist eindeutig darauf hin, daß auch die Nitrifikation unter diesen wassergesättigten Bedingungen abläuft.

Die N_2O -Emission lag bei diesen Versuchen wesentlich höher als unter wasserungesättigten Bedingungen (2 bis 20 % des eingesetzten ^{15}N durch Distickstoffmonoxid abgegeben gegenüber 0,4 bis 0,7 % unter wasserungesättigten Verhältnissen). Dagegen konnte die NO-Bildung nur in geringem Umfang beobachtet werden. Dies steht im Widerspruch zur Literatur, wo hohe NO-Emissionen unter anaeroben Bodenbedingungen beobachtet wurden (VanCleemput und Baert, 1984; Baumgärtner und Conrad, 1992).

Der N-Verlust durch molekularen Stickstoff aus der Denitrifikation mit Hilfe der ^{15}N -Gas-Flux-Methode konnte nur im Versuch mit [^{15}N]Nitrat nachgewiesen werden. Er betrug

54 % und das Verhältnis des Denitrifikationsstickstoffs zum Distickstoffmonoxid war dabei $N_2/N-N_2O = 3,3$.

4.4.3 Vergleich der N-Transformationsprozesse in wäßrigen Medien und im Boden

Die ^{15}N -Tracerversuche zu den N-Umsetzungen unter aeroben Bedingungen in wäßrigen Medien und unter wasserungesättigten Verhältnissen im Boden haben gezeigt, daß unter diesen vergleichbaren Bedingungen (aerob) als Hauptumsetzungsprozeß die Nitrifikation (mikrobielle Oxidation des Ammoniums über Nitrit zu Nitrat) stattfindet. Der wesentliche Unterschied bei den Hauptkomponenten Ammonium, Nitrit und Nitrat besteht darin, daß sich bei den N-Umsetzungen im wäßrigen Medium das Nitrit wie ein Zwischenprodukt einer Reaktionsfolge verhält (Konzentrationsmaximum). Im Boden weist dagegen das Nitrit kein Konzentrationsmaximum auf. Es wurde mikrobiell abgebaut und lag dann stets auf dem natürlichen Konzentrationsniveau im Boden vor. Vergleichbar ist der Bildungsweg des Distickstoffmonoxids und Stickstoffmonoxids in den verschiedenen Medien. Sowohl im wäßrigen Medium, als auch im Boden wird das Distickstoffmonoxid hauptsächlich durch die mikrobielle Reduktion des Nitrats (Denitrifikation) gebildet. Das Stickstoffmonoxid entsteht dagegen vorrangig während der mikrobiellen Oxidation des Ammoniums zu Nitrit.

Der Vergleich der Untersuchungen in wäßrigen Medien und im Boden unter anaeroben Bedingungen (im Boden wassergesättigte Verhältnisse) zeigt, daß in den flüssigen Medien, da nahezu ideale anaerobe Verhältnisse vorliegen, der mikrobielle Prozeß der Denitrifikation fast allein ablief. Im Gegensatz dazu konnte unter wassergesättigten Bedingungen im Boden, unter denen die Nachlieferung von Sauerstoff durch die langsame Diffusion im Wasser behindert ist, neben der Denitrifikation auch zu einem großen Anteil die Nitrifikation registriert werden. In beiden Medien wurden unter diesen Bedingungen hohe N-Verluste durch gasförmige N-Emission beobachtet. Sehr hohe N-Verluste traten dabei durch die Emission von Denitrifikationsstickstoff auf.

Die Höhe der Emission von Distickstoffmonoxid und Stickstoffmonoxid zeigte sowohl Unterschiede zwischen aeroben und anaeroben Bedingungen, als auch zwischen den verschiedenen Medien. So konnte unter aeroben Bedingungen in den Modellsystemen vor allem eine N_2O -Bildung und kaum eine NO -Entstehung registriert werden. Im Abwasser trat dagegen unter aeroben Bedingungen eine 3fach höhere NO -Bildung, verglichen mit der N_2O -Freisetzung, auf. Im Boden war genau der umgekehrte Effekt zu dem Modellsystem zu beobachten. Unter wasserungesättigten Bedingungen konnten zu Anfang sehr hohe NO -

Emissionen nachgewiesen werden. Eine NO-Bildung unter wassergesättigten Bedingungen konnte kaum registriert werden. Die Ursache dafür liegt wahrscheinlich darin, daß das durch Denitrifikation entstandene Stickstoffmonoxid durch die hohe Wassersättigung im Boden nicht aus dem Boden diffundieren kann. Es wird dadurch im Boden zu Distickstoffmonoxid und molekularem Stickstoff umgesetzt. Die Bildung von Distickstoffmonoxid war unter wasserungesättigten Bodenbedingungen wesentlich geringer, als unter wassergesättigten (bis zum Faktor 140 höhere N_2O -Emission unter wassergesättigten Bedingungen, Anhang C). In allen Versuchen zur N-Umsetzung unter aeroben, anaeroben, wasserungesättigten und wassergesättigten Bedingungen konnte nie das Stickstoffmonoxid als direktes, freies Vorprodukt des Distickstoffmonoxids nachgewiesen werden.

Der Bildungsprozesse des Distickstoffmonoxids und Stickstoffmonoxids in den unterschiedlichen Versuchsmedien und zu den verschiedenen Bedingungen sind vergleichbar. Das Distickstoffmonoxid wird vorrangig durch Denitrifikation direkt aus dem Nitrat und nicht aus dem freien Nitritpool gebildet. Die Entstehung des Stickstoffmonoxids erfolgte vor allem während der mikrobiellen Oxidation des Ammoniums zum Nitrit bzw. direkt aus dem Nitrit.

5 Zusammenfassung

Der Anstieg der Konzentrationen der Spurengase Distickstoffmonoxid und Stickstoffmonoxid in der Atmosphäre ruft eine Reihe ökologischer Probleme hervor. So sind sie direkt bzw. indirekt beteiligt an der globalen Erwärmung der Erdatmosphäre, dem Abbau des stratosphärischen Ozons, als auch an der Produktion und dem Verbrauch atmosphärischer Oxidantien (z.B. O_3 , OH) und der photochemischen Bildung von HNO_3 (saurer Regen).

Die landwirtschaftliche Nutzung von Böden verursacht neben industriellen Prozessen den Haupteintrag des Distickstoffmonoxids und einen erheblichen Eintrag an Stickstoffmonoxid in die Atmosphäre. Aus Böden emittiert das Distickstoffmonoxid und Stickstoffmonoxid infolge der mikrobiellen Prozesse der Nitrifikation und Denitrifikation.

Ziel dieser Arbeit war es, die N-Transformationsprozesse Nitrifikation und Denitrifikation in den im Mitteldeutschen Trockengebiet vorkommenden Schwarzerden und die damit verbundenen Bildungsprozesse von Distickstoffmonoxid, Stickstoffmonoxid und molekularem Stickstoff weiter aufzuklären. Von besonderem Interesse war dabei, die Entstehungsmechanismen des Distickstoffmonoxids und Stickstoffmonoxids unter aeroben Bedingungen, den typischen Verhältnissen im Mitteldeutschen Trockengebiet, zu untersuchen. Zu diesen Untersuchungen wurde eine bewährte Methode zur Aufklärung mikrobieller N-Umsetzungsprozesse genutzt, die ^{15}N -Tracertechnik.

Untersuchungen zum Mechanismus unter Freilandbedingungen sind wegen der hohen zeitlichen und räumlichen Variabilität der Bildung des Distickstoffmonoxids und Stickstoffmonoxids in Böden kaum möglich. Darum fanden die Untersuchungen zu den N-Umwandlungsprozessen unter standardisierten Bedingungen im Labormaßstab statt. Um das Problem der Inhomogenität des Bodens auszuschließen, wurden ebenfalls Untersuchungen zu den mikrobiellen N-Umsetzungsprozessen in homogenen, wäßrigen Medien durchgeführt.

Zu Beginn standen methodische Arbeiten im Mittelpunkt. Methoden für die ^{15}N -Analytik sowohl der anorganischen N-Komponenten, als auch der gebildeten N-Gase mußten verbessert oder entwickelt werden. So wurde zur ^{15}N -Analytik des Nitrits, einem sehr wichtigen Zwischenprodukt der Nitrifikation und Denitrifikation, eine geeignete Methode auf der Basis der RCFQMS (on-line Reaction Continuous-Flow Quadrupol Mass Spectrometry) neu entwickelt.

Die gleichzeitige Bestimmung von Konzentration und ^{15}N -Häufigkeit der zu untersuchenden N-Gase (NO , N_2O , N_2) ist durch den Einsatz eines GC-QMS-Kopplungssystems mit einer GC-Säulenschaltung (gepackte Säule und Molsiebkapillarsäule) möglich geworden. Die

¹⁵N-Analytik der nur im Spurenbereich in der Atmosphäre vorkommenden N-Gase Distickstoffmonoxid und Stickstoffmonoxid ($\text{N}_2\text{O} \geq 0,32 \text{ ppmv}$, $\text{NO} \geq 5 \text{ pptv}$) konnte verbessert bzw. erst ermöglicht werden, indem beide Gase durch eine Kryoanreicherung vor der GC-Trennung und Detektion aufkonzentriert wurden.

Damit war es insgesamt möglich, neben dem Ammonium und Nitrat auch das Nitrit im Boden und den Wasserproben, sowie das Stickstoffmonoxid, Distickstoffmonoxid und den molekularen Denitrifikationsstickstoff in der Gasphase in Konzentration und ¹⁵N-Häufigkeit hinreichend exakt zu bestimmen.

Weiterhin wurde zur Durchführung der Untersuchungen an Böden auf der Basis der kinetischen Isotopenmethode ein Meß- und Inkubationssystem geschaffen (GC-QMS mit spezieller Dosiervorrichtung, „Röhrchensystem“), das eine rationelle, hinreichend zeitaufgelöste Probenahme der N-Gase, als auch des Bodens gewährleistete.

Mit diesen speziell entwickelten ¹⁵N-analytischen Methoden in Kombination mit der Nutzung der bekannten Prinzipien der kinetischen Isotopenmethode war es möglich, in der vorliegenden Arbeit neue Erkenntnisse zu den N-Umwandlungsprozessen und zum Mechanismus der Entstehung der N-Gase Distickstoffmonoxid und Stickstoffmonoxid zu erarbeiten.

