

Hochschule für Angewandte Wissenschaften Hamburg
Fakultät Life-Sciences

**MULTIDIMENSIONALE FLUORESZENZSPEKTROSKOPIE ZUR ANALYSE
DES INTERAKTIONSVERHALTENS VON HUMINSTOFFEN MIT
METALLEN**

Bachelor Thesis
im Studiengang Biotechnologie

vorgelegt von
Christian Teichmann
Matrikelnummer: 1976145

Hamburg
am 04. September 2013

Gutachter: Prof. Dr.	Susanne Toefke	(Haw-Hamburg)
Gutachter: Prof. Dr.	Bernd Sadlowsky	(Haw-Hamburg)

Die Abschlussarbeit wurde erstellt und betreut im Laboratorium Bremerhaven des
Instituts für marine Ressourcen GmbH

INHALTSVERZEICHNIS

INHALTSVERZEICHNIS	2
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	5
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	6
TABELLENVERZEICHNIS	8
DANKSAGUNG	9
1 EINLEITUNG UND AUFGABENSTELLUNG	1
2 GRUNDLAGEN	3
2.1 Korrosion und Korrosionsforschung	3
2.1.1 <i>Metallabtrag an Stahlspundwänden am Beispiel von Nord- und Ostsee</i>	<i>6</i>
2.1.2 <i>Antikorrosive Präparation von Bauwerken Unterwasser nach Korrosivitätskategorie Im 2 und Im 3</i>	<i>8</i>
2.1.3 <i>Kathodischer Korrosionsschutz mit Opferanoden</i>	<i>9</i>
2.2 Huminstoffe – Grundlagen, Genese und Struktur	11
3.2.1 <i>Komplexbildungsvermögen von Huminstoffen</i>	<i>16</i>
2.2.2 <i>Flockung von Huminstoffen</i>	<i>17</i>
2.3 Photolumineszenz	18
2.3.1 <i>Exzitations-Emissions-Matrix-Fluoreszenzspektroskopie</i>	<i>20</i>
2.4 Strömungspotential	23
3 MATERIAL UND METHODEN	26
3.1 Kreislaufproben	26
3.2 Chemikalien	27
3.2.1 <i>Aluminium-Lösung</i>	<i>27</i>
3.2.2 <i>Zinksulfat-Lösung</i>	<i>28</i>
3.3 Verfahren zur Herstellung von Gemischen aus Algenkulturlösung/Kreislaufprobe und Aluminiumsulfat/Zinksulfat	29
3.4 Verwendete Geräte und Materialien	30
3.5 Probenfindung	30

3.6	Aufbereitung und Analyse von Huminstoff-Proben	31
3.6.1	<i>Vorfiltration.....</i>	31
3.6.2	<i>Zentrifugation</i>	31
3.6.3	<i>Filtration.....</i>	31
3.6.4	<i>Kalibrierung des Fluoreszenzspektroskops</i>	31
3.6.5	<i>Komplexierung</i>	32
3.6.6	<i>Zweidimensionale Fluoreszenzspektroskopie</i>	32
3.6.7	<i>Standardaddition</i>	33
3.6.8	<i>Strömungspotential.....</i>	33
3.6.9	<i>Software zur Darstellung der EEM und des Strömungspotentials</i>	34
4	ERGEBNISSE UND ERGEBNISDISKUSSION	36
4.1	Fluoreszenzspektroskopie und Probenaufbereitung	36
4.1.1	<i>Zentrifugation und Filtration der Algenkulturlösung</i>	36
4.1.2	<i>Zentrifugation und Filtration der Kreislaufwasserprobe.....</i>	38
4.1.3	<i>Zentrifugation und Filtration der Nordseewasserprobe</i>	40
4.2	Fluoreszenzspektroskopie und Bindungsexperimente.....	40
4.2.1	<i>Algenkulturlösung und Aluminiumsulfat</i>	41
4.2.2	<i>Wasserkreislauf 1 und Aluminiumsulfat</i>	47
4.2.3	<i>Algenkulturlösung und Zinksulfat</i>	52
4.2.4	<i>Kreislaufwasser und Zinksulfat.....</i>	57
4.3	Strömungspotential und Bindungsexperimente	60
4.3.1	<i>Algenkulturlösung und Aluminiumsulfat</i>	60
4.3.2	<i>Kreislaufwasser und Aluminiumsulfat.....</i>	66
4.3.3	<i>Algenkulturlösung und Zinksulfat</i>	72
4.3.4	<i>Kreislaufwasser und Zinksulfat.....</i>	75
5	ZUSAMMENFASSUNG.....	79
6	AUSBLICK.....	81
7	LITERATURVERZEICHNIS.....	84
8	ANHANG	88

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

WE	Windenergie
KK	Kathodischer Korrosionsschutz
OA	Opferanode
HS	Huminstoffe
AD	Alzheimer Krankheit
ZAF	Zentrum für Aquakulturforschung
FI	Fluoreszenzintensität
WEA	Windenergieanlage
KS	Kathodischer Schutzstrom
BAW	Bundesanstalt für Wasserbau
FA	Fulvinsäure
HA	Huminsäure
DOC	Dissolved Organic Carbon
DOM	Dissolved Organic Material
ROS	Refractory Organic Acid
KAK	Kationenaustauschkapazität
oUV-FA	Fulvinsäure ohne UV-Lichtaufnahmefähigkeit
UV-FA	Fulvinsäure mit UV-Lichtaufnahmefähigkeit
IC	Internal conversion
SR	Schwingungsrelaxation
ISC	Intersystem crossing
EEM	Exzitations-Emissions-Matrix
RFI	Relative Fluoreszenzintensität
AK	Algenkulturlösung
KL 1	Kreislaufwasser 1
AL	Aluminium-Lösung
ZL	Zink-Lösung
MP	Mischprobe
nNW	natürliches Nordseewasser

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abb. 1: EDTA-Metallion-Chelatkomplex	2
Abb. 2: Gründungsstrukturen	3
Abb. 3: Qualitative Darstellung der Korrosionszonen von Stahlspundwänden am Beispiel von Nord- und Ostsee	7
Abb. 4: Abrostungs-Kennlinien für Stahlspundwände in Meerwasser	8
Abb. 5: Opferanoden für Schiffsrümpfe und Stahlbauten im Meer	10
Abb. 6: Strukturmodell eines HA-Moleküls nach Schulten und Schnitzer (1997)	14
Abb. 7: Strukturmodell eines FA-Moleküls nach Morill (1982)	15
Abb. 8: Flockungsverhalten von HS mit Zunahme von gelöstem Aluminiumsulfat gemessen nach der SAK-254-Methode.....	18
Abb. 9: Jablonski-Diagramm, nach Aleksander Jablonski	19
Abb. 10: Fluoreszenz-Emissionsspektrum	21
Abb. 11: Fluoreszenz-Exzitationsspektrum.....	21
Abb. 12: Aufbau der Messapparatur eines Fluoreszenzspektroskops.....	22
Abb. 13: Schematischer Aufbau eines Strömungspotential-Monitors mit Probenlösung und Titrand.....	23
Abb. 14: Theorie zur Doppelschicht nach Helmholtz und Gouy-Chapman	24
Abb. 15: Elektrische Doppelschicht nach Stern	25
Abb. 16: Anlage zur Algenkultivierung im Zentrum für Aquakulturforschung in Bremerhaven. 26	
Abb. 17: Prozesswasserkreislauf 1 des Zentrums für Aquakulturforschung in Bremerhaven. ..	27
Abb. 18: EEM der zentrifugierten Prozesswasserprobe AK mit ihren detektierten HS-Komponenten (HA, oUV-FA und UV-FA).....	33
Abb. 19: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der zentrifugierten Probe AK.	37
Abb. 20: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Dead-End filtrierte Probe AK.	38
Abb. 21: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der zentrifugierten Probe KL1. ..	39
Abb. 22: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Dead-End filtrierte Probe KL 1.	39
Abb. 23: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der zentrifugierten Probe nNW..	40
Abb. 24: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe AK nach einer Zugabe von Komplexlg. 1.	41
Abb. 25: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe AK nach einer Zugabe von Komplexlg. 2.	42
Abb. 26: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe AK nach einer Zugabe von Komplexlg 3.	43
Abb. 27: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe AK nach einer Zugabe von Komplexlg. 1.	44
Abb. 28: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe AK nach einer Zugabe von Komplexlg. 2.	44
Abb. 29: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe AK nach einer Zugabe von Komplexlg. 3.	45

Abb. 30: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe AK nach Zugabe einer AL der Konzentration 0,5 mM.....	46
Abb. 31: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe AK nach Zugabe einer AL der Konzentration 0,05 mM.....	47
Abb. 32: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe KL 1 nach Zugabe von Komplexlsg. 1.	48
Abb. 33: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe KL 1 nach Zugabe von Komplexlsg 2.	49
Abb. 34: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe KL 1 nach Zugabe von Komplexlsg. 3.	50
Abb. 35: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe KL 1 nach Zugabe von Komplexlsg. 1.	51
Abb. 36: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe KL 1 nach Zugabe von Komplexlsg. 2.	51
Abb. 37: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe KL 1 nach Zugabe von Komplexlsg 3.	52
Abb. 38: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe AK nach Zugabe von Komplexlsg. 4.	53
Abb. 39: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe AK nach Zugabe von Komplexlsg. 5.	53
Abb. 40: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe AK nach Zugabe von Komplexlsg. 6.	54
Abb. 41: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe AK nach Zugabe von Komplexlsg. 4.	55
Abb. 42: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe AK nach Zugabe von Komplexlsg. 5.	56
Abb. 43: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe AK nach Zugabe von Komplexlsg. 6.	56
Abb. 44: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe KL 1 nach Zugabe von Komplexlsg. 4.	57
Abb. 45: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe KL 1 nach Zugabe von Komplexlsg. 5.	58
Abb. 46: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe KL 1 nach Zugabe von Komplexlsg. 6.	59
Abb. 47: Strömungspotentialmessung der Probe AK während der Titration mit Komplexlsg. 1.	61
Abb. 48: Strömungspotentialmessung der Probe AK während der Titration mit Komplexlsg. 2.	63
Abb. 49: Strömungspotentialmessung der Probe AK während der Titration mit Komplexlsg. 3.	65
Abb. 50: Strömungspotentialmessung der Probe KL 1 während der Titration mit Komplexlsg. 1.	67
Abb. 51: Strömungspotentialmessung der Probe KL 1 während der Titration mit Komplexlsg. 2.	69

Abb. 52: Strömungspotentialmessung der Probe KL 1 während der Titration mit Komplexlsg. 3.	71
Abb. 53: Strömungspotentialmessung der Probe AK während der Titration mit Komplexlsg. 4.	73
Abb. 54: Strömungspotentialmessung der Probe AK während der Titration mit Komplexlsg. 5.	74
Abb. 55: Strömungspotentialmessung der Probe AK während der Titration mit Komplexlsg. 6.	75
Abb. 56: Strömungspotentialmessung der Probe KL 1 während der Titration mit Komplexlsg. 4.	76
Abb. 57: Strömungspotentialmessung der Probe KL 1 während der Titration mit Komplexlsg. 5.	77
Abb. 58: Strömungspotentialmessung der Probe KL 1 während der Titration mit Komplexlsg. 6.	78

TABELLENVERZEICHNIS

Tab. 1: Umgebungsbedingungen nach DIN EN ISO 12944-3	9
Tab. 2: Huminstoffe und ihre Eigenschaften	11
Tab. 3: Huminstoffe,- funktionelle Gruppen, Herkunft und Wirkung	13
Tab. 4: Huminstoff-Fraktionen und ihre Definitionen	15
Tab. 5: Klasse, Herkunft und Fluoreszenzverhalten von Huminstoffen	17
Tab. 6: Verdünnungsreihe Aluminiumsulfat	27
Tab. 7: Ideale und reale Einwaage von Aluminiumsulfat	28
Tab. 8: Verdünnungsreihe Zinksulfat	28
Tab. 9: Ideale und reale Einwaage Zinksulfat	29
Tab. 10: Mischproben aus AK oder KL1 mit Aluminiumsulfat oder Zinksulfat	29
Tab. 11: Verwendete Geräte und Materialien	30
Tab. 12: Gängige Methoden zur Aufkonzentrierung aquatischer organischer Substanzen	81

DANKSAGUNG

Der erste Dank gilt Prof. Baum dafür, dass er mir ermöglicht hat, die Forschungen für meine Bachelorarbeit am Institut Imare GmbH (Abteilung Umwelt Wind) in Bremerhaven, durchführen zu können, mir seine Labore und Materialien zur Verfügung gestellt hat und sich bereit erklärt hat, mein Vor-Ort-Betreuer zu sein.

Als nächstes möchte ich mich für die umfassende und freundliche Betreuung durch M. Sc. Monika Mazur bedanken.

Bei Dipl.-Biol- Marcus Thon, für die tatkräftige Unterstützung bei der Probenfindung und Probenerörterung.

Für Prof. Susanne Toefke's geduldige und freundliche Betreuung, sowie die essentiellen Impulse bei der Planung des empirischen Teils und der chemischen Bemessungsgrundlagen der Arbeit, möchte ich mich ebenfalls sehr bedanken und dafür, dass Sie sich bereit erklärt hat meine Erstgutachterin zu sein.

Großen Dank gilt auch, Prof. Bernd Sadlowsky, der sich der nachträglichen, umfassenden Betreuung meiner Bachelorarbeit angenommen hat und sich für profunde Kommentare Zeit nahm und dafür, dass er zugestimmt hat mein Zweitgutachter zu sein.

Ebenfalls bedanken möchte ich mich bei M. Sc. Peter Rohde, der mir freundlicherweise seine Software, zur qualitativen Bestimmung von Fluoreszenzdaten, zur Verfügung gestellt hat. Durch Ihn war es möglich, spezifische Einblicke in die qualitative Auswertung der fluoreszenzspektroskopischen Ergebnisse, zu erhalten. Er gab der Datenauswertung den letzten Schliff.

Und zu guter Letzt, bei Prof. Gesine Cornelissen. für Ihre Mühen, bzgl. prüfungsrelevanter Fragen.

1 EINLEITUNG UND AUFGABENSTELLUNG

Das im Herbst 2010 von der deutschen Bundesregierung beschlossene Energiekonzept legt den Fokus auf die Abkehr von der Kernenergie und die schrittweise, aber grundlegende, Integration erneuerbarer Energien in den Sektor Energiegewinnung. Bis zum Jahre 2022 sollen in Deutschland alle Kernkraftwerke stillgelegt sein und bis 2050, 50% der Gesamtstromerzeugung auf die Windenergie (WE) umverteilt werden [1]. Dies bedeutet eine deutliche Beschleunigung des Ausbaus der Offshore-Windenergienutzung. Eine damit verbundene Fragestellung ist die umweltschonende Instandhaltung der marinen Windkraftanlagen, insbesondere der Gründungsstrukturen, insofern, dass eine gerichtete und kalkulierbare Korrosion stattfindet. Die Verbindung von chemischen, möglichst persistenten, Anlagenbeschichtungen in den entsprechenden Korrosionsschutzzonen (s. 2.1) und kathodischem Korrosionsschutz (KK), zur Reduktion der natürlichen Korrosion, unterseeisch installierter Offshore-Gründungsstrukturen, könnte eine Verbesserung der Lebensdauer von Offshore-WEAs bieten [2]. Ein Prinzip des KK basiert auf der schrittweisen Aufzehrung eines, mit dem Fundament gekoppelten, unedlen Metalls, welches als Opferanode (OA) bezeichnet wird [2,3]. Die aus der Elektrolyse hervorgegangenen Metallionen werden dem Ökosystem Meer zugeführt, wo sie mit Huminstoffen (HS) Komplexe bilden können und ausflocken [3,4].

Durch die steigenden Zahlen von Offshore-Windparks¹ wächst auch das wissenschaftliche Interesse an Umweltbewertungen der wirtschaftlichen Offshore-Zonen. Hierbei treten HS zunehmend in den analytischen Fokus. Ihr Komplexbildungsvermögen mit Metallen und ihre damit verbundene Akkumulationsfähigkeit, entscheiden über Mobilität, Bioverfügbarkeit und Biotoxizität von potentiell toxischen Spurenelementen [4].

Mit dem Sektor Windenergie-technik als Wirtschaftszone, wächst die Gefahr für das Meer als Lebensraum. Ungebundenes Aluminium, respektive Al^{3+} - Ionen, vermindern Ionenaustauschprozesse in Fischkiemen, was zur Nekrose von Schleimhäuten führen kann und einen signifikanten Salzverlust nach sich zieht (Aluminiumgehalt > 0,2 mg/L; pH-Wert 4-5,5) [5,6]. Die Osmoseregulation des Organismus wird gestört und der Sauerstofftransport letal reduziert (Aluminiumgehalt = 0,5 mg/L) [6,7]. In Laborversuchen fand man heraus, dass Aluminiumkonzentrationen von 0,1 mg/L ausreichen, um dysfunktionale Schäden an Fischkiemen und Wachstumsdefizite am Organismus hervorzurufen [7]. Austern-Embryos

¹ „Im ersten Halbjahr (2013) wurden bereits 155 Fundamente aufgestellt – mehr als 2012 insgesamt. Insgesamt wird mit etwa 200 MW für 2013 und über 1.000 MW für 2014 und für 2015 gerechnet.“ <http://www.iwr.de/news.php?id=24413>.

zeigten bei einer Aluminiumkonzentration von 400 $\mu\text{g/L}$ abnormale Auffälligkeiten in ihrer Entwicklung [8]. Aluminium wird nach wie vor als Ursache für die Alzheimer Krankheit (AD) diskutiert und untersucht. Gehirn-Obduktionen von AD-Patienten ergaben einen Gehalt von 58 - 196 $\mu\text{g/g}$ Trockengewicht Aluminium [9]. Betrachten wir die kausale Nahrungskette, fällt auf, dass eine höhere Aluminiumkonzentration in der marinen Ökologie die Pathogenese humaner Erkrankungen begünstigen kann.

Aufgrund der Fähigkeit von HS Kationen zu binden, mit ihnen stabile Metallchelate zu bilden und mit anderen HS-Molekülen zu akkumulieren, können potentiell toxische, freie Aluminiumionen gebunden werden und stehen so der marinen Biologie, als frei schwebende Pathogene, nicht mehr zur Verfügung.

Aufgabe dieser Arbeit ist es, in Form von wissenschaftlichen Voruntersuchungen, zwei natürliche Prozesswasserproben des Zentrums für Aquakulturforschung (ZAF) in Bremerhaven auf ihren potentiellen Gehalt an HS-Material fluoreszenzspektroskopisch zu überprüfen und Bindungsexperimente mit Metallen (Aluminium u. Zink) und den darin enthaltenen HS durchzuführen, um qualitative Aussagen über das Bindungsverhalten von HS-Material mit Metallen treffen zu können. Nach Stokes steigt die Sedimentationsgeschwindigkeit von Partikeln mit Zunahme ihres partikulären Durchmessers. Als Induktionsmittel für den

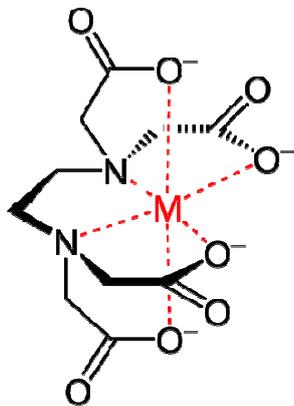


Abb. 1: EDTA-Metallion-Chelatkomplex¹.

Größenzuwachs können Flockungsmittel, auf Basis von Aluminium oder Zink, verwendet werden [10]. Die gebildeten Chelatkomplexe² (s. Abb. 1) stehen der Fluoreszenzdetektion im Strahlengang des Fluoreszenzspektroskops nicht mehr zur Verfügung. Daraus resultiert eine Abnahme der Fluoreszenzintensität (FI) die sich graphisch, in Form einer Synchronmatrix, qualitativ und quantitativ abbilden lässt. Aufgrund der pH-Wert-Abhängigkeit der Komplexbildungsreaktionen, wurde das Strömungspotential der Proben während einer Titration mit Aluminium und Zink aufgezeichnet.

² Die Bezeichnung Chelatkomplexe steht in der Komplexchemie für Verbindungen, bei denen ein mehrzähniger Ligand mindestens zwei Koordinationsstellen des Zentralatoms einnimmt. Der Ligand heißt in diesem Fall Chelator (griech. *Χηλή*, *chele* für „Krebsschere“). Das bedeutet, dass das bindende Elektronenpaar allein vom Liganden bereitgestellt wird.
<https://de.wikipedia.org/wiki/Chelatkomplexe>

2 GRUNDLAGEN

2.1 Korrosion und Korrosionsforschung

Um den vielfältigen Bedingungen für die Offshore-Installation von Windenergieanlagen (WEAs) in marinen Ökosystemen gerecht zu werden, kommen unterschiedliche Gründungskonstruktionen zum Einsatz. Je nach Befestigungszustand des Meeresbodens, dem geologischen Aufbau des Untergrundes, sowie der vorherrschenden Wassertiefe, entscheidet man sich entweder für Monopiles, Tripiles, Tripods, Schwerkraftfundamente oder schwimmende Windenergieanlagensysteme (s. Abb. 2) [2]. Aufgrund der Anfälligkeit der Gründungsstruktur-Stahlfundamente für Korrosion, insbesondere im Bereich der Niedrigwasserzone (s. Abb. 3), besteht ein großes wirtschaftliches Interesse zur Prävention. Die Korrosion, in Form von Wanddickenabnahmen am Stahlfundament des Untergrundbaus basiert auf elektrolytischen Reaktionsprozessen der Metallstruktur in einer aquatisch, oxischen Umgebung. Hierbei wird eine messbare Veränderung am Werkstoff bewirkt, welche in der Beeinträchtigung der Funktion des metallischen Bauteils oder seines gesamten Systems mündet. Die zustandsverändernden Reaktionen sind meist elektrochemischer Natur, können aber auch als chemisch oder metallphysikalische Prozesse in Erscheinung treten (DIN 50900-1) [11].

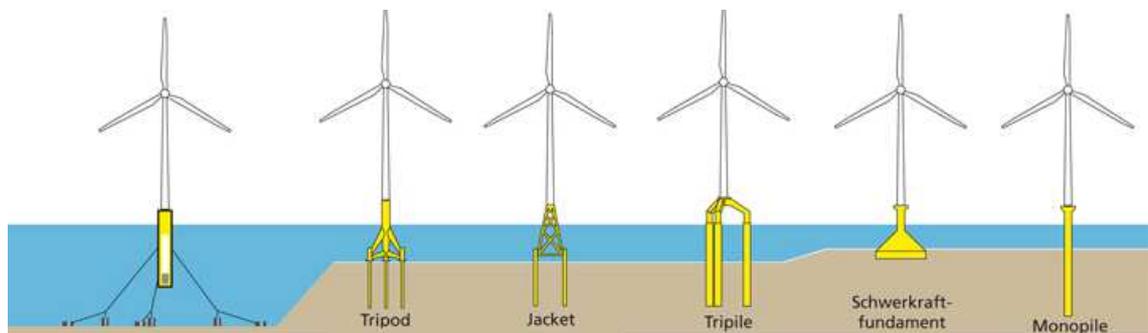


Abb. 2: Gründungsstrukturen³.

Korrosionsprozesse bei denen elektrochemische Korrosion stattfindet, laufen ausschließlich in Gegenwart einer ionisch leitenden Phase ab. Als Ursache für die Korrosionsereignisse hat sich nicht nur der elektrolytische Metallabtrag herausgestellt, sondern auch die Reaktion mit einem elektrolytischen Zwischenprodukt, z.B. atomarer Sauerstoff. Kennzeichnend für die elektrochemische Korrosion ist der Transport von elektrischer Ladung zwischen den beteiligten

³ <http://www.offshore-stiftung.com/60005/Uploaded/DGehring%257CFundamenteall.jpg>

Phasen (Grenzflächenreaktion). Der Ladungsaustausch kann in Form von elektrischem Strom quantifiziert werden (DIN 50900-2) [11,12].

Die Korrosion von Metallen ist ein Redoxprozess, bei welchem die Reaktionspartner entweder reduziert oder oxidiert werden d.h., dass Elektronen zwischen den Reaktionspartnern transferiert werden. Zusätzlich ist sie eine Grenzflächenreaktion in der, neben der metallischen Phase, eine weitere in Erscheinung treten muss. Jedes Metall besitzt nach Nernst eine Lösungstension nach der, in der Korrosionsreaktion, ein Metallkation, unter Zurücklassung seiner Valenzelektronen im Metallverbund, seinen Gitterplatz verlässt und über die Phasengrenze in den Elektrolyten eintritt [13,14]. Dieser Teilschritt der Korrosionsreaktion wird als anodischer Teilschritt bezeichnet und der Ort, an dem definitionsgemäß eine solche Reaktion stattfindet als Anode (s. Gl. 1).



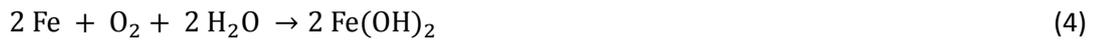
M: beliebiges Material

z: Wertigkeit

Aufgrund des Gesetzes der Elektronenneutralität, welches sowohl für das Metall als auch für den Elektrolyten gilt, muss die zu $z e^{-}$ äquivalente Ladungsmenge, in einem gekoppelten Reduktionsschritt, auf einen Reaktanden im Elektrolyten übertragen werden. Dieser Reaktionsschritt wird als kathodische Teilreaktion bezeichnet. Potentielle Reaktionspartner können entweder Wasser (in sauren Medien H_3O^{+}) oder Sauerstoff sein. Aus der Reaktion mit Wasser geht nach Gleichung (2 a, b) Wasserstoff hervor und gelöster Sauerstoff wird nach Gleichung (3 a, b) reduziert.



Für Eisen im neutralen Milieu gilt, in Anwesenheit von Wasser und Sauerstoff, die Summe aus Gleichung (1) und (3 a):



Das gebildete Eisen(II)hydroxid ist definitionsgemäß noch kein „Rost“. Dieses Reaktionsprodukt entsteht aus der Oxidation und Dehydratisierung von sekundären Korrosionsprodukten, wie Eisenhydroxiden, Eisen-Oxidhydraten und Eisenoxiden. Das Fortschreiten der Korrosion kann mit folgenden Reaktionsgleichungen zusammengefasst werden (s. Gl. 5, 6, 7):



Die Oxidations- und Reduktionsschritte müssen nicht zwangsläufig an gleicher Stelle stattfinden, sie können auch an weiter entfernten Bereichen des Werkstoffes getrennt erfolgen. Sind Kathoden und Anoden gleichmäßig auf einer Metalloberfläche verteilt, spricht man von einer Mischelektrode [13].

Der Elektronentransfer hat eine Potentialdifferenz zwischen Metall und Lösung zur Folge, welche für jedes Metall einen bestimmten charakteristischen Wert besitzt. „Diese Potentialdifferenz wird durch eine thermodynamische Beziehung charakterisiert, die ihren Ausdruck in der Nernstschen Gleichung findet [14].“ Unter dem Normalpotential eines Metalls in Lösung, wird das Potential verstanden, welches 1 val⁴ des eintauchenden Metalls pro Liter in Lösung enthält, gemessen gegen eine Normalwasserstoffelektrode (bei T = 20 °C). Hieraus ergibt sich eine Spannungsreihe, die dadurch definiert ist, wie leicht Metalle Elektronen abgeben, also oxidiert werden können.

Die Metalle mit dem negativeren Spannungspotential reduzieren die Metalle mit dem positiveren Spannungspotential. Die Korrosionsintensität verläuft dabei in Abhängigkeit der Stellung des Metalls in der oben erwähnten Spannungsreihe. „Je höher das negative Potential, desto unedler das Metall und desto korrosionsanfälliger ist dieses Metall [14].“ Werden dem Metallverbund hingegen kontinuierlich von außen Elektronen zugeführt (Kathodischer

⁴ „Ein Val, auch Äquivalent oder Grammäquivalent (Einheitenzeichen: val) ist eine veraltete Einheit der Stoffmenge. Es steht für diejenige Stoffmenge eines Stoffes, die ein Mol Wasserstoff zu binden oder in Verbindungen zu ersetzen vermag.“

http://de.wikipedia.org/wiki/Val_%28Einheit%29

Schutzstrom (KS)), gelangt das Metall in einen permanenten Elektronensättigungszustand und es können keine Metallionen mehr in Lösung gehen. Das Bauwerk wird insgesamt zu einer Kathode. Damit dieser Ladungszustand unter den natürlichen Redoxbedingungen erhalten bleiben kann, muss der KS mindestens äquivalent zum Elektronenverbrauch, durch potentielle Elektronenakzeptoren wie z.B. Sauerstoff, sein. Die Stärke des kathodischen Schutzstromes ist abhängig von der Kathodenfläche A [m^2] und der spezifischen Schutzstromdichte i [mA/m^2]. Zur Ermittlung dieser sind die chemophysikalischen Eigenschaften (Sauerstoffzufuhr, Strömungsgeschwindigkeit, Temperatur, Salzgehalt usw.) des Elektrolyten von essentieller Bedeutung. Das Ziel einer Korrosionsschutzanlage besteht also in der Absenkung der freien Korrosionspotentiale von Metallen auf das jeweilige Schutzpotential. „Für unlegierten Stahl liegt das Schutzpotential kleiner als -850 mV, gemessen gegen eine gesättigte Cu/CuSO_4 Referenzelektrode. Im belüfteten Seewasser bewirkt eine Absenkung des Potentials von 70 mV eine Senkung der Korrosionsgeschwindigkeit um ca. eine Zehnerpotenz [2].“

2.1.1 Metallabtrag an Stahlspundwänden am Beispiel von Nord- und Ostsee

Der derzeitige Korrosionsforschungsstand, zur Analyse von Wanddickenverlusten an Gründungsstrukturen, steckt noch in den Anfängen. Daher lassen sich keine strukturspezifischen und messungsrelevanten Aussagen zur Korrosion an Gründungsfundamenten treffen. Man bedient sich deshalb Langzeitanalysen zum Verhalten von Stahlspundwänden, wie sie in einigen Hafenanlagen an den Nord- und Ostseeküsten durchgeführt und ausgewertet wurden. „Die Abtragsraten können der EAU⁵ (2004) entnommen werden [2].“ Die Stabilität der Spundwandbauwerke hängt in starkem Maße von dem natürlichen Vorgang der Korrosion ab. Im Atmosphärenbereich sind geringe Abrostungsgeschwindigkeiten von $0,01$ mm/a an den Spundwandbauwerken zu erwarten. Maßgeblich für eine solche Abtragsrate ist das Fehlen von Wasser oder Spritzwasser und die Einbindung der Spundwandelemente in natürliche Böden ohne Humus. Die anoxisch, terrestrische Korrosions-Umgebung hat sich als nur geringfügig schadhaft für die Spundwandkorrosion herausgestellt. Gravierendere Korrosionsreaktionen sind an Wasser- und Unterwasserbauwerken zu erwarten. Hierbei sei das Biofouling von Stahlstrukturen erwähnt, welches den Korrosionsfortschritt signifikant unterstützt und beschleunigt. Die Wanddickenverluste, durch physikochemische oder elektrochemische Korrosionsreaktionen, variieren am Bauteil. Gemäß EAU (2004) wird deshalb eine umgebungsspezifische Unterteilung in Metall-Korrosionszonen vorgenommen [15]. Abbildung 3 zeigt, gemäß EAU (2004) Abschnitt

⁵ Empfehlungen des Arbeitsausschusses „Ufereinfassungen“ Häfen und Wasserstraßen
<http://tocs.ulb.tu-darmstadt.de/125883749.pdf>

8.1.8 (E 35), die Korrosionszonen am Beispiel von Nord- und Ostsee. Die Niedrigwasserzone (nWZ) ist rot markiert.

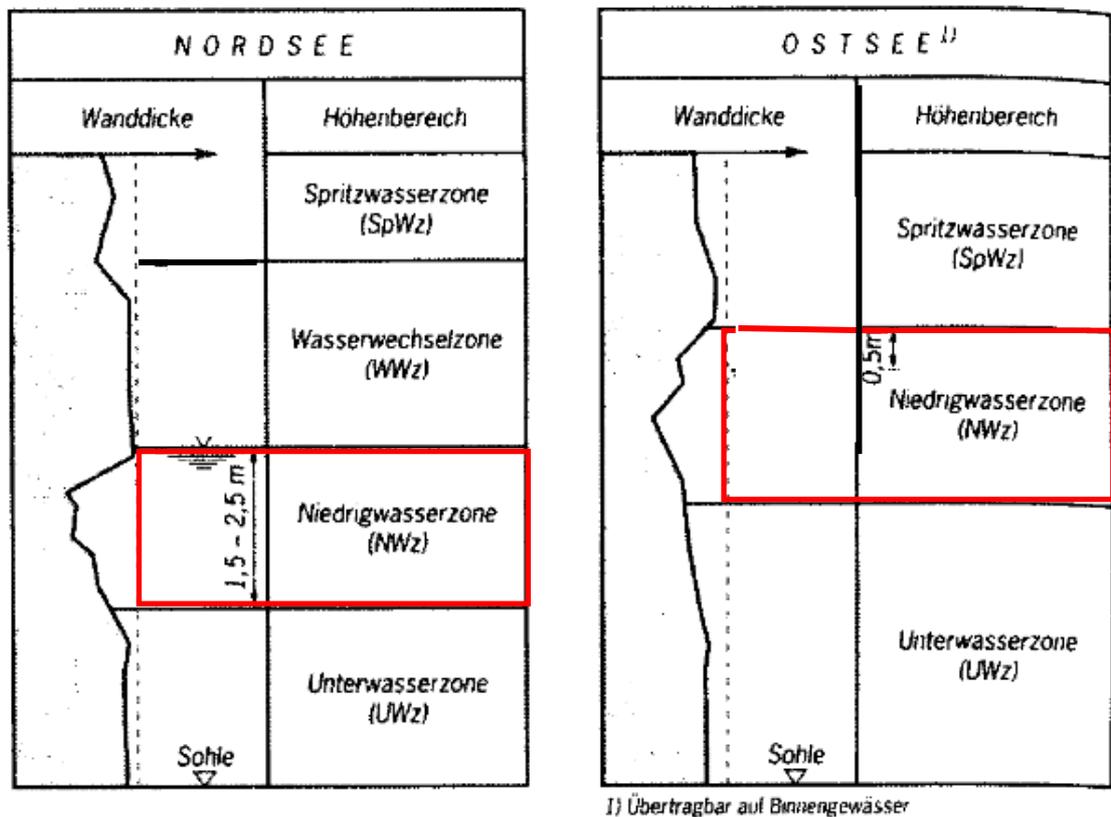


Abb. 3: Qualitative Darstellung der Korrosionszonen von Stahlspundwänden am Beispiel von Nord- und Ostsee mit Tide (links) und ohne Tide (rechts) (EAU (2004)) [15].

Die größte Wanddickenschwächung ist in der nWZ zu verzeichnen [2]. Die EAU (2004) gibt im Abschnitt 8.1.8.3 (E 35) Kennlinien-Diagramme an, mit denen der Metallsubstanzabtrag, in Folge die Korrosion, ermittelt werden kann (s. Abb. 4). Dadurch können Spundwände mit mittleren und maximalen Wanddickenverlusten bemessen werden. Der Streubereich der untersuchten Bauwerke ist grau unterlegt. Zur Vermeidung von unwirtschaftlichen Konstruktionen empfiehlt die EAU Messwerte oberhalb der Regressionskurve nur dann zu verwenden, wenn lokale Erfahrungen kein anderes Vorgehen zulassen. Bemessungswerte für Bauwerke in Brackwasser (Gemisch aus Süßwasser und Meerwasser) sind aus den Diagrammen für Brackwasser und Meerwasser zu interpolieren [15].

