

EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN AN EINER PAPIERCHROMATOGRAPHISCHEN METHODE ZUR ROTTEINDIKATION VON KOMPOSTEN

ANNELIESE KÖCK und THOMAS PEER

Universität Salzburg, Institut für Botanik und Botanischer Garten
Hellbrunnerstraße 34, A-5020 Salzburg

1 Einleitung

PFEIFFER entwickelte in den Vierziger Jahren ein papierchromatographisches Verfahren (Horizontalmethode), das auch für eine empirische Charakterisierung des Rottefortschrittes von Komposten anwendbar ist (PEIFFER 1958). Es handelt sich um eine bildschaffende, qualitative Methode, die populärwissenschaftlich als Chroma-Test bzw. Chroma-Boden-Test bezeichnet wird (VOITL & GUGGENBERGER 1986). Die Kapillarität des Chromatographiepapiers bedingt eine radiale Ausbreitung des alkalischen Kompostextraktes, wobei die unterschiedliche Wanderungsgeschwindigkeit der einzelnen Lösungskomponenten eine Auftrennung des Lösungsgemisches bewirkt. Die aufgetrennten Komponenten werden durch ein lichtempfindliches Reagens sichtbar gemacht (PFEIFFER 1959a und 1959b).

Im Gegensatz zur herkömmlichen, mit Zahlen belegbaren Analytik, stellt sich hier ein qualitatives, "nur" durch Bilder veranschaulichtes Verfahren zur Diskussion. Im Fehlen des Messbaren mag die Skepsis der herkömmlichen Wissenschaft gegenüber dieser bildschaffenden Methode begründet sein. Aber auch Mystifizierung, unklare Ausdrucksweise und Überinterpretation der Aussagekraft des "Chroma-Testes" von Seiten mancher Anwender waren einer objektiven wissenschaftlichen Hinterfragung nicht förderlich.

So hat sich der "Chroma-Test" seit seinem Entstehen im Gegensatz zu anderen analytischen Methoden kaum weiterentwickelt. Erst die chromatographische Bewertung durch einen zusätzlichen wässrigen Extrakt durch die Leobener Umwelttechnik Ges.m.b.H. B.A.R.B.A.R.A. (1994) stellte eine grundlegende Erweiterung dieses Verfahrens dar.

Im Rahmen eines einjährigen Forschungsstipendiums der Universität Salzburg wurde versucht, einige der nach wie vor unklaren bildgestaltenden Mechanismen, die während der Rotte von Komposten zur Ausbildung von typischen Chroma-Bildern führen, im experimentellen Ansatz zu erklären. Da nach unseren Erfahrungen neben dem Extraktionsmittel auch die Art der Huminstoffe und die in Komposten vorhandenen Mineralstoffe wichtige bildgestaltende Elemente sind, wurden durch Variieren und Kombinieren dieser Parameter Chroma-Bilder angefertigt und diese mit Kompost-Chromatogrammen verglichen. Weiters wurde auch getestet, in welcher Form das lichtempfindliche Reagens Silbernitrat, das zur Imprägnierung des Filterpapiers verwendet wird, an der chromatographischen Auftrennung des Extraktes beteiligt ist. Die gewählte Arbeitsweise zielt auf eine rein optische Diagnose hin, da es uns nicht möglich war auf die sehr komplexen biochemischen Zusammenhänge einzugehen und dient einer ersten Sondierung der möglichen bildgestaltenden Einflussgrößen. Bis heute liegen darüber kaum Daten vor (LUMMERSTORFER 1989, TONDL 1989).

2 Material und Methoden

2.1 Prinzip der Papierchromatographie

Die hohe Kapillarität von Filterpapieren bewirkt eine Auftrennung von Stoffgemischen, wobei die separierten Fraktionen in der Kompost-Chromatographie mit Silbernitrat sichtbar gemacht werden. Der Niederschlag tritt in verschiedenen Abständen vom Aufbringungsort auf. Der Abstand, das Muster, die Farbe und die Form der Niederschläge sind wichtige Interpretationsmerkmale der im Extrakt enthaltenen Substanzen (PFEIFFER 1959a und 1959b).

2.2 Vorbereitung des Chromatographiepapiers

In Filterpapierbögen (15x15 cm, Schleicher&Schüll 2043a) wird zentral ein Loch von ca. 2mm Ø gestanzt, wobei mit Bleistift die Radien von $r = 4$ cm und $r = 6$ cm markiert werden.

Aus derselben Papierqualität wird ein Docht (2 x 2 cm) gedreht und in die zentrale Öffnung des Filterpapierbogens gesteckt. Das derart vorbereitete Papier wird anschließend über eine mit 0,5%iger AgNO_3 -Lösung gefüllte Petrischale gebreitet. Dabei wird über den in die Lösung eintauchenden Docht im Dunkeln AgNO_3 bis zur 4cm-Marke angesaugt. Die anschließende Trocknung erfolgt ca. 50 Minuten im Trockenschrank bei 50°Celsius (Leobener Umwelttechnik Ges.m.b.H. B.A.R.B.A.R.A. 1994).