Unter Modellbedingungen im Flüssigmedium gelang es, die mikrobiellen Prozesse Nitrifikation und Denitrifikation fast isoliert voneinander zu verfolgen. Die Versuche verliefen reproduzierbar.

Bei den Untersuchungen unter aeroben Bedingungen ohne organische Kohlenstoffquelle (ideale Nitrifikationsbedingungen) lief zuerst verstärkt die mikrobielle Oxidation des Ammoniums zum Nitrit ab. Erst nachdem das Ammonium fast aufgebraucht war, fand verstärkt der N-Umsetzungsprozeß Nitrit zu Nitrat statt. Dies bestätigte die Nitrifikation als Zweistufenprozeß. Bei diesen Versuchen wurde hauptsächlich die Freisetzung von Distickstoffmonoxid, die Entstehung von Stickstoffmonoxid dagegen nur im geringsten Maß beobachtet. Aus den Verläufen der ¹⁵N-Häufigkeiten konnte das Nitrat über die mikrobielle Reduktion (Denitrifikation) als Hauptentstehungspool für das Distickstoffmonoxid identifiziert werden („aerobe Denitrifikation“). Die Nitrifikation als Hauptprozeß lieferte dagegen einen sehr minimalen Beitrag zur N_2O -Emission. Die Spuren an Stickstoffmonoxid entstanden hauptsächlich aus diesem Prozeß (mikrobielle Oxidation des Ammoniums zu Nitrit).

Unter anaeroben Bedingungen stellte die mikrobielle Denitrifikation den Hauptumsetzungsprozeß dar. Dabei wurden Stickstoffmonoxid, Distickstoffmonoxid und zum größten Teil molekularer Stickstoff abgegeben. Das Ammonium wurde hauptsächlich in die Biomasse

eingebaut, aber auch unter diesen anaeroben Bedingungen zu Nitrit oxidiert („anaerobe Nitrifikation“) und dann weiter zu den N-Gasen denitrifiziert.

Aus den Versuchen zu den N-Transformationsprozessen im Boden unter wasserungesättigten bzw. gesättigten Bedingungen konnten jeweils parallel ablaufend oxidierende sowie reduzierende mikrobielle Prozesse nachgewiesen werden. In Abhängigkeit vom Wassergehalt und damit von der Sauerstoffverfügbarkeit verschoben sich nur die Verhältnisse dieser Prozesse im Ablauf zueinander.

Unter wasserungesättigten Bedingungen dominierte die Oxidation des Ammoniums zu Nitrit und Nitrat. Zur Entstehung des Nitrits liefert aber auch eindeutig die Reduktion des Nitrats einen wesentlichen Beitrag, vorallem wenn das Nitrat im Überschuß zum Ammonium vorlag. Auf diesem Reduktionsweg, der wahrscheinlich in den sauerstoffverarmten Mikroporen des Bodens („hot spots“) abläuft, bildete sich auch der Hauptteil des emittierten Distickstoffmonoxids. Das Stickstoffmonoxid entsteht vorrangig während der mikrobiellen Oxidation des Ammoniums zu Nitrit. Das freie Nitrit konnte dabei nie als gemeinsamer Entstehungspool der N-Gase und auch das Stickstoffmonoxid nicht als Vorprodukt des Distickstoffmonoxids beobachtet werden.

Unter wassergesättigten Bedingungen im Boden ist die Denitrifikation der Hauptumwandlungsprozeß. Es läuft aber auch die Nitrifikation in erheblichem Umfang ab. Die Mineralisierung und Immobilisierung des Ammoniums ist verstärkter gegenüber den Versuchen unter wasserungesättigten Bodenbedingungen. Das im Vergleich zur Untersuchung unter wasserungesättigten Bedingungen in höheren Mengen entstandene Distickstoffmonoxid wird auch hier vorrangig direkt aus dem Nitrat durch mikrobielle Reduktion gebildet. Das Stickstoffmonoxid entsteht im Gegensatz zu den wasserungesättigten Bedingungen kaum, wird aber auch hier vorallem während der mikrobiellen Oxidation des Ammoniums zu Nitrit bzw. direkt aus dem Nitrit gebildet.

In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, daß die Bildungswege für die N-Spurengase Stickstoffmonoxid und Distickstoffmonoxid in wäßrigen Medien und im Schwarzerdeboden prinzipiell gleich sind. Im Boden wird die Situation dadurch kompliziert, daß sich offenbar zwei getrennte Nitritpools (einer durch die Oxidation des Ammoniums, ein zweiter durch die Nitratreduktion gespeist) bilden. Der Hauptbildungsprozeß des Distickstoffmonoxids ist sowohl unter aeroben, als auch anaeroben Bedingungen die mikrobielle Reduktion des Nitrats (Denitrifikation), der des Stickstoffmonoxids war im wäßrigen

Medium und im Boden die mikrobielle Oxidation des Ammoniums zu Nitrit bzw. das Stickstoffmonoxid entstand direkt aus dem Nitrit.

Die Rolle des Stickstoffmonoxids als das Zwischenprodukt der N_2O -Bildung im Verlauf der Nitratdenitrifikation wurde nicht bestätigt.

Für die Schwarzerden im Mitteldeutschen Trockengebiet ist damit einzuschätzen, daß mit einer ständigen, geringen Emission von Distickstoffmonoxid auch unter wasserungesättigten Bedingungen zu rechnen ist (1 bis 6 $\mu\text{g N-N}_2\text{O/kg Boden}\cdot\text{h}$). Unter wassergesättigten Bedingungen würde die N_2O -Emission auf ca. 280 $\mu\text{g N-N}_2\text{O/kg Boden}\cdot\text{h}$ ansteigen. Die N_2O -Bildung unter wasserungesättigten kommt aber nicht aus dem Nitrifikationszweig der N-Transformationsvorgänge, sondern vorallem aus den anaeroben Zonen durch Denitrifikation („hot spots“, wassergefüllte Mikroporen).

Die Entstehung von Stickstoffmonoxid aus Schwarzerdeböden wurde zum ersten Mal in dieser Arbeit nachgewiesen. Hierbei konnte unter wasserungesättigten Bedingungen, wie man sie im Mitteldeutschen Trockengebiet meistens vorfindet, und hohen Ammoniumgehalten nach der Düngergabe eine hohe NO -Emission beobachtet werden (bis zum 20fachen der N_2O -Emission).

6 Literaturverzeichnis

- Abou-Seada, M.N.I. und J.C.G. Ottow: 1985, Effect of increasing oxygen concentration on total denitrification and nitrous oxide release from soil by different bacteria, *Biol. Fert. Soils* 1, 31-38.
- Abou-Seada, M.N.I. und J.C.G. Ottow: 1988, Einfluß chemischer Bodeneigenschaften auf Ausmaß und Zusammensetzung der Denitrifikationsverluste drei verschiedener Bakterien, *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.* 151, 109-115.
- Ambus, P.: 1993 a, Control of denitrification enzyme activity in a streamside soil, *FEMS Microbiology Ecology* 102, 225-234.
- Ambus, P. und S. Christensen: 1993 b, Denitrification variability and control in a rigarian fen irrigated with agricultural drainage water, *Soil Biol. Biochem.* 25, 7, 915-923.
- Anderson, I.C. und J.S. Levine: 1986, Relative rates of nitric oxide and nitrous oxide production by nitrifiers, denitrifiers and nitrate respirers, *Appl. Environ. Microbiol.* 51, 938-945.
- Arah, J.R.M.: 1992, New formulae for mass spectrometric analysis of nitrous oxide and dinitrogen emissions, *Soil Sci. Soc. Am. J.* 56, 795-800.
- Aulakh, M.S., J.W. Doran und A.R. Mosier: 1991, Field evaluation of four methods of measuring denitrification, *Soil Sci. Soc. Am. J.* 55, 1332-1338.
- Baumgärtner, M. und R. Conrad: 1992, Role of nitrate and nitrite for production and consumption of nitric oxide during denitrification in soil, *FEMSEC* 101, 59-65.
- Beer, C.: 1977, Tests for nitrifying and denitrifying ability of activated sludge, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 10 (5), 558-564.
- Betlach, M.R. und J.M. Tiedje: 1981, Kinetic explanation for accumulation of nitrite, nitric oxide and nitrous oxide during bacterial denitrification, *Appl. Environ. Microbiol.* 42, 1074-1084.
- Bever, J., A. Stein und H. Teichmann: 1993, Weitergehende Abwasserreinigung, R. Oldenbourg Verlag München Wien, 79-261.
- Blackmer, A.M. und J.M. Bremner: 1978, Inhibitory effect of nitrate on reduction of N_2O to N_2 by soil microorganisms, *Soil Biol. Biochem.* 10, 187-191.
- Blackmer, A.M. und J.M. Bremner: 1979, Stimulatory effect of nitrate on reduction of N_2O to N_2 by soil microorganisms, *Soil Biol. Biochem.* 11, 313-315.
- Blackmer, M.K., J.M. Bremner und E.L. Schmidt: 1980, Production of nitrous oxide by ammonia-oxidizing chemoautotrophic microorganisms in soil, *Appl. and Environ. Microbiol.* 40, 1060-1066.
- Blackmer, A.M. und M.E. Cerrato: 1986, Soil properties affecting formation of nitric oxide by chemical reactions of nitrite, *Soil Sci. Soc. Am. J.* 50, 1215-1218.
- Boast, C.W., R.L. Mulvaney und P. Baveye: 1988, Evaluation of nitrogen-15 tracer techniques for direct measurement of denitrification in soil: I. Theory, *Soil Sci. Soc. Am. J.* 52, 1317-1322.
- Bouwman, A.F.: 1990, *Soils and the Greenhouse effect*, Copyright by John Wiley&Sons Ltd., Chichester.
- Bremner, J.M. und A.M. Blackmer: 1978, Nitrous oxide : Emission from soils during nitrification of fertilizer nitrogen, *Science* 199, 295-296.
- Bremner, J.M. und A.M. Blackmer: 1979, Effects of acetylene and soil water content on emission of nitrous oxide from soils, *Nature* 280, 380-381.