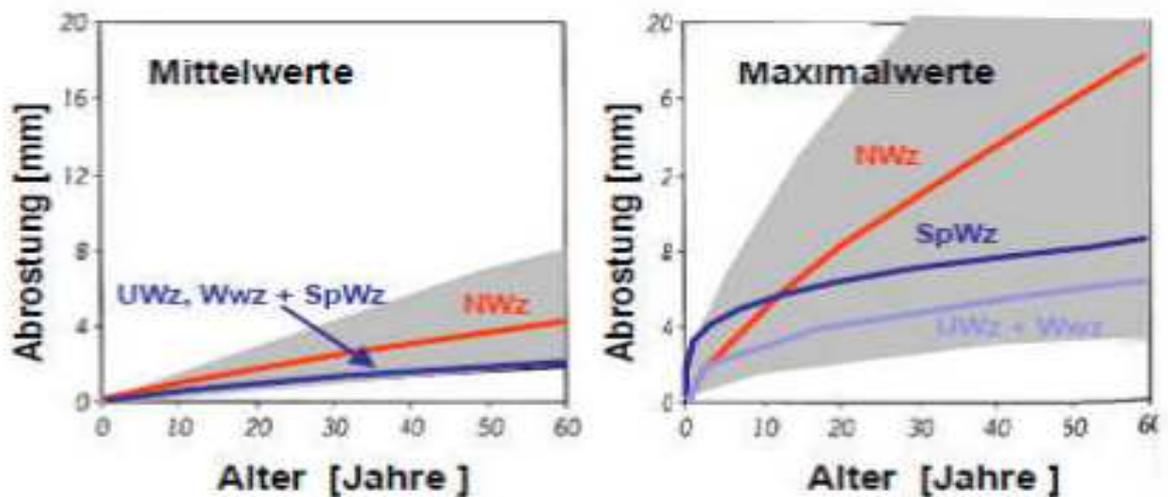


Abb. 4: Abrostungs-Kennlinien für Stahlspundwände in Meerwasser [2].

2.1.2 Antikorrosive Präparation von Bauwerken Unterwasser nach Korrosivitätskategorie Im 2 und Im 3

Luft- oder wasserberührte Außenflächen der WEA sind i.A. antikorrosiv zu präparieren. Nach DIN EN ISO 12944-5:2007 kommen, für Bauteile der Korrosivitätskategorien Im 2 und Im 3 (vgl. Tab. 1) Beschichtungssysteme auf Epoxidharzbasis, mit oder ohne pigmentierte Grundbeschichtung⁶ und einer Gesamtschichtdicke von 500 - 800 μm , zum Einsatz. Die Anzahl der Schichten variiert zwischen 1 und 5. Gemäß der Richtlinie für die Prüfung von Beschichtungssystemen für den Korrosionsschutz im Stahlwasserbau (RPB (2001)) oder der ISO 15711:2003 Methode A, ist eine Verträglichkeit, des verwendeten Beschichtungssystems mit applizierten Korrosionsschutzanlagen, unabdingbar. Auf Verträglichkeit geprüfte Beschichtungssysteme können z.B. aus der Liste der zugelassenen Systeme der Bundesanstalt für Wasserbau (BAW) entnommen werden. Die Innenflächen von WEAs können weitestgehend vernachlässigt werden, wenn sie luft- und wasserdicht verschweißt sind. Offene Strukturen, wie z.B. Monopiles, können gegebenenfalls, durch angefügte OAs, geschützt werden. Wegen des fehlenden Wasseraustausches und des vergleichsweise geringen Eintrags von Luftsauerstoff in das abgeschlossene System, wird die Korrosion mit endlich angenommen [2].

⁶ Stellt das Fundament zum Substrat (zu beschichtende Oberfläche) dar und dient dem Korrosionsschutz und der Haftvermittlung zwischen zu beschichtender Oberfläche und der Zwischenbeschichtung. Sie übernimmt durch ihre Pigmentierung (z. B. Zinkstaub) die wesentliche Korrosionsschutz-Funktion. http://www.bundesverband-korrosionsschutz.de/fileadmin/user_upload/pdf-Dateien/Korrosionsschutz_durch_Beschichtungen_im_Stahlbau.pdf.

Tab. 1: Umgebungsbedingungen nach DIN EN ISO 12944-3 [2].

WEA-Bereich	Korrosivitätskategorie
Wasserbereich außen unter LAT⁷	Im2 ⁸
Bodenbereich außen	Im3 ⁹
mit Seewasser gefüllter Hohlraum innen	Im2
Boden innerhalb von geschlossenen Strukturen	Im3

2.1.3 Kathodischer Korrosionsschutz mit Opferanoden

Das Ziel des KK ist es die Metallauflösung von korrodierenden Werkstoffen derartig zu reduzieren, dass das zu schützende Bauwerk langfristig erhalten bleiben kann. Hierfür macht man sich die Möglichkeit zur Elektronenanreicherung eines Werkstoffes zunutze (s.2.1 Kathodischer Schutzstrom (KS)). Der Werkstoff selbst wird zur Metallelektrode und zwingt die Elektronen im Metallverbund zu verharren, wodurch die Metallauflösung zum Stillstand kommt. Diese Selbsthemmungsreaktion findet unter natürlichen Bedingungen allerdings nicht statt, da Elektronenakzeptoren wie atomarer Sauerstoff ubiquitär, unter atmosphärischen Bedingungen, in Erscheinung treten können [2,13].

OAs basieren auf Metallen mit einem vergleichsweise niedrigen Normalpotential. Aufgrund ihrer unedlen Herkunft gehen sie, anstatt des zu schützenden Werkstoffes, in Lösung und werden allmählich aufgezehrt [14]. Zum Schutz von Schiffspropellern aus Aluminiumbronze, insbesondere bei Schiffen die im aggressiven Salzwasser fahren oder bei verzinkten Boilern und emaillierten Warmwasserspeichern, mit aus Stahl gefertigten Grundkörpern, kommen sie zum Einsatz. Blöcke aus Zink werden, in der erforderlichen Größe und Anzahl, um die Propellerschrauben auf den Schiffsrümpfen appliziert (s. Abb. 5). Hierfür befinden sich oft spezielle Halterungen auf der Werft. Zum Schutz der Schiffsrümpfe kann die Anzahl der OAs reduziert werden. Ohne OAs löst sich der Zinküberzug von Boilerkesseln zusehends auf. Die emaillierten Speicher würden ohne OAs der totalen Korrosion unterliegen, da bislang kein Verfahren zur vollständigen Innenemaillierung von Kesseln bekannt ist. Die Magnesium-OAs (Stab- oder Kettenanoden) werden in die Boilerinnenwand dichtend eingeschraubt.

⁷ „In der Seefahrt und in Seekarten benutzt man das sogenannte Seekartennull (SKN) (auch Kartennull), das sich auf Lowest Astronomical Tide (LAT) in Tidengewässern, beziehungsweise auf Mittleren Wasserstand (MW) in tidenfreien Gewässern bezieht.“

http://de.wikipedia.org/wiki/H%C3%B6he_%C3%BCber_dem_Meeresspiegel. „In Deutschland und den Nordsee-Staaten ist das Seekartennull seit 2005 als örtlich „niedrigst möglicher Gezeitenwasserstand“ bzw. „Lowest Astronomical Tide (LAT)“ definiert.“

<http://de.wikipedia.org/wiki/Seekartennull>.

⁸ Hafengebiete mit Stahlbauten, Schleusentoren, Molen, Offshore Anlagen.

⁹ Stahlrohre im Erdbereich.

Kettenanoden kommen zum Einsatz, wenn Bauhöhe oder Einführöffnung nicht ausreichen. Aufgrund der erwünschten Korrosionserscheinungen an OAs sind diese jährlich zu prüfen und ggf. auszutauschen [16].



Abb. 5: Opferanoden für Schiffsrümpfe und Stahlbauten im Meer¹⁰.

In der Offshore-WE-Technik werden OAs auf Basis von Aluminium, oder Zink, in definierten Abständen mit den Gründungsstrukturen galvanisch gekoppelt.

Zunehmend werden heute OAs aus Aluminiumlegierungen, in Verbindung mit Zink und Indium, für den KK von Bauteilen aus Eisenwerkstoffen verwendet, insbesondere wenn die Bauteile mit salzhaltigen Medien in Berührung kommen können. Reines Aluminium kann, unter Ausbildung oxidischer Deckschichten, passivieren und wird reaktionsträge, weshalb aktivierende Komponenten wie Quecksilber und Cadmium dem Aluminium hinzu legiert werden. Hierbei entstehen Anoden ausreichender Effektivität. Aus Gründen des Umweltschutzes wird nunmehr auf diese Legierungsmetalle verzichtet. Der Austausch ineffektiver OAs ist mit einem immensen Kostenaufwand verbunden, weshalb die Lebensdauer dieser, bei angemessener Stromabgabe, von besonderer Bedeutung ist. Schadhafte KS-Stärken können unter Umständen die kathodische Beschichtung des Bauteils, wenn nicht sogar das Bauteil selbst, schädigen. Zur Tilgung dieser Problematik werden Metalle aus der Gruppe Gallium, Indium, Thallium als Legierungszusatz hinzugefügt [17].

¹⁰ <http://www.balverzinn.com/marine-opferanoden.html>

2.2 Huminstoffe – Grundlagen, Genese und Struktur

HS, dazu gehören Fulvinsäure (FA), Huminsäure (HA) und Humine sind hochmolekulare, organische, biogene, heterogene Degradationsprodukte¹¹ von Pflanzenstoffen mit einer gelben bis schwarzen Farbe und ubiquitär¹², sowohl in der Geosphäre, Hydrosphäre, als auch in der Biosphäre, aufzufinden. Aufgrund ihrer spezifischen, dunklen Farbe beeinflussen sie den Wärmehaushalt des Bodens. Sie bestehen zu ca. 50 Gew-% aus Kohlenstoff und gehören, aufgrund definierter, physikochemischer Eigenschaften zu einer gemeinsamen Stoffklasse (vgl. Tab. 2). Tabelle 2 zeigt die Eigenschaften von FA, HA und Huminen.

Tab. 2: Huminstoffe und ihre Eigenschaften [4].

	Fulvinsäuren	Huminsäuren	Humine
Polymerisationsgrad	Niedrig	hoch, Sphärkolloide	Hoch
Molekulargewicht	2000 ... 9000	5000 ... 100000	nicht bekannt
C-Gehalt (%)	48	55	58
N-Gehalt (%)	0,5 ... 2,5	4 ... 5	5 ... 8
Säurecharakter	Stark	Mittel	Schwach
KAK¹³ [cmol¹⁴ (+)/kg]	300 ... 320	380 ... 480	370
Stabilität	Gering	Mittel	Hoch
Mobilität	Stark	Mittel	sehr gering

Um die 50 % des gelösten organischen Kohlenstoffgehalts (Dissolved Organic Carbon (DOC)) der aquatischen und terrestrischen Kompartimente, basieren auf HS. In farblosen Oberflächengewässern ist ein DOC-Wert von 2,2 mg/L zu verzeichnen, in gefärbten Oberflächengewässern liegt er zwischen 5 und 50 mg/L, weshalb von einer höheren HS-Konzentration ausgegangen werden kann. Hier können HS ca. 80 % des gesamten DOC ausmachen. Größenspezifisch lassen sie sich der Substanzklasse der Kolloide¹⁵ (Partikel < 2 µm) zuordnen. Sie werden mit dem englischen Terminus DOM, (für Dissolved Organic Material) oder ROS, (für Refractory Organic Acid), bezeichnet. Ihre refraktären Eigenschaften¹⁶ sorgen für eine lange Verweildauer im Ökosystem, weshalb sie den größten Teil des organischen Reservoirs bilden. Ihre detoxifizierende Funktion in Gewässern basiert u. a. auf dem

¹¹ Humifizierung von Biomasse.

¹² Allgegenwärtig.

¹³ „Die Kationenaustauschkapazität ist ein Maß für die austauschbaren Kationen und damit die Zahl an negativen Bindungsplätzen am Kationenaustauscher.“

<http://de.wikipedia.org/wiki/Kationenaustauschkapazit%C3%A4t>

¹⁴ Bezugs der molaren Stoffmenge auf die Wertigkeit.

http://de.wikipedia.org/wiki/Val_%28Einheit%29#Val_und_Mol

¹⁵ Größenbereich zwischen Molekülen und Partikeln [4].

¹⁶ Geringe Abbau- und Umwandlungsgeschwindigkeit [4].

Komplexierungsvermögen und dem Metabolismus von Schadstoffen (z.B. Spurenmetalle) d.h., sie bestimmen über die Mobilität und Bioverfügbarkeit von Metallen. Ihre polyelektrolytischen Eigenschaften basieren auf dem reversiblen Bindungsvermögen von Kationen und Anionen. Die natürlichen Wechselwirkungen zwischen Ionen in der gelösten Phase und HS in der kolloidalen Phase basieren auf Fließgleichgewichten.

Die Charakterisierung von HS, hinsichtlich ihrer Zusammensetzung und Struktur ist schwer, da sie polydispers sind und ihre stoffspezifischen Eigenschaften und ihr Adsorptionsverhalten von ionischen Verbindungen, dem pH-Wert, der Ionenstärke usw., abhängen. Deshalb werden HS nach ihrem Löslichkeitsverhalten in Wasser charakterisiert [4].

Grundsätzlich wird zwischen HS, die im Boden gebildet worden sind (paedogen), und HS, die in Gewässern gebildet wurden (aquagen), unterschieden. Als autochtone HS werden aquatische HS bezeichnet, die ausschließlich aus dem Abbau von Phytoplankton stammen und innerhalb des Gewässersystems gebildet wurden. Allochtone HS entstehen durch den Eintrag von pflanzlichen Resten oder terrestrischen, organischen Zersetzungsprodukten [19]. Es können keine definitiven Genese- oder Reaktionspfade angegeben werden, da HS über unterschiedliche chemische und biochemische Prozesse unter unterschiedlichen, natürlichen Bedingungen gebildet werden können [4]. In der Wissenschaft gibt es unterschiedlich diskutierte Genesewege von HS-Material. Ein Weg beschreibt die Bildung von HS durch die Polymerisation von kleineren Molekülen wie Phenolen und ein anderer den degradativen durch Oxidation und Hydrolyse von pflanzlichen Makrokolekülen wie Lignin.

- (1) Die Bildung von HS erfolgt durch die Polymerisation von Chinonen¹⁷ in Anwesenheit von Aminogruppen zu HS ähnlichen Makromolekülen. Dieser Bildungsweg wird besonders bei der Bildung von autochtonen HS diskutiert und wird als Polyphenoltheorie bezeichnet [19].
- (2) Die Bildung von HS erfolgt über mikrobielle und enzymatische Zersetzung von organischen Materialien, wie Pflanzenstoffen, Tierrückständen, Exkrementen von Bodentieren, etc. Aus hochpolymeren Verbindungen entstehen hierbei aliphatische und aromatische Bausteine, die Ausgangsstoffe für die Humifizierung. In der sog. Radikalphase werden, über radikalische Zwischenstufen, die Vorstufen der HS gebildet.

¹⁷ Umwandlungsprodukt von Ligninabbauprodukten, wie phenolischen Aldehyden und Säuren, durch enzymatischen Einfluss [19].

Hierbei erhalten die HS zusätzlich ihre Diversität, da auch andere organische und anorganische Verbindungen in die HS eingebunden werden können. Die Hauptbestandteile von HS sind vor allem Lignin, Polysaccharide, Proteine, OH-haltige, aromatische (Poly-) Carbonsäuren, Chinone, O₂- und N₂-haltige Heterocyclen und diverse Aminosäuren (vgl. Tab. 3). (O) -, (=NH) -, (=CH₂) -, (-N=) -, (=C=O) -, (-S-) - Brücken und längere Kohlenwasserstoffketten verbinden die Moleküleinheiten miteinander in unterschiedlichen Mengenverhältnissen [4].

Tab. 3: Huminstoffe,- funktionelle Gruppen, Herkunft und Wirkung [4].

Funktionelle Gruppen	Wichtigste Herkunft	Wirkung
-OH Hydroxyl (Phenol)	Phenole, Lignin	Säure
-OH Hydroxyl (Alkohol)	Alkohole, Coniferylalkohol (Stoffwechselprodukte)	Komplexbildung H-Brückenbildung
-COOH Carboxyl	Carbonsäuren, Aminosäuren (meist Oxidationsprodukte von Kohlenhydraten u. ähnlichen Verbindungen)	Säure
=C=O Carbonyl (Chinon)	Oxidation von Phenolen	Komplexbildung, H-Brückenbildung
R-O-R Ether	Kohlenhydrate, Lignine	
-OCH₃ Methoxyl		
-NH₂ Amino	Aminosäuren, Aminosucker, Proteine	Komplexbildung, Base, H- Brückenbildung
Heterocyclen N	Heterocyclen, Melanine	Komplexbildung, Base, H-Brückenbildung

(3) Für die Bildung aquagener HS steht die Melanidinhypothese zur Diskussion. Der Stickstoff einer Aminogruppe reagiert mit der Aldehyd- oder Ketofunktion eines Zuckers (Maillard-Reaktion). Die anschließende Bildung von Melanoidinen¹⁸ erfolgt durch Umlagerungen, Cyclisierungen, Polymerisierungen und Decarboxylierungen.

(4) Nach der Hypothese der selektiven Erhaltung von Thatcher erfolgt die Bildung des Grundgerüsts von HS durch makromolekulare, aliphatische Strukturen, welche bei der frühen Diagenese von Algen und Bakterien erhalten geblieben sind. Durch die

¹⁸ „Als Melanoidine werden gelbbraune bis fast schwarz gefärbte, stickstoffhaltige organische Verbindungen bezeichnet.“ <http://de.wikipedia.org/wiki/Melanoidine>

Anreicherung dieser im Sediment bilden sich die unlöslichen Humine. Die Oxidation von Huminen hat die Bildung von HA zur Folge. Der Einbau bakteriell erzeugter Polysaccharide in die HA, lässt FA aus den HA hervorgehen.

„Die bei der Genese von HA und FA entstehenden Verbindungen sind sehr vielfältig. Beide Stoffgruppen setzen sich aus mehreren tausend Einzelsubstanzen zusammen.“ Daher war es bislang nicht möglich eine allgemeingültige Strukturformel für HA und FA vorzuschlagen [19]. Abbildung 6 zeigt beispielhaft das Strukturmodell eines HA-Moleküls und Abbildung 7 exemplarisch das, eines FA-Moleküls.

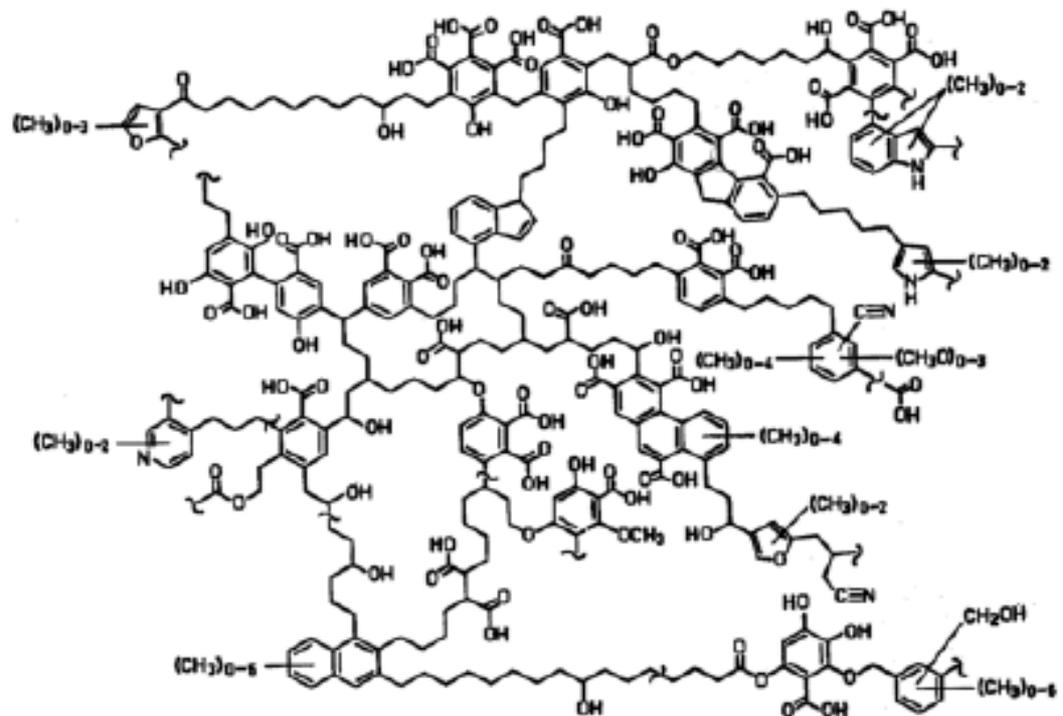


Abb. 6: Strukturmodell eines HA-Moleküls nach Schulten und Schnitzer (1997) [19].

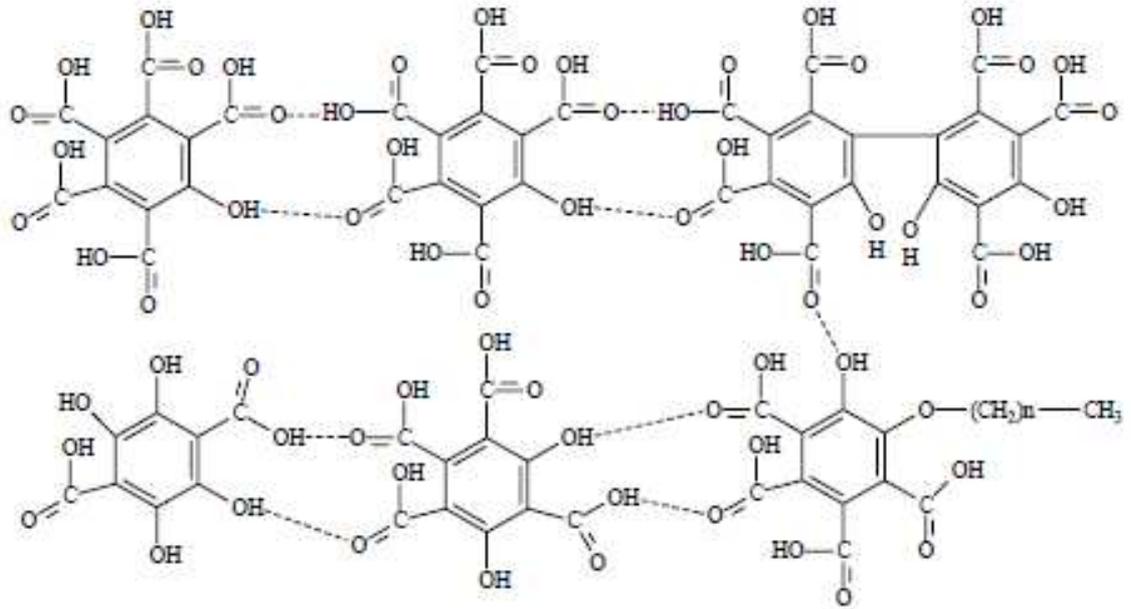


Abb. 7: Strukturmodell eines FA-Moleküls nach Morill (1982) [19].

HS sind zwar polydispers, haben aber typische, chemophysikalische Eigenschaften, welche eng mit der Art und der Menge der funktionellen Gruppen zusammenhängen. Aufgrund ihrer Heterogenität lassen sich HS schwer einer gemeinsamen, strukturchemischen Kategorie zuordnen, deshalb unterteilt man die Substanzklasse nach den Fraktionierungen HA, FA und Huminen [4]. Tabelle 4 zeigt die Fraktionierungen HA, FA und Humine und ihre Definitionen.

Tab. 4: Huminstoff-Fractionen und ihre Definitionen [4].

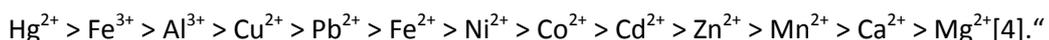
Fraktion	Definition
Huminsäure	Organische Stoffe, die aus einem alkalischen Huminstoff-Extrakt durch Zusatz von Säure bei einem $\text{pH} \leq 2$ ausgefällt werden
Fulvinsäuren	Organische Substanz, die aus einem alkalischen Huminstoff-Extrakt nach Zusatz von Säure $\text{pH} \leq 2$ nicht ausgefällt wird
Humine	Unlöslicher Anteil der Huminstoffe in Natronlauge

HA zeichnet sich durch ein hohes Molekulargewicht aus. Sie verfügt über vergleichsweise mehr aromatische Gruppen und Methylengruppen, als FA, allerdings auch über weniger Polysaccharidfragmente. Sie ist schwer löslich in Wasser und zur Bildung von Humaten mit mehrwertigen Kationen (Ca, Mg, Fe, Al) fähig. Ihre Carboxylgruppen und phenolischen OH-Gruppen dienen der Kationenaustauschkapazität (KAK). FA hat ein geringeres Molekulargewicht als HA. Sie zeichnet sich durch einen vergleichsweise höheren Gehalt an

Funktionellen Gruppen, sowie durch einen höheren Sauerstoffanteil im Strukturmodell aus. Der Gehalt an C und N₂ ist vergleichsweise geringer. Bis zu 30 % ihres strukturellen Aufbaus basieren auf Polysacchariden. Sie verfügt kaum über aromatische Komponenten und ist, wie oben erwähnt (vgl. Humate), auch zur Bildung schwer löslicher Metallkomplexe, Fumate genannt, fähig [4].

3.2.1 Komplexbildungsvermögen von Huminstoffen

Die Bindung von Metallkationen erfolgt über Funktionelle Gruppen mit Donoreigenschaften, bei Carboxyl- und z. T. auch bei phenolischen Hydroxyl-Gruppen, unter Abgabe von Protonen. Es können Komplexe hoher Stabilität gebildet werden, welche als Chelate bezeichnet werden. Chelate sind Komplexgebilde mit mehrfach funktionell gebundenen Metallionen, wobei die Metallionen von den Funktionellen Gruppen umschlossen werden. „In Abhängigkeit von den Eigenschaften und der Konzentration der jeweiligen Metallionen und Komplexbildner entstehen lösliche, metallorganische Komplexe sehr unterschiedlicher Art und Stabilität, die meist negativ geladen sind [4].“ Bei pH-Werten > 5 bis 6 wird die Löslichkeit durch diese Tatsache immens erhöht. Eine nahezu hundertprozentige Komplexbildung kann bei einem pH-Wert um oder über 7 erzielt werden. Wird die reaktive Protonenkonzentration erhöht, was bei sehr niedrigen pH-Werten (< 3 bis 4) der Fall ist, dissoziieren die Komplexe wieder. Die Löslichkeit von Metallkationen wird maßgeblich über das Molverhältnis (HS/Metallkation) mitbestimmt. Befindet sich der organische Komplexbildner im Überschuss werden Molverhältnisse von 2:1, mit zweiwertigen Kationen, erreicht, befindet sich das Metallkation im Überschuss, Molverhältnisse von 1:1. Die Bildung von unlöslichen Chelatkomplexen erfolgt bei einem Molverhältnis < 1. Die Stabilitätskonstante gibt die Güte der Stabilität von metallorganischen Komplexen an und wird weitgehend von der Stöchiometrie der Komplexe, also der Zahl der Mole, bestimmt. Für HS sind sie in der Regel nicht bekannt, was mit ihren vielzähligen, strukturellen Eigenschaften zusammenhängt. Hier spricht man von konditionellen Stabilitätskonstanten. Oft werden sie in einem pH-Bereich von 5 bis 5,5 angegeben. „Im Allgemeinen nimmt die Stabilität in folgender Reihenfolge ab:



Die Komplexierungskapazität (Kkap) ist definiert als die max. Beladungskapazität von HS, unter Einbeziehung der Gesamtheit aller metallionenbindenden Liganden und wird in mmol/g DOC des gelösten HS wiedergegeben. Die Ionenstärke der vorherrschenden Metallkationen ist ein wichtiger Parameter zur Bestimmung dieser Größe. Sie wächst mit steigender Affinität eines Metallions zum Komplexbildner und seinen Funktionellen Gruppen [4].

Das Fluoreszenzverhalten von DOMs, respektive HS, basiert auf ihrer Herkunft (Hydrosphäre, Geosphäre) und Zusammensetzung. Man unterscheidet hierbei folgende Fluoreszenzklassen, welche sich maßgeblich in der Position der Fluoreszenzpeaks, innerhalb einer Exzitations-Emissions-Matrix, unterscheiden (s. Tab. 5).

Tab. 5: Klasse, Herkunft und Fluoreszenzverhalten von Huminstoffen [20].

Klasse	Herkunft	Besonderheiten	Ex-Spektrum [nm]	Em-Spektrum [nm]
I	HA		350-440	430-510
II	FA	Ohne UV-Lichtaufnahme-fähigkeit	310-360	370-450
III	Protein		260-290	300-350
IV	FA	Mit UV-Lichtaufnahme-Fähigkeit	240-270	370-440

Im Verlauf der Arbeit wird die Klasse I mit HA, die Klasse II mit oUV-FA und die Klasse III mit UV-FA bezeichnet.

2.2.2 Flockung von Huminstoffen

Die partikuläre Flockulation wird als Teiloperation der Produktaufbereitung verstanden. Als Sammelbezeichnung steht sie für alle Vorgänge die ein Abscheiden, von in kolloidalen Systemen suspendierten Teilchen, bewirken. Nach Stokes steigt die Sedimentationsgeschwindigkeit von Teilchen mit der Zunahme ihres partikulären Durchmessers. Flockungsmittel erhöhen die Koagulationsfähigkeit von Teilchen und unterstützen, durch Manipulation des pH-Wertes, die Bildung größerer Teilchenkompartimente von bis zu über 1 mm. Die Zugabe von Salzen (z.B. Sulfaten) bewirkt eine Reduktion der elektrischen Doppelschicht. Partikuläre Abstoßungseffekte werden vermindert. Mehrwertige Kationen (z.B. Al^{3+} u. Zn^{2+}) haben einen stärkeren Einfluss als einwertige. Gängige Elektrolyte enthalten Natrium, Calcium, Magnesium, Eisen oder Aluminium in Form von mehrwertigen, oder einwertigen, Kationen. Die Koagulationsfähigkeit der Ionen wächst in der oben angegebenen Reihenfolge von Natrium zu Aluminium. Die Koagulationsfähigkeiten anderer Kationen und Anionen können den Hofmeisterschen Reihen entnommen werden [10]. Durch Zugabe von Aluminiumsulfat werden feinpartikuläre Trübstoffe aus Wasser entfernt. Die Metallionen fallen in Form von Hydroxiden aus die einen Teil, der daraus resultierenden Flockenmasse, ausmachen. HS können mit der gebildeten Flockenmasse assoziieren und ausflocken (vgl. Abb. 8). Als dominanter Mechanismus, zur Trennung von HS aus aquatischen Medien, wird die Sorption der HS an die Metalloberflächen von frisch gefällten Hydroxiden gesehen. Dieser Mechanismus lässt sich formal durch

Oberflächenkomplexierungsmodelle beschreiben. Der Wirkungsgrad von Flockungsverfahren für die Entfernung von HS-Material liegt bei ungefähr 50 bis 80 %, bezogen auf den DOC-Wert [18]. Abbildung 8 zeigt den reduzierenden Einfluss von Aluminiumsulfat auf HS-Material in flüssigen Medien. Die auf der x-Achse angegebene Lichtschwächung pro Meter Wasser bei einer Wellenlänge von 254 nm (SAK-254 m^{-1}) zeigt eine Reduktion der Extinktion mit zunehmendem Anstieg der Konzentration an Aluminiumsulfat.

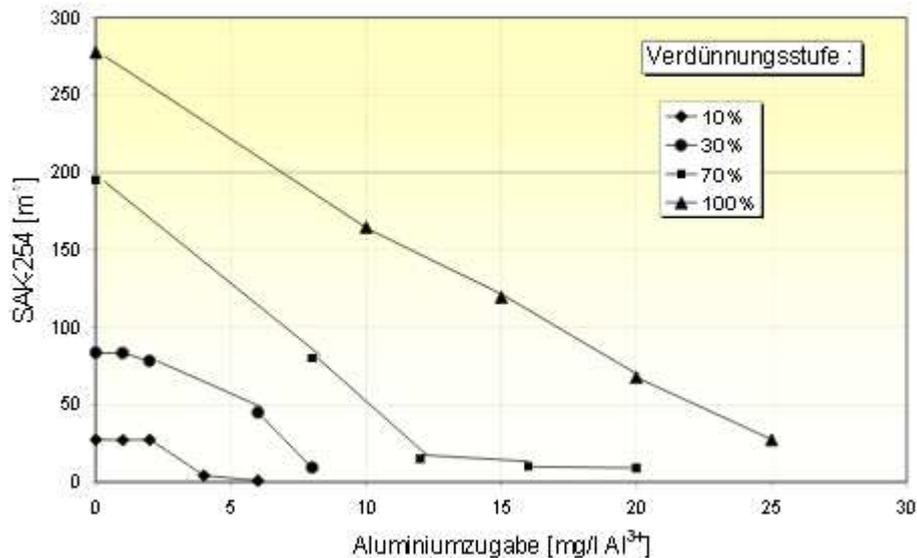
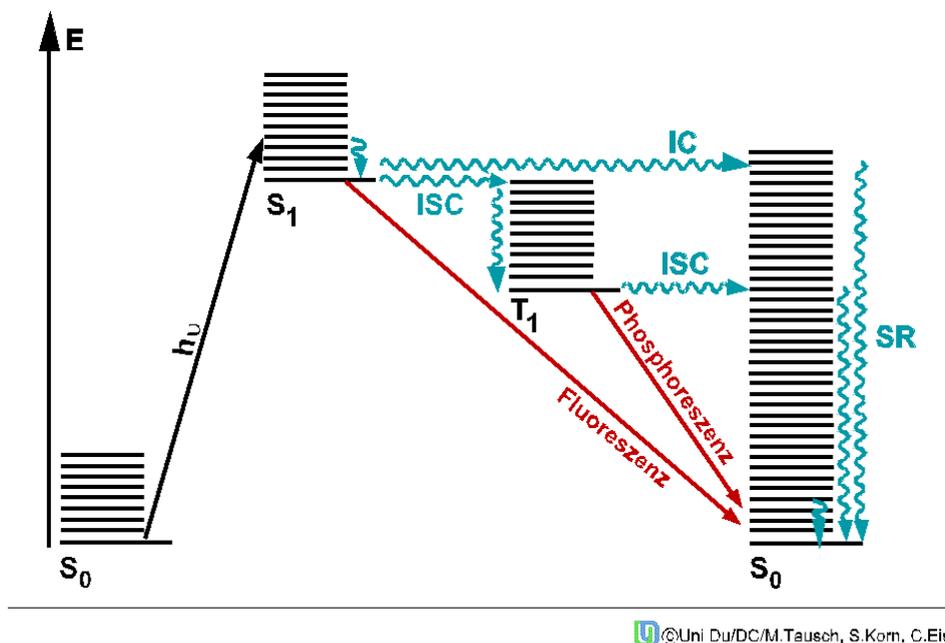


Abb. 8: Flockungsverhalten von HS mit Zunahme von gelöstem Aluminiumsulfat gemessen nach der SAK-254-Methode [19].

2.3 Photolumineszenz

Durch die Aufnahme von Anregungsenergie vollziehen Elektronen einen Quantensprung von einem schwingungsarmen Grundzustand im Orbital (S_0), unter Wahrung der Spinmultiplizität, in einen höheren Energiebereich S_n . Das angeregte Elektron ist bestrebt, seine hinzugewonnene Energie, wieder abzugeben und in den Grundzustand zurückzukehren. Normalerweise geschieht dies durch Teilchenkollisionen. Im Jablonski-Diagramm (s. Abb. 9) wird dies durch das Absinken des Teilchens in ein niedrigeres Schwingungsniveau, mit der gleichen Multiplizität, verdeutlicht. Die Desaktivierung erfolgt strahlungslos in Form von Wärme. Erfolgt dieser Vorgang, z. B. von S_1 , auf das darunter liegende Niveau S_0 , spricht man von einer internal conversion (IC), erfolgt dieser Vorgang im gleichen Schwingungsniveau, von einer Schwingungsrelaxation (SR) Überschüssige Energie die nicht über Kollisionen mit benachbarten Teilchen abgegeben werden kann, wird in Licht übersetzt [21]. Erfolgt die Strahlung hierbei direkt nach 0,1 - 100 ns, spricht man Fluoreszenz [22].

Die Lichtemission der Phosphoreszenz endet nicht mit der Bestrahlung. Nach einer Verweildauer von 10^{-8} sec. kommt es zu einem weiteren Quantensprung des Elektrons von einem Singulett-Zustand in einen metastabilen Triplett-Zustand. Dieser Vorgang ist Spin verboten, da das Elektron den Übergang vom Singulett-Zustand in den Triplett-Zustand nur durch eine Spinumkehr vollziehen kann (intersystem crossing (ISC)). Das Elektron kann dort wenige Millisekunden, oder Stunden, verharren. Im Triplett-Zustand kommt es erneut zu einer verbotenen Schwingungsrelaxation und zu einem ISC, wodurch ein schwaches Nachleuchten erreicht werden kann. Wärme beschleunigt den Energieverlust durch Schwingungsrelaxation und somit die Interkombination [21]. Abbildung 9 zeigt das Jablonski-Diagramm nach Aleksander Jablonski (1935). Das plancksche Wirkungsquantum h , multipliziert mit der Frequenz f (hier ν), symbolisiert die aufgenommene Anregungsenergie E des Elektrons im Orbital S_n , welche auf der y-Achse angezeigt wird [24]. Weiterhin sind, die oben erwähnte IC und das ISC und die Orbitalzustände S_1 (Spin erlaubt) und T_1 (Spin verboten), in der Grafik abgebildet.



©Uni Du/DC/M.Tausch, S.Korn, C.Eisel

Abb. 9: Jablonski-Diagramm, nach Aleksander Jablonski¹

Fluoreszenz kann nur in Systemen mit konjugierten Doppelbindungen erfolgen welche, durch ihr alternierendes Auftreten im Wechsel mit Einfachbindungen, gekennzeichnet sind. Bereits einfache Aromaten zeigen Fluoreszenz. „Für die Absorption im sichtbaren und ultravioletten Bereich sind hauptsächlich π - π^* -Übergänge verantwortlich [4].“ Die Fähigkeit der Fluorophore zur strahlungslosen Desaktivierung, oder zum ISC, kann die Fluoreszenz auf nicht mehr messbare Werte absenken. Eine Erhöhung der aromatischen Planarität und Rigidität erfolgt zu

Gunsten der FI, wodurch die strahlungslose Desaktivierung reduziert wird [22]. Die Fluoreszenzwellenlänge ist immer energieärmer (länger) als die eingestrahlte Anregungswellenlänge. Wenn die Desaktivierung durch strahlungslosen Energietransfer auf andere Moleküle erfolgt, wird sie als Fluoreszenzlöschung (fluorescence quenching) bezeichnet. Man unterscheidet zwischen der dynamischen Fluoreszenzlöschung, durch Kollisionsprozesse und der statischen Fluoreszenzlöschung, durch Komplexbildung. Beide sind abhängig von der Konzentration der Quencher. Höhere Temperaturen haben eine Abnahme der FI zur Folge, da die Häufigkeit von desaktivierenden Stößen mit anderen Probenmolekülen zunimmt. Wenn die Konzentration des Fluorophors oberhalb des Sättigungsbereiches liegt, zeigt sich eine Konzentrations-Fluoreszenzlöschung (concentration quenching) als Abnahme der FI. Bei hoher Fluorophorkonzentration wird das Anregungslicht so stark absorbiert, dass es von den Fluorophoren herausgefiltert und an einem tieferen Eindringen gehindert wird. Man nennt dieses Phänomen inner-filter-Effekt. Er tritt häufig bei Messungen in Küvetten auf [23].

2.3.1 Exzitations-Emissions-Matrix-Fluoreszenzspektroskopie

Die Exzitations-Emissions-Matrix (EEM)-Fluoreszenzspektroskopie hat längst weiträumig Anwendung in der qualitativen und quantitativen Analyse von HS in aquatischen Mischproben gefunden. Über sie können die physikochemischen Eigenschaften von HS erfasst und abgebildet werden. HS enthalten eine Vielzahl fluoreszierende Funktionelle Gruppen deren intrinsisches Fluoreszenzverhalten Aufschluss über die Struktur, die Konfiguration und die Heterogenität der untersuchten HS-Proben geben kann. Dynamische Eigenschaften, wie z. B. das intermolekulare und intramolekulare Bindungsverhalten von HS, können erfasst und abgebildet werden [20]. In der konventionellen Fluoreszenzspektroskopie erhält man aus der Gegenüberstellung der relativen Fluoreszenzintensität (RFI) zur Emission, bei fester Anregungswellenlänge, das Fluoreszenz-Emissionsspektrum (s. Abb. 10). Ist die Emissionswellenlänge fest und sind die Exzitationswellenlängen variabel, erhält man aus der Gegenüberstellung von RFI und Exzitation, das Fluoreszenz-Exzitationsspektrum (s. Abb. 11). Beide Verfahren gehören zur eindimensionalen Fluoreszenzspektroskopie. Bei der 2D-Fluoreszenzspektroskopie wird ein breiteres Emissions- und Exzitationsspektrum abgedeckt. Durch die äquidistante Zunahme der Wellenlängen der Exzitation und Emission wird ein Synchronspektrum erhalten. Dieses Spektrum erfasst den gesamten Anregungs- und Emissionsbereich [23].

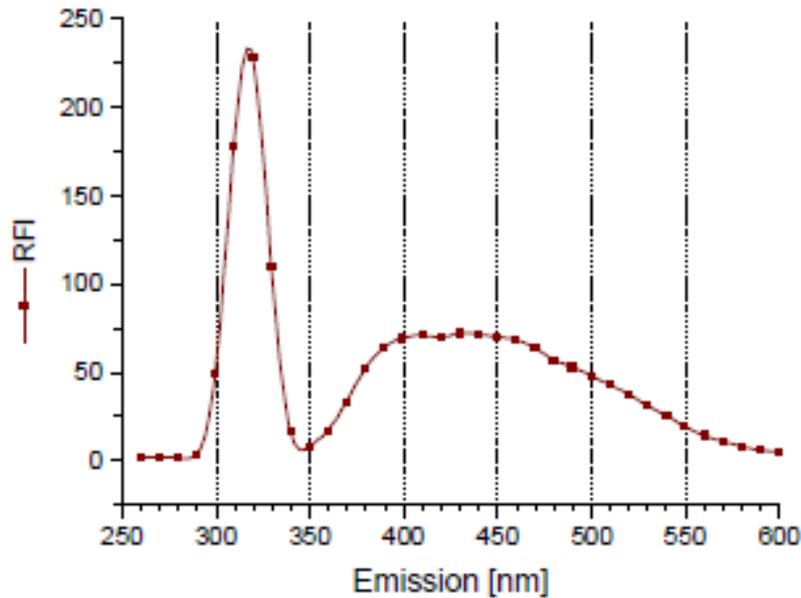


Abb. 10: Fluoreszenz-Emissionsspektrum [23].

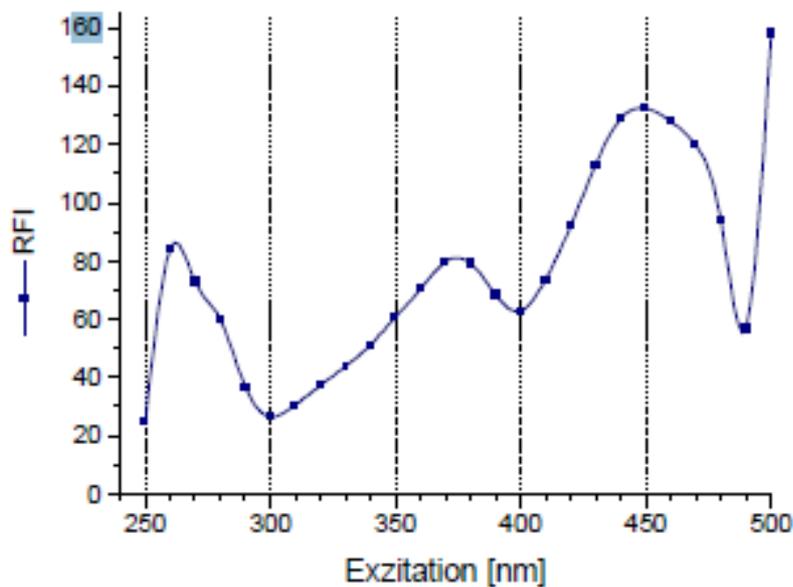


Abb. 11: Fluoreszenz-Exzitationsspektrum [23].

„Die 3D-Darstellung kann als Kontur-Plot mit Höhenlinien, ähnlich einer topographischen Karte oder als anschauliches 3D-Diagramm, erfolgen [23].“ Bereiche mit gleichen FIs erhalten den gleichen Farbton. Eine Zunahme der FI erfolgt von blau, über grün nach rot, wobei blau für die niedrigsten FIs steht. Es ist möglich, dass kleinere Peaks im 3D-Diagramm verdeckt werden, deshalb bedient man sich der Kontur-Plot-Darstellung der FI-Werte in einer 2D-Matrix. „Einflüsse auf die Fluoreszenz einzelner Fluorophore können im Gesamtzusammenhang

betrachtet werden [23].“ Verschiebungen und Überlagerungen von Fluoreszenzmaxima können eindeutig erkannt werden [23].

Die Güte der Detektion von Fluorophoren in aquatischen Mischproben wird durch eine Vielzahl von Einstellungen am Fluoreszenzspektrometer, also der Software, mitbestimmt. Hierfür gilt es den Anregungs- und Emissionswellenlängenbereich festzulegen, die maximale Lichtdurchtrittsweite am Exzitations- und Emissionsmonochromator (Ex slit, Em slit [nm]) einzustellen und das Inkrement [nm] d.h., die Schrittweite, für die Genauigkeit der Proben-Detektion zu definieren.

Das Fluoreszenzspektrometer besteht im Wesentlichen aus einer anregenden Lichtquelle, zwei Monochromatoren (Exzitationsmonochromator (blau) & Emissionsmonochromator (rot)) und zwei Photomultipliern zur

Signalverstärkung (vgl. Abb. 12). Der gepulste Lichtstrahl einer Lichtquelle passiert den Exzitationsmonochromator und trifft auf einen Strahlenteiler. Die Probe wird angeregt und fluoresziert. Das emittierte Licht passiert den Emissionsmonochromator und wird vom Photomultiplier gemessen. Anschließend wird das Probensignal zum Signal des Referenzphotomultipliers ins Verhältnis gesetzt [25]. Abbildung 12 zeigt den schematischen Aufbau eines Fluoreszenzspektroskops und den Weg des Lichtes durch die Apparatur. Die konkav gebogenen Formen sind Spiegel und die Quadrate Beugungsgitter.

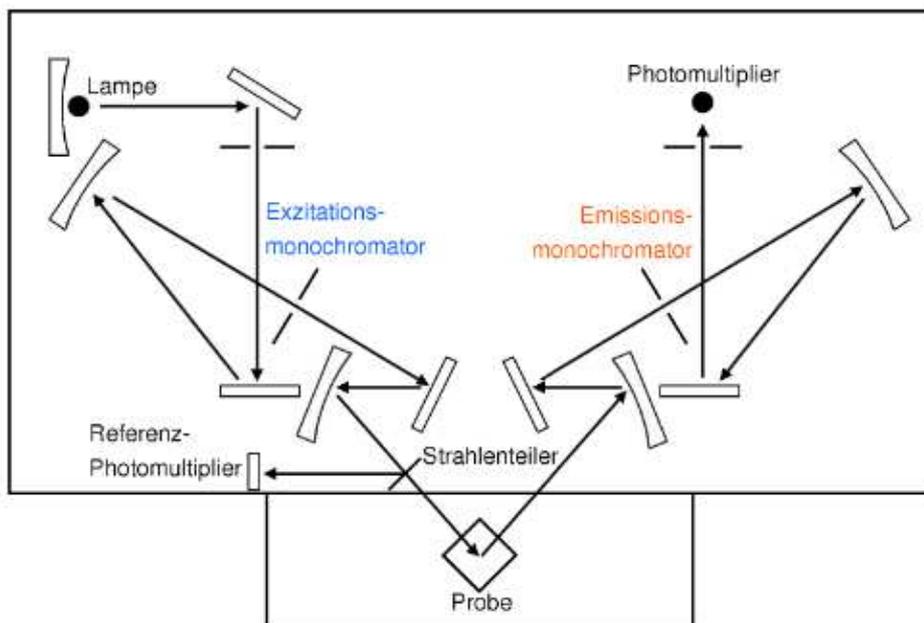


Abb. 12: Aufbau der Messapparatur eines Fluoreszenzspektroskops [26].

2.4 Strömungspotential

In einem Teflonzylinder wird ein Teflonstößel gleichmäßig auf- und abbewegt. Im Spalt, zwischen Zylinder und Stößel, wird die Probenlösung beschleunigt. Aufgrund der Wandrauigkeit des Zylinders werden einige Probenpartikel in Ruhe versetzt oder verlangsamt. Durch die vorherrschenden, mechanischen Beschleunigungskräfte, in Kombination mit der rauhen Oberflächenbeschaffenheit der Zylinderinnenwand, werden die Ladungswolken der ruhenden Partikel verzerrt. Dadurch erscheinen Teile der Partikelladung aus der elektrischen Doppelschicht (blau) (vgl. Abb. 13). Im Rhythmus des Stößels entsteht ein sinusförmiger Spannungsverlauf. Abhängig von der Anwendung wird entweder eine Polyelektrolyt-, oder eine pH-Titration durchgeführt. In Verbindung mit der Strömungspotentialanzeige gibt die Titration den kationischen/anionischen Verlauf der Potentialveränderung an. Ob der Ladungsnullpunkt oder das Maximum der Titrationskurve wichtig ist, gibt die wissenschaftliche Fragestellung vor [26].

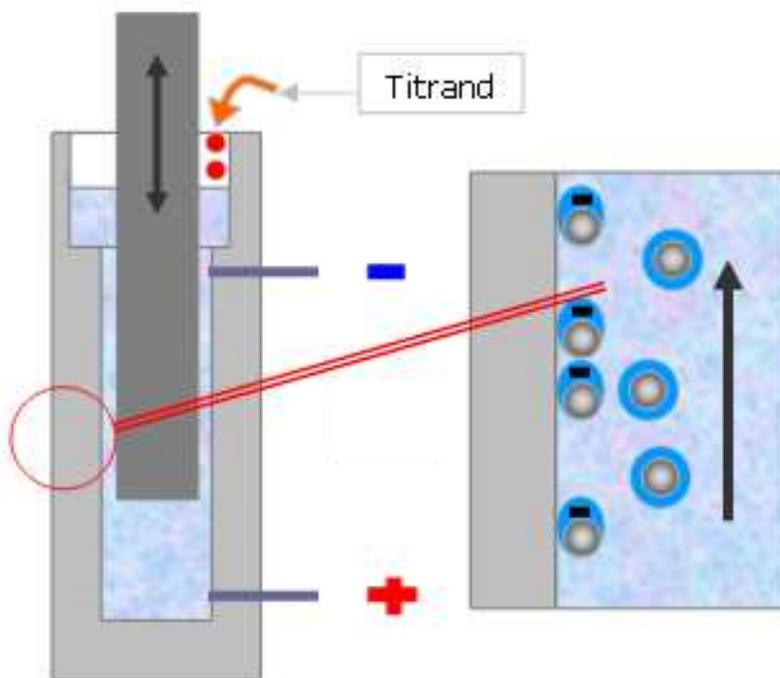


Abb. 13: Schematischer Aufbau eines Strömungspotential-Monitors mit Probenlösung und Titrand [26].

Nach Helmholtz besteht die elektrische Doppelschicht aus starren Gegenladungen an kolloidalen Partikeln, nach Gouy-Chapman aus frei beweglichen Gegenladungen um kolloidale Partikel. Die Auftrittswahrscheinlichkeit von Gegenladungen sinkt mit wachsendem Partikelabstand. Abbildung 14 zeigt die Theorie zur Doppelschicht nach Helmholtz und Gouy-Chapman. Links der y-Achse liegen die negativen Oberflächenladungen der kolloidalen Partikel

und rechts davon die positiven Gegenionen. Das abstoßende Potential (ψ) der Oberflächenionen sinkt von links nach rechts [27].

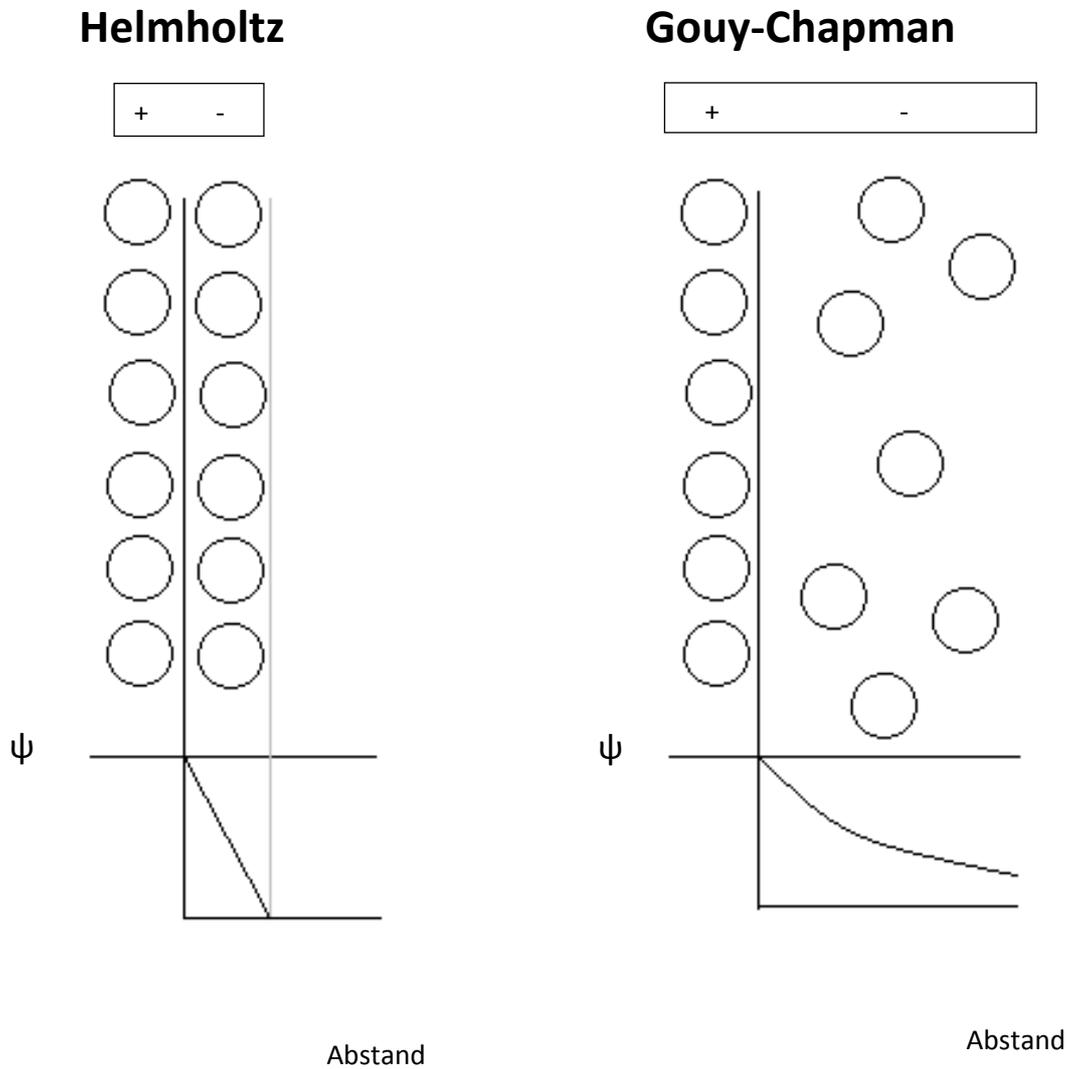


Abb. 14: Theorie zur Doppelschicht nach Helmholtz und Gouy-Chapman [27].

Stern kombinierte beide Modelle. Die oberflächennahe Ladungsschicht wird als Helmholtzschicht bezeichnet und die weiter entfernten Ladungen werden, in der Diffusen Doppelschicht, zusammengefasst. In dieser Schicht werden die einzelnen kolloidalen Partikel gegeneinander abgeschirmt. Das Abstoßungspotential sinkt mit zunehmendem Ladungsabstand (s. Abb. 15) [27].

Stern

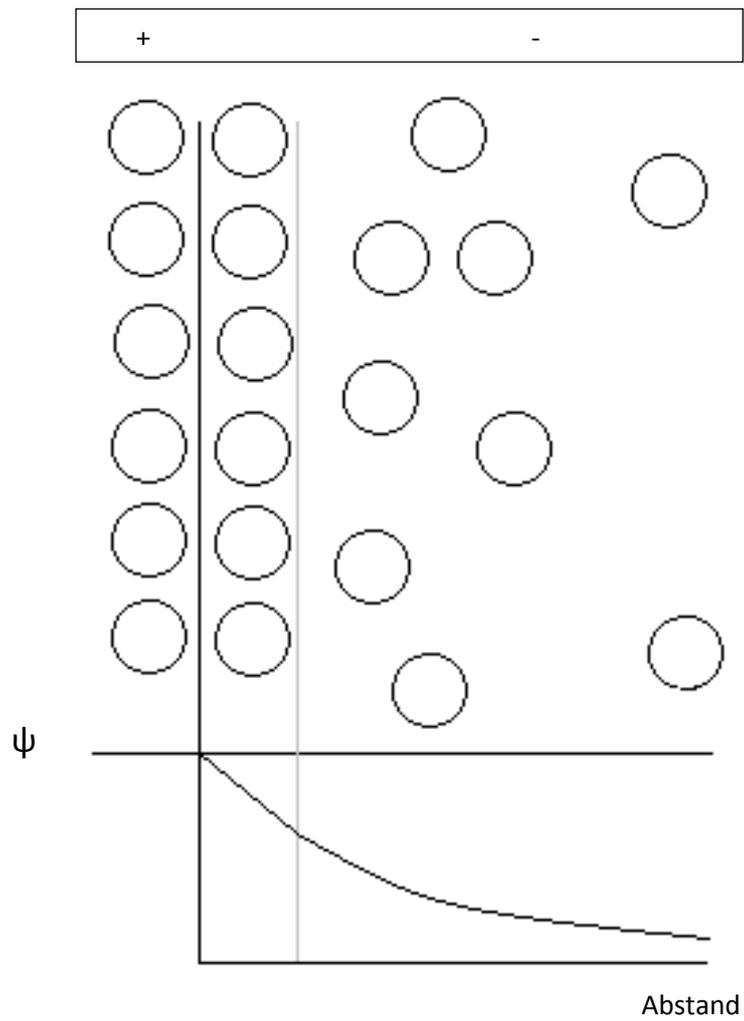


Abb. 15: Elektrische Doppelschicht nach Stern [27].

3 MATERIAL UND METHODEN

3.1 Kreislaufproben

Die Algenkulturlösung (AK), des ZAF in Bremerhaven, setzt sich zusammen aus der Algenspezies *Nannochloropsis salina*, künstlichem Seewasser¹⁹ und Flüssigdünger (PNK²⁰). Die Kultivierungsanlage fasst ein Gesamtvolumen von 250 L. Hierfür wurden 60 m Acrylglasrohre verbaut. Die Bestrahlung der Anlage erfolgt über künstliches Licht (s. Abb. 16).



Abb. 16: Anlage zur Algenkultivierung im Zentrum für Aquakulturforschung in Bremerhaven.

Künstlich erzeugtes Seewasser speist den Wasserkreislauf 1 (KL 1) und versorgt diverse Fisch- und Krebsarten mit Medium (s. Abb.17). KL 1 besteht aus 9 Tanks mit einem Gesamtvolumen von 40 m³ Medium. Ein kompletter Wasserwechsel erfolgt 1 bis 2 Mal pro h. Das Kreislaufsystem verfügt über diverse Trommelfiltersysteme, eine Ozon- und eine Protein-Skimming-Anlage²¹. Zur Zeit des Praktikums wies das Prozesswasser des KL 1 einen hohen Gehalt an HS auf, erkennbar an der bräunlichen Farbe des Prozesswassers und bot somit die besten Voraussetzungen für die Fluoreszenzanalyse und die anschließenden Bindungsversuche mit Metallionen.

¹⁹ Leitungswasser, das durch Umkehrosiose von störenden Schwebstoffen und Spurenelementen befrei und auf einen 30 %-igen Seesalzanteil (Seesalz von der Firma Seequasal) eingestellt wurde (Thon, Marcus ZAF).

²⁰ Phosphor, Stickstoff, Kalium.

²¹ „Ein Abschäumer ist ein Gerät zur Wasseraufbereitung, das dem Wasser eines geschlossenen Systems vor allem organische Abfallstoffe und angelagerte Substanzen in Form von Lipiden, Harnsäure, Peptide und Aminosäuren auf physikalische Weise entzieht.“
<http://de.wikipedia.org/wiki/Absch%C3%A4umer>



Abb. 17: Prozesswasserkreislauf 1 des Zentrums für Aquakulturforschung in Bremerhaven.

3.2 Chemikalien

3.2.1 Aluminium²²-Lösung

Für die Bindungsversuche mit den Prozesswasserproben AK und KL 1 wurden Aluminiumlösungen (AL) eines definierten Konzentrationsbereichs ($c_{(Al)} = 0,5 \text{ M} - 0,005 \text{ M}$) angesetzt. Eine 0,5 M AL fungierte als Stammlösung (Komplexlsg. 1) (vgl. Tab. 5). Die Verdünnung der Ausgangskonzentration um 10^{-1} und 10^{-2} Einheiten, soll die schrittweisen Veränderungen, der Bindungskapazität der dreiwertigen Metallionen (Al^{3+}) mit den HS der Prozesswasserproben, veranschaulichen. Die hohe Ausgangskonzentration bezieht sich auf Messwerte zum Abtrag metallischer Hartschubstanz an der Oberfläche von OAs wie sie vom Institut, in weiteren Versuchen, ermittelt und festgelegt wurde. Für die Komplexlsg. 2 ($c_{(Al)} = 0,05 \text{ M}$) wurde die Stammlösung im Verhältnis 1:10 herunterverdünnt und für die Komplexlsg. 3, im Verhältnis 1:100 (vgl. Tab. 6). Alle Komplexlsg. wurden mit Milli-Q-Wasser in 50 mL Borosilikatglas-Messkolben angesetzt.

Tab. 6: Verdünnungsreihe Aluminiumsulfat.

Probe	Verdünnungsverhältnis
Komplexlsg. 1	
Komplexlsg. 2	1:10
Komplexlsg. 3	1:100

²² Hydrat kristallin, reinst Ph. Eur., Applichem GmbH.

Exemplarische Einwaage von Aluminiumsulfat

$$m_{(\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3)} = M_{(\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3)} \times n_{(\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3)}$$

$$m_{(\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3)} = M_{(\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3)} \times c_{(\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3)} \times V_{(\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3)}$$

$$m_{(\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3)} = 648,41 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \times \frac{0,25 \text{ mol}}{\text{L}} \times 50 \text{ mL} \approx \mathbf{8,1 \text{ g}}$$

Tab. 7: Ideale und reale Einwaage von Aluminiumsulfat.

Datum	Ideale Einwaage [g]	Reale Einwaage [g]
06.04.13	8,1	8,902
12.04.13	8,1	8,991
18.04.13	8,1	8,980
26.04.13	8,1	8,985
30.04.13	8,1	8,982
02.05.13	8,1	8,951
06.05.13	8,1	8,920

3.2.2 Zinksulfat²⁴-Lösung

Zinksulfat (Zinkionen) verfügt über die Fähigkeit HS zu komplexieren. Wie unter 2.2 beschrieben, ist die Komplexstabilität, zwischen HS und dem Metall, abhängig von der Art des Metalls und seiner ionischen Wertigkeit [4]. Aus der 0,5 M Zink-Stammlösung (Komplexlsg. 4) wurden sowohl die Komplexlsg. 5 ($c_{(\text{Zn})} = 0,05 \text{ M}$) als auch die Komplexlsg. 6 ($c_{(\text{Zn})} = 0,005 \text{ M}$) hergestellt (vgl. Tab. 8). Alle Komplexlsg. wurden mit Milli-Q-Wasser in 50 mL Borosilikatglas-Messkolben angesetzt.

Tab. 8: Verdünnungsreihe Zinksulfat.

Probe	Verdünnungsverhältnis
Komplexlsg. 4	
Komplexlsg. 5	1:10
Komplexlsg. 6	1:100

²³ 1 mol $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ enthalten 2 mol Al \rightarrow 0,5 mol Al entsprechen **0,25 mol** $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$

²⁴ Heptahydrat $\geq 99 \%$, Ph. Eur., USB, BP, Carl Roth.

Exemplarische Einwaage von Zinksulfat

$$m_{(\text{ZnSO}_4)} = M_{(\text{ZnSO}_4)} \times n_{(\text{ZnSO}_4)}$$

$$m_{(\text{ZnSO}_4)} = M_{(\text{ZnSO}_4)} \times c_{(\text{ZnSO}_4)} \times V_{(\text{ZnSO}_4)}$$

$$m_{(\text{ZnSO}_4)} = 287,54 \frac{\text{g}}{\text{mol}} \times 0,5 \frac{\text{mol}}{\text{L}} \times 50 \text{ mL} \approx \mathbf{7,2 \text{ g}}$$

Tab. 9: Ideale und reale Einwaage Zinksulfat.

Datum	Ideale Einwaage [g]	Reale Einwaage [g]
08.04.13	7,2	7,200
10.04.13	7,2	7,189
15.04.13	7,2	7,200
26.04.13	7,2	7,189
30.04.13	7,2	7,200

3.3 Verfahren zur Herstellung von Gemischen aus Algenkulturlösung/Kreislaufprobe und Aluminiumsulfat/Zinksulfat

Zur Analyse des Interaktionsverhaltens von HS in wässrigen Medien mit Aluminiumionen (Al^{3+}) und Zinkionen (Zn^{2+}) wurden homogene Gemische aus den Prozesswasserproben und Aluminiumsulfat (s. Komplexlsg. 1 bis 3) oder Zinksulfat (s. Komplexlsg. 4 bis 6) hergestellt. Hierfür wurden jeweils 5 mL von AK oder KL 1 über sterile Spritzenfilter (2 μm) Dead-End filtriert.²⁵ Anschließend wurden 5 mL der Probe AK oder KL 1 mit 5 mL AL oder Zink – Lösung (ZL) in ein Zentrifugenröhrchen (15 mL) gefüllt und gevortext. Die Probenzusammensetzung, aus HS und Metallionen, wurde mit einem Volumenverhältnis von 50 Vol-% AK oder KL1 und 50 Vol-% AL oder ZL festgelegt. Das Verfahren zur Herstellung von Mischproben (MPs) ist der Tabelle 10 zu entnehmen.

Tab. 10: Mischproben aus AK oder KL1 mit Aluminiumsulfat oder Zinksulfat.

Probenname	Komponenten
MP 1	AK + Komplexlsg. 1
MP 2	AK + Komplexlsg. 2
MP 3	AK + Komplexlsg. 3
MP 4	AK + Komplexlsg. 4
MP 5	AK + Komplexlsg. 5
MP 6	AK + Komplexlsg. 6

²⁵ Klassische Form der Filtration (Kuchenfiltration).

Tab. 11: Mischproben aus AK oder KL1 mit Aluminiumsulfat oder Zinksulfat.

MP 7	KL1 + Komplexlsg. 1
MP 8	KL1 + Komplexlsg. 2
MP 9	KL1 + Komplexlsg. 3
MP 10	KL1 + Komplexlsg. 4
MP 11	KL1 + Komplexlsg. 5
MP 12	KL1 + Komplexlsg. 6

Alle MPs wurden fluoreszenzspektroskopisch untersucht und anschließend einem Gerät zur Messung des Strömungspotentials (Stabisizer) zugeführt.

3.4 Verwendete Geräte und Materialien

Tabelle 11 zeigt die Geräte und Materialien, die für die Forschung zum Bindungsverhalten von HS mit Metallionen, verwendet wurden.

Tab. 12: Verwendete Geräte und Materialien.

Prozessschritt	Material für Prozess	Hersteller
Zentrifugation (Centrifuge 5810R)	45 mL Zentrifugenröhrchen	Eppendorf AG Sigma-Aldrich Co. LLC
Fluoreszenzspektroskopie (LS 55B)	Quarzglasküvetten 101-QS 10 mL Einmalspritzen 15 mL Zentrifugenröhrchen 2 µm Spritzensterifilter 50 mL Labormesskolben (DURAN)	PerkinElmer Inc. Hellma GmbH & Co. KG B. Braun Melsungen AG Sigma-Aldrich Co. LLC Sartorius AG BRAND GmbH + Co. KG
Strömungspotential (Stabisizer)		Particle Metrix GmbH

3.5 Probenfindung

Zur Detektion von HS in aquatischen Medien müssen die gewonnenen Proben eine hinreichende Menge an HS-Material aufweisen. Dafür wurden Prozesskreislaufwasserproben des ZAF auf ihren HS-Gehalt fluoreszenzspektroskopisch untersucht. Hierbei handelte es sich um AK, KL 1 und natürliches Nordseewasser (nNW), aus der Region der Insel Helgoland. Die Proben, AK und KL 1, wurden als geeignete Kandidaten für die Bindungsexperimente

identifiziert. Sie wiesen einen adäquaten (fluoreszenzspektroskopisch quantifizierbaren) Gehalt an HS auf.

3.6 Aufbereitung und Analyse von Huminstoff-Proben

3.6.1 Vorfiltration

Eine ausreichende Reduktion des Hintergrundrauschens von aquatischen Medien hängt von der Aufbereitung der Probenmatrix ab, in diesem Fall, von der Separation von Störkomponenten und Analyten. Hierfür wurden die Proben AK und KL 1 über einen sterilen Spritzenfilter bei einem Porendurchmesser von 0,45 µm vorfiltriert. Die Vorfiltration stellte sich als ineffektive Methode heraus d.h., es blieben zu viele störende Komponenten in der Lösung erhalten, weshalb das Verfahren der Zentrifugation gewählt wurde.

3.6.2 Zentrifugation

Störende Schwebstoffe beeinträchtigen die Güte der Detektion von HS in wässrigen Medien. Mittels Eppendorf Zentrifuge (centrifuge 5810R) wurden jeweils 45 mL AK und 45 mL KL 1 zentrifugiert ($\omega = 4.000$ rpm, $t = 5$ min., $T = 4$ °C). Das Bodenpellet enthielt Komponenten der Probenmatrix die, die Fluoreszenz und die anschließende Detektion von HS, behindert hätten (s. Quenchingeffekte 2.3.1).

3.6.3 Filtration

Die Filtration entfernt weitere Störkomponenten aus der Probenmatrix und lässt die HS, für die spätere Fluoreszenzspektroskopie, stärker in Erscheinung treten. Jeweils 5 mL AK oder KL 1 wurden aus den Zentrifugenröhrchen entnommen und bei einem Porendurchmesser von 0,2 µm Dead-End filtriert. Ca. 3 mL des Filtrats wurden in eine Quarzglasküvette gefüllt, einem Fluoreszenzspektroskop zugeführt und gemessen.

3.6.4 Kalibrierung des Fluoreszenzspektroskops

Eine Kalibrierung des Fluoreszenzspektroskops (LS 55B), zur Konzentrationsbestimmung von HS in Prozesswasserproben, war nicht möglich, da das Institut lediglich über HA technologischen Standards (500 - 500.000 g/Mol) verfügte und FA nicht vorrätig war. In Absprache mit der Firma AppliChem wurden 0,05 g des HA-Pulvers eingewogen und in einem

Messkolben auf 500 mL aufgefüllt. 10 mL der oben erwähnten Lösung wurden, bei $d_{\text{pore}} = 0,2 \mu\text{m}$, Dead-End filtriert und ca. 3 mL des Filtrats fluoreszenzspektroskopisch analysiert. Die HS-Analyse ergab keine reproduzierbaren Daten, weshalb auf die Kalibrierung des Fluoreszenzspektroskops mit HA verzichtet werden musste.

3.6.5 Komplexierung

Die Komplexierung der Prozesswasserproben AK und KL 1 mit den Metallkationen einer AL und ZL erfolgte, in dem unter 3.3 aufgeführten Verfahren zur Herstellung von Mischproben. Da keine genaueren Erfahrungen zur Abtragsrate an Substrat von OAs vorlagen, wurde von einem Mischungsverhältnis von 50 Vol-% Metallsulfat und 50 Vol-% Probe ausgegangen.

3.6.6 Zweidimensionale Fluoreszenzspektroskopie

Die fluoreszenzspektroskopische Analyse aller Prozesswasserproben erfolgte im Emissionionsmodus der Software WinLab des Fluoreszenzspektroskops LS55B. Die Messdauer der Proben betrug 90 Minuten. Erst nach einem vollständigen Messdurchlauf aller Proben wurden die metallischen Lösungen (Komplexlg. 1 bis 6) zugefügt und die, daraus resultierenden Reaktionen zwischen HS und Metallkationen, fluoreszenzspektroskopisch gemessen. Für die EEM wurde ein Anregungswellenlängenbereich von 200 - 480 nm und ein Emissionswellenlängenbereich von 280 bis 580 nm festgelegt. Das Inkrement, sowohl der Anregungswellenlänge (Exzitation) als auch der Emissionswellenlänge (Emission), betrug 5 nm. Die Öffnung für den Durchtritt des Lichtes, sowohl im Exzitationsmonochromator, als auch im Emissionsmonochromator, wurde auf 5 nm eingestellt. Abbildung 18 zeigt den Aufbau einer EEM anhand der zentrifugierten Prozesswasserprobe AK. In den unter 2.2.1 angegebenen Wellenlängenbereichen, der Exzitation und Emission, ist HS-Material (HA, UV-FA und oUV-FA) detektiert worden.