- Bremner, J.M. und A.M. Blackmer: 1981, Terrestrial nitrification as a source of atmospheric nitrous oxide, In: Denitrification, nitrification, and atmospheric nitrous oxide (John Wiley&Sons, New York), 151-170.
- Bremner, J.M. und C.S. Mulvaney: 1982, Nitrogen-Total. In: Methods in soil analysis, part 2, Agronomy No 9, American Society of Agronomy, Madison.
- Brooks, P.D., J.M. Stark, B.B. McInteer und T. Preston: 1989, Diffusion method to prepare soil extracts for automated nitrogen-15 analysis, Soil Sci. Soc. Am. J. 53, 1707-1711.
- Buresh, R.J., M.I. Samson und S.K. DeDatta: 1993, Quantification of denitrification in flooded soils as affected by rice establishment method, Soil Biol. Biochem. 25, 7, 843-848.
- Burke, I.C., A.R. Mosier, L.K. Porter und L.A. O'Deen: 1990, Diffusion of soil extracts for nitrogen and nitrogen-15-analysis by automated combustion/mass spectrometry, Soil Sci. Soc. Am. J. 54, 1190-1192.
- Burth, I. und J.C.G. Ottow: 1979, Zusammensetzung der Stickstoffentgasung (N_2O/N_2) bei verschiedenen Denitrifikanten in Abhängigkeit von der Wasserstoff-Ionenkonzentration (pH), Mitteilgn. Dtsch. Bodenkundl. Ges. 29, 323-330.
- Burth, I. und J.C.G. Ottow: 1982, Stickstoffentgasung bei verschiedenen denitrifizierenden Bakterien und *Fusarium solani* in Abhängigkeit von der Wasserstoff-Ionenkonzentration (pH), Landwirtschaftliche Forschung, So.-H. 38, 655-666.
- Burth, I. und J.C.G. Ottow: 1983, Influence of pH on the production of N_2O and N_2 by different denitrifying bacteria and *Fusarium solani*, Environ. Biogeochemistry 35, 207-215.
- Burton, D.L. und E.G. Beauchamp: 1994, Profile nitrous oxide and carbon dioxide concentrations in a soil subject to freezing, Soil Sci. Soc. Am. J. 58, 115-122.
- Cho, C.M. und L. Sakdinar: 1978, Mass spectrometric investigation on denitrification, Can. J. Soil Sci. 58, 443-457.
- Christensen, S. und B.T. Christensen: 1991, Organic matter available for denitrification in different soil fractions: effect of freeze/thaw cycles and straw disposal, J. of Soil Sci. 42, 637-647.
- Colbourn, P. und R.J. Dowdell: 1984, Denitrification in field soils, Plant and Soil 76, 213-226.
- Conrad, R. und W. Seiler: 1980, Field measurements of the loss of fertilizer nitrogen into the atmosphere as nitrous oxide, Atm. Environ. 14, 555-558.
- Conrad, R. und W. Seiler: 1985, Localization of microbial activities relevant to the emission of nitrous oxide from soil into the atmosphere, Soil Biol. Biochem. 17, 6, 893-895.
- Cox, R.D.: 1980, Determination of nitrate and nitrite at the ppb level by chemiluminescence, Anal. Chem. 52, 332-335.
- Crutzen, P.J.: 1979 a, The role of NO and NO_2 in the chemistry of the troposphere and stratosphere, Ann. Rev. Earth Planet. Sci. 7, 443-472.
- Crutzen, P.J., L.E. Heidt, J.P. Krasnec, W.H. Pollock und W. Seiler: 1979 b, Biomass burning as a source of atmospheric gases CO , H_2 , N_2O , CH_3Cl and COS , Nature 282, 253-256.
- Crutzen, P.J.: 1981, Atmospheric chemical processes of the oxides of nitrogen, including nitrous oxide, In: Denitrification, nitrification, and atmospheric nitrous oxide (John Wiley&Sons, New York), 17-44.
- Davidson, E.A.: 1992, Sources of nitric oxide and nitrous oxide following wetting of dry soil, Soil Sci. Soc. Am. J. 56, 95-101.
- Dendooven, L., P. Splatt und J.M. Anderson: 1994 a, The Use of chloramphenicol in the study of the denitrification process: some side-effects, Soil Biol. Biochem. 26, 7, 925-927.

- Dendooven, L. und J.M. Anderson: 1994 b, Dynamics of reduction enzymes involved in the denitrification process in pasture soil, *Soil Biol. Biochem.* 26, 11, 1501-1506.
- Dörsch, P.: 1994, Posterausstellung, TERN-Tagung an der GSF Neuherberg 1994.
- Edwards, A.C. und K. Killham: 1986, The effect of freeze/thaw on gaseous nitrogen loss from upland soils, *Soil use and management* 2, 3, 87-91.
- Eichner, M.J.: 1990, Nitrous oxide emission from fertilized soils: Summary of available data, *J. Environ. Qual.* 19, 272-280.
- El-Demerdash, M.E. und J.C.G. Ottow: 1983, Einfluß einer hohen Nitratdüngung auf Kinetik und Gaszusammensetzung der Denitrifikation in unterschiedlichen Böden, *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.* 146, 138-150.
- Eriksen, A.B. und L. Holtem-Hartwig: 1993, Emission spectrometry for direct measurements of nitrous oxide and dinitrogen from soil, *Soil Sci. Soc. Am. J.* 57, 738-742.
- Faust, H., H. Bornhak, K. Hirschberg, K. Jung, P. Junghans und P. Krumbiegel: 1981, ¹⁵N-Anwendung in der Biochemie, Landwirtschaft und Medizin, Schriftenreihe Anwendung von Isotopen und Kernstrahlung in Wissenschaft und Technik Hrd. Isocommerz (5).
- Feldversuchsführer 1996, UFZ Leipzig-Halle, Sektion Bodenforschung, herausgegeben von M. Körschens und A. Pfefferkorn.
- Fiedler, H.-J.: 1973, Methoden der Bodenanalyse, Bd. 2 Labormethoden. Dresden, Steinkopff-Verlag.
- Firestone, M.K., R.B. Firestone und J.M. Tiedje: 1979, Nitric oxide as an intermediate in denitrification: evidence from nitrogen-13 isotope exchange, *Biochemical and Biophysical Research Communications* 91, 1, 10-16.
- Firestone, M.K., R.B. Firestone und J.M. Tiedje: 1980, Nitrous oxide from soil denitrification - Factors controlling its biological production, *Science* 208, 749-751.
- Firestone, M.K. und E.A. Davidson: 1989, Microbiological basis of NO and N₂O production and consumption in soil, In: Exchange of trace gases between terrestrial ecosystems and the atmosphere, eds. M.O. Andreae und D.S. Schimmel, pp. 7-21.
- Fischer, H. und G. Meier: 1992, ¹⁵N-Isotopenmessung mit dem Emissionsspektrometer NOI-6PC, *Isotopenpraxis Environ. Health Stud.* 28, 96-100.
- Flessa, H. und F. Beese: 1995, Effects of sugarbeet residues on soil redox potential and nitrous oxide emission, *Soil Sci. Soc. Am. J.* 59, 1044-1051.
- Galbally, I.E.: 1989, Factors controlling NO_x emissions from soils, In: Exchange of trace gases between terrestrial ecosystems and the atmosphere (eds. M.O. Andreae und D.S. Schimmel), 23-37.
- Garber, E.A.E. und T.C. Hollocher: 1981, ¹⁵N Tracer studies on the role of NO in denitrification, *J. of Biol. Chem.* 256, 11, 5459-5465.
- Garber, E.A.E. und T.C. Hollocher: 1982 a, Positional isotopic equivalence of nitrogen in N₂O produced by the denitrifying bacterium *Pseudomonas stutzeri*, *J. of Biol. Chem.* 257, 9, 4705-4708.
- Garber, E.A.E. und T.C. Hollocher: 1982 b, N₂O tracer studies on the activation of nitrite by denitrifying bacteria, *J. of Biol. Chem.* 257, 14, 8091-8097.
- Garcia-Plazaola, J.I., J.M. Becerril, C. Arrese-Igor, A. Hernandez, C. Gonzales-Mirna und P.M. Aparicio-Tejo: 1993 a, Denitrifying ability of thirteen *Rhizobium meliloti* strains, *Plant and Soil* 149, 43-50.
- Garcia-Plazaola, J.I., J.M. Becerril, C. Arrese-Igor, C. Gonzales-Mirna und P.M. Aparicio-Tejo: 1993 b, The contribution of *Rhizobium meliloti* to soil denitrification, *Plant and Soil* 157, 207-213.