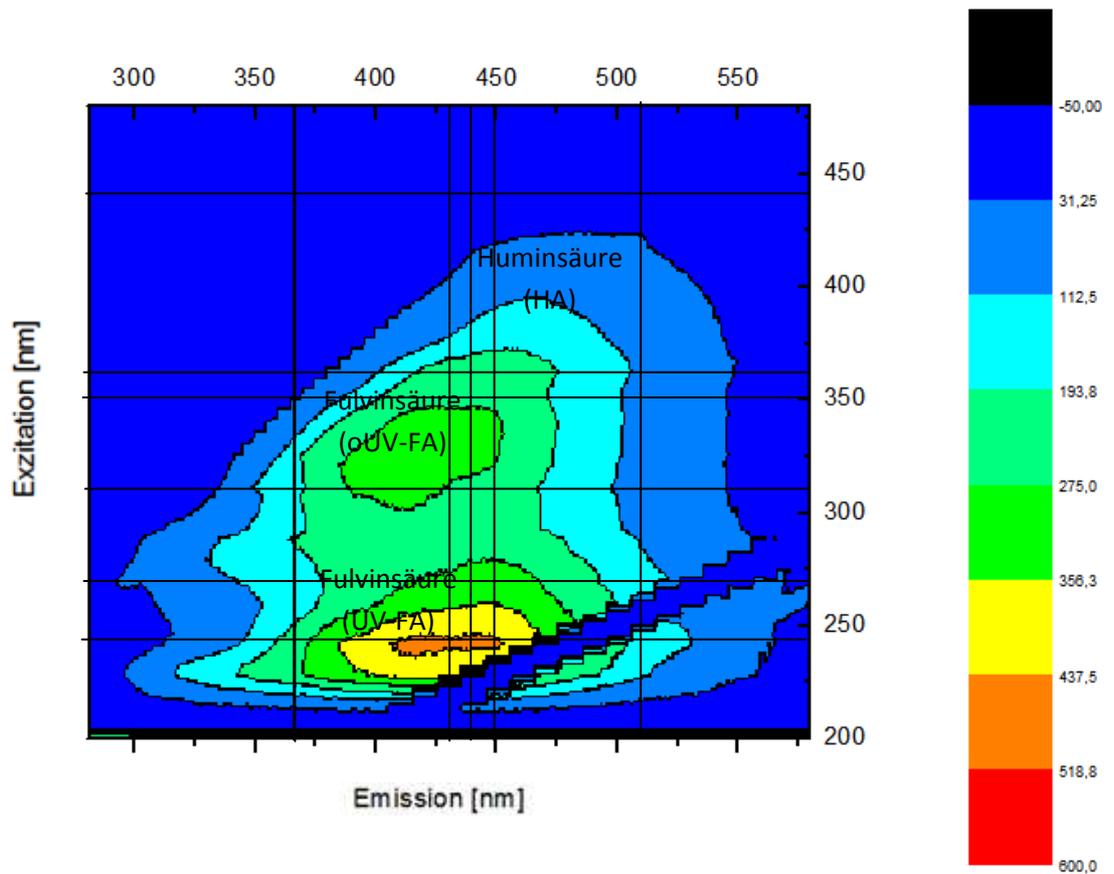


Abb. 18: EEM der zentrifugierten Prozesswasserprobe AK mit ihren detektierten HS-Komponenten (HA, oUV-FA und UV-FA).

3.6.7 Standardaddition

Zur Konzentrationsbestimmung von HS in aquatischen Proben wurde das Standardadditionsverfahren in Erwägung gezogen, welches, aufgrund der unzureichenden Reproduzierbarkeit der EEM-Ergebnisse der HA-Analyse, verworfen werden musste.

3.6.8 Strömungspotential

Der Verlauf des Strömungspotentials, während einer Titration der Proben AK und KL 1 mit einer AL oder ZL in unterschiedlichen Konzentrationen, wurde aufgenommen. Hierbei musste, zwecks Reproduzierbarkeit, auf einen stabilen Anfangs-pH-Wert der Prozesswasserproben geachtet werden (AK: ca. 8 u. KL 1: ca. 6). Die Zugabe der Komplexlsg. 1 bis 6 erfolgte alle 6 sec. in 100 μ L-Schritten. Als Grenzwert wurde ein max. Volumen von insgesamt 20 mL festgelegt (10 mL totale Zugabe an Komplexlsg. 1 bis 6).

3.6.9 Software zur Darstellung der EEM und des Strömungspotentials

Die Messdaten (.sp-Dateien²⁶) des Fluoreszenzspektroskops (LS 55B) wurden aus WinLab²⁷ in SpekWin32²⁸ eingespeist und von dort in Microsoft Excel exportiert. Die Arbeit mit einer Excel-Datenmaske sollte das Procedere, zur Auswertung der Fluoreszenzdaten, automatisieren. Zur multidimensionalen Darstellung der Fluoreszenzdaten in Excel wurde ein Oberflächendiagramm ausgewählt. Die Gegenüberstellung der Daten erfolgte in Microsoft Powerpoint. Nach eingehender Prüfung der abgebildeten Ergebnisse stellte sich heraus, dass die Raman-Peaks²⁹ der Graphik störenden Einfluss auf die gemessene FI der HS-Proben hatten. Ein, vom Institut zur Verfügung gestelltes, Programm (mit MATLAB³⁰ erzeugt; als EEM.V3 bezeichnet) sollte Abhilfe schaffen. Zum Einlesen der Fluoreszenzdaten (.sp-Dateien) in das erwähnte Programm mussten die Daten, wie oben aufgeführt, aus WinLab in SpekWin32 exportiert und anschließend in notepad ++³¹ in .txt-Dateien umgewandelt werden. Die anschließende Vereinheitlichung der Daten (Eliminierung der Anregungswellenlängen und Sortierung der Fluoreszenzdaten über einen äquidistanten Abstand zueinander), erzeugte ein Datenpaket, das in EEM.V3 dargestellt werden konnte. Die daraus hervorgegangenen und bearbeiteten ASCII-Dateien³² wurden in OriginPro8.0³³ importiert, bearbeitet³⁴ und abgebildet. Zur Abbildung des Strömungspotentials fiel die Wahl ebenfalls auf OriginPro8.0. Hierfür mussten die .cas-Dateien³⁵ des Stabilisier³⁶ in Excel überführt und bearbeitet werden. Zur

²⁶ „Eine .sp-Datei ist die komprimierte Version einer SPD-Datei. Sie enthält nur die Beschreibung der Aktionen, die beim Zielsystem ausgeführt werden sollen und nicht die zur Ausführung dieser Aktionen erforderlichen Dateien und Ressourcen.“
http://publib.boulder.ibm.com/tividd/td/ITCM/SC23-4711-01/de_DE/HTML/cmugmst36.htm

²⁷ Spezifische Software des LS 55B von PerkinElmer

²⁸ Freie Software zur Darstellung und Bearbeitung optischer Spektren.

<http://www.ffmpeg2.de/spekwin/>

²⁹ „Als Raman-Streuung (auch Raman-Effekt oder Smekal-Raman-Effekt) wird die unelastische Streuung von Licht an Atomen oder Molekülen bezeichnet. Sie ist nach Chandrasekhara Raman benannt, der den Effekt 1928 erstmals nachweisen konnte.“

<http://de.wikipedia.org/wiki/Raman-Streuung>

³⁰ „Software zur Lösung mathematischer Probleme und zur grafischen Darstellung der Ergebnisse; primär für numerische Berechnungen mithilfe von Matrizen.

„<http://de.wikipedia.org/wiki/MATLAB>

³¹ „Programm zur Textedition.“ http://www.chip.de/downloads/Notepad_12996935.html

³² „Der American Standard Code for Information Interchange (ASCII, alternativ US-ASCII) ist eine 7-Bit-Zeichenkodierung; sie entspricht der US-Variante von ISO 646 und dient als Grundlage für spätere, auf mehr Bits basierende Kodierungen für Zeichensätze.“

http://de.wikipedia.org/wiki/American_Standard_Code_for_Information_Interchange

³³ Origin ist ein Analyse- und Darstellungsprogramm für Daten; beherrscht die Darstellung von 2D-, 3D-Graphiken etc.

³⁴ Erzeugen einer Matrix und Darstellung der Daten als Contour-Plot.

³⁵ „Content Addressed Storage (CAS) ist ein spezielles Speicherverfahren auf Festplatten, das einen direkten Zugriff auf einzelne Objekte ermöglicht und gleichzeitig die Unveränderbarkeit

Darstellung der Daten in Origin8.0 wurde das Verhalten des Strömungspotentials den Veränderungen des pH-Wertes gegenübergestellt, um definitive Aussagen zur Bedeutung des pH-Wertes, während der Titration mit Aluminium- und Zinksulfat, machen zu können.

der gespeicherten Information sicherstellt.“ http://de.wikipedia.org/wiki/Content-Addressed_Storage

³⁶ Messgerät zur Bestimmung des Strömungspotentials.

4 Ergebnisse und Ergebnisdiskussion

Die Probenahme erfolgte am 28.03.13, am 11.04.13, am 26.04.13 und am 06.05.13 im ZAF, in Bremerhaven. Jeweils 100 mL AK und KL1 wurden in 100 mL Gewindeflaschen aus Borosilikatglas gefüllt. Als Dosierhilfe kam ein 500 mL Kunststoffmessbecher zum Einsatz. Die Aufbewahrung der Proben erfolgte in einem Kühlschrank, bei $T = 7\text{ }^{\circ}\text{C}$. Alle Proben wurden zuerst zentrifugiert, dann Dead-End filtriert, im Anschluss mit den Komplexlsg. 1-6 versetzt und fluoreszenzspektroskopisch, unter den in 3.6.6 angegebenen Parametern, vermessen. Zum besseren Verständnis der gewonnenen Fluoreszenzdaten wurde das Strömungspotential der Proben aufgenommen und graphisch in OriginPro 8.0 abgebildet

4.1 Fluoreszenzspektroskopie und Probenaufbereitung

Die Aufbereitungsschritte (Zentrifugation (s. 3.6.2)) und Dead-End-Filtration (s. 3.6.3)) der aquatischen Proben wurden fluoreszenzspektroskopisch verfolgt und zwar mit den, im Unterkapitel 3.6.6 vorgestellten, Parametern.

4.1.1 Zentrifugation und Filtration der Algenkulturlösung

In Abbildung 19 ist das Ergebnis der fluoreszenzspektroskopisch analysierten Probe AK, nach erfolgter Zentrifugation (Parameter s. 3.6.2), zu erkennen. In einem Anregungswellenlängenbereich von 350 bis 440 nm und einem Emissionswellenlängenbereich von 430 bis 510 nm sind Spuren von HA detektiert worden. OUV-FA konnte in einem Anregungswellenlängenbereich von 310 bis 360 nm und einem Emissionswellenlängenbereich von 370 bis 450 nm detektiert werden. Die größte FI wurde im Bereich von UV-FA ermittelt (Anregungswellenlängenbereich von 240 bis 270 nm und Emissionswellenlängenbereich von 370 bis 440 nm). Zur qualitativen Darstellung der HS-Fractionen HA, oUV-FA und UV-FA sind diese in einigen folgenden Abbildungen schwarz markiert. Die Anregungs- und Emissionswellenlängenbereiche, zur Detektion von HS-Material, sind dem Unterkapitel 2.2.2 zu entnehmen.

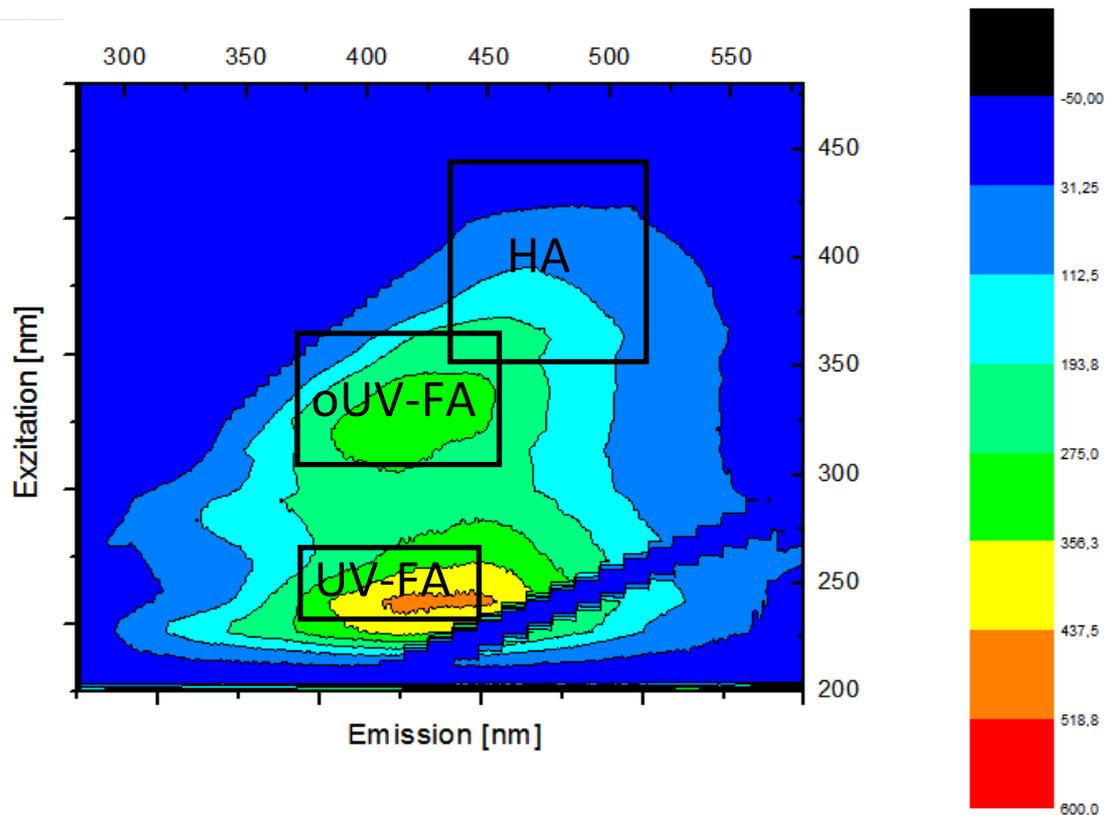


Abb. 19: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der zentrifugierten Probe AK.

Eine, an die Zentrifugation angeschlossene, Dead-End-Filtration, bei einem Porendurchmesser des Filtermittels von $0,45\ \mu\text{m}$, wurde durchgeführt, da definitionsgemäß DOM Porengrößen von $0,45\ \mu\text{m}$ passieren kann [28]. Die ersten Messergebnisse zeigten eine signifikante mikrobielle Belastung der Probenmatrix. Um potentielle Quenchingeffekte, zwischen den Analyten und der mikrobiellen Flora zu vermeiden, schloss sich der oben erwähnten Filtration eine zweite, mit einem Porendurchmesser des Filtermittels von $0,2\ \mu\text{m}$, an, da im Zusammenhang mit mikrobiologischen Fragestellungen eine Filter-Trenngrenze von $0,2\ \mu\text{m}$ vorgeschlagen wird [29]. Abbildung 20 zeigt die fluoreszenzspektroskopischen Ergebnisse der Filtration der Probe AK bei einem Porendurchmesser von $0,2\ \mu\text{m}$.

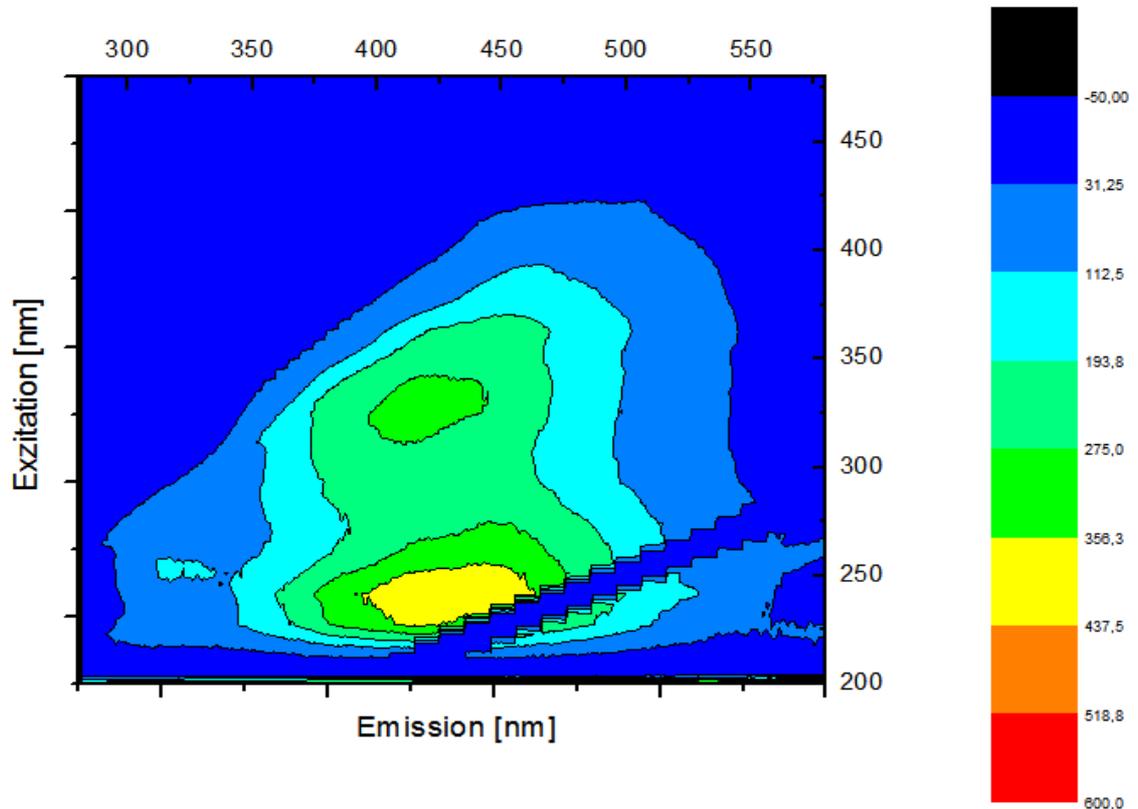


Abb. 20: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Dead-End filtrierten Probe AK.

Die Dead-End-Filtration hatte keinen signifikanten Verlust an HS-Material im Bereich von UV-FA und oUV-FA zur Folge, führte aber zu einem signifikanten Verlust der FI im Bereich mikrobieller Organismen, weshalb die Methode, integrativ für alle weiteren Proben, beibehalten wurde.

4.1.2 Zentrifugation und Filtration der Kreislaufwasserprobe

Die Prozesswasserprobe KL 1 wurde, wie die Probe AK auch, zuerst zentrifugiert und anschließend filtriert. Abbildung 21 zeigt die EEM der zentrifugierten Probe KL 1 und Abbildung 22 die EEM nach der Filtration der Probe. Im Bodenpellet befanden sich Störkomponenten der Probenmatrix. Es wird u.a. von mikrobiellen Zellbruchstücken ausgegangen.

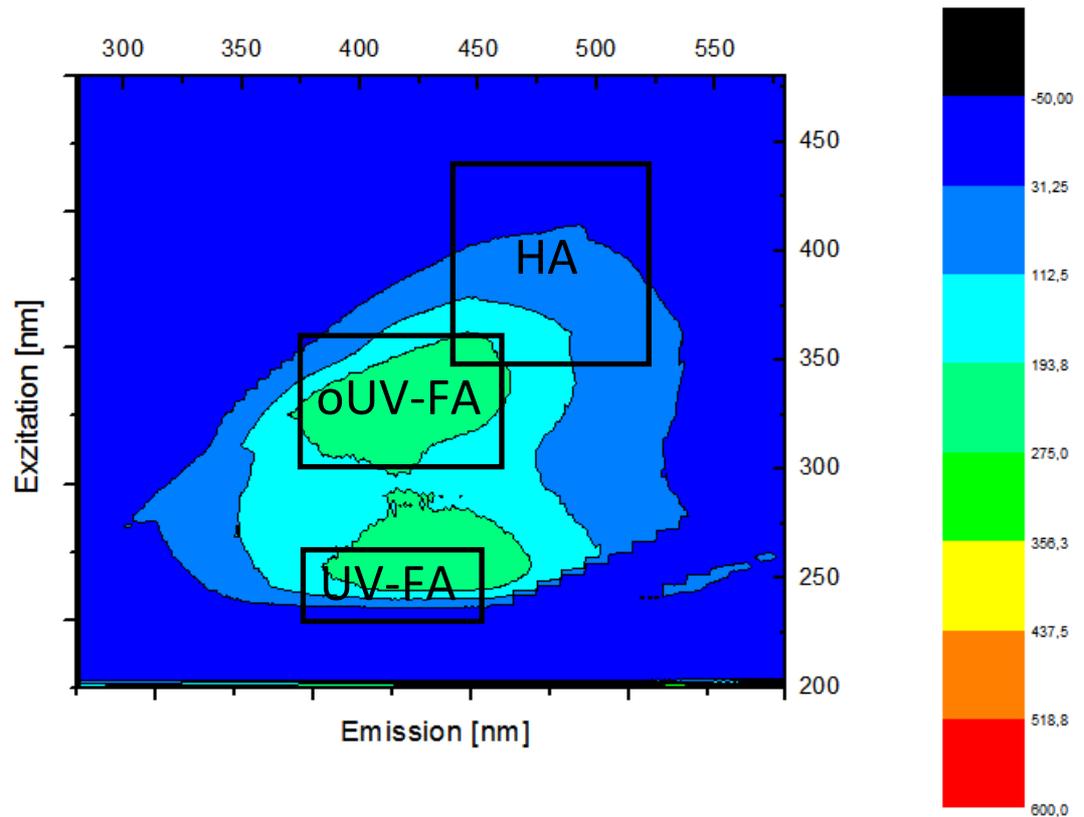


Abb. 21: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der zentrifugierten Probe KL1.

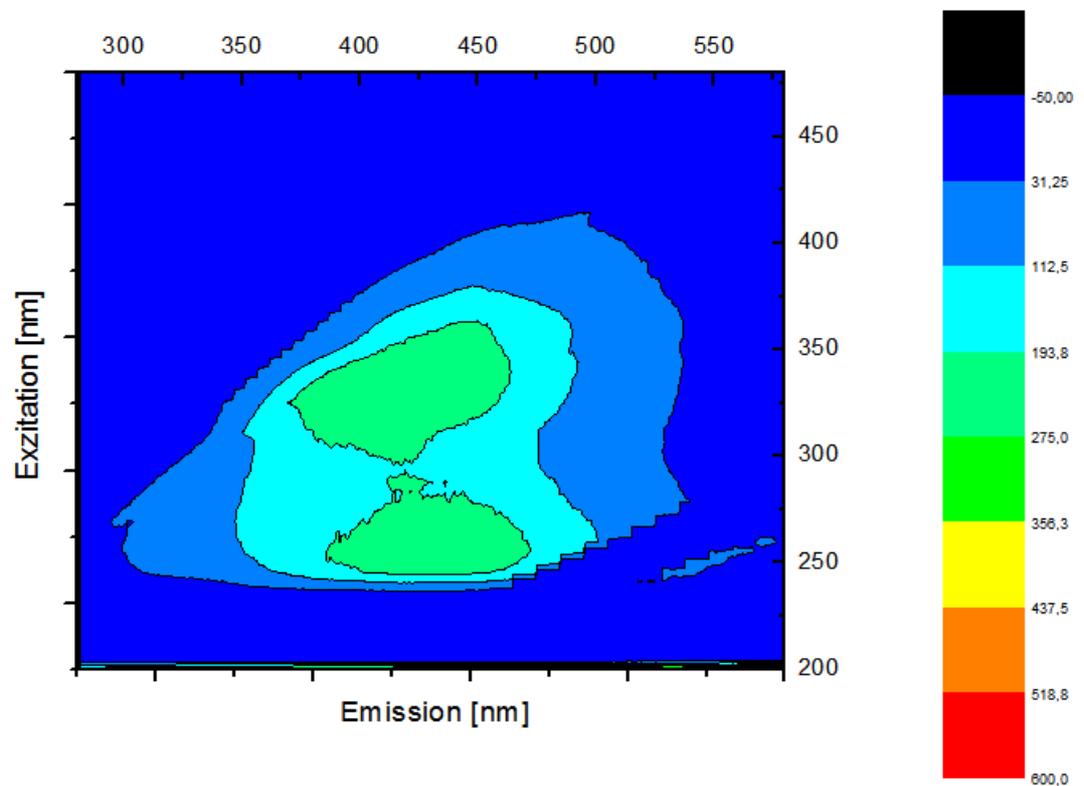


Abb. 22: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Dead-End filtrierten Probe KL 1.

Die Filtration der zentrifugierten Probe KL 1 hatte keinen offensichtlichen Verlust an HS-Material zur Folge.

4.1.3 Zentrifugation und Filtration der Nordseewasserprobe

Die Zentrifugation der Probe nNW zeigte keine messbare Fluoreszenz in den Wellenlängenbereichen der Exzitation und Emission von HA, oUV-FA und UV-FA, weshalb die Probe nicht weiter betrachtet wurde. Abbildung 23 zeigt die zentrifugierte Probe nNW. Es fällt auf, dass eine signifikante Konzentration an Aminosäuren detektiert werden konnte (in der Abbildung schwarz markiert).

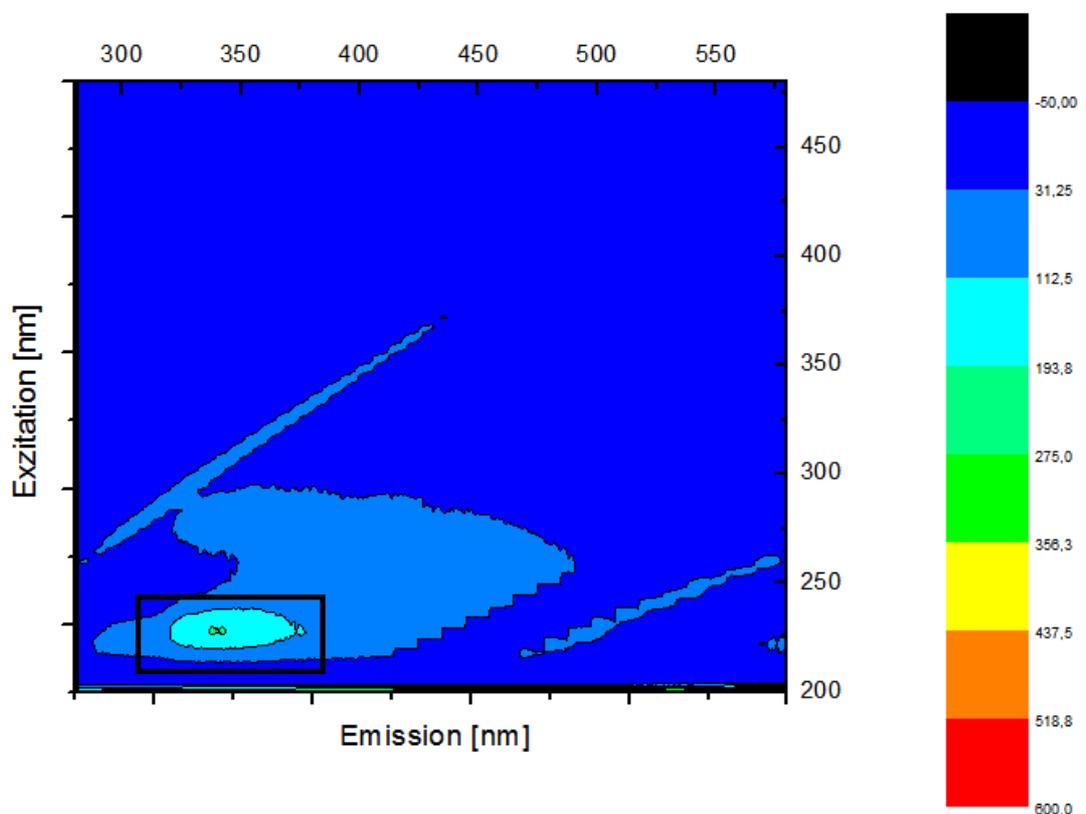


Abb. 23: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der zentrifugierten Probe nNW.

4.2 Fluoreszenzspektroskopie und Bindungsexperimente

HS in Prozesswasserproben können mit Metallkationen stabile Chelate bilden und ausflocken. Das Flockungsverhalten lässt sich fluoreszenzspektroskopisch visualisieren. Die ausgeflockten HS stehen der Detektion im Strahlengang des Fluoreszenzspektroskops nicht mehr zur Verfügung. Es zeigt sich eine messbare Reduktion der FI.

4.2.1 Algenkulturlösung und Aluminiumsulfat

Die folgenden Bilder veranschaulichen qualitativ die KAK der HS der Algenkulturlösung mit Aluminiumsulfat. Abbildung 24 zeigt die Probe AK. Sie wurde mit einer 0,5 M AL (Komplexlsg. 1) vermengt (Verfahren zu Herstellung der Mischproben s. 3.3). Es konnte HS-Material in den Wellenlängenbereichen von HA, oUV-FA und UV-FA detektiert werden.

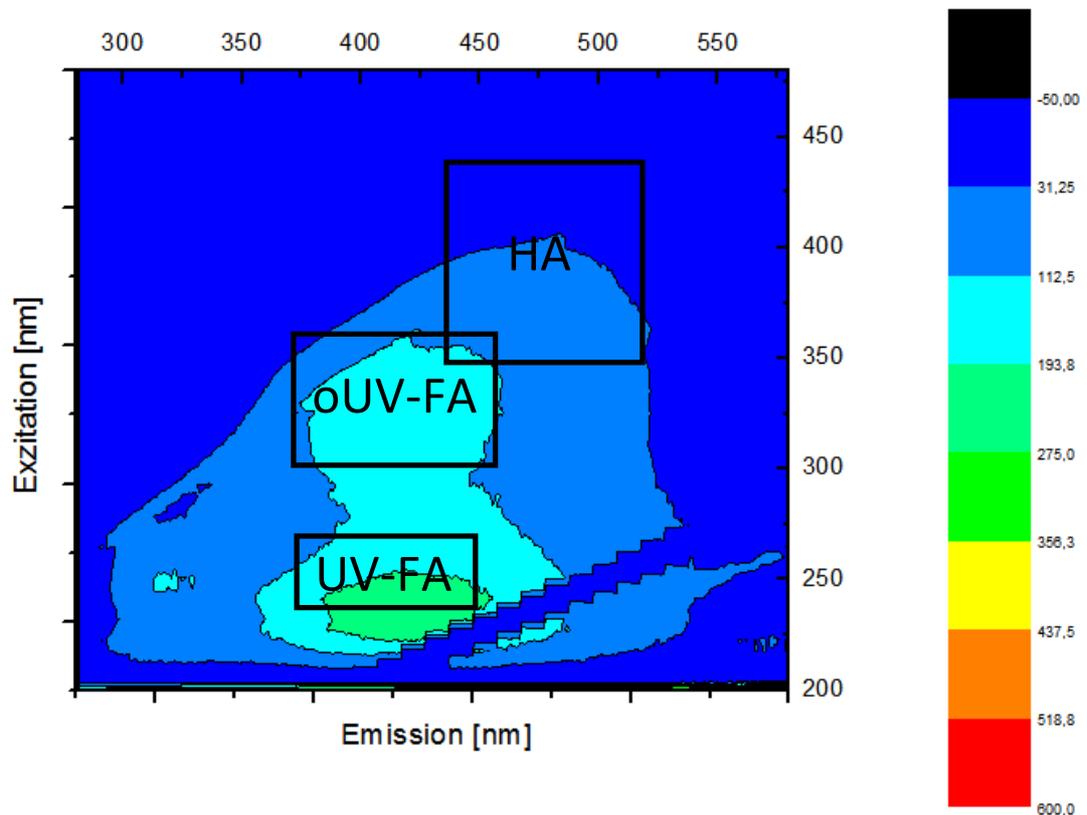


Abb. 24: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe AK nach einer Zugabe von Komplexlsg. 1.

Eine 0,5 M Konzentration von Aluminiumsulfat, zur Ausflockung von HS-Material aus Prozesswasserproben, stellte sich als weniger Erfolg versprechend heraus, weshalb die Aluminiumsulfat-Stammlösung (s. Komplexlsg. 1) 1:10 (Komplexlsg. 2) und 1:100 (Komplexlsg. 3) herunterverdünnt wurde. Abbildung 25 und 26 zeigen die EEM der Prozesswasserprobe AK nach Zugabe von Komplexlsg. 2 u. 3.

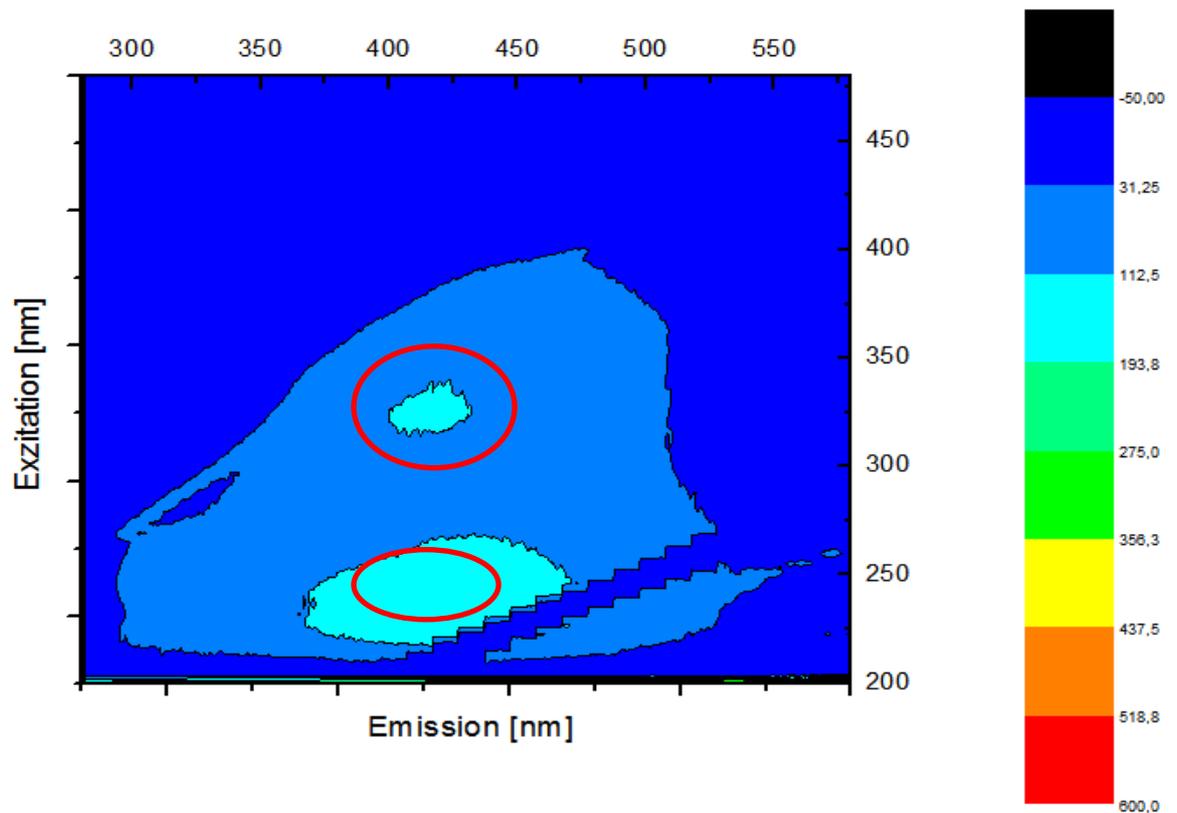


Abb. 25: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe AK nach einer Zugabe von Komplexlsg. 2.

Eine Verdünnung der Komplexlsg. 1, mit Milli-Q-Wasser im Verhältnis 1:10, hatte eine offensichtliche Reduktion der Detektion der Fluoreszenz von oUV-FA und UV-FA zur Folge³⁷. Die Zugabe von Komplexlsg. 3 zur Probe AK führte zu einer noch offensichtlicheren Reduktion der Probe an HS-Material (s. Abb. 26). Besonders im Bereich von oUV-FA konnte eine definitive Ausflockung erzielt werden. Im Bereich von oUV-FA wurden ebenfalls Flockungserfolge erzielt, aber in einem vergleichsweise geringeren Maß, als im Bereich von oUV-FA (vgl. Abb.26 mit Abb. 25).

³⁷ Der Verlust an Probenmaterial durch Flockung ist in dieser und in allen folgenden Abbildungen rot markiert.