- Germon, J.C.: 1985, Microbiology of denitrification and other processes involving the reduction of oxygenated nitrogenous compounds, In: Denitrification in the nitrogen cycle (Plenum press, New York), 31-46.
- Gisi, U., R. Schenker, R. Schulin, F.X. Stadelmann und H. Sticher: 1990, Bodenökologie, Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York.
- Goreau, T.J., W.A. Kaplan, S.C. Wofsy, M.B. McElroy, F.W. Valois und S.W. Watson: 1980, Production of NO and N₂O by nitrifying bacteria at reduced concentrations of oxygen, Appl. Environ. Microbiol. 40, 526-532.
- Goretski, J., O.C. Zafriou und T.C. Hollocher: 1990, Steady-state nitric oxide concentrations during denitrification, J. Biol. Chem. 265, 11535-11538.
- Granli, T. und O.C. Bøckman: 1994, Nitrous oxide from agriculture, Norwegian Journal of Agricultural Sciences, Norsk Hydro Research Centre, Porsgrunn Norway.
- Hahn, J. und C. Junge: 1977, Atmospheric nitrous oxide: A critical review, Z. Naturforsch. 32a, 190-214.
- Haider, K., A.R. Mosier und O. Heinemeyer: 1983, Side effects of acetylen on the conversion of nitrate in soil, Z. Pflanzenernähr. Bodenk. 146, 623-633.
- Hauck, R.D. und S.W. Melsted: 1958, Use of N-isotope distribution in nitrogen gas in the study of denitrification, Soil Sci. 86, 287-291.
- Hauck, R.D. und D.R. Bouldin: 1961, Distribution of isotopic nitrogen gas during denitrification, Nature 191, 871-872.
- Heinemeyer, O., K. Haider und A.R. Mosier: 1988, Einfluß kontrollierter Wasserzufuhr zu mit Mais be-pflanztem Boden auf N₂O und N₂ Freisetzung aus ¹⁵N-Nitrat; Kontinuierliche Redoxpotentialmessung in verschiedenen Bodentiefen, Mitteilgn. Dtsch. Bodenkundl. Gesellsch. 56, 283-288.
- Henze, M., P. Harremoes, J.C. Jansen und E. Arvin: 1993, Wastewater treatment (Springer-Verlag).
- Höfer, M.: 1993, Diplomarbeit : Untersuchungen zum Einfluß verschiedener Bodenparameter auf die N₂O-Bildung in Löß-Schwarzerdeböden mittels der ¹⁵N-Tracertechnik und GC-QMS-Kopplung, UFZ Leipzig-Halle, Sektion Bodenforschung.
- Hooper, A.B. und K.R. Terry: 1979, Hydroxylamine oxidoreductase of nitrosomonas, production of nitric oxide from hydroxylamine, Biochimica et Biophysica Acta 571, 12-20.
- Hutchinson, G.L. und E.A. Davidson: 1993 a, Processes for production and consumption of gaseous nitrogen oxides in soil, In: Agricultural ecosystem effects on trace gases and global climate change, by Am. Soc. Agr., Crop Sci. Soc. Am., Soil Sci. Soc. Am., 79-93.
- Hutchinson, G.L., W.D. Guenzi und G.P. Livingston: 1993 b, Soil water controls on aerobic soil emission of gaseous nitrogen oxides, Soil Biol. Biochem. 25, 1, 1-9.
- Ingraham, J.L.: 1981, Microbiology and genetics of denitrifiers, In: Denitrification, nitrification, and atmospheric nitrous oxide (John Wiley&Sons, New York), 45-53.
- Isermann, K.: 1991, Territorial, continental and global aspects of C, N, P and S emission from agricultural ecosystems, NATO Advanced Research Workshop (ARW) on "Interactions of C, N, P and S biochemical cycles".
- Isermann, K.: 1993, Anteile der Landwirtschaft an der Emission klimarelevanter Spurengase - ursachenorientierte und hinreichende Lösungsansätze, Mitteilungen der Dt. Bodenkundlichen Gesellschaft 69, 231-238.
- Isermann, K.: 1994, Agriculture's share in the emission of trace gases affecting the climate and some cause-oriented proposals for sufficiently reducing this share, Environmental Pollution 83, 95-111.
- Jahresbericht 1992 des Umweltbundesamtes: 10. Schutz der Erdatmosphäre, 149-152.

- Johansson, C. und I.E. Galbally: 1984, Production of nitric oxide in loam aerobic and anaerobic conditions, *Appl. Environ. Microbiol.* 47, 1284-1289.
- Keeley, D.R. und D.W. Nelson: 1982, Nitrogen - Inorganic forms ; In: A.L. Page et al. (ed.): *Methods of soil analysis, Part 2: Chemical and Microbiological Properties*, Agronomy Monogr. 9, Madison, WI, USA.
- Keller, M. und W.A. Reiners: 1994, Soil-atmosphere exchange of nitrous oxide, nitric oxide and methane under secondary succession of pasture to forest in the Atlantic lowlands of Costa Rica, *Global Biogeochemical cycles* 8, 4, 399-409.
- Kleber, H.-P. und D. Schlee: 1988, *Biochemie II*, VEB Gustav Fischer Verlag Jena.
- Kralova, M., P.H. Masscheleyn, C.W. Lindau und W.H. Patrick Jr.: 1992, Production of dinitrogen and nitrous oxide in soil suspensions as affected by redoxpotential, *Water Air Soil Pollution* 61, 37-45.
- Krämer, M. und R. Conrad: 1991, Influence of oxygen on production and consumption of nitric oxide in soil, *Biol. Fertil. Soils* 11, 38-42.
- Kroneck, P.M.H. und W.G. Zumft: 1990, Bio-Inorganic aspects of denitrification: structures and reactions of N_2O_x compounds and their interaction with iron and copper proteins, In: *Denitrification in soil and sediment* (ed. by N.P. Revsbech and J. Sorensen), FEMS Symposium No. 56, 1-20.
- Letey, J., W.A. Jury, A. Heidas und N. Valoras: 1980, Gas diffusion as a factor in laboratory incubation studies on denitrification, *J. Environ. Qual.* 9, 223-227.
- Lippold, H., I. Förster und W. Matzel: 1989, Messung der potentiellen Denitrifikations-aktivität in Proben von Ackerböden unter den Temperaturbedingungen der Wintermonate mit Hilfe der ^{15}N -Gasanalyse, *Arch. Acker-Pflanzenbau Bodenkunde (Berlin)* 33 (6), 343-348.
- Lipschultz, F., O.C. Zafiriou, S.C. Wofsy, M.B. McElroy, F.W. Valois und S.W. Watson: 1981, Production of NO and N_2O by soil nitrifying bacteria, *Nature* 294, 641-643.
- Lloyd, D.: 1993, Aerobic denitrification in soils and sediments: from fallacies to facts, *TREE* 8, 10, 352-356.
- Mansfeldt, T.: 1993, Redoxpotentialmessungen mit dauerhaft installierten Platinelektroden unter reduzierenden Bedingungen, *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.* 156, 287-292.
- Martikainen, P.J., M. Lehtonen, K. Lang, W. DeBoer und A. Ferm: 1993, Nitrification and nitrous oxide production potentials in aerobic soil samples from the soil profile of a Finnish coniferous site receiving high ammonium deposition; *FEMS Microbiology Ecology* 13, 113-122.
- Martius, G.G.S., A. Wießner und U. Stottmeister: 1996, Degradation efficiency and molecular size alteration during the aerobic microbial treatment of lignite pyrolysis deposit water, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 45, 692-699.
- Meier, G.: 1986, Emissionsspektrometrische ^{15}N -Analytik 1985, *Isotopenpraxis* 22, 181-184.
- Mosier, A.R. und O. Heinemeyer: 1985, Current methods used to estimate N_2O and N_2 emissions from field soils, In: *Denitrification in the nitrogen cycle*, eds. by Han L. Golterman, 79-99.
- Mulvaney, R.L. und L.T. Kurtz: 1984, Evolution of dinitrogen and nitrous oxide from nitrogen-15 fertilized soil cores subjected to wetting and drying cycles, *Soil Sci. Soc. Am. J.* 48, 596-602.
- Mummey, D.L., J.L. Smith und H. Bolton: 1994, Nitrous oxide flux from a shrub-steppe ecosystem: sources and regulation, *Soil Biol. Biochem.* 26, 2, 279-286.
- Munch, J.C. und J.C.G. Ottow: 1987, Einfluß von Bodenfeuchte und Sauerstoff auf die Lachgasbildung denitrifizierender Bakterien, *Mitteiln. Dtsch. Bodenkundl. Gesellsch.* 55/II, 505-510.
- Myrold, D.D. und J.M. Tiedje: 1986, Simultaneous estimation of several nitrogen cycle rates using ^{15}N : theory and application, *Soil Biol. Biochem.* 18, 6, 559-568.

- Neiman, M.B. und D. Gal: 1971, *The Kinetic Isotope Method and its Application*, Akademiai Kiado.
- Nommik, H. und K. Larsson: 1989, Measurements of denitrification rate in undisturbed soil cores under different temperature and moisture conditions using ^{15}N tracer technique: 1. Experimental, 2. Factors affecting denitrification, *Swedish J. agric. Res.* 19, 29-44.
- Nommik, H., D.J. Pluth und J. McIn: 1984, Dissimilatory reduction of ^{15}N -labelled nitrate in the presence of nonlabeled NO or N_2O , *Can. J. Soil Sci.* 64, 21-29.
- Ottow, J.C.G.: 1990, Effect of oxygen on bacterial denitrification (aerobic denitrification), *Agrokemia es Talajtan* 39 (3-4), 301-308.
- Ottow, J.C.G.: 1992, Denitrifikation, eine kalkulierbare Größe in der Stickstoffbilanz von Böden ?, *Wasser und Boden* 9, 578-581.
- Parkin, T.B., H.F. Kaspar, A.J. Sexstone und J.M. Tiedje: 1984, A gas-flow soil core method to measure field denitrification rates, *Soil Biol. Biochem.* 16, 4, 323-330.
- Payne, W.J.: 1981, The status of nitric oxide and nitrous oxide as intermediates in denitrification, In: *Denitrification, nitrification, and atmospheric nitrous oxide* (John Wiley&Sons, New York), 85-103.
- Payne, W.J.: 1985, Diversity of denitrifiers and their enzymes, In: *Denitrification in the nitrogen cycle* (Plenum press, New York), 47-65.
- Pennington, P.J. und R.C. Ellis: 1993, Autotrophic and heterotrophic nitrification in acidic forest and native grassland soils, *Soil Biol. Biochem.* 25, 10, 1399-1408.
- Poth, M.: 1986, Dinitrogen production from nitrite by a *Nitrosomonas* Isolate, *Appl. Environ. Microbiol.* 52, 957-959.
- Poth, M. und D.D. Focht: 1985, ^{15}N -Kinetic analysis of N_2O production by *Nitrosomonas europaea*: an examination of nitrifier denitrification, *Applied and Environmental Microbiology* 49 (5), 1134-1141.
- Remde, A., F. Slemr und R. Conrad: 1989, Microbial production and uptake of nitric oxide in soil, *FEMS Microbiology Ecology* 62, 221-230.
- Remde, A. und R. Conrad: 1991, Metabolism of nitric oxide in soil and denitrifying bacteria, *FEMS Microbiology Ecology* 85, 81-94.
- Rheinbaben, W. von: 1990, Nitrogen losses from agricultural soils through denitrification- a critical evaluation, *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.*, 153, 157-166.
- Robertson, G.P.: 1993, Fluxes of nitrous oxide and other nitrogen trace gases from intensively managed landscapes: a global perspective, In: *Agricultural ecosystem effects on trace gases and global climate change*, by Am. Soc. Agr., Crop Sci. Soc. Am., Soil Sci. Soc. Am., 95-108.
- Robertson, K.: 1994, Nitrous oxide emission in relation to soil factors at low to intermediate moisture levels, *J. Environ. Qual.* 23, 805-809.
- Robertson, L.A. und J.G. Kuenen: 1984, Aerobic denitrification: a controversy revived, *Arch. Microbiol.* 139, 351-354.
- Rudaz, A.O., Davidson, E.A. und Firestone, M.K.: 1991, Sources of nitrous oxide production following wetting of dry soil, *FEMS Microbiology Ecology* 85, 117-124.
- Russow, R. und H. Faust: 1988, Trennung von Ammonium-, Nitrit- und Nitrat-Stickstoff für die ^{15}N -Analytik, *Isotopenpraxis* 25, 8, 352-354.
- Russow, R. und H. Förstel: 1993, Use of GC-QMS for stable isotopes analysis of environmentally relevant main and trace gases in the air, *Isotopes Environ. Health Stud.* 29, 327-334.
- Russow, R., M. Höfer und H. Faust: 1994, ^{15}N -Traceruntersuchungen zum Mechanismus der N_2O -Bildung in Böden, *Isotopes Environ. Health Stud.*, Vol. 30, 157-164.