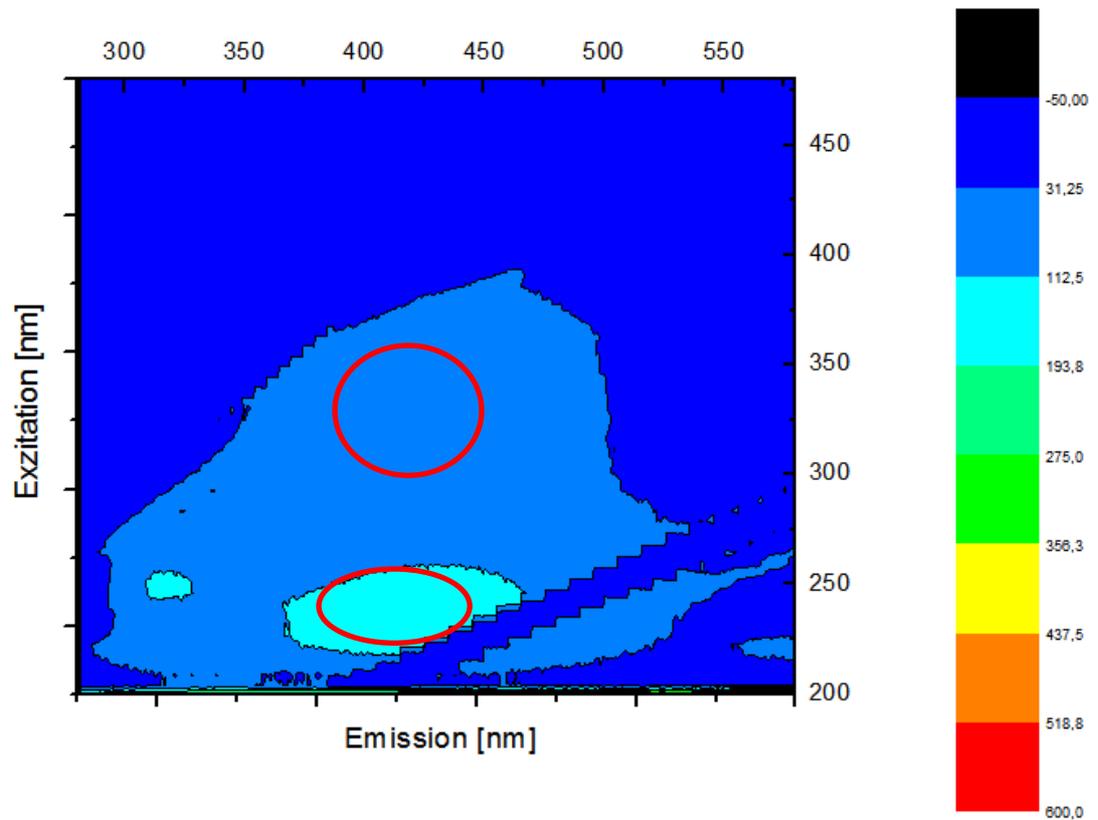


Abb. 26: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe AK nach einer Zugabe von Komplexlg 3.

Zur Überprüfung der gewonnenen Ergebnisse, zur Flockung von HS-Material aus Prozesswasserproben, wurden die Bindungsexperimente erneut durchgeführt. Abbildung 27 bis 29 zeigen die Ergebnisse der Flockungsreaktionen der Probe AK mit Komplexlg. 1 bis 3.

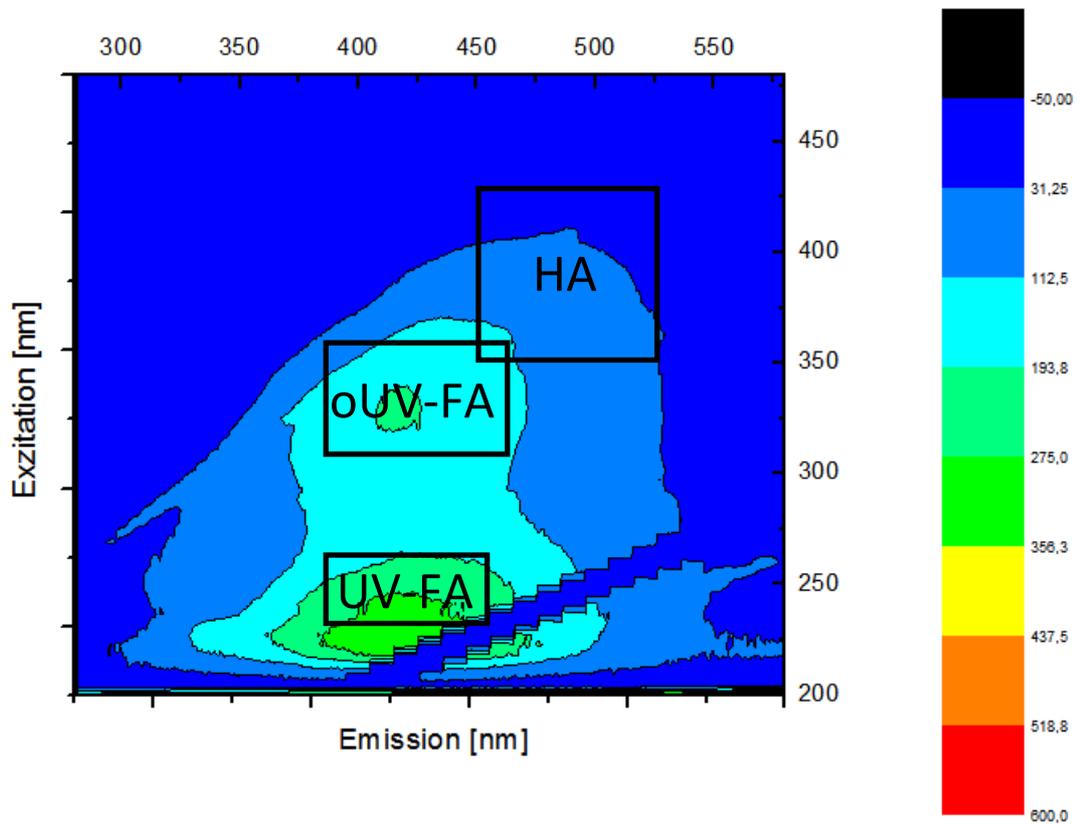


Abb. 27: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe AK nach einer Zugabe von Komplexlg. 1.

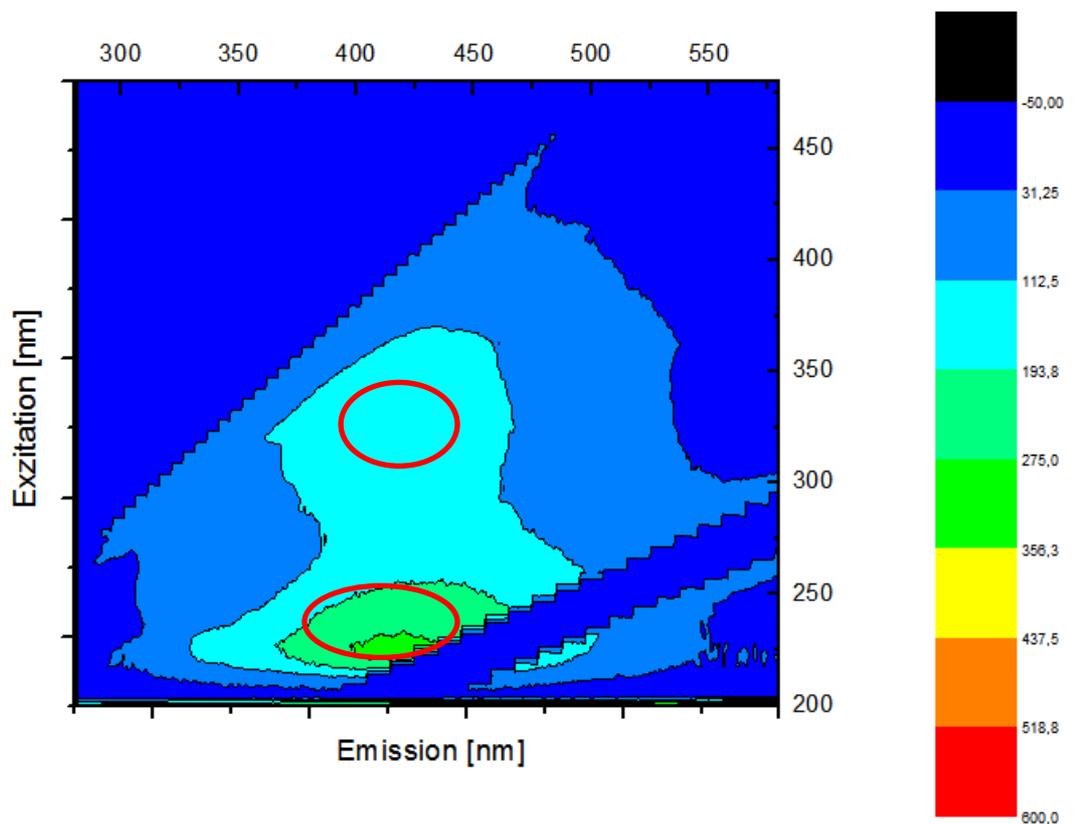


Abb. 28: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe AK nach einer Zugabe von Komplexlg. 2.

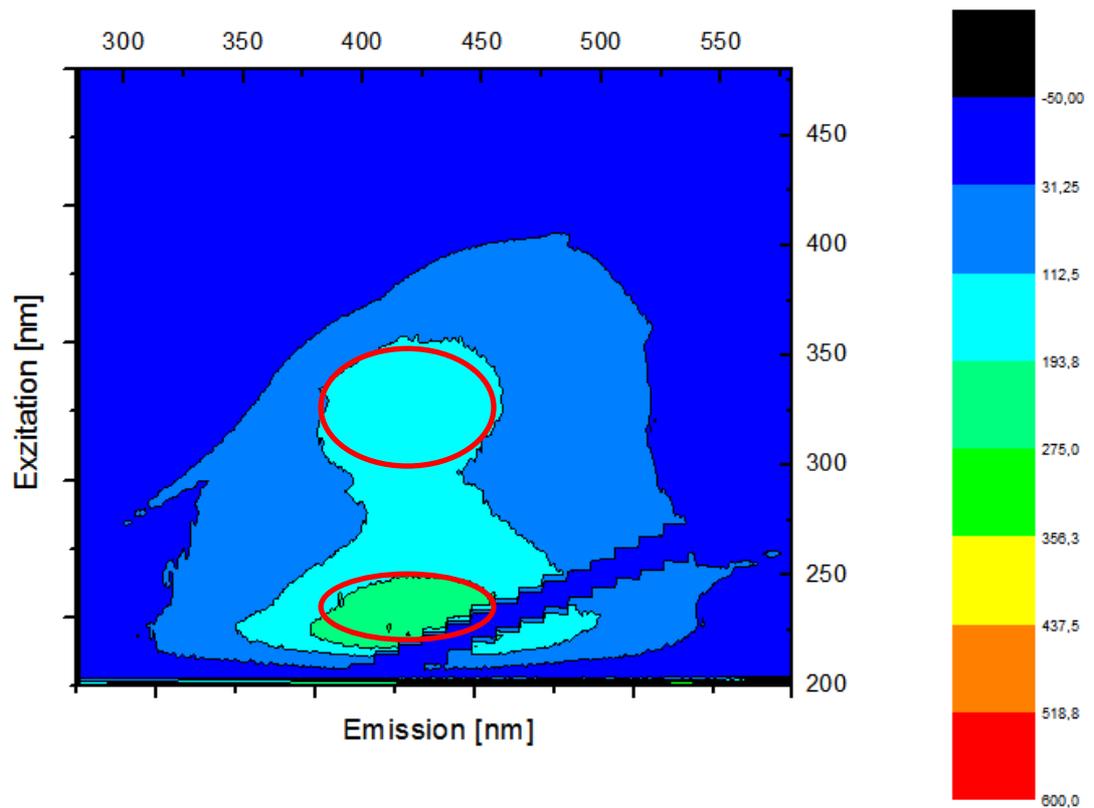


Abb. 29: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe AK nach einer Zugabe von Komplexlsg. 3.

Auch bei dieser Messreihe zeigte sich eine eindeutige Zunahme der Flockung von HS-Material mit steigender Verdünnung der Aluminiumsulfat-Stammlösung.

Zur Bestimmung einer möglichen Grenzkonzentration, von gelöstem Aluminiumsulfat für die Bindungsexperimente mit AK, wurden eine 0,5 mM und 0,05 mM AL angesetzt, mit der Probe AK vermischt und fluoreszenzspektroskopisch vermessen. Hierbei zeigte sich eine signifikante Zunahme des Flockungsvermögens von Aluminiumsulfat bei einer Konzentration von 0,5 mM aber keine vergleichsweise stärkere Zunahme der Ausflockung bei einer Aluminiumsulfat-Konzentration von 0,05 mM (s. Abb. 30 und 31).

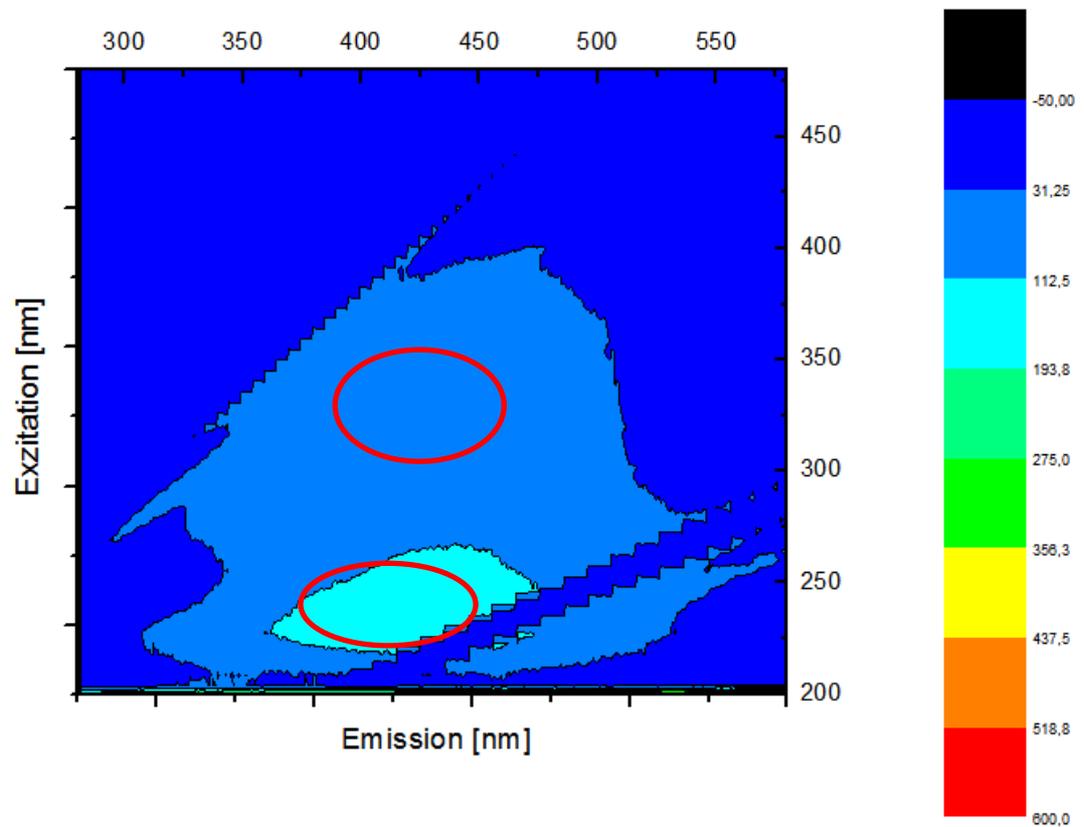


Abb. 30: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe AK nach Zugabe einer AL der Konzentration 0,5 mM.

Die Abbildung 30 zeigt einen starken Verlust von HS-Material durch Aluminiumsulfat. Es sind nur noch geringe FIs von max. 193,8 bis min. 31,25, im Bereich von oUV-FA und UV-FA, zu verzeichnen; die HA-Konzentration blieb unverändert.

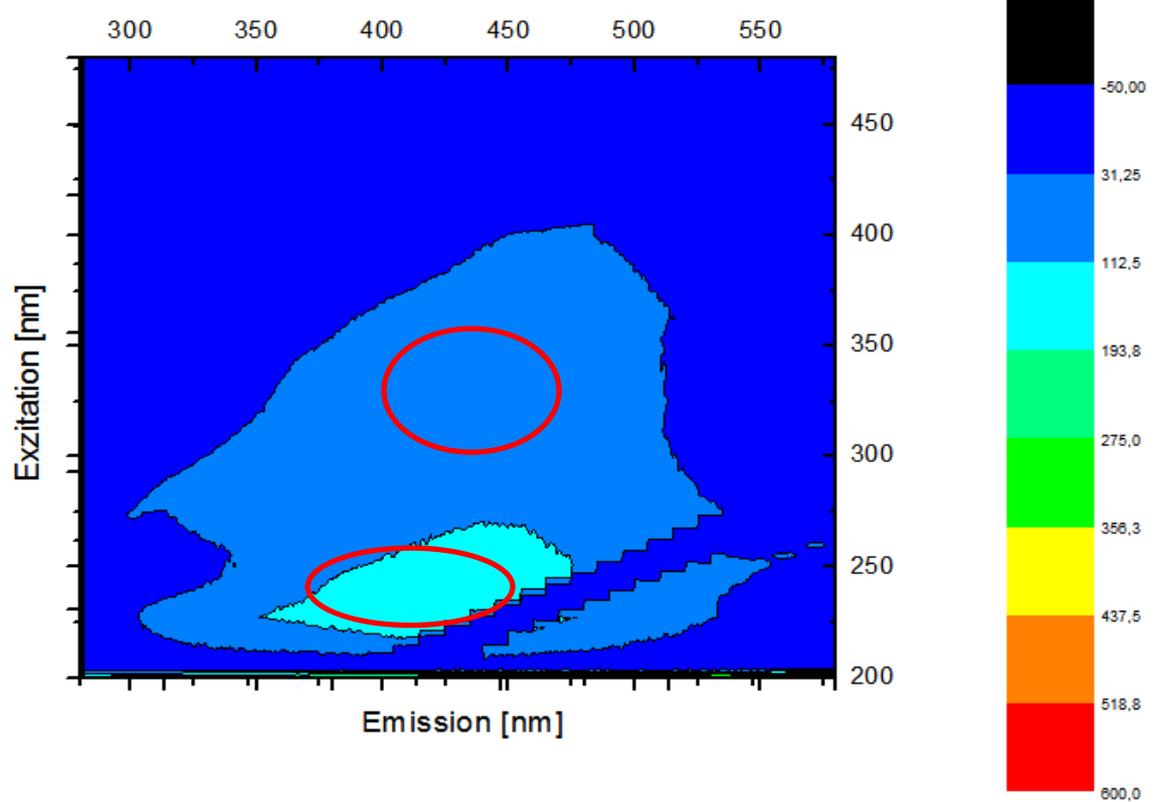


Abb. 31: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe AK nach Zugabe einer AL der Konzentration 0,05 mM.

4.2.2 Wasserkreislauf 1 und Aluminiumsulfat

In diesem Kapitel werden die fluoreszenzspektroskopischen Ergebnisse der Prozesswasserprobe KL 1 vorgestellt. Obwohl die KL 1-Proben über weniger detektierbares HS-Material verfügten, konnten auch dort Bindungserfolge erzielt werden. Abbildung 32 zeigt die Messungen der FI der Probe KL 1 nach Zugabe von Komplexlg. 1.

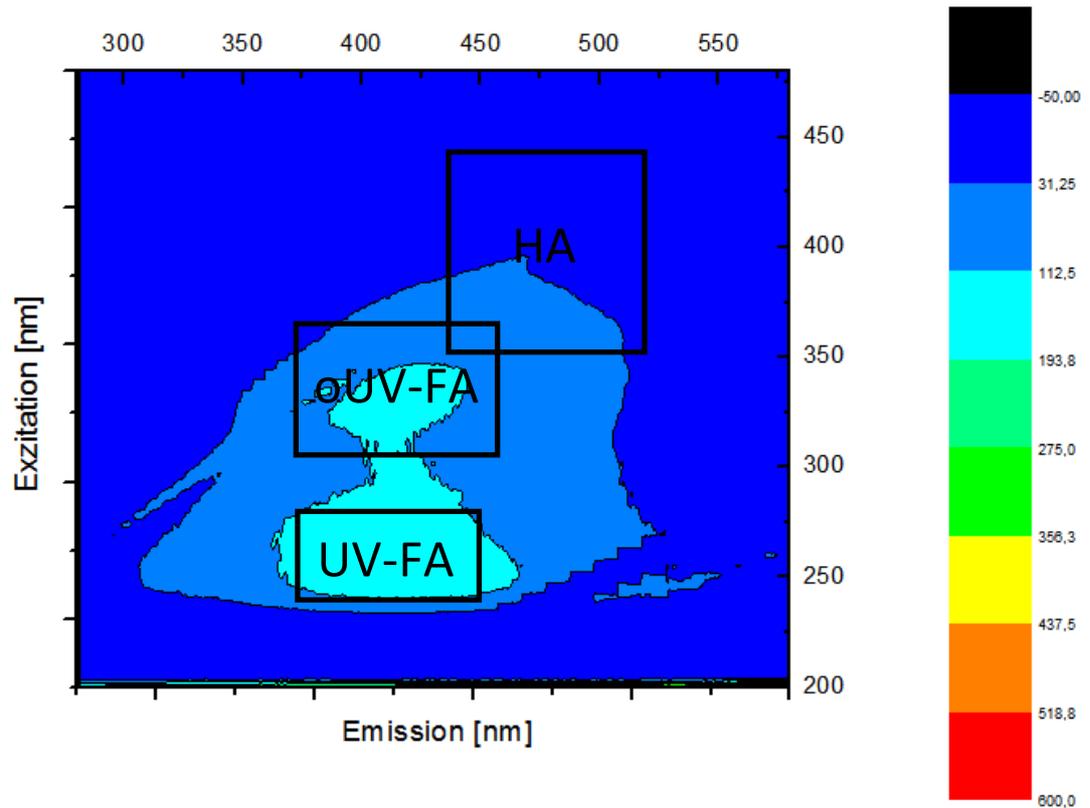


Abb. 32: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe KL 1 nach Zugabe von Komplexlsg. 1.

Die Verdünnung der Aluminiumsulfat-Stammlösung, (Komplexlsg. 1) um den Faktor $F = 10$, hatte, wie bei der Probe AK auch, einen signifikanten Verlust von HS-Material zur Folge. Besonders stark erkennbar im Bereich von oUV-FA (s. Abb. 33).

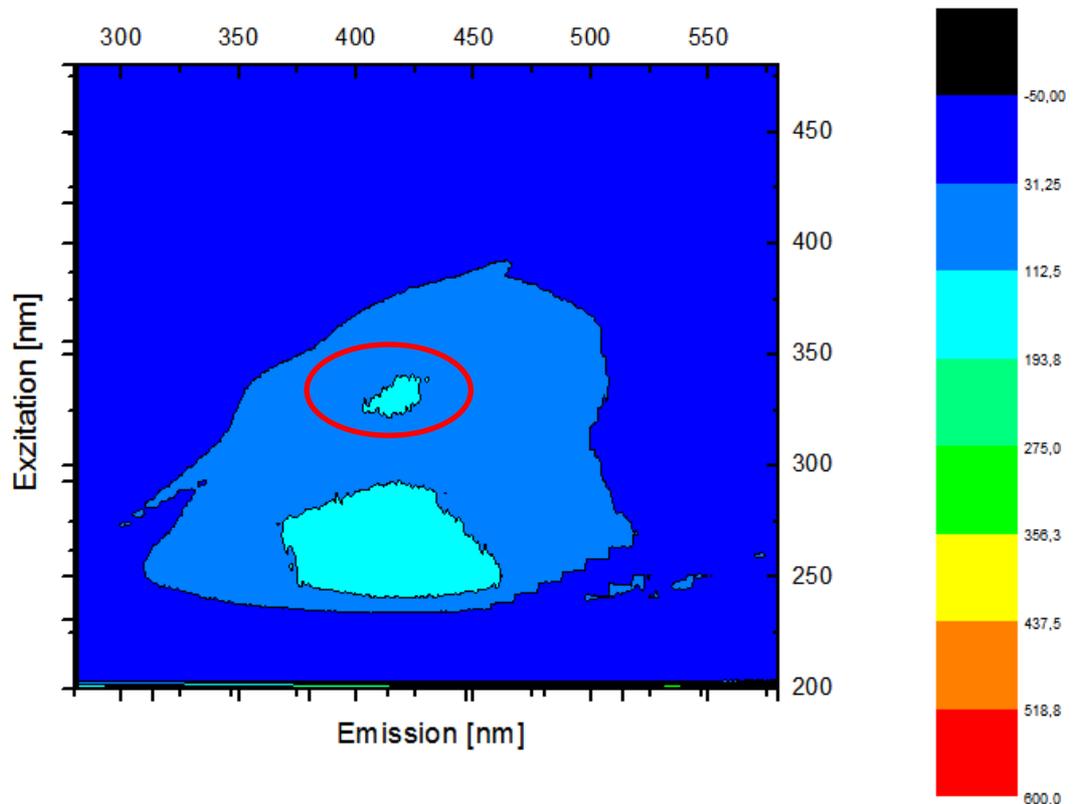


Abb. 33: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe KL 1 nach Zugabe von Komplexlg 2.

Die Theorie, der stärkeren Reduktion von HS-Material mit steigender Verdünnung der Aluminiumsulfat-Konzentration, ließ sich in diesem Fall nicht hinreichend bestätigen. Der Verlust an HS-Material, nach Zugabe von Komplexlg. 3, war vergleichsweise geringer, als nach der Zugabe von Komplexlg. 2. Besonders im Bereich von oUV-FA konnte keine stärkere Reduktion der FIs erzielt werden (s. Abb. 34), auch wenn sich die Abnahme der FI in Abb. 34 nicht signifikant von der Abnahme der FI in Abb. 33, unterscheidet, so ist der Unterschied dennoch sichtbar. Es wird vermutet, dass die hohe Konzentration an Aluminiumionen zu keiner hinreichenden Komplexbildung mit HS führen konnte, da elektrostatische Interaktionsprozesse³⁸ zwischen den Metallionen eine Assoziation mit den Liganden der HS unterbanden. Zumal die Probe allgemein, vergleichsweise weniger HS-Material, als die Probe AK, aufwies.

³⁸ Abstoßungseffekt bei gleicher Molekülladung.

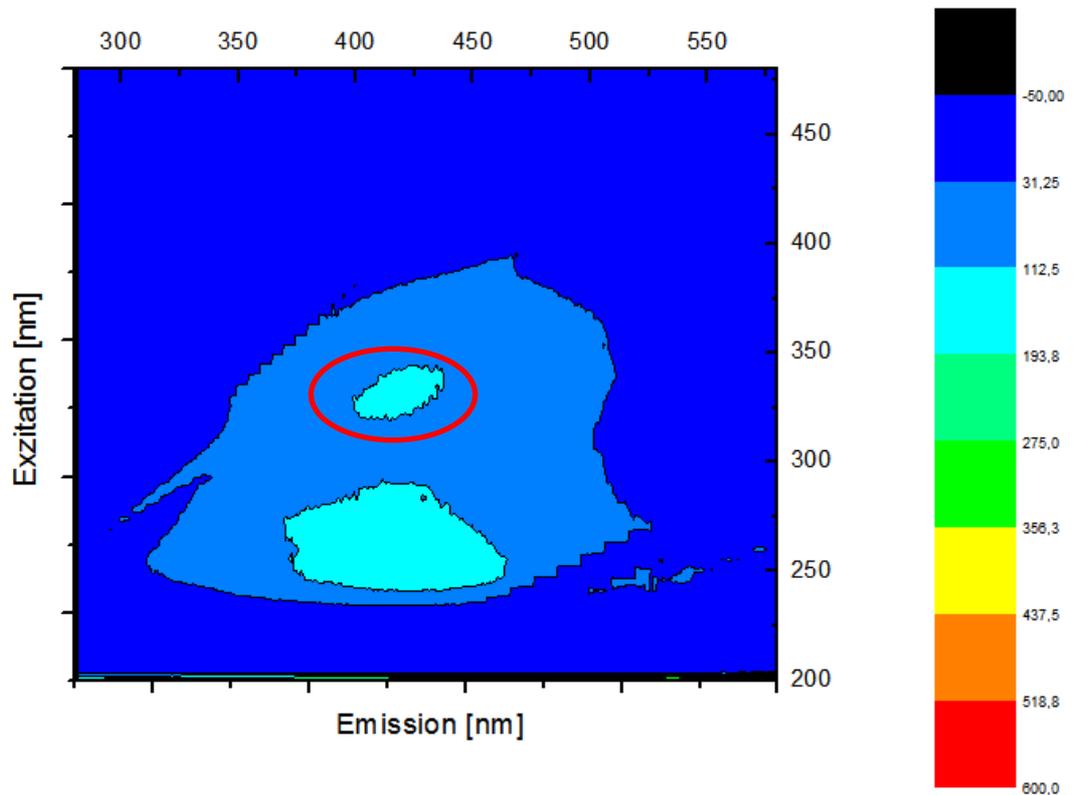


Abb. 34: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe KL 1 nach Zugabe von Komplexlsg. 3.

Ein Verlust an HS ist evident, allerdings ist dieser Verlust nicht signifikant größer, als in Abb. 33. Da die Komplexlsg. 1 bis 3 für die Bindungsexperimente der Probe AK und KL 1 identisch waren und die Probe AK eine starke Reduktion der Fluoreszenz von HS-Material, mit steigender Verdünnung der Stammlösung, zur Folge hatte, kann davon ausgegangen werden, dass hier entweder eine andere Bindungskinetik von HS mit Metallkationen vorgelegen haben könnte, oder die Komplexlsg. 2 und 3 vertauscht wurden, da eine zweite Messung der Probe KL 1 durchgeführt wurde und die Ergebnisse, der Theorie zum Flockungsverhalten von HS mit steigender Verdünnung des Flockungsmittels, den Ergebnissen von AK entsprachen, kann von einer Verwechslung der Komplexlsg. ausgegangen werden oder einem Vertauschen der Bilder. Die Abbildungen 35 bis 37 zeigen die Fluoreszenzergebnisse der zweiten Messung der Probe KL 1, nach Zugabe der Komplexlsg. 1 bis 3.

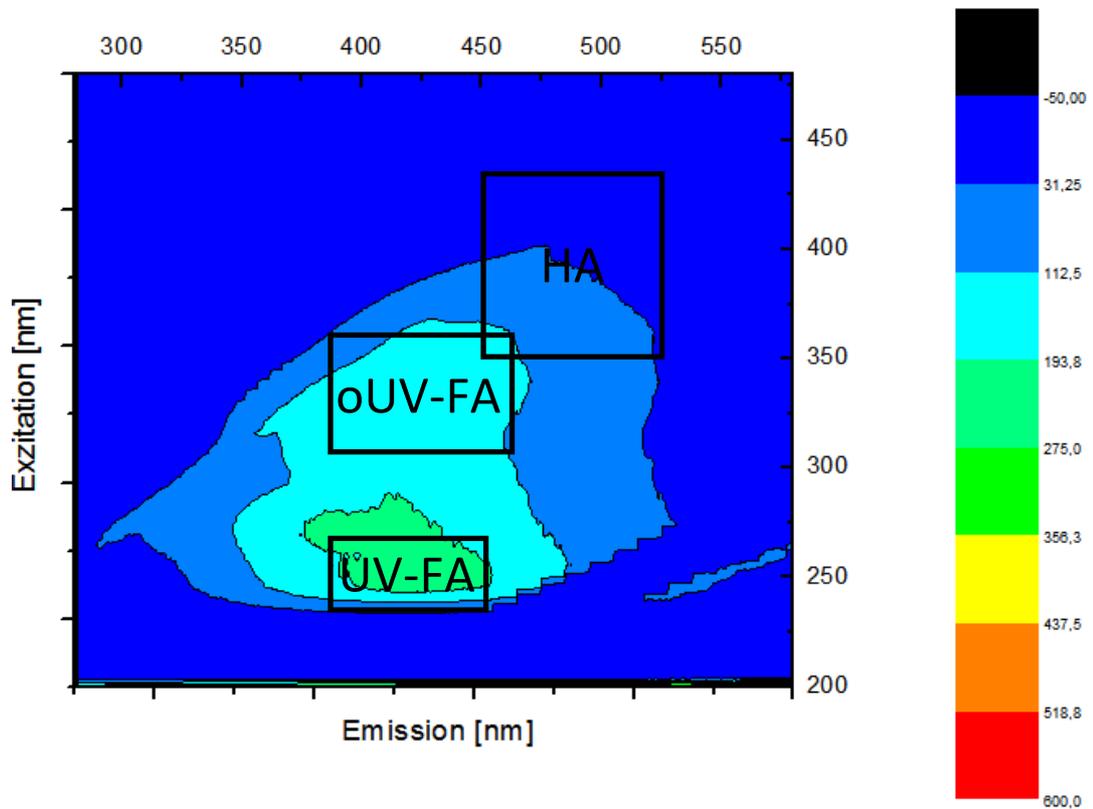


Abb. 35: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe KL 1 nach Zugabe von Komplexlsg. 1.

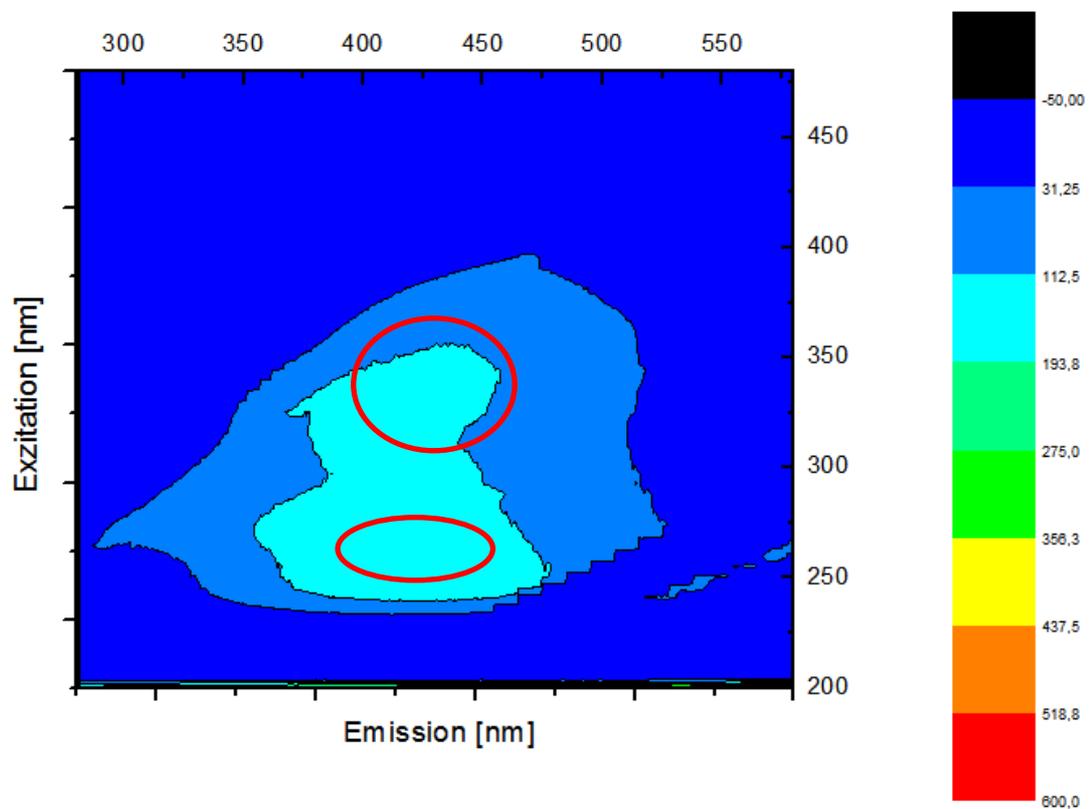


Abb. 36: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe KL 1 nach Zugabe von Komplexlsg. 2.