- Russow, R., I. Sich und H. Förstel: 1995 a, A GC-QMS aided incubation system for trace gas studies in soils using stable isotopes, IAEA, Vienna, 63-72.
- Russow, R., I. Sich und R.J. Stevens: 1995 b, Fast and highly selective ^{15}N analysis of ^{15}N enriched nitrite in water samples and soil extracts by reaction continuous flow mass spectrometer, *Isotopes Environ. Health Stud.* 32, 2-3, 308.
- Russow, R., G. Schmidt und H. Faust: 1995 c, Elemental analyzer-quadrupole MS coupling - a low cost equipment for the simultaneous determination of carbon/ ^{13}C and nitrogen/ ^{15}N in isotopically enriched soil and plant samples, *Isotopes Environ. Health Stud.* 31, 211-218.
- Russow R., R.J. Stevens und R. Laughlin: 1995 d, Accuracy and precision for measurements of the mass ratio 30/28 in dinitrogen from air samples, and its application to the investigation of N losses from soil by denitrification. *Isotopes Environ. Health Stud.*, In press.
- Ruz-Jerez, B.E., R.E. White und P.R. Ball: 1994, Long-term measurement of denitrification in three contrasting pastures grazed by sheep, *Soil Biol. Biochem.* 26, 1, 29-39.
- Ryden, J.C. und L.J. Lund: 1980, Nature and extent of directly measured denitrification losses from some irrigated vegetable crop production units, *Soil Sci. Soc. Am. J.* 44, 505-511.
- Saad, O.A.L.O. und R. Conrad: 1993, Temperature dependence of nitrification, denitrification, and turnover of nitric oxide in different soils, *Biol. Fertil. Soils* 15, 21-27.
- Sauerbeck, D. und K. Isermann: 1993, Herkunft und Strategien zur Verminderung der Emission von klimarelevanten Spurengasen - Bereich Land- und Forstwirtschaft, 7. Mühlheimer wassertechnisches Seminar, IWW-Schriftenreihe, Rhein.-Westfäl. Inst. f. Wasserchemie und Wassertechnol., Mülheim/ Ruhr, 1-27.
- Schäfer, F. und R. Conrad: 1993, Metabolism of nitric oxide by *Pseudomonas stutzeri* in culture and in soil; *FEMS Microbiology Ecology* 102, 119-127.
- Scharf, H.: 1988, 100 Jahre Kjeldahl-Aufschluß zur Stickstoffbestimmung, *Arch. Acker-Pflanzenbau Bodenk.* 32, 5, 321-332.
- Scheffer, F., P. Schachtschabel, H.-P. Blume, K.-H. Hartge und U. Schwertmann: 1984, *Lehrbuch der Bodenkunde*, Ferdinand Enke Verlag Stuttgart.
- Schroeder, E.D.: 1981, Denitrification in wastewater management, In: *Denitrification, nitrification, and atmospheric nitrous oxide* (John Wiley & Sons, New York), 105-125.
- Schröder, E.: 1991, *Massenspektrometrie- Begriffe und Definitionen*, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg.
- Schuster, M. und R. Conrad: 1992, Metabolism of nitric oxide and nitrous oxide during nitrification and denitrification in soil at different incubation conditions, *FEMSEC* 101, 133-143.
- Sich, I. und R. Russow: 1996, ^{15}N -Analytik des NO und N_2O in Luft, Poster Jahrestagung der ASI, Berlin 1996.
- Seiler, W. und R. Conrad: 1981 a, Mikrobielle Bildung von N_2O (Distickstoffoxid) aus Mineraldüngern - ein Umweltproblem ?, *forum mikrobiologie* 6, 322-328.
- Seiler, W. und R. Conrad: 1981 b, Field measurements of natural and fertilizer-induced N_2O release rates from soil, *J. of the Air Pollution Control Association*, Vol. 31, No. 7, 767-772.
- Siegel, R.S., R.D. Hauck und L.T. Kurtz: 1982, Determination of $^{30}\text{N}_2$ and application to measurements of N_2 evolution during denitrification, *Soil Sci. Soc. Am. J.* 46, 68-74.
- Simarmata, T., G. Benckiser und J.C.G. Ottow: 1991, Influence of the carbon-nitrate ratio on the efficiency of N_2O reductase inhibition by acetylene in soil, *VDLUFA-Schriftenreihe* 33, 622-627.

- Simarmata, T., G. Benckiser und J.C.G. Ottow: 1995, Effect of an increasing carbon:nitrate-N ratio on the reliability of acetylene in blocking the N_2O -reductase activity of denitrifying bacteria in soil, *Biol. Fertil. Soils* 15, 107-112.
- Sitaula, B.K. und L.R. Bakken: 1993, Nitrous oxide release from spruce forest soil : relationship with nitrification, methane uptake, temperature, moisture and fertilization, *Soil Biol. Biochem.* 25, 10, 1415-1421.
- Skiba, U., K.J. Hargreaves, D. Fowler und K.A. Smith: 1992, Fluxes of nitric and nitrous oxides from agricultural soils in a cool temperate climate, *Atmospheric Environment* 26A, 2477-2488.
- Skiba, U., K.A. Smith und D. Fowler: 1993, Nitrification and denitrification as sources of nitric oxide and nitrous oxide in a sandy loam soil, *Soil Biol. Biochem.* 25, 11, 1527-1536.
- Stevens, R.J., R. Laughlin, G.J. Atkins und S.J. Prosser: 1993, Automated determination of nitrogen-15-labelled dinitrogen and nitrous oxide by mass spectrometry, *Soil Sci. Soc. Am. J.* 57, 981-988.
- Stevens, R.J. und R. Laughlin: 1994, Determining nitrogen-15 in nitrite or nitrate by producing nitrous oxide, *Soil Sci. Soc. Am. J.* 58, 1108-1116.
- Stroppe, H., W. Herms, H. Langer, J. Lauckner und J. Zeitler: 1988, Physik für Studenten der Natur- und Technikwissenschaften, VEB Fachbuchverlag Leipzig.
- Thiemens, M.H. und W.C. Trogler: 1991, Nylon production: an unknown source of atmospheric nitrous oxide, *Science* 5, 932-934.
- Tortoso, A.C. und G.L. Hutchinson: 1990, Contributions of autotrophic and heterotrophic nitrifiers to soil NO and N_2O emissions, *Appl. Environ. Microbiol.* 56, 6, 1799-1805.
- VanCleeput, O. und L. Baert: 1984, Nitrite: a key compound in N loss processes under acid conditions, *Plant and Soil* 76, 233-241.
- Weier, K.L., J.W. Doran, J.F. Power und D.T. Walters: 1993 a, Denitrification and the dinitrogen/nitrous oxide ratio as affected by soil water, available carbon and nitrate, *Soil Sci. Soc. Am. J.* 57, 66-72.
- Weier, K.L., I.C. MacRae und R.J.K. Myers: 1993 b, Denitrification in a clay soil under pasture and annual crop : estimation of potential losses using intact soil cores, *Soil Biol. Biochemie* 25, 8, 991-997.
- Weier, K.L., I.C. MacRae und R.J.K. Myers: 1993 c, Denitrification in a clay soil under pasture and annual crop : losses from ^{15}N -labelled nitrate in the subsoil in the field using C_2H_2 inhibition, *Soil Biol. Biochemie* 25, 8, 999-1004.
- Wiesmann, U.: 1994, Biological nitrogen removal from wastewater, *Advances in Biochemical Engineering Biotechnology*, Vol. 51, 114-154.
- Wießner, A., P. Kusch, E. Weißbrodt, U. Stottmeister, J. Pörschmann und F.-D. Kopinke: 1993, Charakterisierung des Wassers und des Sedimentes einer Braunkohle-Schmelzwasserdeponie, *WAP Wasser Abwasser Praxis* 6/93, 375-379.
- Wießner, A., P. Kusch, G. Martius, F. Eismann, A. Zehndorf, E. Weißbrodt und U. Stottmeister: 1994, Abbaubarkeit von Schadstoffen im Braunkohlepyrolyse-Altwasser, *WAP Wasser Abwasser Praxis* 4/94, 44-47.
- Wilk, M. und H. Schubert: 1996, Mikrobielle Denitrifikation in einem Membran-Bioreaktor mit hoher Zelldichte, *VDI Jahrbuch 1996*, VDI Gesellschaft Verfahrenstechnik und Chemieingenieurwesen, 43-64.
- Williams, E.J., G.L. Hutchinson und F.C. Fehsenfeld: 1992, NO_x and N_2O emissions from soil, *Global Biogeochemical Cycles* 6, 4, 351-388.
- Ye, R.W., B.A. Averill und J.M. Tiedje: 1994, Denitrification: Production and consumption of nitric oxide. *Applied and Environmental Microbiology* 60, 1053-1058.

Zafiriou, O.C., Q.S. Hanley und G. Snyder: 1989, Nitric oxide and nitrous oxide production and cycling during dissimilatory nitrite reduction by *pseudomonas perfectomarina*, J. of Biol. Chem. 264, 10, 5694-5699.

Zumft, W.G. und J. Cardenas: 1979, The inorganic Biochemistry of nitrogen bioenergetic Processes, Naturwissenschaften 66, 81-88.

Anhang

Anhang A	Modellsystem	i
Anhang B	Abwasser	iv
Anhang C	Boden	v

Tabelle A.1: Versuch zur Nitrifikation im Modellsystem mit [¹⁵N]Ammonium

Dauer (h)	N _{am} -Konzentration (mgN/l-fl.)			Emissionsraten (µgN/l-vol.*l-fl.)		a' (At.-%)					RP (mV)
	Am	Nat	Nit	N ₂ O	NO	Am	Nat	Nit	N ₂ O	NO	
0	47,88	24,81	1,23	0,16	0,04	9,034	0,038	0,754	5,088	1,078	210
20,7	44,80	25,48	3,36	0,10	0,05	9,075	0,204	7,554	4,889	1,494	251
42,8	38,50	27,67	6,77	1,78	0,07	9,050	1,057	8,544	2,093	5,962	268
66,8	28,98	31,72	12,10	3,79	0,21	8,897	2,327	8,824	3,839	8,338	272
90,8	13,72	38,65	18,75	5,62	0,24	8,802	3,775	9,264	4,899	6,879	272
115,8	1,96	59,27	10,17				5,342	9,014			322
139,8	2,52	68,63	1,65	9,02	0,06		6,255	7,594	6,737	1,823	330
162,8	1,96	69,87	0,13	3,44	0,04	1,092	5,965	6,264	6,340	0,104	333
165,8	1,68	69,43	0,01			0,376	5,971				332

Tabelle A.2: Versuch zur Nitrifikation im Modellsystem mit [¹⁵N]Nitrit

Dauer (h)	N _{am} -Konzentration (mgN/l-fl.)			Emissionsraten (µgN/l-vol.*l-fl.)		a' (At.-%)				RP (mV)
	Am	Nat	Nit	N ₂ O	NO	Am	Nat	Nit	N ₂ O	
0	50,68	24,10	1,09	1,30	0,05	0,039	0	41,954	3,243	228
21,7	47,32	24,54	2,62	0,28	0,05	0,016	0,116	15,414	2,392	242
44,3	40,18	23,94	9,94	0,26	0,07	0,029	0,264	3,514	1,744	261
68,3	30,52	25,50	17,62	2,55	0,09	0,033	0,396	1,754	1,327	262
94,3	13,16	26,59	32,49	4,11	0,17	0,047	0,474	0,874	1,112	271
100,9	7,84	26,52	36,20			0,079	0,503	0,744		275
116,3	0,84	32,35	37,93	8,02	0,02	0,065	0,540	0,614	0,919	274
122,3	0,003	34,94	35,34	11,75	0,06	0,052	0,501	0,644	0,842	270
140,3	0,003	39,91	30,37	7,59	0,05		0,556	0,604	0,873	313
145,8	0	42,25	28,03	7,89	0,20		0,546	0,634	0,815	311
171,7	0	53,87	16,41				0,565	0,634		320
192,8	0	60,68	9,60	12,63	0,10		0,576	0,614	0,874	321
212,3	0	66,82	2,62	9,65	0,05		0,579	0,634	0,855	324
236,3	0	66,84	0,92	5,30	0,08		0,592	0,684	0,874	330

Tabelle A.3: Versuch zur Nitrifikation im Modellsystem mit [¹⁵N]Nitrat

Dauer (h)	N _{am} -Konzentration (mgN/l-fl.)			Emissionsraten (µgN/l-vol.*l-fl.)		a' (At.-%)					RP (mV)
	Am	Nat	Nit	N ₂ O	NO	Am	Nat	Nit	N ₂ O	NO	
0	50,68	22,67	1,27	0,32	0,17	0,041	34,425	16,474	1,843	10,020	214
21,8	47,04	22,52	2,12	0,12	0,06	0,049	34,602	11,814	20,745	8,174	238
45,8	45,36	22,09	3,67	0,20	0,06	0,062	35,286	5,744	19,180	5,942	259
75,8	40,74	20,40	8,86	0,29	0,05	0,079	37,059	2,934	19,132	0,666	284
117,8	28,56	24,37	17,21	2,08	0,16	0,073	32,277	1,648	20,262	1,001	291
141,8	21,98	26,62	20,98	3,14	0,22	0,154	28,349	1,434	20,043	1,817	275
165,8	12,18	32,48	24,92	3,30	0,31	0,145	23,200	1,214	16,444	0,986	274
170,8	9,10	31,94	25,46	4,16	0,22	0,161	22,898	1,994	14,360	1,129	272
189,8	0,70	43,22	25,24	8,00	0,17	2,670	17,559	1,474	13,515		275
213,8	0,28	55,52	11,13	8,82	0,07	3,555	12,836	5,564	12,684		328
239,5	0	64,37	0,45	19,15	0,05		11,630	11,764	12,608		329
285,8	0	66,47	0,03	0,26	0,04		11,693	11,800	9,083		363

Tabelle A.4: Versuch zur Denitrifikation im Modellsystem mit [¹⁵N]Ammonium

Dauer (h)	N _{an} -Konzentration (mgN/l-fl.)			Emissionsraten (µgN/l-vol.*l-fl.)		a' (At.-%)					RP (mV)
	Am	Nat	Nit	N ₂ O	NO	Am	Nat	Nit	N ₂ O	NO	
0	24,64	49,61	1,21	1,09	0,24	46,684	0,024	0,715	5,978	15,565	307
5,4	24,36	48,63	1,35	3,18	0,48	46,687	0,065	3,462	1,460	4,993	188
21,8	22,96	41,16	3,78	0,92	0,61	46,377	0,115	0,955	0,676	1,294	58
26,9	21,56	32,94	7,52	1,08	0,77	45,427	0,130	0,433	0,472	0,539	34
30,8	19,18	22,29	11,59	1,96	1,30	44,677	0,073	0,327	0,346	0,390	8
35,7	14,56	1,20	11,82	2,61	1,63	44,754		0,350	0,404	0,417	-17
45,8	13,72	0	0,05	0,04	0,23	43,230		11,130	6,330	3,633	-155

Tabelle A.5: Versuch zur Denitrifikation im Modellsystem mit [¹⁵N]Nitrit

Dauer (h)	N _{an} -Konzentration (mgN/l-fl.)			Emissionsraten (µgN/l-vol.*l-fl.)		a' (At.-%)					RP (mV)
	Am	Nat	Nit	N ₂ O	NO	Am	Nat	Nit	N ₂ O	NO	
0	24,08	47,62	0,82	1,15	0,09	0,021	0,203	86,271	34,467	50,840	336
5	22,96	47,58	1,28	9,31	0,35	0,030	0,233	52,792	7,848	37,543	212
23	22,12	39,95	3,45	0,95	0,54	0,034	0,108	8,378	6,301	6,338	74
29	19,04	32,33	4,63	1,51	1,02	0,036	0,169	1,880	1,513	1,677	44
48,8	12,88	0	0,004	0,05	0,09	0,055		5,764	0,961	3,870	-100
71	12,04	0	0,004	0,03	0,10	0,072		3,129	1,044	3,847	-161

Tabelle A.6: Versuch zur Denitrifikation im Modellsystem mit [¹⁵N]Nitrat

Dauer (h)	N _{an} -Konzentration (mgN/l-fl.)			Emissionsraten (µgN/l-vol.*l-fl.)		a' (At.-%)					RP (mV)
	Am	Nat	Nit	N ₂ O	NO	Am	Nat	Nit	N ₂ O	NO	
0	25,20	50,98	1,10	1,47	0	0,054	66,898	46,099	50,556		320
5	23,52	48,75	1,79	3,09	0,26	0,149	67,048	51,505	64,432	48,021	197
22	22,82	44,84	1,50	0,54	0,39	0,369	65,596	64,715	65,775	62,146	60
27	21,14	33,48	2,64	0,80	0,66	0,462	67,038	65,596	68,157	65,218	30
31	18,06	22,49	1,45	1,22	0,75	0,604	66,085	67,434	66,969	65,668	10
34,8	13,72	3,95	0,39	1,01	0,97	0,705		65,747	67,576	65,928	-10
35,8	12,88	0,46	0,04			0,727		25,338			-24
46	12,88	0	0,03	0,04	0,15	0,892		3,437	30,065	44,479	-135

Tabelle A.7: Versuch zur Nitrifikation im Modellsystem, ^{15}N -Häufigkeiten des Distickstoffmonoxids berechnet aus der nichtstatistischen und statistischen ^{15}N -Verteilung (Gl. 12 und 13)

^{15}N Ammonium			^{15}N Nitrit			^{15}N Nitrat		
Zeit (h)	nichtstat.	stat.	Zeit (h)	nichtstat.	stat.	Zeit (h)	nichtstat.	stat.
0	5,088	4,864	0	3,243	2,958	0	1,843	1,506
20,7	4,889	4,128	21,67	2,392	2,163	21,75	20,745	16,944
42,8	2,093	1,837	44,34	1,744	1,565	45,75	19,180	15,505
66,8	3,839	3,607	68,34	1,327	1,128	75,75	19,132	16,036
90,8	4,899	4,677	94,34	1,112	0,911	117,75	20,262	19,486
115,8			100,92			141,75	20,043	19,242
139,8	6,737	6,575	116,34	0,919	0,706	165,75	16,444	15,615
162,8	6,340	6,175	122,34	0,842	0,633	170,75		
165,8			140,34	0,873	0,658	189,75	13,515	13,162
			145,84	0,815	0,606	213,75	12,684	12,456
			171,67			239,50	12,608	12,445
			192,84	0,874	0,662	285,75	9,083	8,597
			212,34	0,855	0,642			
			236,34	0,874	0,659			