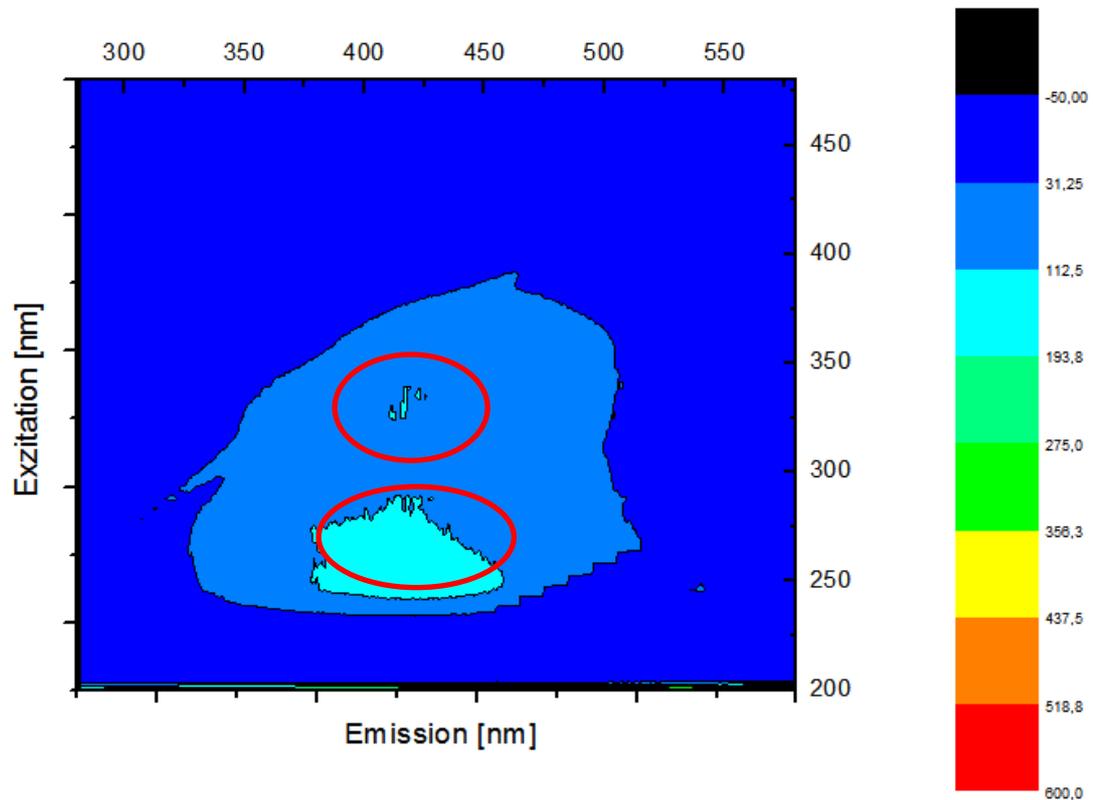


Abb. 37: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe KL 1 nach Zugabe von Komplexlg 3.

4.2.3 Algenkulturlösung und Zinksulfat

In diesem Kapitel werden die fluoreszenzspektroskopischen Ergebnisse der Prozesswasserprobe AK mit ZL, in unterschiedlichen Konzentrationen, präsentiert. Zinksulfat hatte als Komplexbildner keinen signifikanten Einfluss auf die Flockung von HA, oUV-FA und UV-FA, was aufgrund der Erfahrungen, zur Bildung von stabilen HS-Metall-Komplexen, nicht weiter verwunderlich war. Die Komplexstabilität, zwischen HS und Metallionen, ist abhängig von der Wertigkeit des Metallkations und nimmt in der folgenden Reihenfolge ab: $\text{Hg}^{2+} > \text{Fe}^{3+} > \text{Al}^{3+} > \text{Cu}^{2+} > \text{Pb}^{2+} > \text{Fe}^{2+} > \text{Ni}^{2+} > \text{Co}^{2+} > \text{Cd}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Mn}^{2+} > \text{Ca}^{2+} > \text{Mg}^{2+}$ [4]. Die Abbildungen 38 bis 40 werden daher kommentarlos dargestellt.

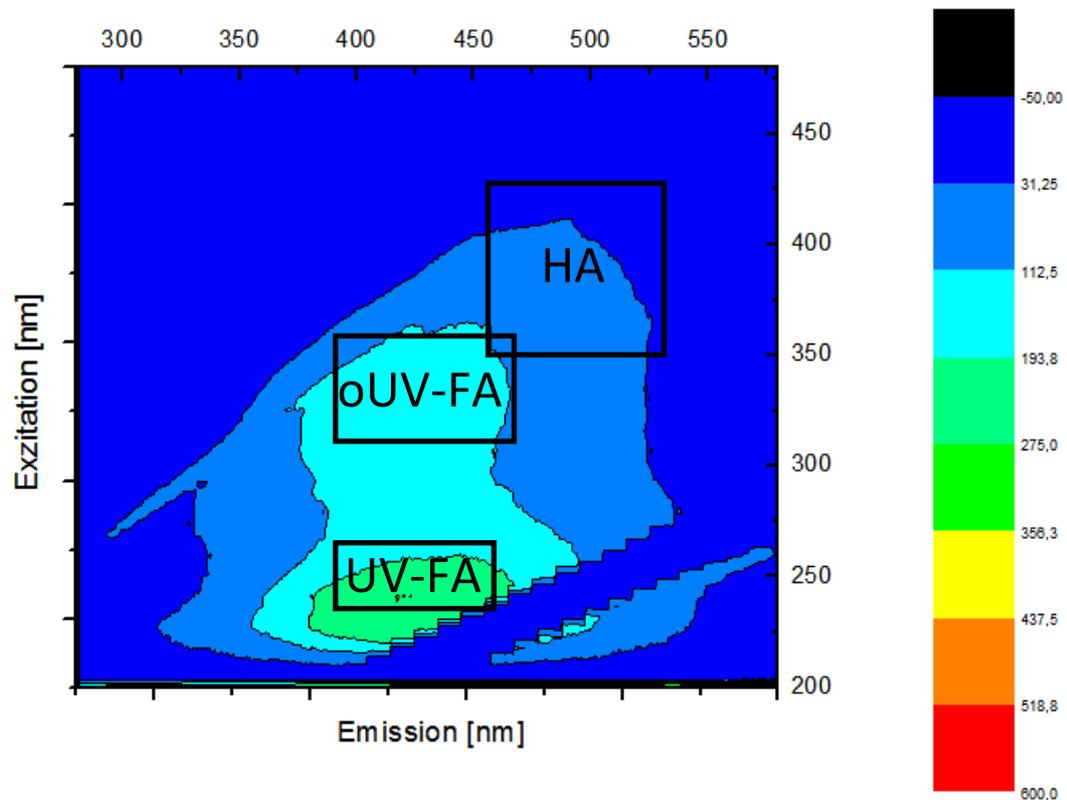


Abb. 38: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe AK nach Zugabe von Komplexlsg. 4.

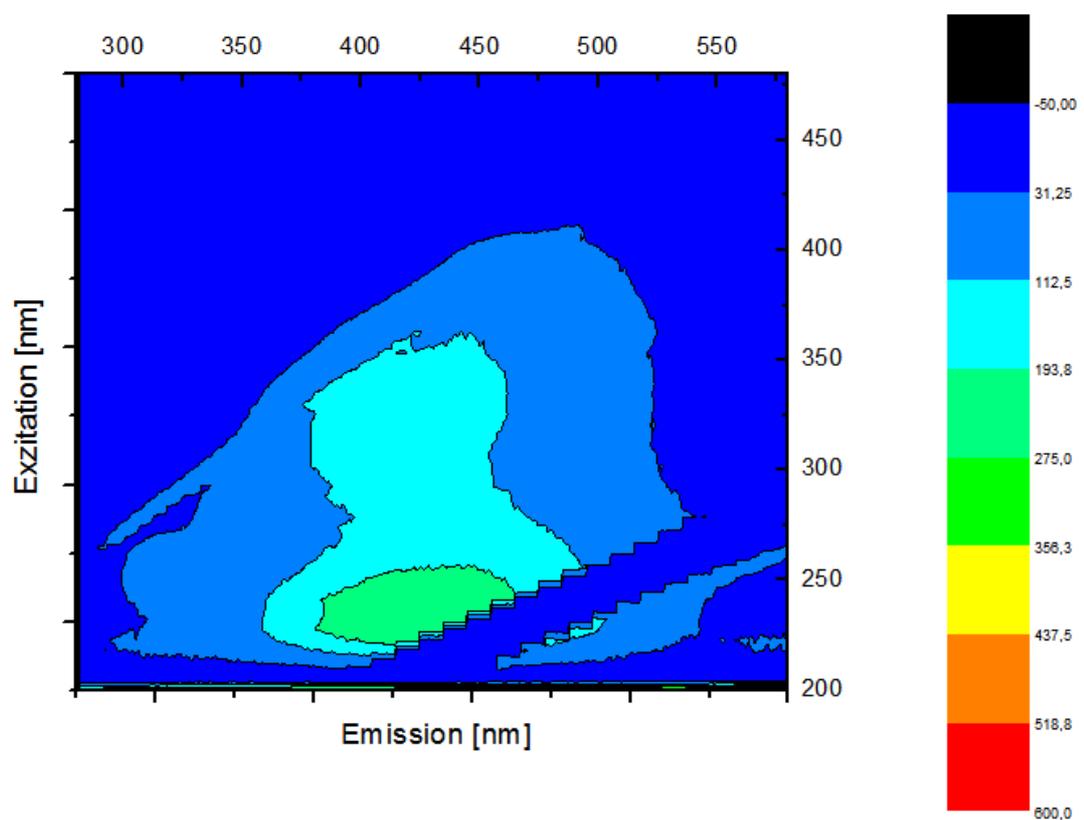


Abb. 39: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe AK nach Zugabe von Komplexlsg. 5.

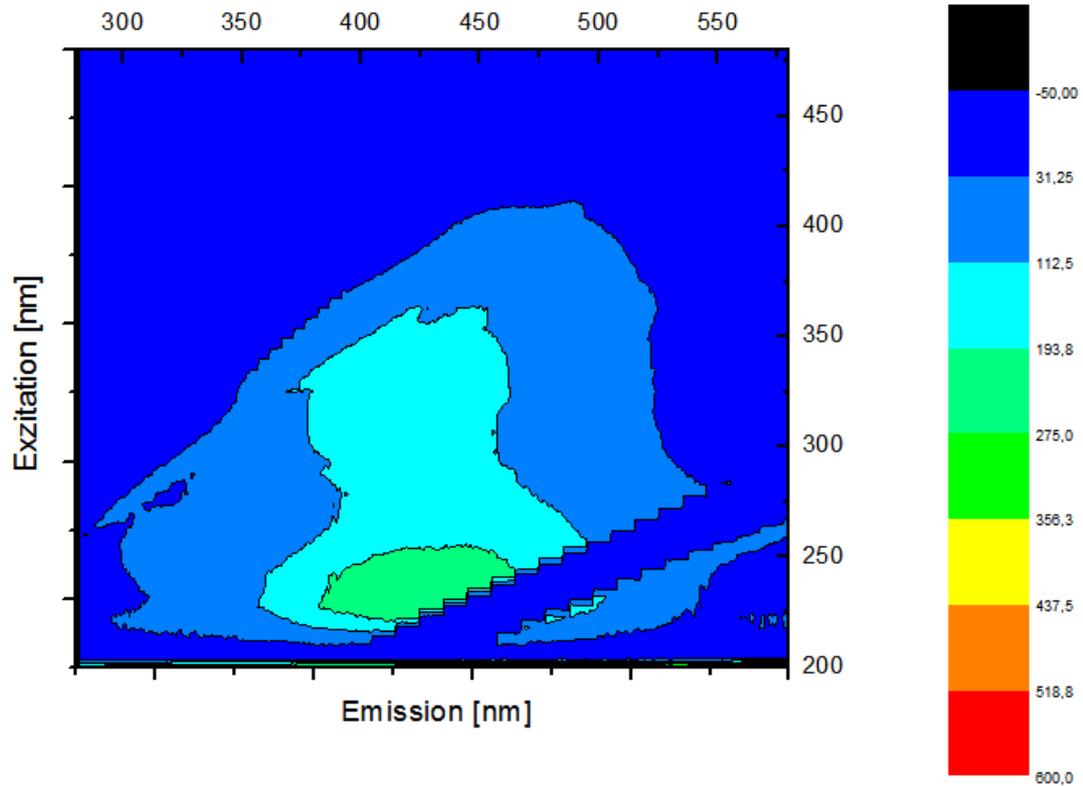


Abb. 40: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe AK nach Zugabe von Komplexlsg. 6.

Wie auch bei den Untersuchungen zum Bindungsverhalten von HS mit Aluminiumionen, wurden die Bindungsexperimente mit Zinksulfat, zwecks Reproduzierbarkeit, zweimal durchgeführt. Die Abbildungen 41 bis 43 zeigen die Probe AK nach Zugabe der Komplexlsg. 4 bis 6. In der zweiten Messung allerdings, ergaben sich ungewöhnliche Ergebnisse zum Bindungsverhalten von HS mit Zinksulfat. Hier konnte eine erkennbare Flockung der Probenanalyten erzielt werden. Es wäre anzuraten, die Bindungsexperimente mit Zinksulfat, ein drittes Mal durchzuführen um, definitive, statistisch auswertbare Aussagen treffen zu können.

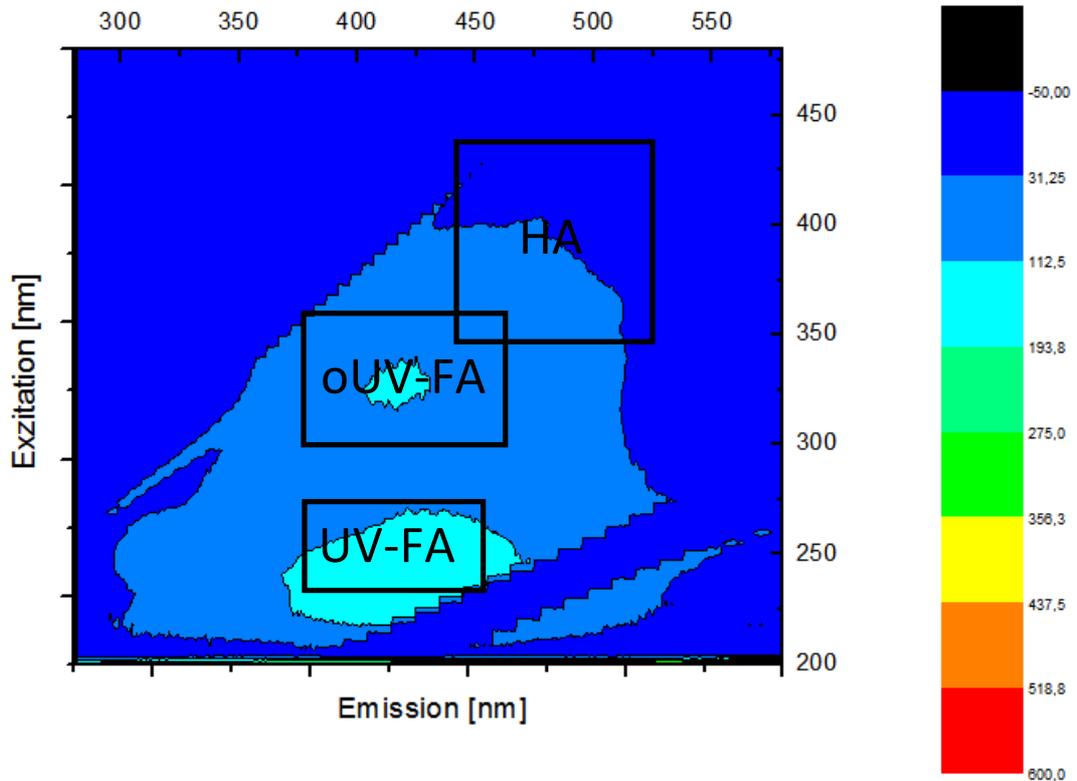


Abb. 41: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe AK nach Zugabe von Komplexlsg. 4.

Ungewöhnlich für Zinksulfat als Komplexbildner, führte die Verdünnung der Zinksulfat-Stammlösung um den Faktor 10 (Komplexlsg. 5) und um den Faktor 100 (Komplexlsg. 6) zu einer erkennbaren Reduktion an HS-Material im Bereich von oUV-FA (s. Abb. 42 und 43). Wie bei den Messungen zuvor, blieb der Gehalt an HS im Bereich von UV-FA unverändert (vgl. Abb. 38 bis 40). Weshalb die Verdünnung der Zinksulfat-Stammlösung zu einer evidenten Reduktion an Probenanalyten führte, kann nicht eindeutig interpretiert werden. Es könnte an einer nicht hinreichenden Reinigung der Lösungsgefäße gelegen haben, wodurch erhebliche Spuren von Aluminium, schließlich doch zu einer Probenfällung führten. Die Dampfsterilisation der Lösungsgefäße war nicht möglich, weshalb die chemische Reinigung mit Ethanol durchgeführt werden musste. Zur Bestätigung der Aussage, sollten die Bindungsexperimente mit autoklavierten Lösungsgefäßen erneut durchgeführt werden.

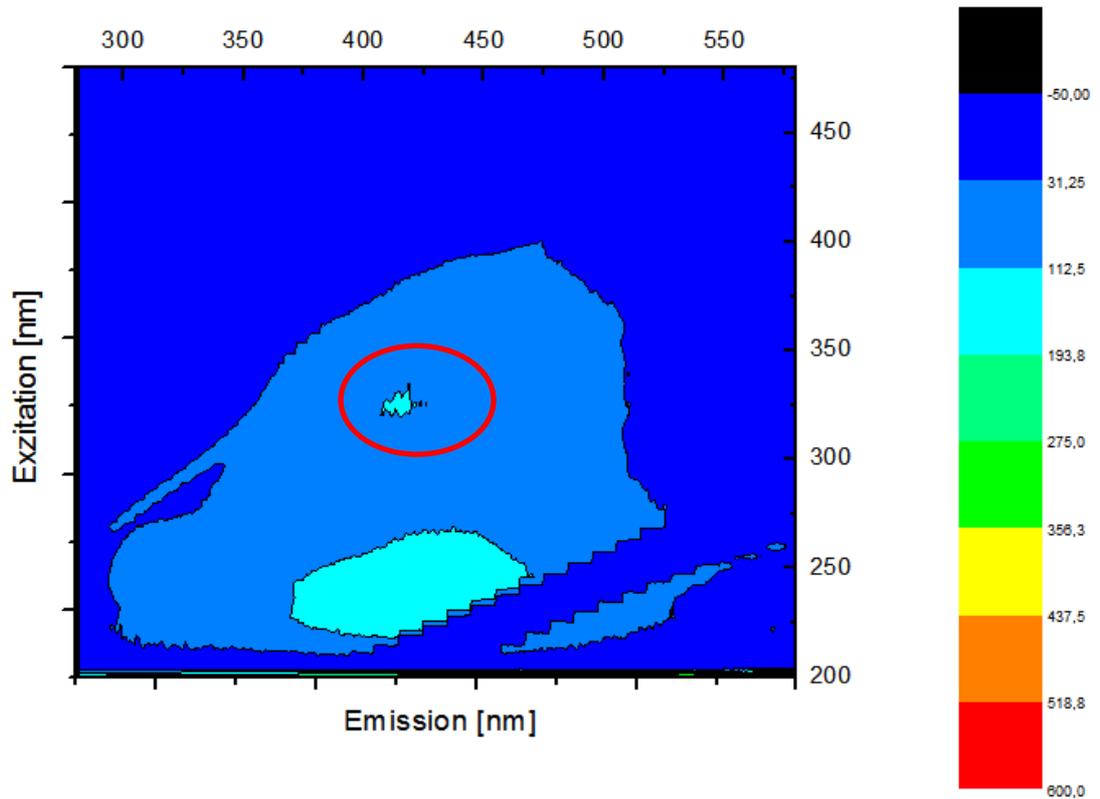


Abb. 42: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe AK nach Zugabe von Komplexlsg. 5.

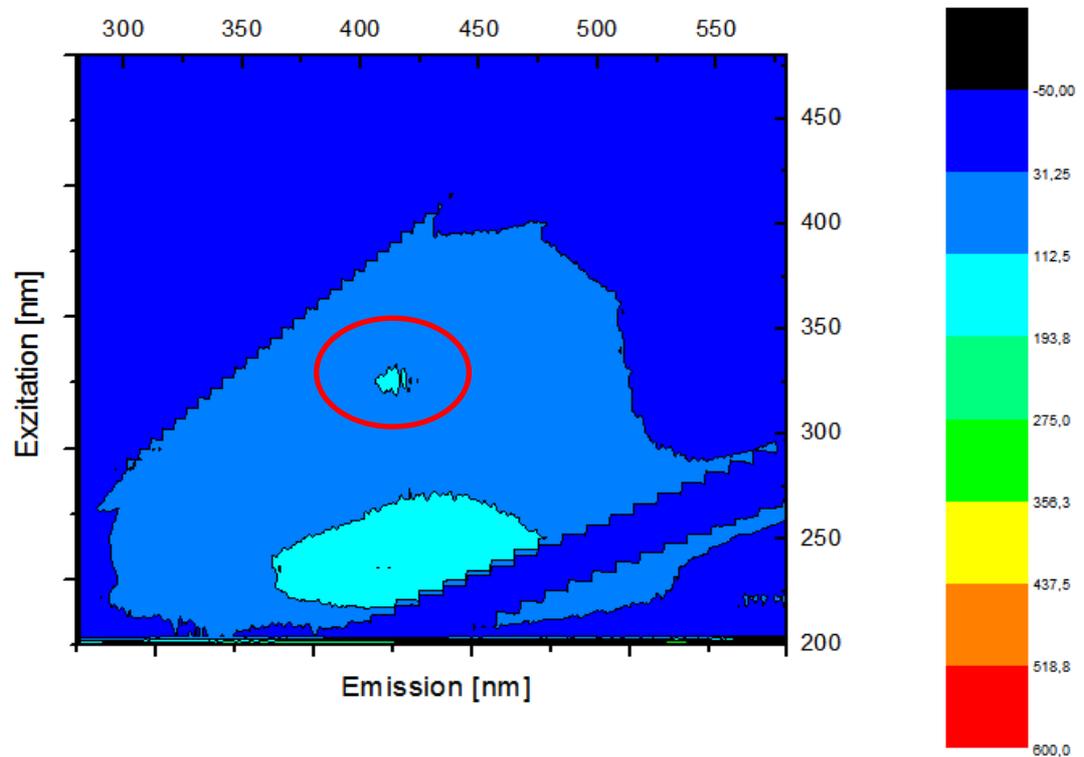


Abb. 43: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe AK nach Zugabe von Komplexlsg. 6.

Auf die Untersuchung einer Grenzkonzentration, zum Flockungsverhalten von HS in AK, musste, mangels Zeit, verzichtet werden. Es wäre interessant gewesen die fluoreszenzspektroskopischen Untersuchungen zum Bindungsverhalten von HS mit Zinkionen etwas auszuweiten, da die Ergebnisse so divergent waren. Letzten Endes zeigten die Ergebnisse, der Messung des Strömungspotentials der Proben AK und KL 1, während einer Titration mit Zinksulfat, hinsichtlich ihrer Chelatbildungs-Kapazität, doch ein definitiv interpretierbares Bild. Zinksulfat ist als Komplexbildner mit HS nicht geeignet.

4.2.4 Kreislaufwasser und Zinksulfat

Nach erfolgter Zugabe der Komplexlsg. 4 bis 6, wurde die Kreislaufwasserprobe KL 1 fluoreszenzspektroskopisch vermessen, um potentielle Bindungsreaktionen mit Zinksulfat zu veranschaulichen. Auch hier erzeugte eine Verdünnung der Zinksulfat-Stammlösung, um den Faktor $F = 10$, eine signifikante Reduktion der Probe an HS-Material, sowohl im Bereich von oUV-FA, als auch im Bereich von UV-FA (vgl. Abb. 45). Abbildung 44 zeigt die Probe KL 1 nach Zugabe von Komplexlsg. 4.

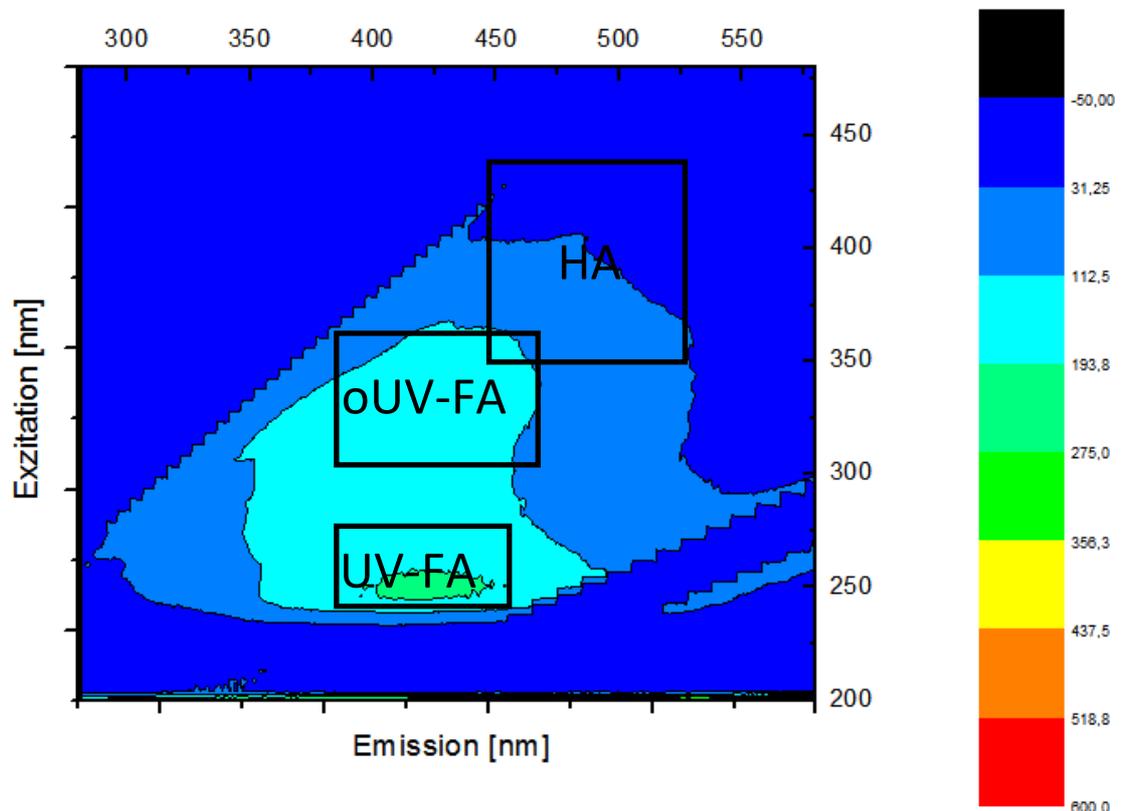


Abb. 44: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe KL 1 nach Zugabe von Komplexlsg. 4.

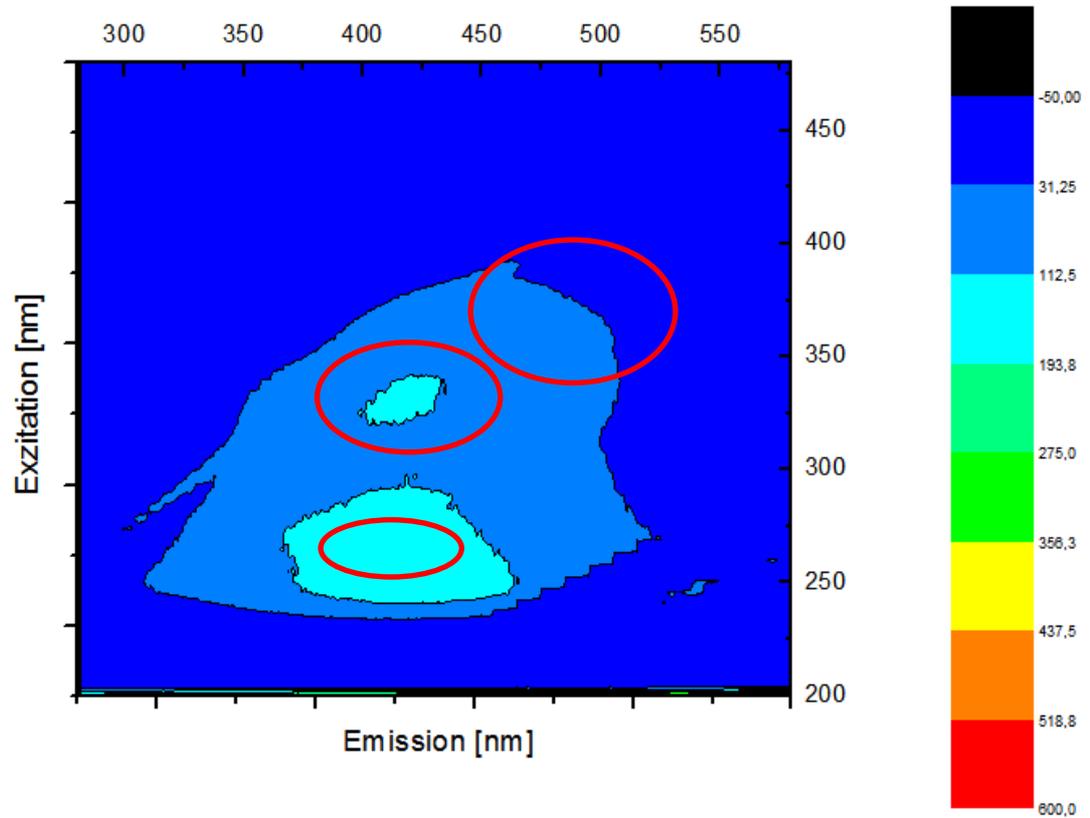


Abb. 45: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe KL 1 nach Zugabe von Komplexlg. 5.

Eine Verdünnung der Zinksulfat-Stammlösung um den Faktor 100 brachte keine zunehmende Abnahme der FI, führte aber ebenfalls zu einem breiten Verlust an HS-Material (s. Abb. 46).

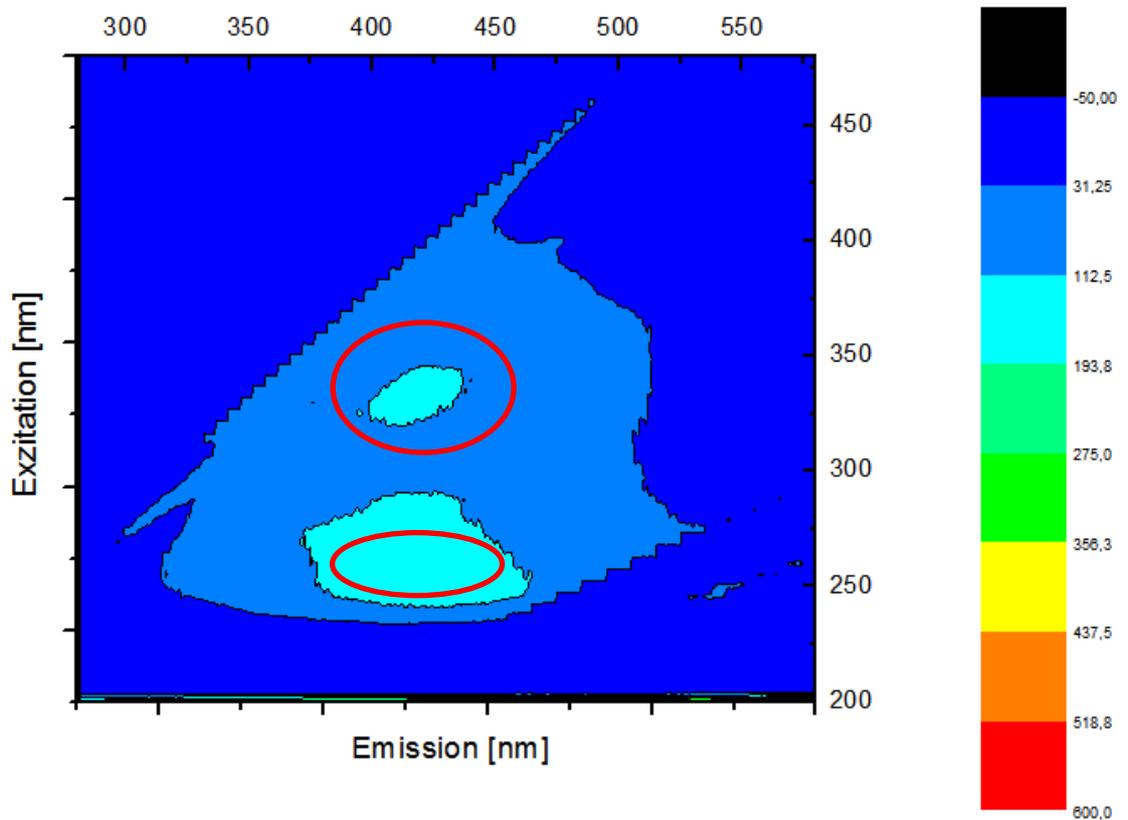


Abb. 46: Fluoreszenzspektroskopische Aufnahme (2D-EEM) der Probe KL 1 nach Zugabe von Komplexlsg. 6.

Wie, im Unterkapitel 4.2.3, erwähnt, könnte auch hier eine nicht hinreichende Reinigung der Lösungsgefäße zu einer Flockungsreaktion mit HS geführt haben (s. Abb. 45 und 46), was aufgrund der späteren Titrationsergebnisse als wahrscheinlich einzustufen ist.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die multidimensionale Fluoreszenzspektroskopie als geeignetes Mittel, zur Datenerfassung von Bindungsexperimenten zwischen HS und Metallkationen, vorgestellt werden konnte. Es zeigte sich, dass mit steigender Verdünnung der Metall-Lösungen, eine stärkere Flockungsreaktion mit HS erreicht werden konnte. Es wurden mögliche Grenzkonzentrationen der Metall-Lösungen für die Komplexierung mit HS überprüft, welche, bislang noch nicht als definitiv aufgezeigt werden konnten.

4.3 Strömungspotential und Bindungsexperimente

Zur besseren Interpretation der gewonnen Messdaten und zur Verifikation, oder Falsifikation der fluoreszenzspektroskopischen Ergebnisse, wurden die Proben AK und KL 1 im Stabisizer mit AL und ZL titriert. Die Beprobungen, für die Messungen des Strömungspotentials der Proben AK und KL 1, erfolgten am 26.04.13, am 30.04.13, am 02.05.13 und am 06.05.13 in Bremerhaven im ZAF. Die Schwankungen des Strömungspotentials sind u. a., durch die damalige Einstellung der Algenkultur-Anlage und des Wasserkreislaufes 1 auf eine neue Nährstoffgrundlage³⁹, bedingt worden und waren zusätzlich, auf die Installation einer neuen Wasser-Filtrationsanlage⁴⁰, zurückzuführen. Des Weiteren wurden, in diesem Zeitraum, Versuche, zur Optimierung der Gewässergüte⁴¹ der Kultivierungsanlagen, durchgeführt.

4.3.1 Algenkulturlösung und Aluminiumsulfat

(1) Abbildung 47 zeigt die Messungen, des Strömungspotentials und die Veränderungen des pH-Wertes, der Probe AK vom 30.04.13, vom 02.05.13 (o. r. und u. l.) und vom 06.05.13 während einer Titration mit Komplexlg. 1.

³⁹ Einstellung auf eine neue Nährstoffgrundlage (PNK-Dünger für die Algenkultivierung (s 3.1) und Fisch-Futtermittel von Seequasal für die Heilbutte)

⁴⁰ Experimente zur Optimierung der Kreislaufanlage mit neuen Filtermitteln (Filterkerzen).

⁴¹ Mineralstoffgehalt der Algenkultur und des Wasserkreislaufes 1.