Tabelle B.1: Versuch zur Nitrifikation im Abwasser mit [^{15}N]Ammonium

Dauer (h)	N _{an} -Konzentration (mgN/l-fl.)			Emissionsraten ($\mu\text{gN/l-vol.} \cdot \text{l-fl.}$)		a' (At.-%)					RP (mV)
	Am	Nat	Nit	N ₂ O	NO	Am	Nat	Nit	N ₂ O	NO	
0	29,12	167,48	0,22			9,525	0,110	2,914			213
3	28,00	167,69	1,11	0,02	1,02	9,466	0,098	6,374	4,393	6,615	240
21	20,30	169,11	5,34	4,45	0,36	9,428	0,271	8,524	1,814	8,262	258
27	15,40	162,14	8,66	0,02	1,68	9,059	0,291		7,256	8,579	259
45	7,21	171,32	9,98	0,01	3,02	9,164	0,646	8,594	5,100	8,433	260
51	3,08	175,30	11,15	0,60	0,32	8,108	0,808	8,524	5,808	8,837	261
69	0,49	180,38	6,42	0,42	0,01	0,969	1,200	6,254	2,117	6,271	261
75	0,44	183,97	2,18	0,14	0,01	0,600	1,399	5,694	2,489	4,773	272
93	0,70	186,71	0,04	0,09	0	0,839	1,389		1,370	4,166	273
99	0,21	187,60	0	0,01	0	1,684	1,379		0,055		273

Tabelle B.2: Versuch zur Denitrifikation im Abwasser mit [^{15}N]Nitrat

Dauer (h)	N _{an} -und N ₂ -Konzentration (mg N/Ansatz)				N ₂ O ($\mu\text{g N/}$ Ansatz)	a' (At.-%)					RP (mV)
	Am	Nat	Nit	N ₂		Am	Nat	Nit	N ₂ O	N _{2 gem}	
0	128,60	73,91		0	0	0,124	10,369				
2	122,95	66,89	6,10	0,72	4,55	0,104	10,401	11,303	7,726	0,209	-66
23,5	116,59	51,40	15,19	25,18	25,61	0,054	10,205	10,883	10,875	1,936	-76
49,5	105,81	11,59	15,11	74,63	5,11	0,069	9,146	11,380	8,788	3,083	-118
71,5	102,30	0	0	63,75	0	0,059				2,555	-125

Tabelle C.1: ^{15}N -Tracerversuch zu den N-Transformationsprozessen im Boden unter wasserungesättigten Bedingungen mit [^{15}N]Ammonium

Dauer (d)	N _{an} -Konzentration (mg N/kg B)			Emissionsraten ($\mu\text{gN/kg B}\cdot\text{h}$)		a' (At.-%)				
	Am ± ST	Nat ± ST	Nit ± ST	N ₂ O ± ST	NO ± ST	Am ± ST	Nat ± ST	Nit ± ST	N ₂ O ± ST	NO ± ST
0	103,53 ±1,87	48,22 ±0,84	5,31 ±0,45			43,980 ±0,128	0,036 ±0,006	0,714 ±0,099		
0,06	107,24 ±0	50,20 ±0	5,16 ±0	0,51 ±0	5,40 ±0	44,526 ±0	0,078 ±0	2,004 ±0	4,252 ±0	3,296 ±0
0,16	104,14 ±0	49,80 ±0	5,55 ±0	0,61 ±0	1,36 ±0	44,101 ±0	0,172 ±0	3,414 ±0	5,492 ±0	5,928 ±0
0,23	104,50 ±0	51,04 ±0	5,78 ±0	2,32 ±0	8,96 ±0	44,087 ±0	0,329 ±0	4,694 ±0	6,142 ±0	6,932 ±0
1	92,20 ±2,63	60,14 ±1,75	6,37 ±0,89	1,50 ±0,25	10,32 ±0,10	44,389 ±0,086	2,283 ±0,407	17,924 ±1,330	15,111 ±1,080	16,766 ±0,612
2	79,78 ±0,99	74,96 ±0,99	2,39 ±0,25	1,66 ±0,56	4,16 ±0,54	44,589 ±0,060	7,071 ±0,371	36,227 ±1,509	21,688 ±1,147	29,264 ±0,553
4	57,49 ±2,39	105,90 ±1,04	0,31 ±0,01	2,11 ±0,51	1,91 ±0,09	42,523 ±0,108	14,936 ±0,041	30,087 ±1,596	15,517 ±0,534	30,447 ±0,223
8	7,37 ±1,27	160,30 ±4,08	0,17 ±0,01	5,28 ±0,62	1,18 ±0,15	38,522 ±0,444	22,546 ±0,239	18,094 ±2,417	22,304 ±0,652	27,610 ±0,196
11	1,83 ±0,30	177,57 ±2,73	0,11 ±0,01	5,70 ±1,70	0,36 ±0,05	17,296 ±2,431	22,515 ±0,188	7,794 ±0,792	22,084 ±0,463	11,728 ±0,351
16	0,33 ±0,21	186,23 ±1,30	0,12 ±0,01	6,58 ±1,25	0,17 ±0,09	1,473 ±0,064	21,677 ±0,049	10,554 ±0,319	20,994 ±0,097	9,142 ±0,257

Tabelle C.2: ^{15}N -Tracerversuch zu den N-Transformationsprozessen im Boden unter wasserungesättigten Bedingungen mit [^{15}N]Nitrit

Dauer (d)	N _{an} -Konzentration (mg N/kg B)			Emissionsraten ($\mu\text{gN/kg B}\cdot\text{h}$)		a' (At.-%)				
	Am ± ST	Nat ± ST	Nit ± ST	N ₂ O ± ST	NO ± ST	Am ± ST	Nat ± ST	Nit ± ST	N ₂ O ± ST	NO ± ST
0	107,01 ±0,79	47,73 ±3,20	10,99 ±0,45			0,029 ±0,015	0,223 ±0	49,974 ±0,441		
1	96,05 ±0,96	54,80 ±0,67	8,65 ±0,06	2,80 ±1,36	27,29 ±3,04	0,058 ±0,004	5,489 ±0,119	12,757 ±0,823	10,159 ±1,04	11,711 ±0,626
2	82,96 ±0,75	67,76 ±0,57	4,46 ±0,37	0,80 ±0,30	16,61 ±0,96	0,085 ±0,017	5,496 ±0,036	3,074 ±0,365	3,671 ±0,28	3,395 ±0,474
3	69,86 ±3,57	80,13 ±1,19	1,13 ±0,11	1,10 ±0,46	7,58 ±0,12	0,084 ±0,008	4,688 ±0,170	1,514 ±0,071	2,863 ±0,35	1,803 ±0,153
4	62,74 ±0,77	95,80 ±0,39	0,74 ±0,02	1,22 ±0,26	3,77 ±0,01	0,097 ±0,001	4,089 ±0,031	0,547 ±0,352	2,848 ±0,28	1,185 ±0,045
8	8,40 ±0,30	163,96 ±4,88	0,12 ±0,01	3,25 ±1,19	2,27 ±0,13	0,226 ±0,038	2,635 ±0,013	1,597 ±0,364	2,540 ±0,12	1,397 ±0,007
11	1,40 ±0,56	175,58 ±1,26	0,12 ±0,005	3,35 ±2,39	2,16 ±0,07		2,433 ±0,009	2,634 ±0,599	2,352 ±0,07	1,614 ±0,389
14	1,32 ±0,44	179,01 ±2,17	0,16 ±0,01			0,130 ±0,041	2,354 ±0,021	2,594 ±0,722		

Tabelle C.3: ^{15}N -Tracerversuch zu den N-Transformationsprozessen im Boden unter wasserungesättigten Bedingungen mit [^{15}N]Nitrat

Dauer (d)	N _{an} -Konzentration (mg N/kg B)			Emissionsraten ($\mu\text{gN/kg B}\cdot\text{h}$)		a' (At.-%)				
	Am ± ST	Nat ± ST	Nit ± ST	N ₂ O ± ST	NO ± ST	Am ± ST	Nat ± ST	Nit ± ST	N ₂ O ± ST	NO ± ST
0	109,86 ±2,61	54,28 ±0,60	6,08 ±0,53			0,008 ±0,004	29,686 ±0,784	6,794 ±0,051		
0,09	111,81 ±0	56,48 ±0	5,12 ±0	1,43 ±0	5,68 ±0	0,008 ±0	28,926 ±0	8,564 ±0	5,187 ±0	5,828 ±0
0,17	109,99 ±0	57,53 ±0	4,22 ±0	2,05 ±0	7,16 ±0	0,016 ±0	28,239 ±0	9,434 ±0	11,713 ±0	6,754 ±0
0,24	108,52 ±0	57,22 ±0	4,90 ±0	1,30 ±0	5,65 ±0	0,016 ±0	28,363 ±0	9,714 ±0	6,263 ±0	7,377 ±0
1	98,17 ±3,30	69,69 ±1,30	1,56 ±0,25	0,98 ±0,16	3,81 ±0,60	0,041 ±0,007	23,532 ±0,856	12,781 ±0,576	11,005 ±1,70	10,301 ±0,313
3	76,68 ±1,81	97,71 ±0,31	0,29 ±0,01	1,10 ±0,16	2,08 ±0,11	0,079 ±0,011	17,638 ±0,133	5,921 ±0,500	12,161 ±1,47	4,816 ±0,273
6	38,61 ±0,96	140,01 ±0,59	0,25 ±0,02	2,37 ±1,09	1,41 ±0,12	0,172 ±0,020	12,456 ±0,125	4,711 ±0,309	10,059 ±0,63	3,361 ±0,122
10	2,45 ±0,07	189,11 ±4,17	0,17 ±0,01	3,53 ±2,82	0,39 ±0,06	0,406 ±0,048	9,615 ±0,176	4,547 ±0,400	8,549 ±1,30	2,022 ±0,104
15	0,85 ±0,17	182,82 ±4,02	0,14 ±0,01	3,02 ±1,72	0,11 ±0,01	0,330 ±0,140	9,030 ±0,038	4,091 ±0,371	8,787 ±0,23	
17	0,61 ±0,17	182,58 ±4,14	0,12 ±0,02	2,84 ±1,41	0,17 ±0,06	0,282 ±0,089	9,025 ±0,067	4,401 ±0,060	7,737 ±1,24	1,792 ±1,299

Tabelle C.4: ^{15}N -Tracerversuch zu den N-Transformationsprozessen im Boden unter wassergesättigten Bedingungen mit [^{15}N]Ammonium

Dauer (d)	N _{an} -Konzentration (mg N/kg B)			Emissionsraten ($\mu\text{gN/kg B}\cdot\text{h}$)		a' (At.-%)				
	Am ± ST	Nat ± ST	Nit ± ST	N ₂ O ± ST	NO ± ST	Am ± ST	Nat ± ST	Nit ± ST	N ₂ O ± ST	NO ± ST
0	54,12 ±2,16	116,17 ±5,80	4,28 ±0,21			55,615 ±0,648	0,033 ±0,014	0,819 ±0,102		
0,08	51,98 ±0	115,99 ±0	4,40 ±0	0,91 ±0	1,68 ±0	54,066 ±0	0,098 ±0	7,638 ±0	7,728 ±0	4,543 ±0
0,17	53,49 ±0,19	115,81 ±0,86	3,64 ±0,08	1,61 ±0	2,01 ±0	54,220 ±0,323	0,137 ±0,002	9,758 ±0,380	11,583 ±0	8,371 ±0
1	46,12 ±5,78	114,65 ±15,59	3,54 ±2,18	88,41 ±25,05	0,75 ±0,01	49,547 ±0,543	1,839 ±1,089	22,833 ±14,301	4,504 ±0,480	27,928 ±1,623
3	17,89 ±1,98	150,74 ±6,37	0,40 ±0,09	23,67 ±7,10	0,39 ±0,05	34,249 ±1,149	10,696 ±0,501	22,800 ±2,535	9,408 ±1,004	19,288 ±1,114
7	4,41 ±3,56	132,26 ±34,59	0,29 ±0,09	5,82 ±1,81	0,41 ±0,06	6,248 ±4,043	14,085 ±1,229	9,381 ±2,480	12,908 ±0,007	9,177 ±2,291
11	5,98 ±4,06	116,09 ±57,84	0,33 ±0,08	4,20 ±0,81	0,53 ±0,16	8,350 ±6,888	15,159 ±2,897	11,620 ±4,861	12,042 ±0,236	6,316 ±1,165
16	4,16 ±0,93	95,74 ±59,94	0,21 ±0,04	3,62 ±0,64	0,17 ±0,07	15,238 ±0	12,605 ±1,306	9,942 ±1,789	11,116 ±0,101	10,691 ±1,728

Tabelle C.5: ^{15}N -Tracerversuch zu den N-Transformationsprozessen im Boden unter wassergesättigten Bedingungen mit [^{15}N]Nitrit

Dauer (d)	N _{an} -Konzentration (mg N/kg B)			Emissionsraten ($\mu\text{gN/kg B}\cdot\text{h}$)		a' (At.-%)				
	Am $\pm$ ST	Nat $\pm$ ST	Nit $\pm$ ST	N ₂ O $\pm$ ST	NO $\pm$ ST	Am $\pm$ ST	Nat $\pm$ ST	Nit $\pm$ ST	N ₂ O $\pm$ ST	NO $\pm$ ST
0	45,49 $\pm 4,32$	84,28 $\pm 12,31$	6,38 $\pm 0,70$			0,031 $\pm 0,002$	0,047 $\pm 0,043$	24,285 $\pm 3,238$		
0,08	48,76 ± 0	86,04 ± 0	7,14 ± 0	1,10 ± 0	1,37 ± 0	0,038 ± 0	0,199 ± 0	20,920 ± 0	39,708 ± 0	30,027 ± 0
0,17	46,30 $\pm 0,94$	88,38 $\pm 4,68$	7,17 $\pm 0,06$	2,49 ± 0	0,54 ± 0	0,039 $\pm 0,003$	0,235 $\pm 0,036$	19,757 $\pm 0,952$	15,666 ± 0	35,889 ± 0
1	47,31 $\pm 3,74$	64,41 $\pm 11,86$	1,74 $\pm 0,70$	267,30 $\pm 51,46$	0,42 $\pm 0,05$	0,039 $\pm 0,004$	0,807 $\pm 0,055$	2,198 $\pm 1,045$	2,613 $\pm 0,865$	6,453 $\pm 2,121$
2	47,56 $\pm 2,80$	75,74 $\pm 2,43$	1,87 $\pm 0,59$	57,17 $\pm 3,29$	0,21 $\pm 0,07$	0,036 $\pm 0,001$	0,933 $\pm 0,084$	1,023 $\pm 0,110$	1,343 $\pm 0,001$	3,953 $\pm 0,929$
5	22,24 $\pm 4,99$	39,84 $\pm 22,44$	0,54 $\pm 0,08$			0,041 $\pm 0,002$	0,668 $\pm 0,164$	1,659 $\pm 0,279$		
7	18,96 $\pm 5,45$	54,48 $\pm 36,71$	0,45 $\pm 0,09$	1,43 ± 0		0,039 $\pm 0,011$	0,576 $\pm 0,310$	1,768 $\pm 0,535$	0,726 ± 0	

Tabelle C.6: ^{15}N -Tracerversuch zu den N-Transformationsprozessen im Boden unter wassergesättigten Bedingungen mit [^{15}N]Nitrat

Dauer (d)	N _{an} -Konzentration (mg N/kg B)			Emissions- raten ($\mu\text{gN/}$ $\text{kg B}\cdot\text{h}$)			a' (At.-%)					
	Am $\pm$ ST	Nat $\pm$ ST	Nit $\pm$ ST	N ₂ O $\pm$ ST	NO $\pm$ ST	N ₂ $\pm$ ST	Am $\pm$ ST	Nat $\pm$ ST	Nit $\pm$ ST	N ₂ O $\pm$ ST	NO $\pm$ ST	N ₂ $\pm$ S
0	61,70 $\pm 1,39$	111,98 $\pm 2,36$	7,34 $\pm 0,18$				0,029 $\pm 0,002$	45,496 $\pm 0,163$	16,824 $\pm 0,208$			
0,09	62,37 ± 0	114,22 ± 0	7,12 ± 0	0,75 ± 0	1,03 ± 0		0,068 ± 0	46,036 ± 0	16,334 ± 0	10,085 ± 0	12,564 ± 0	
0,17	63,80 $\pm 1,22$	116,95 $\pm 3,79$	7,78 $\pm 0,77$	1,29 ± 0	0,60 ± 0		0,042 $\pm 0,003$	45,893 $\pm 0,189$	17,754 $\pm 1,660$	11,457 ± 0	12,191 ± 0	
2	50,09 $\pm 2,84$	86,68 $\pm 9,14$	2,60 $\pm 1,76$	286,62 $\pm 33,94$	0,98 $\pm 0,19$	11,18 $\pm 6,98$	0,238 $\pm 0,090$	42,681 $\pm 0,515$	24,507 $\pm 3,711$	36,925 $\pm 0,955$	16,081 $\pm 2,863$	0,0 $\pm 0,0$
6	38,63 $\pm 4,12$	45,15 $\pm 18,25$	0,41 $\pm 0,21$	21,94 $\pm 3,80$	0,41 $\pm 0,12$	2,31 $\pm 0,02$	0,526 $\pm 0,003$	32,878 $\pm 0,849$	19,257 $\pm 1,798$	21,025 $\pm 0,878$	7,079 $\pm 1,022$	0,0 $\pm 0,0$
9	23,18 $\pm 11,49$	45,35 $\pm 28,50$	0,20 $\pm 0,05$	4,14 $\pm 1,40$	0,14 $\pm 0,12$	2,22 $\pm 0,46$	0,557 $\pm 0,074$	25,427 $\pm 0,597$	18,516 $\pm 1,220$	20,474 $\pm 1,933$	4,891 $\pm 0,174$	0,0 $\pm 0,0$
14	19,01 $\pm 4,05$	19,64 ± 0	0,25 $\pm 0,11$	3,23 $\pm 1,71$	0,30 $\pm 0,22$	1,79 $\pm 0,56$	0,544 $\pm 0,105$	14,971 ± 0	11,679 $\pm 1,894$	22,186 $\pm 0,028$	2,650 $\pm 0,438$	0,0 $\pm 0,0$
17	10,50 $\pm 4,82$	42,66 $\pm 18,08$	0,27 $\pm 0,12$	5,28 $\pm 0,01$	0,10 $\pm 0,31$	2,51 $\pm 0,26$	0,647 $\pm 0,223$	20,249 $\pm 2,982$	17,053 $\pm 1,713$	20,853 $\pm 0,443$	5,495 $\pm 2,455$	0,0 $\pm 0,0$

Tabelle C.7: ^{15}N -Tracerversuch zu den N-Transformationsprozessen im Boden unter wasserungesättigten Bedingungen, ^{15}N -Häufigkeiten des Distickstoffmonoxids berechnet aus der nichtstatistischen und statistischen ^{15}N -Verteilung (Gl. 12 und 13)

^{15}N Ammonium			^{15}N Nitrit			^{15}N Nitrat		
Zeit (d)	nichtstat.	stat.	Zeit (d)	nichtstat.	stat.	Zeit (d)	nichtstat.	stat.
0,16	5,492	3,950	1	9,135	8,550	0,17	11,713	8,327
1	15,441	12,843	2	3,282	2,873	1	12,811	10,882
2	23,210	19,985	3	3,208	1,956	3	13,595	12,008
4	15,036	12,752	4	2,461	2,071	6	9,349	9,114
8	21,653	20,923	8	2,503	2,164	10	6,797	6,401
11	22,593	22,488	11	2,311	2,061	15	8,531	8,206
16	21,055	20,444				17	8,402	8,102

Tabelle C.8: ^{15}N -Tracerversuch zu den N-Transformationsprozessen im Boden unter wassergesättigten Bedingungen, ^{15}N -Häufigkeiten des Distickstoffmonoxids berechnet aus der nichtstatistischen und statistischen ^{15}N -Verteilung (Gl. 12 und 13)

^{15}N Ammonium			^{15}N Nitrit			^{15}N Nitrat		
Zeit (d)	nichtstat.	stat.	Zeit (d)	nichtstat.	stat.	Zeit (d)	nichtstat.	stat.
0,08	7,728	6,573	0,08	39,708	25,695	0,09	10,085	9,255
1	5,164	4,329	1	3,715	3,390	2	37,536	36,726
3	9,329	8,399	2	1,342	1,082	6	20,147	19,361
7	12,915	12,552	5			9	18,541	17,831
11	12,369	12,128	7	0,726	0,491	14	22,158	21,837
16	11,204	11,019				17	21,296	20,783

Sektion Bodenforschung
UFZ-Umweltforschungszentrum Leipzig-Halle GmbH
Permoserstraße 15
D-04318 Leipzig
Telefon 0341/235-2028
Telefax 034635/73-288