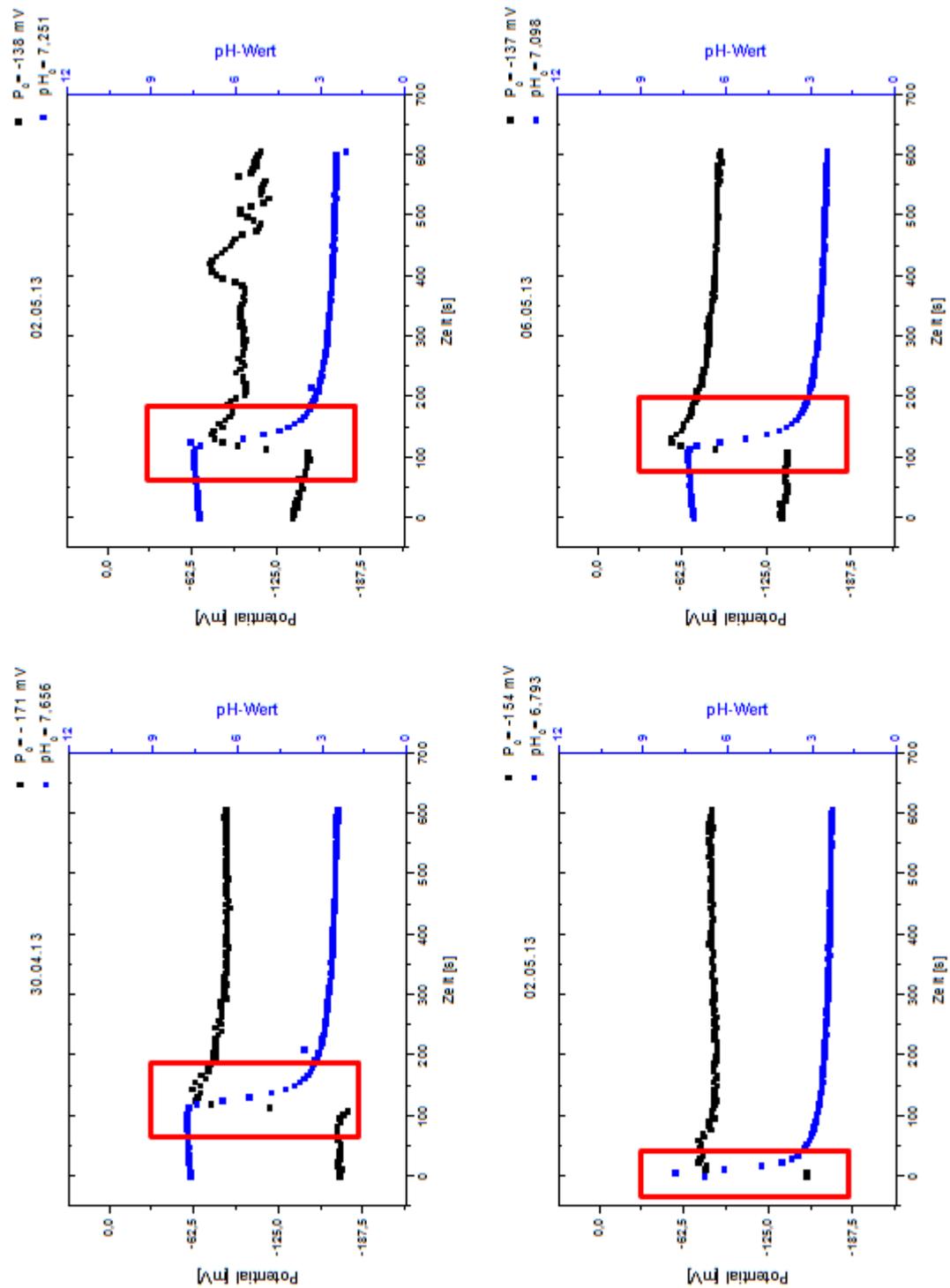


Abb. 47: Strömungspotentialmessung der Probe AK während der Titration mit Komplexlsg. 1.

Es lag eine offensichtliche Kongruenz, zwischen pH-Wert und Strömungspotential, bei allen gemessenen Proben vor. Als Charakteristikum, für die Titration der Probe AK mit Komplexlsg. 1, kommt ein Titrationsprung⁴² der Probenlösung, bei einem Titrationsvolumen von 1,8 mL⁴³ in Betracht. Dieser Sprung erfolgte unabhängig von der Höhe des Anfangspotentials. Lediglich die Probe vom 02.05.13 (u. l.) zeigte ein anderes Verhalten, hier erfolgte der Titrationsprung bei einem Volumen von 0,2 mL. Die Probenlösung benötigte also effektiv ca. 9/10 Titrationsvolumen weniger, um einen signifikanten Anstieg des Strömungspotentials zu zeigen.

Der Verlauf der Messpunkte, nach dem Erreichen des Maximalwerts des Strömungspotentials, war lediglich bei der Probe vom 02.05.13 (o. r.) signifikant anders, sonst näherten sich die Potentialkurven allgemein einem Endwert von $\bar{P} = -94,25$ mV an. Da kein Probenpuffer verwendet wurde, unterlagen die Anfangs-pH-Werte der Proben natürlichen Schwankungen.

Es kann, bei allen vermessenen Proben, von einer anfänglichen Bindung von HS mit Aluminiumionen ausgegangen werden, veranschaulicht durch den starken Anstieg des Strömungspotentials in Richtung Nullpotential, in einem pH-Bereich > 5 ⁴⁴. Ein pH-Wert < 3 hat die Dissoziation der HS-Metall-Komplexe zur Folge. Es entsteht ein Equilibrium aus der Bildung und Dissoziation von Metallchelaten⁴⁵.

- (2) Zur besseren Interpretation, des Bindungsverhaltens von HS und Aluminiumsulfat, wurden die Komplexlsg. 2 und 3 mit der Probe AK titriert. Abbildung 48 zeigt den Verlauf des Strömungspotentials und des pH-Wertes der Probe AK, während der Titration mit Komplexlsg. 2.

⁴² In allen Bildern rot markiert.

⁴³ S. Proben vom 30.04.13, 02.05.13 (o. l.) und 06.05.13.

⁴⁴ Erklärung s. 2.2.1.

⁴⁵ Erklärung s. 2.2.1.

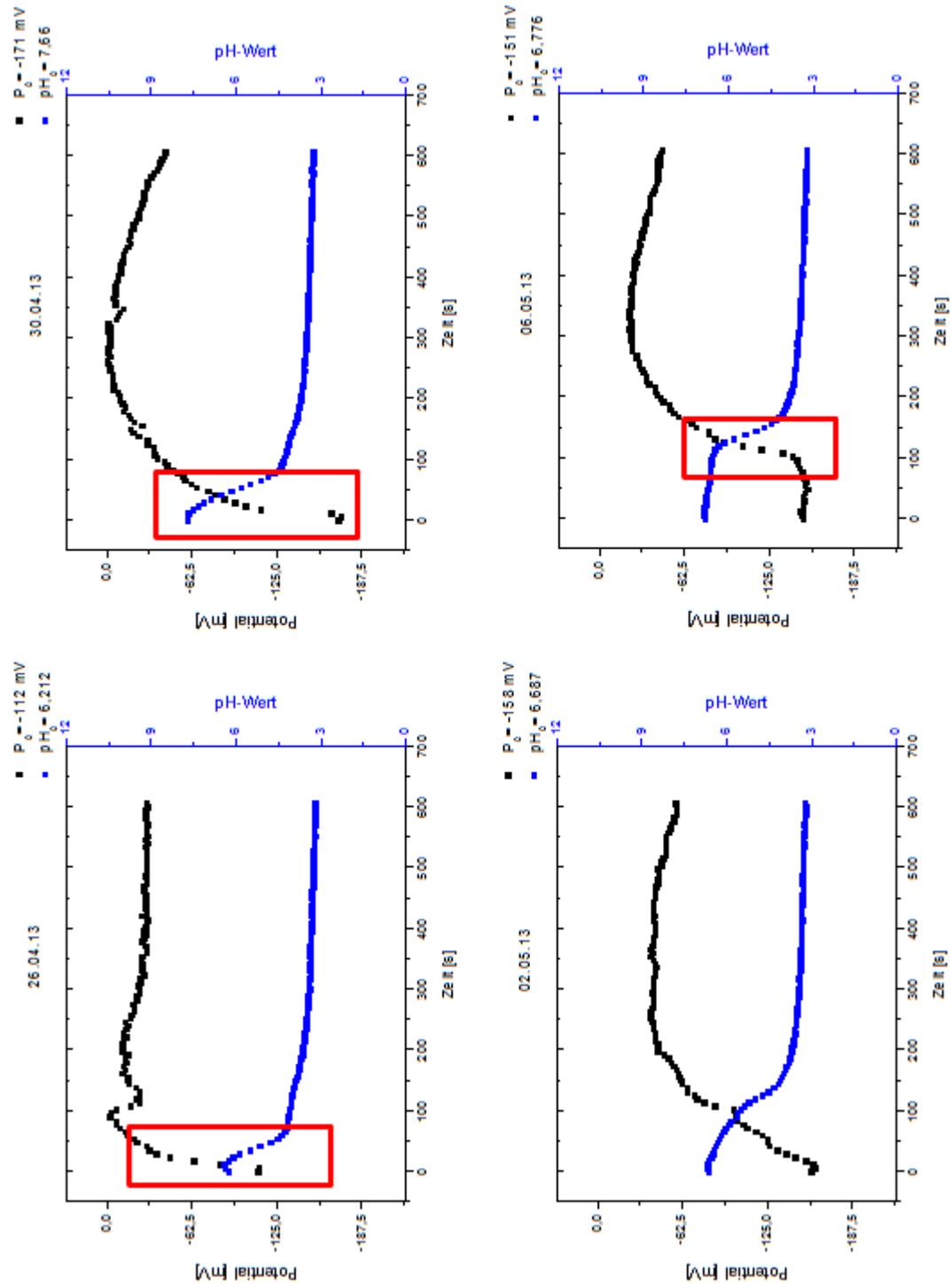


Abb. 48: Strömungspotentialmessung der Probe AK während der Titration mit Komplextlg. 2.

Eine Verdünnung des Titrationsmittels, um den Faktor 10, verursachte einen vergleichsweise früheren Titrationsprung der Probenlösung, bei einem

Titrationen mit einem Titrationsvolumen von ca. 0,25 mL⁴⁶. Der Anstieg des Strömungspotentials und der damit verbundene Abstieg des pH-Wertes erfolgte vergleichsweise langsamer, als bei einer Titration der Probenlösung mit Komplexlsg. 1. Während der gesamten Titrationsdauer wurde kein pH-Wert < 3 erreicht d.h., dass die Titration, der Proben-Lösung AK mit Komplexlsg. 2, einen vergleichsweise geringeren Gesamtabstieg des pH-Wertes zur Folge hatte⁴⁷. Daraus folgt, dass die Komplexbildung der HS mit den Metallionen über einen längeren Titrations-Zeitraum erfolgen konnte, veranschaulicht durch den längeren Anstieg des Strömungspotentials. Bei der Probe vom 30.04.13 wurde *fast* das Nullpotential der Lösung erreicht ($P_{\max} = -1$ mV). Das Gleichgewicht, aus der Bildung und Dissoziation von Metallchelaten, stellte sich vergleichsweise später ein und wurde lediglich, durch die allmähliche Annäherung des Strömungspotentials an einen Endwert, angedeutet.

- (3) Eine weitere Verdünnung des Titrationsmittels Aluminiumsulfat, um den Faktor 100 (Komplexlsg. 3), erzeugte einen noch längeren Anstieg des Strömungspotentials und einen vergleichsweise langsameren Abstieg des pH-Wertes⁴⁸. Es wurden ausschließlich pH-Endwerte > 3 erzielt, weshalb von einer noch späteren Einstellung des Gleichgewichts, der Bildung und Dissoziation von Metallchelaten, ausgegangen werden kann und somit, von effektiv mehr Zeit zur Bildung von Metallchelaten. Bei der Probe vom 26.04.13 wurde, bei einem Titrationsvolumen von 8,5 mL, das Nullpotential erreicht⁴⁹. *Daraus folgt, dass eine 0,005 M Aluminium-Lösung eine absolute Komplexbildung mit der Probenmatrix der Prozesswasserprobe AK erzielen konnte.* Alle Strömungspotentialkurven zeigten beim Titrations-Stopvolumen einen aufsteigenden Trend. Abbildung 49 zeigt die Probe AK während der Titration mit Komplexlsg. 3. Es wird davon ausgegangen, dass alle Proben, bei einer Veränderung des Stop-Volumens um x ⁵⁰ mL, generell das Nullpotential erreicht hätten.

⁴⁶ S. Proben vom 26.04.13 und 30.04.13 und vgl. Abb. 48 mit Abb. 47.

⁴⁷ Vgl. Abb. 48 mit Abb. 47.

⁴⁸ Vgl. Abb. 49 mit 48.

⁴⁹ In der folgenden Abb. rot markiert.

⁵⁰ Die Menge des Titrervolumens, zur vollständigen Komplexbildung der HS in der Probe AK, wurde nicht untersucht und kann nur mit einer unbestimmten Variable x angegeben werden.

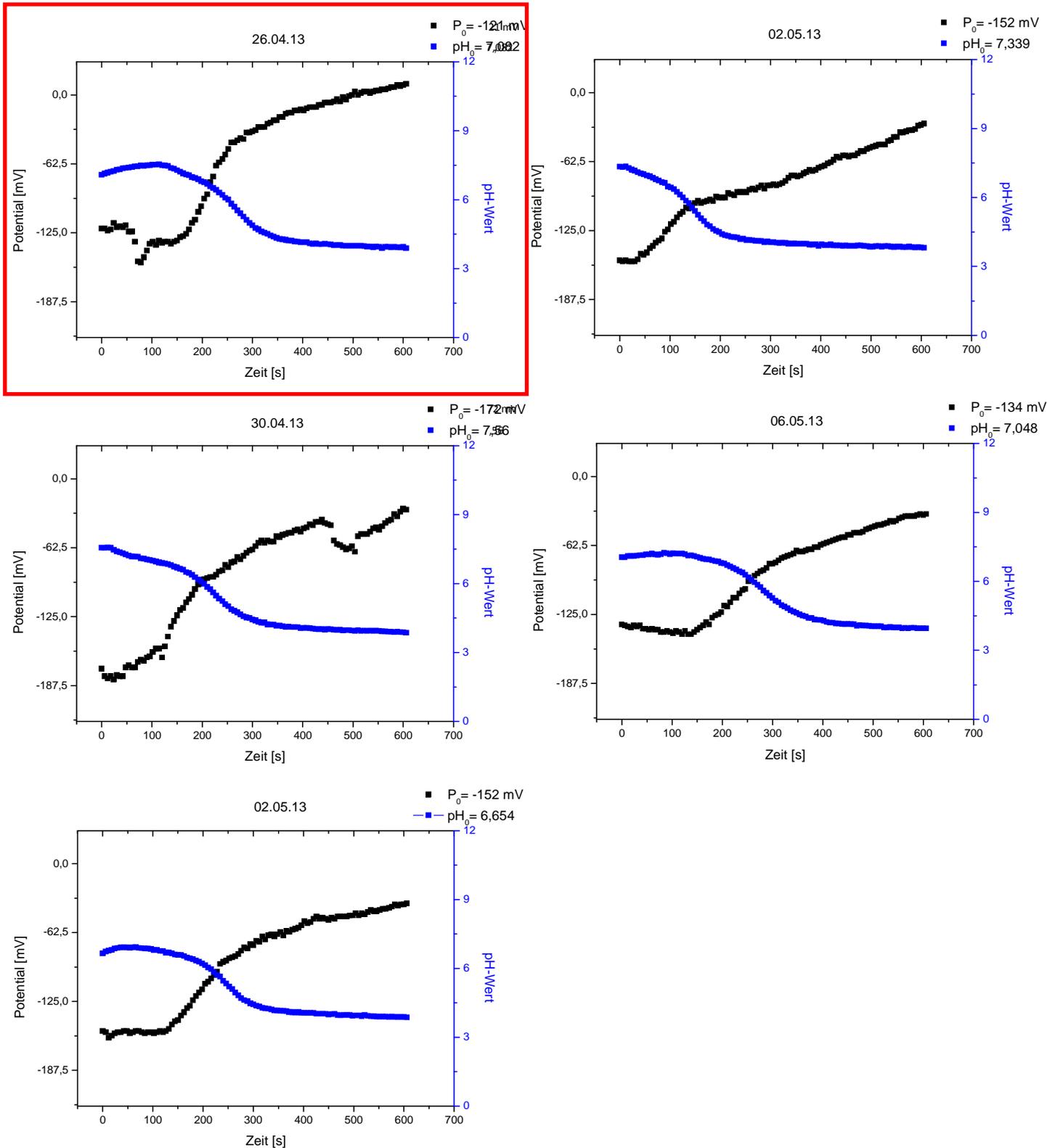


Abb. 49: Strömungspotentialmessung der Probe AK während der Titration mit Komplexlsg. 3.

4.3.2 Kreislaufwasser und Aluminiumsulfat

- (4) Abbildung 50 zeigt die Prozesswasserprobe KL 1 während der Titration mit Komplexlsg. 1. Auch hier wurde das Strömungspotential [P] der Titrationsdauer [s] gegenübergestellt. Die Zugabe des Titriermittels erfolgte alle 6 sec. in 100 µl-Schritten. Der Titrationsprung erfolgte bei einem Volumen von 0,2 mL und wird als charakteristisch, für die Titration von *Komplexlsg. 1 zur Probe KL 1*⁵¹, angenommen. Die abgebildete Reaktionskinetik⁵² scheint, für die Titration der Prozesswasserproben AK und KL 1 mit Komplexlsg. 1, charakteristisch zu sein, wobei sich das Strömungspotential der Probe KL 1, nach dem Erreichen des Maximalwertes, vergleichsweise langsamer einem Endwert annäherte, als das Strömungspotential der Probe AK⁵³. Interessant ist, dass alle KL 1-Proben, bis auf die Probe vom 06.05.13, einen Titrationsprung bei 0,2 mL zeigten. Der Titrationsprung der Probe vom 06.05.13 erfolgte bei einem Titrationsvolumen von 1,8 mL und ist mit dem Titrationsverhalten der Probe AK vom 06.05.13 nahezu identisch (s. Abb. 47). Daraus folgt, dass weder der Titrationsprung, bei einem Volumen von 1,8 mL, noch der Titrationsprung, bei einem Volumen von 0,2 mL, als allgemein gültig, für die Titration der Proben AK und KL 1 mit Komplexlsg. 1, festgelegt werden kann.

⁵¹ Bei der Probe AK lag der Titrationsprung, bei fast allen Proben, bei 1,8 mL (s. Abb. 47).

⁵² Verlauf des Strömungspotentials und des pH-Wertes.

⁵³ Vgl. Abb. 50 mit Abb. 47.

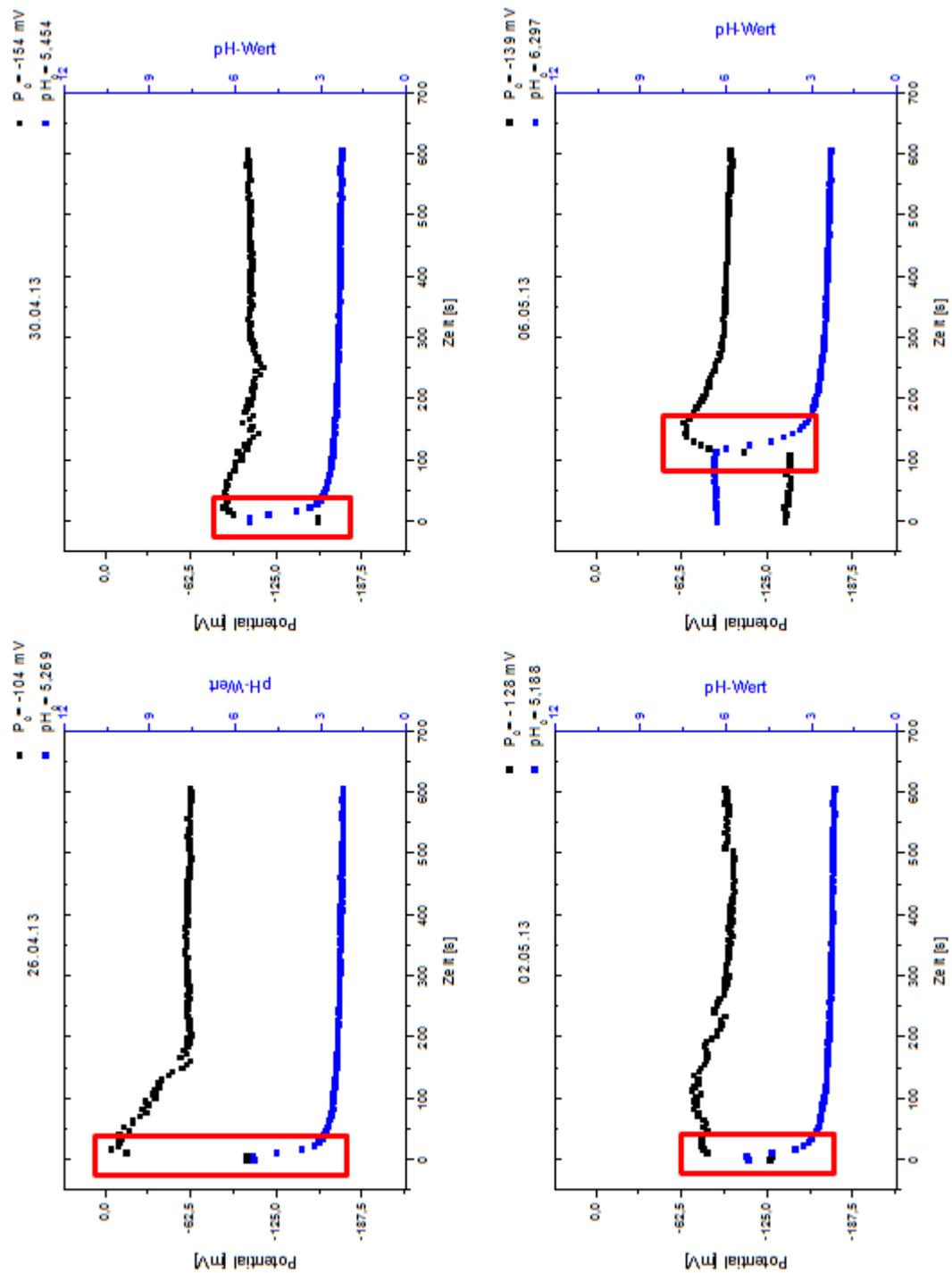


Abb. 50: Strömungspotentialmessung der Probe KL 1 während der Titration mit Komplexlsg. 1.

Der Titrationsprung der Proben vom 26.04.13, 30.04.13 und vom 02.05.13 wurde durch einen signifikanten Abstieg des pH-Wertes induziert. In einem pH-Bereich > 3

stieg das Strömungspotential und in einem Bereich ≤ 3 fiel es. In diesem pH-Bereich kam es verstärkt zur Dissoziation von gebildeten Metall-HS-Komplexen⁵⁴.

- (5) Eine Verdünnung des Titrationsmittels um den Faktor 10 (Komplexlg. 2), hatte einen allgemein höheren pH-Endwert (> 3) zur Folge und damit verbunden, einen längeren Anstieg und einen vergleichsweise geringeren Abstieg des Strömungspotentials d.h., dass der Abstieg des Strömungspotentials, nach dem Erreichen des Maximalwertes, vergleichsweise geringer war⁵⁵. Abbildung 51 zeigt die Veränderungen des Strömungspotentials und der pH-Werte der Probe KL 1, während der Titration mit Komplexlg. 2.

⁵⁴ Erklärung s. 2.2.1.

⁵⁵ Vgl. Abb. 51 mit Abb. 50.

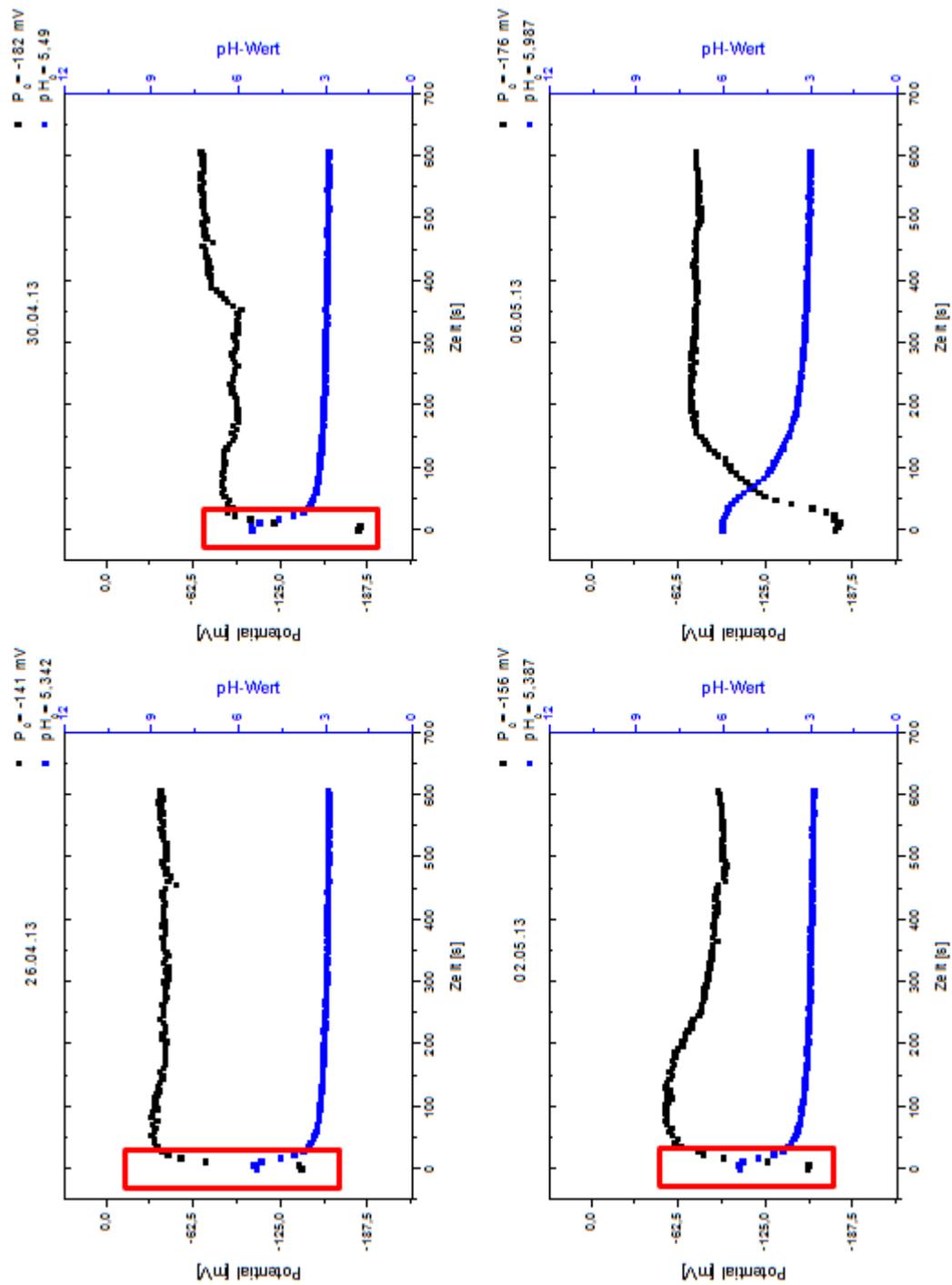


Abb. 51: Strömungspotentialmessung der Probe KL 1 während der Titration mit Komplexlg. 2.

Nahezu direkt nach dem Erreichen des Maximalwertes näherten sich die Potentialkurven, vom 26.04.13 und vom 06.05.13, ihrem Endwert an. Bei den Proben, vom 30.04.13 und vom 02.05.13, wurde der Endwert des Strömungspotentials nicht sofort erreicht. Auffällig war, das nahezu identische Abstiegs-Verhalten des pH-Wertes der Proben vom 26.04.13, 30.04.13 und vom 02.05.13. Das Abstiegsverhalten des pH-Wertes, der Probe vom 06.05.13, unterschied sich von dem der anderen; es erfolgte weitaus langsamer und damit über einen längeren Titrationszeitraum. Die Reaktionskinetik mit der Probenmatrix, während der Titration mit Komplexlsg. 2, unterschied sich signifikant von der in Abb. 48 was, mit der geringeren HS-Konzentration der Probe KL 1, in Verbindung zu bringen sein könnte⁵⁶. Diese Tatsache kann durch die Ergebnisse der fluoreszenzspektroskopischen Untersuchungen der Probe KL 1 untermauert werden.

- (6) Abbildung 52 zeigt die Probe KL 1 während der Titration mit Komplexlsg. 3. Die Probe vom 06.05.13 erreichte bei einem Titrationsvolumen von 6,6 mL das Nullpotential⁵⁷. *Daraus folgt, dass eine 0,005 M Aluminium-Lösung eine absolute Komplexbildung mit der Probenmatrix der Prozesswasserprobe KL 1 erzielen konnte.* Auffällig waren, der langsamere Abstieg des pH-Wertes und der damit verbundene, steilere Anstieg des Strömungspotentials. Alle Potentialkurven zeigten, am Ende der Messung, einen aufsteigenden Trend. Auch hier kann davon ausgegangen werden, dass eine Veränderung des Titrationsstop-Volumens die vollständige Komplexbildung der Probenanalyten erzielt hätte.

⁵⁶ Vgl. Abb. 51 mit Abb. 48.

⁵⁷ In der folgenden Abb. rot markiert.

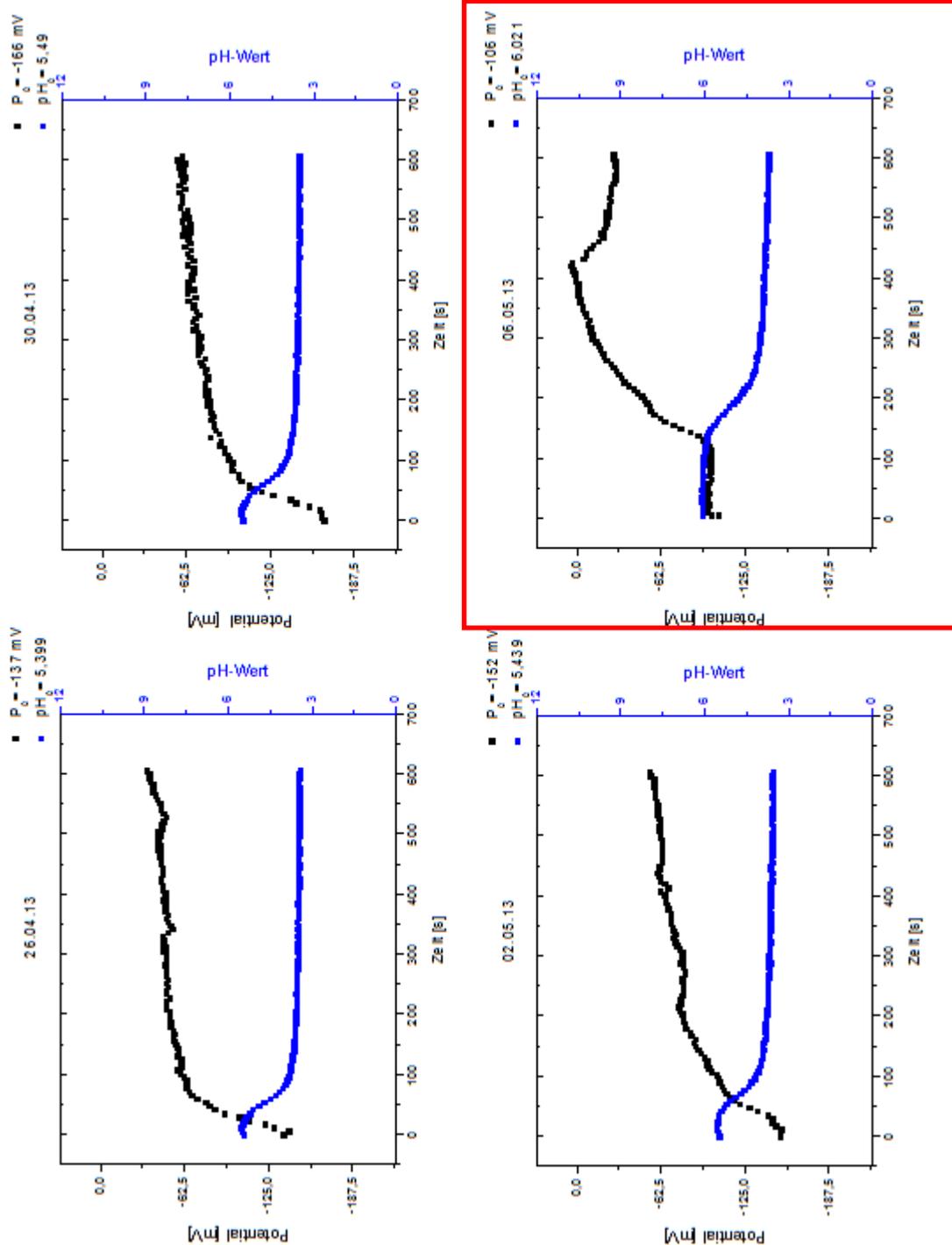


Abb. 52: Strömungspotentialmessung der Probe KL 1 während der Titration mit Komplexlsg. 3.

Die Aluminiumionen einer, mit Milli-Q-Wasser verdünnten, Aluminiumsulfat-Lösung konnten mit den HS in Prozesswasserproben komplexieren und ausflocken. Hierbei spielte die Konzentration des Titriermittels eine essentielle Rolle, da sie den pH-Wert der Probenlösung

maßgeblich beeinflusste. PH-Werte > 3 hatten die Komplexbildung, zwischen Metallionen und Probenanalyten, zur Folge, pH-Werte < 3 die Dissoziation von Metall-HS-Komplexen und den damit verbundenen Abstieg des Strömungspotentials auf einen Endwert zu. Daraus folgt, dass das Erreichen des Nullpotentials nur passieren kann, wenn der pH-Wert der Probenlösung hinreichend stabil bleibt.

4.3.3 Algenkulturlösung und Zinksulfat

Aufgrund der geringen Bindungskapazität von Zinksulfat, in Verbindung mit HS in Prozesswasserproben, die aus den Messungen der Strömungspotentiale der KL 1-Proben hervorging, werden die Ergebnisse, zum Bindungsverhalten von HS mit ZL, kommentarlos abgebildet. Abbildung 53 bis 55 zeigen die Probe AK. Sie wurde mit Komplexlsg. 4 bis 6 titriert.

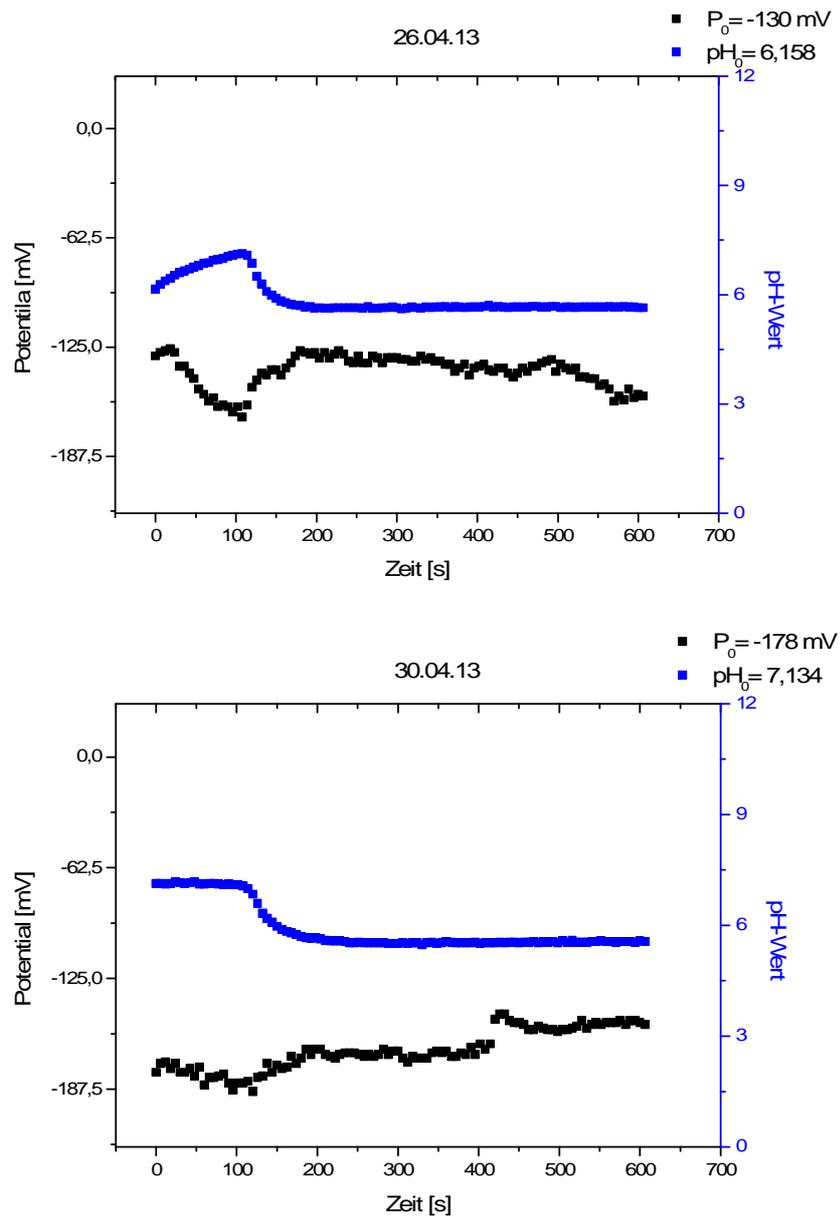


Abb. 53: Strömungspotentialmessung der Probe AK während der Titration mit Komplexlg. 4.

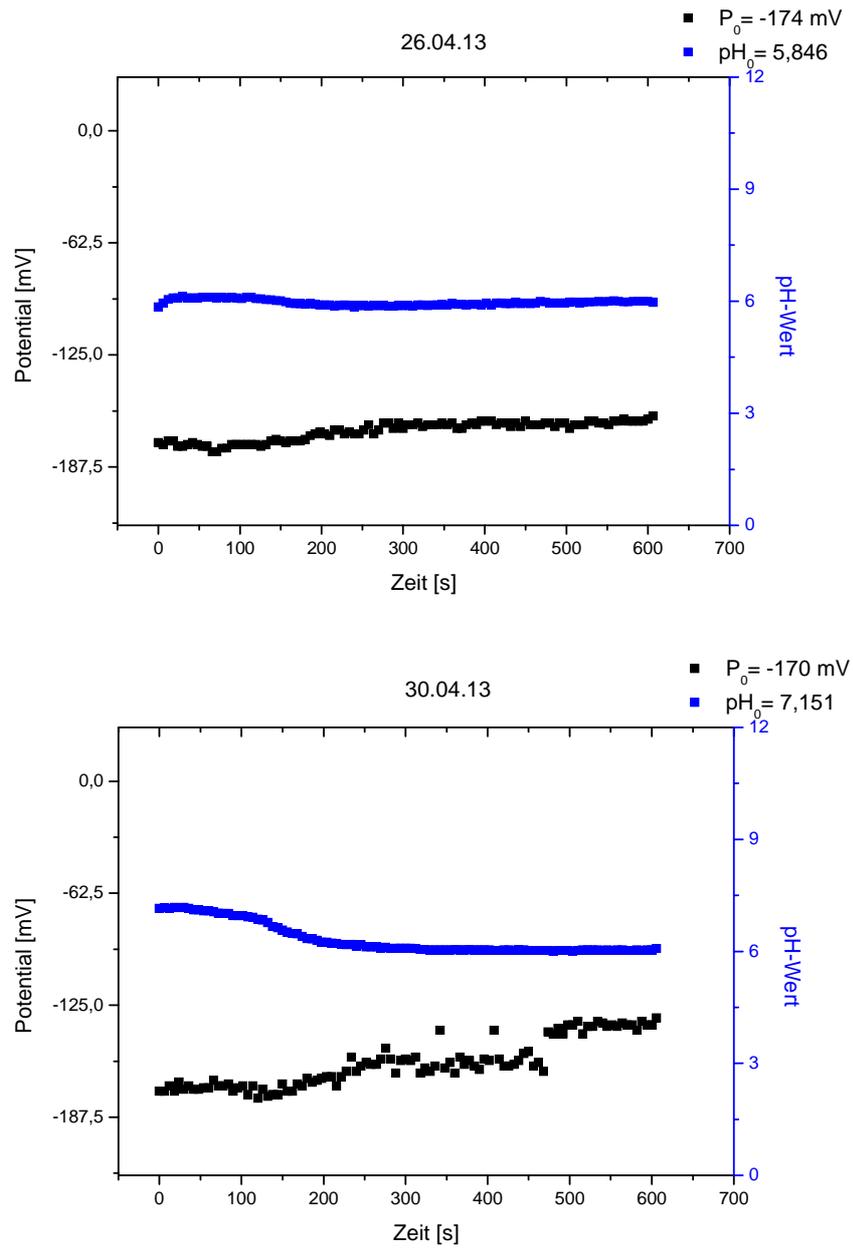


Abb. 54: Strömungspotentialmessung der Probe AK während der Titration mit Komplexlg. 5.

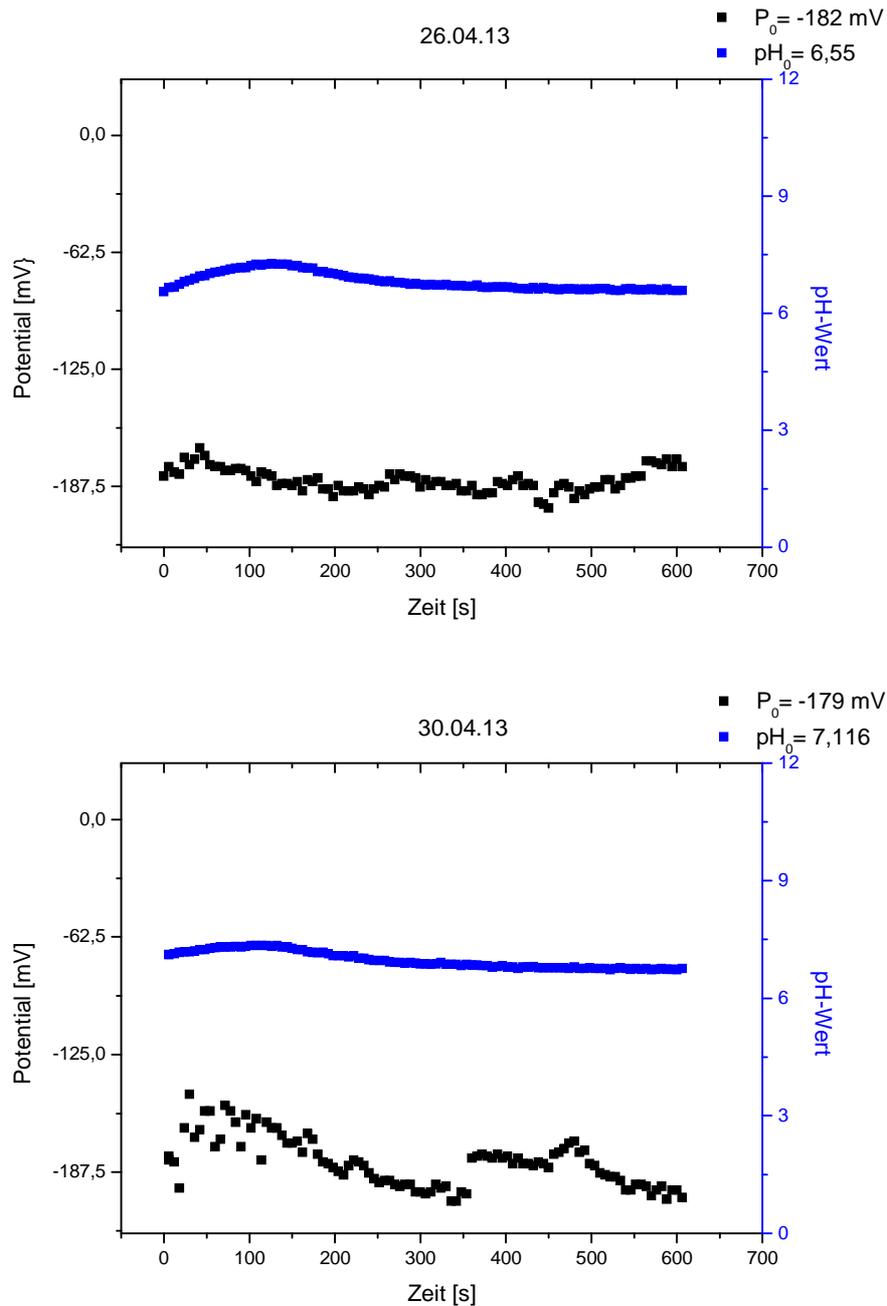


Abb. 55: Strömungspotentialmessung der Probe AK während der Titration mit Komplexlg. 6.

4.3.4 Kreislaufwasser und Zinksulfat

Aufgrund der, im Unterkapitel 4.3.3 angegebenen, Erörterung wird auch in diesem Kapitel auf Kommentare zu den Abbildungen verzichtet. Die Abbildungen 56 bis 58 zeigen die Ergebnisse zum Verhalten des Strömungspotentials der Probe KL 1 während der Zugabe von Komplexlg. 4 bis 6.

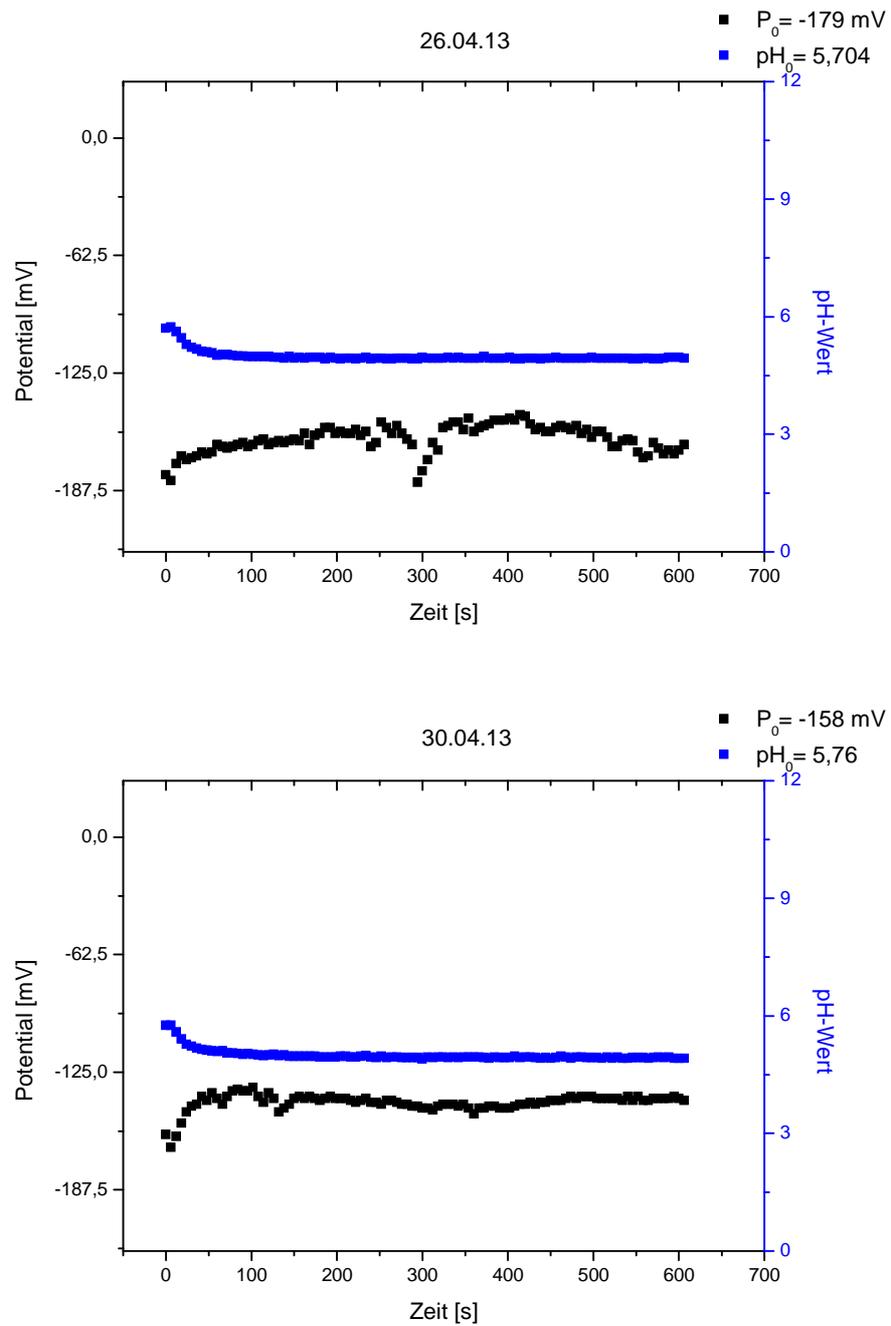


Abb. 56: Strömungspotentialmessung der Probe KL 1 während der Titration mit Komplexlsg. 4.

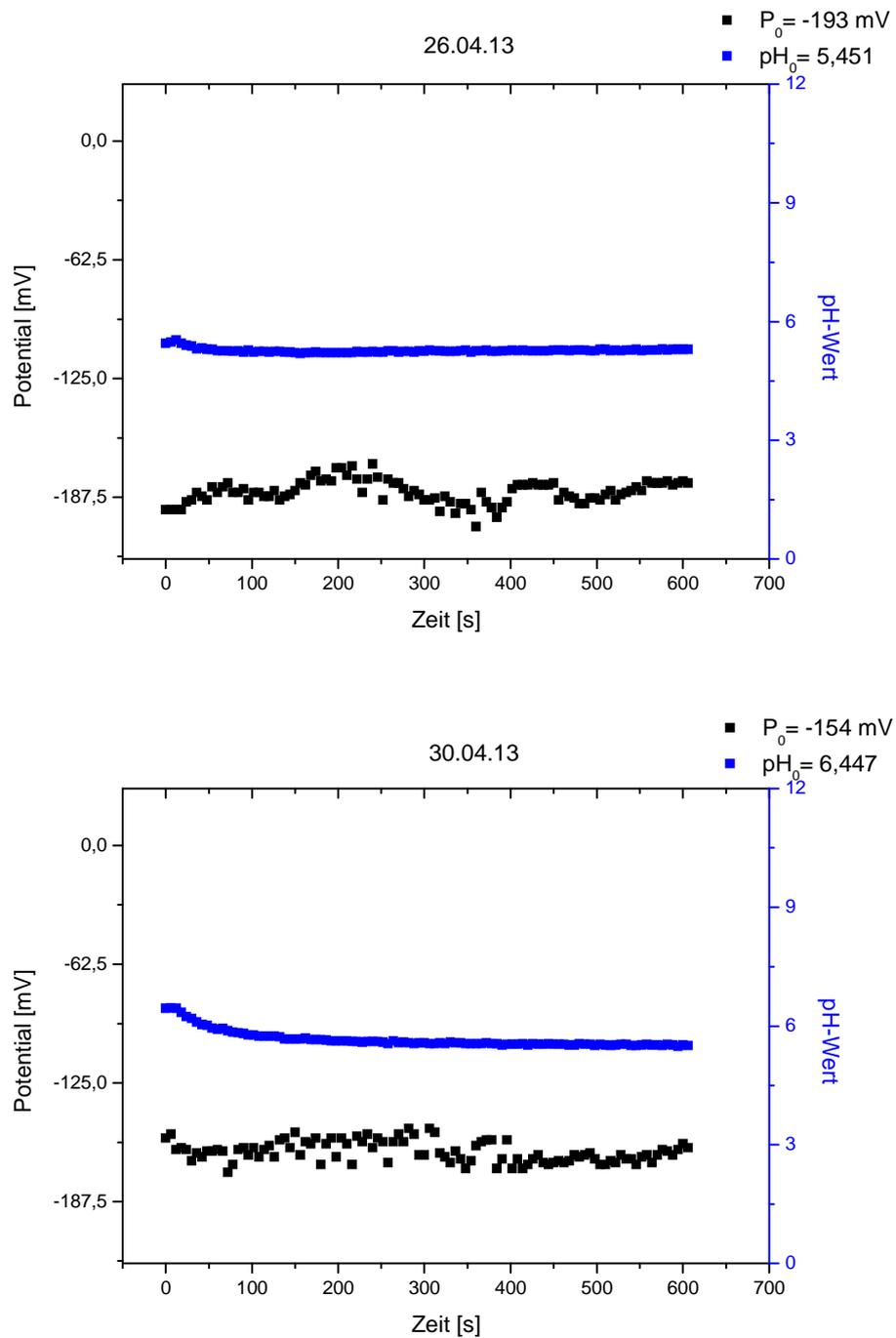


Abb. 57: Strömungspotentialmessung der Probe KL 1 während der Titration mit Komplexlg. 5.

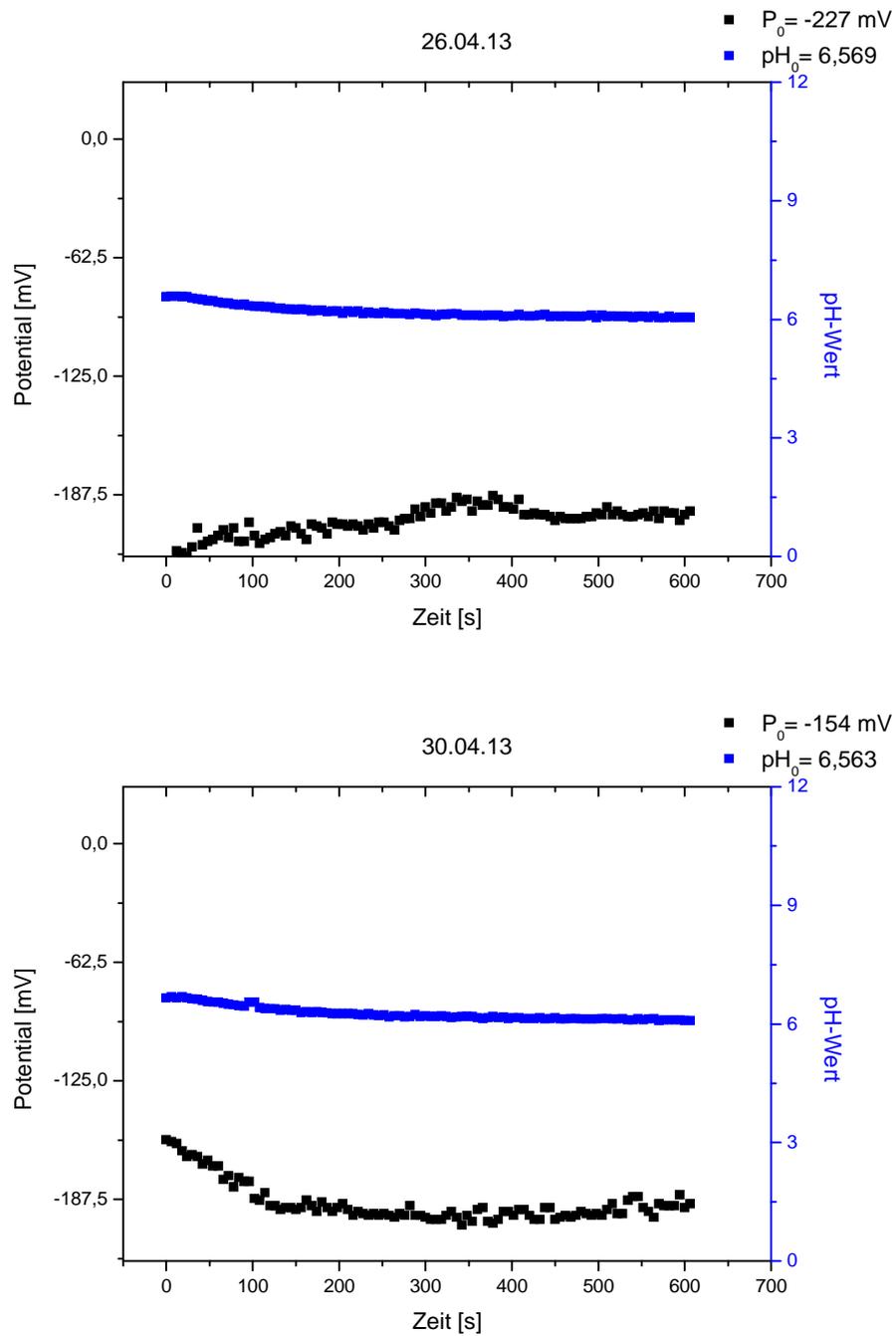


Abb. 58: Strömungspotentialmessung der Probe KL 1 während der Titration mit Komplexlsg. 6.

Zinksulfat stellte sich nicht als geeigneter Komplexbildner, mit den HS in den Prozesswasserproben AK und KL 1, heraus; unabhängig von der Konzentration des Titriermittels.

5 ZUSAMMENFASSUNG

In dieser Arbeit sollte das Bindungsverhalten von HS mit Metallkationen, respektive Aluminiumionen und Zinkionen, qualitativ untersucht und diskutiert werden. Mit Hilfe der multidimensionalen Fluoreszenzspektroskopie (EEM) können die physikochemischen Eigenschaften von HS erfasst und abgebildet werden. Das intrinsische Fluoreszenzverhalten ihrer funktionellen Gruppen gibt Aufschluss über das intermolekulare und intramolekulare Bindungsverhalten von HS mit z.B. Metallkationen [20]. Die Messungen des Strömungspotentials, in Abhängigkeit vom pH-Wert, geben Aufschluss über das Komplexbildungs- und Komplexdissoziationsvermögen von HS mit Metallkationen [4].

Hierbei standen 2 Metalle besonders im Fokus, da sie in der Windenergiebranche als Opfermetalle, zum Korrosionsschutz von Gründungsstrukturen, präventiv verwendet werden. OAs auf Basis von Aluminium oder Zink, können mit der marinen Umgebung in Kontakt treten und das Ökosystem Meer maßgeblich beeinflussen. Die pathogene Wirkung von Aluminium in Fischen, Muscheln und Austern ist wissenschaftlich mehrfach diskutiert worden, ferner wird Aluminium für das Entstehen der Alzheimer Erkrankung in Betracht gezogen und seit geraumer Zeit untersucht [5, 6, 7, 8, 9]. Erfolgt eine Überexposition der Meere mit Aluminiumionen, insofern, dass marine Organismen toxische Mengen von Aluminium in ihrem Körper akkumulieren, kann das verheerende Folgen für den Mensch nach sich ziehen. HS können mit ein- und mehrwertigen Kationen stabile Komplexe bilden, Chelate genannt und ausfallen d.h., dass sie über die Mobilität, Bioverfügbarkeit und Biotoxizität von potentiell toxischen Spurenelementen entscheiden [3,4].

Über die Forschungsarbeit mit natürlichen Prozesswasserproben aus dem Zentrum für Aquakulturforschung (ZAF) in Bremerhaven und in Wasser gelöstem Aluminiumsulfat/Zinksulfat in unterschiedlichen Konzentrationen ($c_{Al/Zn} = 0,5$ bis $0,005$ M), sollte die K_{Kap} von aquatischen HS mit mehrwertigen Metallkationen qualitativ untersucht werden. Zunächst wurden die Bindungsexperimente fluoreszenzspektroskopisch abgebildet. Hierbei stellte sich heraus, dass die K_{Kap} von Metallkationen mit HS, mit zunehmender Verdünnung einer Aluminiumsulfat-Lösung, signifikant zunahm. Sowohl bei der Algenkultur-Probe vom 26.04.13, als auch bei der Wasserkreislauf 1-Probe vom 06.05.13, konnte mit einer $0,005$ M Aluminium-Lösung⁵⁸ das Nullpotential der Probe erreicht werden. Hier kann von einer absoluten Komplexbildung zwischen Aluminiumionen und Probenmatrix ausgegangen werden. Zusammenfassend stellte sich der pH-Wert für die K_{Kap} als entscheidender Faktor heraus. PH-Werte > 3 haben einen Anstieg des Strömungspotentials zur Folge und eine damit verbundene

⁵⁸ Aus Aluminiumsulfat hergestellt.

Bildung von HS-Metall-Komplexen, pH-Werte < 3 führen zu einer zunehmenden Dissoziation der gebildeten Metallchelate. „Eine nahezu hundertprozentige Komplexbildung kann bei einem pH-Wert um oder über 7 erzielt werden [4].“ Hierfür ist es wichtig dem pH-Verhalten der Probe besondere Aufmerksamkeit zu schenken und ggf. den Schwankungen entgegenzuwirken.

6 AUSBLICK

Ziel ist es HS von der unbekannt Matrix des natürlichen, aquatischen Systems insofern zu trennen, dass eine quantifizierbare Materialmenge daraus hervorgeht und die organische Struktur der HS für Bindungsexperimente intakt bleibt (s. Tab. 12). Besondere Aufmerksamkeit sollte der Optimierung der natürlichen Lösung gewidmet werden, damit reproduzierbare Ergebnisse unter definierten Bedingungen entstehen. Hierfür ist es wichtig evtl. über geeignete Puffersysteme für die Analytik nachzudenken, Störkomponenten aus der Probenmatrix zu entfernen und Aufbereitungsverfahren zu wählen, die dem Untersuchungszweck dienlich sind.

Tab. 13: Gängige Methoden zur Aufkonzentrierung aquatischer organischer Substanzen [4].

Methode	Bewertung der Methode	
	Vorteile	Nachteile
Gefriertrocknung	Geringe Denaturierung Hohe Aufkonzentrierung	Langsame Prozedur Anorganische Ionen verbleiben in der Probe
Eindampfen	Geringe Denaturierung bei niedriger Temperatur	Anorganische Ionen verbleiben in der Probe
LM-Extraktion	Fraktionierung der Organik	Limitierte Löslichkeit, je nach Polarität
Reverse Osmose	Großer Volumendurchsatz möglich Schnelle Prozedur Keine Artefaktbildung	Membranalterung Gemeinsame Aufkonzentrierung der meisten gelösten Stoffe
Ultrafiltration	Schnelle Prozedur Fraktionierung möglich Keine Artefaktbildung	Membranalterung Wenig definierte Fraktionierung, je nach Größe und Ladung
Sorption/Desorption	Leicht kontrollierbar Großer Volumendurchsatz Harze können regeneriert werden	Ausbluten des Harzes Irreversible Sorption Artefaktbildung durch hohen pH-Gradienten

Eine in-situ Analytik der Original-Wasserprobe ist ohne Aufkonzentrierungsschritte der HS oft nicht möglich. Als gängige Anreicherungsverfahren haben sich die XAD-Methode und die Ultrafiltration bewährt. Da die XAD-Methode zu profunden Denaturierungen der HS-Struktur führt, ist sie als Maßnahme zur Aufkonzentrierung, für Bindungsexperimente mit Metallionen unbrauchbar und wird deshalb nicht vorgestellt.

Mit der Ultrafiltration erzielt man die Anreicherung bzw. Fraktionierung der HS unter Druck. Die Probenlösung strömt tangential durch Membranen mit Ausschluss- bzw. Trenngrenzen von 500 - 500.000 g/mol. Das entspricht ungefähr einem Moleküldurchmesser zwischen 5 und 500 nm.

Im Filtermittel kommt es zum Größenausschluss, entsprechend der Trenngrenze der Membranporen und der Eigenschaften der gelösten Substanzen. Ein wichtiger Trennparameter ist die Porenradienverteilung, da der gesamte Stofftransport über die mit Flüssigkeit gefüllten Membranporen erfolgt. Hierbei spielen die Teilchenform und -flexibilität und der effektive Moleküldurchmesser eine tragende Rolle. Je nach Ausschlussgrenze (MWCO) der zur HS-konzentrierung eingesetzten Membran, kann ein gewisser Teil des DOC ins Permeat übergehen und entzieht sich somit der Charakterisierung im Retentat. Da der Erhalt eines reinen HS mit dieser Methode gar nicht erst angestrebt wird, sondern eine Anreicherung von gelöster organischer Materie (DOM), wie sie in einem natürlichen aquatischen System zu finden ist und keine maßgebliche Veränderung der Molekülstruktur daraus resultiert, ist die Methode in Verbindung mit Bindungsexperimenten zu empfehlen [4].

Die Voruntersuchungen haben gezeigt, dass natürliche HS mit Metallionen, respektive Aluminiumionen, komplexieren können. Zur Untersuchung, welche HS mit welchen Metallionen und wo im HS-Molekül Bindungen eingehen, empfehlen sich nun wohldefinierte, synthetisch hergestellte Modellsubstanzen. Natürliche HS sind aufgrund ihrer Polydispersität d.h., ihrer unterschiedlichen funktionellen Gruppen (Carboxylat- und phenolische OH-Gruppen), sowie ihres variablen Gehalts an C, H, N und O nur schwer zu charakterisieren. Bekannte Modellsubstanzen erlauben eindeutige Aussagen im Hinblick auf das Bindungsverhalten unterschiedlicher Metalle mit der Molekülstruktur von HS, sodass spezifische und quantitative Aussagen getätigt werden können [4]. Hierfür können bspw. Modellsubstanzen der Uni Hamburg verwendet werden, deren Gehalt an C, H, N und O mit angegeben wird (<http://analytik.chemie.uni-hamburg.de/rosig/Modelle.html>).

Aus den Komplexbildungsergebnissen der Fluoreszenzspektroskopie geht hervor, dass geringere Konzentrationen an Aluminiumsulfat ein stärkeres HS-Metallchelat-Bildungsvermögen zur Folge haben. Die KAK der HS-Struktur ist ein wichtiger Komplexbildungsparameter. Definierte Konzentrationen von HS mit definierten Metallkonzentrationen erlauben Modellaussagen zum natürlichen Bindungsverhalten von HS mit Metallionen. Zur Quantitativen Bestimmung von HS in Prozesswasserproben ist eine Kalibration der analytischen Methoden unentbehrlich.

Interessant wäre es später über eine Atomabsorptionsspektrometrie festzustellen welcher Gehalt an Metallionen tatsächlich mit den HS komplexiert werden konnte. Hierfür muss die komplexierte Probenlösung zunächst von der organischen Probenmatrix befreit werden, z.B. über einen Hach-Aufschluss. Im Anschluss erfolgt die Gehaltsbestimmung.

Sollten die Versuche mit natürlichen Prozesswasserproben wiederholt werden, ist darauf zu achten, dass sowohl die Algenkultur-Anlage, als auch der Wasserkreislauf 1 auf das vorherrschende Nährstoffangebot und die Nährstoffgrundlage eingestellt wurden, damit Schwankungen des Strömungspotentials bei der Messung mit dem Stabilisier unterbunden werden können.

7 LITERATURVERZEICHNIS

[1] Fraunhofer Institut für Windenergie und Energiesystemtechnik (IWES): Windenergie Report Deutschland 2011, April 2012,
<http://www.fraunhofer.de/content/dam/zv/de/forschungsthemen/energie/Windreport-2011-de.pdf>, 05.05.13.

[2] Heins, Oliver et al: Korrosionsschutz von Offshore-Windenergieanlagen – Einteilung, Normung, praktische Erfahrung, http://www.htg-online.de/fileadmin/user_upload/korrosionsfragen/downloads/HTG-Kongress_Wuerzburg_09-09-2011/HTG-2011_Korrosionsschutz_von_Offshore-Windenergieanlagen__Oliver_Heins.pdf, 05.05.13.

[3] Kaesche, H. 1959, Theoretische Grundlagen und Begriffe des kathodischen Korrosionsschutzes durch Fremdstrom und Aktivanoden. *Materials and Corrosion*, 10: 227–239, DOI 10.1002/maco.19590100404.

[4] Eifler, Dirk 2005: Charakterisierung von Huminstoffen durch Fraktionierung und Metallgehaltsbestimmung mittels eines gekoppelten Systems Kapillarelektrophorese – induktiv gekoppeltes Plasma Massenspektrometer, Dissertation, Hamburg, <http://www.chemie.uni-hamburg.de/bibliothek/2005/DissertationEifler.pdf>, 06.05.13.

[5] Ranau, Reiner und Oehlenschläger, Jörg 1997, Aluminium in Fisch und Fischereierzeugnissen. *Informationen für die Fischwirtschaft aus der Fischereiforschung*, 44(4), pp. 177-182.

[6] Förtsch, Gabi und Meinholz, Heinz, *Handbuch Betrieblicher Immisionschutz*“, DOI 10.1007/978-3-658-00006-6.

[7] Baker, Joan P., and Schonfield, Carl L.: Aluminum Toxicity to Fish in Acidic Waters. In *Long-Range Transport of Airborne Pollutants*, edited by H.C. Martin, 289–309, Springer Netherlands, 1982, http://dx.doi.org/10.1007/978-94-009-7966-6_21, 07.05.13.

[8] Wilson, Scott P. and Hyne, Ross V. 1997: Toxicity of Acid-Sulfate Soil Leachate and Aluminum to Embryos of the Sydney Rock Oyster, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Volume 37, Issue 1, Pages 30-36, ISSN 0147-6513, <http://dx.doi.org/10.1006/eesa.1996.1514>, 07.05.13.

- [9] Gupta, Veer Bala et al January 1 2005, Aluminium in Alzheimer's Disease: Are We Still at a Crossroad?", Cellular and Molecular Life Sciences CMLS 62, no. 2 :143–158, DOI 10.1007/s00018-004-4317-3.
- [10] Cornelissen, Gesine „Flockung – Skript zur Vorlesung Aufarbeitungs- und Reinigungsverfahren.“
- [11] Lehrstuhl für Experimentalphysik: Korrosion, <http://www.physik.uni-augsburg.de/~ferdi/materialpraktikum/anleitungen/Korrosion-Theorieteil.pdf>, 08.05.13.
- [12] Fachverband Kathodischer Korrosionsschutz 2012: Vorstellung des Fachbereichs Offshore 2012, http://www.fkks.de/FB_Offshore.html, 08.05.13.
- [13] Prof. Dr. Reinhold, Bertram 2011: Grundlagen der Korrosion, http://www.manos-dresden.de/ehemalige/netzwerk/reinhold_gk.pdf, 08.05.13.
- [14] Herre, Erhard 1965: Die technische Spannungsreihe metallischer Werkstoffe, in Beeinflussung und Verminderung der Korrosion von Eisen, Kupfer, Zink in industriellen Brauchwässern, 1510:11–17, Forschungsberichte des Landes Nordrhein-Westfalen, VS Verlag für Sozialwissenschaften, http://dx.doi.org/10.1007/978-3-663-07105-1_2, 08.05.13.
- [15] Drees et al: „Spundwandhandbuch – Berechnungen, http://www.spundwand.de/uploads/media/Spundwandhandbuch_Berechnung.pdf, 09.05.13.
- [16] Walter von Baeckmann, Wilhelm Schwenk, Handbuch des kathodischen Korrosionsschutzes, Theorie und Praxis der elektrochemischen Schutzverfahren, 4. Auflage, Wiley-VCH, Weinheim , 1999.
- [17] Metallgesellschaft AG et al: Europäische Patentanmeldung, <https://data.epo.org/publication-server/rest/v1.0/publication-dates/19840926/patents/EP0119640NWA1/document.html>, 10.05.13.
- [18] Fettig, Joachim, Dipl.-Ing Steinert, Claudia August 2011: Huminstoffe und Trinkwasser–ein kleiner Ausschnitt aus dem globalen Kohlenstoffkreislauf, 2013, http://www.hs-owl.de/fb8/fileadmin/download_verzeichnis/wassertechnologie/Huminstoffe.pdf, 10.05.13.

- [19] These, Anja 2005, Strukturelle Charakterisierung von Fulvinsäure-Molekülen mittels LC-MS/MS: Hinweise zu Quellen, Bildung und Reaktivität, Dissertation, Technische Universität Berlin.
- [20] Pingqing, Fu, Wu Fengchang, and Liu Congqiang 2204, Fluorescence Excitation-Emission-Matrix Characterization of a Commercial Humic Acid, Chinese Journal of Geochemistry 23, no. 4 (2004), 309–318.
- [21] Wikipedia (Phosphoreszenz): <http://www.chemie.de/lexikon/Phosphoreszenz.html>
(Phosphoreszenz)
- [22] Dettmann, Sandra „Synthese und pharmakologische Untersuchung neuer Benzimidazole als fluoreszierende Liganden des Estrogenrezeptors“, Dissertation, Freie Universität Berlin, 2006, http://www.diss.fu-berlin.de/diss/servlets/MCRFileNodeServlet/FUDISS_derivate_000000002316/00_0_Sandra_Dettmann.pdf?hosts
- [23] Marose, Stefan 2013, Bioprozeßanalytik mit zweidimensionaler Fluoreszenzspektroskopie, Dissertation, Universität Hannover, August 11, <http://d-nb.info/957583451/34>, 11.05.13.
- [24] Wikipedia (Planck'sches Wirkungsquantum):
http://de.wikipedia.org/wiki/Plancksches_Wirkungsquantum, 11.05.13.
- [25] Goletz, Charlotte 2009, Quantifizierung von Fluoreszenzmessungen im aquatischen Milieu, Diplomarbeit, Technische Universität Dresden.
- [26] Particle Metrix GmbH 2007: Das Strömungspotential als universaler Ladungsmonitor, http://www.particle-metrix.de/fileadmin/pdf_technologien/Ladungstitration%20u%20Zetapotential_1207.pdf, 12.05.13.
- [27] Schubert, Marlene: Kolloidstabilität auf Grund elektrostatischer Wechselwirkungen, http://daten.didaktikchemie.uni-bayreuth.de/umat/kolloide_stabilitaet/kolloidstabilitaet.htm, 12.05.13.

[28] Ehrhardt, Lutz 2005: Untersuchungen zu Exkretion, Transformation und Abbau gelöster organischer Substanz in Flusswasser, Universität Hamburg, <http://ediss.sub.uni-hamburg.de/volltexte/2005/2584/>, 13.05.13.

[29] Köhler, Hayo 2003: Untersuchungen zu Transport, Beschaffenheit und Transformation von DOM in Sibirischen Ästuaren, Dissertation, Universität Hamburg, <http://d-nb.info/96895040X/34>, 13.05.13.

8 ANHANG

Der Anhang befindet sich, aufgrund der großen Datenmenge, auf einer beigefügten CD mit der Beschriftung DATEN.