In die imprägnierten Filterpapierbögen wird ein neuer Docht eingeführt und in die nachstehend beschriebenen Extraktionsmittel bzw. Extrakte eingetaucht. Bei ca. 80%iger Luftfeuchtigkeit wird bis zur 6cm-Marke angesaugt. Die Trocknung bzw. Entwicklung erfolgt im Tageslicht. Die Vorgangsweise entspricht den von LUMMERSTORFER (1989) und TONDL (1989) geforderten standardisierten Bedingungen.

2.4 Experimentelle Ansätze

2.4.1 Extraktionsmittel

Um die bildgestaltende Wirkung der Extraktionsmittel zu überprüfen, wurden Chromatogramme aus reinem Wasser, aus 0,5- bzw. 1%igem NaOH/Na-Oxalat und aus 0,5- bzw. 1%iger NaOH hergestellt. Weiters wurden, um den Einfluss des Na-Oxalates im NaOH/Na-Oxalat-Chromatogramm beurteilen zu können, Chroma-Bilder sowohl aus 0,5%igem als auch aus 1%igem Na-Oxalat angefertigt.

2.4.2 Huminstoffe

Für die Gewinnung von nieder- bzw. nieder- und höhermolekularen Huminstoffen wurden unterschiedliche Mengen von pulverisierter, synthetischer Humussäure der Firma FLUKA (Nr. 53680) mit aqua dest. bzw. 0,5%iger NaOH/Na-Oxalat-Lösung versetzt und dann filtriert. Anschließend wurde die Farbintensität der Alkaliextrakte bei 530 nm im Photometer gemessen (SPRINGER 1948) und eine Eichkurve erstellt. Diese diente dann dazu, um die Huminstoffkonzentration der Wasserextrakte anhand der photometrischen Adsorptionswerte zu ermitteln. Aus folgenden Konzentrationen niedermolekularer (Wasserextrakt) bzw. nieder- und höhermolekularer Humussäuren (Alkaliextrakt) wurden Chromatogramme hergestellt (Tab. 1):

Extraktionsmittel	Huminstoffkonzentration (in %)							
<i>aqua dest.</i>	0,004	0,008	0,015	0,020	0,032	0,035	0,080	0,190
<i>0,5%iges NaOH/Na-Oxalat</i>	0,020	0,040	0,060	0,100	0,150	0,200	0,250	

Tab.1: Versuchsanordnung mit synthetisch hergestellten Humussäuren.

Um das Ausmaß der Bildgestaltung niedermolekularer Huminstoffe im Alkaliextrakt beurteilen zu können, wurden die in aqua dest. gelösten, niedermolekularen Humussäuren mit NaOH/Na-Oxalat versetzt und auf 0,5% eingestellt. Anschließend wurden diese Extrakte chromatographisch bewertet.

Zur Eruierung des bildgestaltenden Anteils der Huminstoffvorstufen wurde der wässrige Extrakt erhitzt, wobei ein Teil der Humussäuren in Huminstoffvorstufen zerlegt wird (DANNEBERG 1973). Auch aus diesen Extrakten wurden Chroma-Bilder hergestellt.

2.4.3 Mineralstoffe und Salzkomponenten

Um den bildgestaltenden Einfluss von Mineralstoffen im Kompost, deren Zusammensetzung sich in Abhängigkeit vom Rottefortschritt verändert, abzuschätzen, wurden Mineralrückstände, die bei der Verbrennung von unterschiedlich reifen Komposten bei 550°Celsius gemäß ÖNORM S 2023 (1986) gewonnen wurden, sowohl in reinem 0,5%igem NaOH/Na-Oxalat als auch im Alkaliextrakt mit 0,1%iger FLUKA-Humussäure, die die organischen Komponenten im Kompost repräsentieren, gelöst. Folgende Konzentrationen wurden hergestellt und chromatographisch bewertet (Tab. 2):

Rottestadium	Mineralrückstand (in g)	
	in 100ml 0,5%igem NaOH/Na-Oxalat	in 100 ml 0,5%igem NaOH/Na-Oxalat mit 0,1%iger Humussäure
frühes	3,6	3,6
mittleres	3,6	3,6
spätes	3,6 5 9,6	3,6

Tab. 2: Versuchsanordnung mit Mineralrückständen.

Ähnliches wurde auch mit einigen, in Komposten häufig vorkommenden Salzkomponenten versucht (Tab. 3):

Lösungen	Salze (in %)			
	<i>NaCl</i>	<i>NH₄Cl</i>	<i>NH₄SO₄</i>	<i>NH₄P₂O₅</i>
<i>aqua dest</i>	0,05 - 0,1 - 0,16	0,05 - 0,1	0,05 - 0,16	0,05 - 0,16
<i>0,5%iges NaOH/Na-Oxalat</i>	0,05 - 0,16	0,05 - 0,1	0,05 - 0,16	0,05 - 0,16
<i>0,5%iges NaOH/Na-Oxalat mit 0,1%iger Humussäure</i>	0,05 - 0,16	0,05 - 0,1	0,05 - 0,16	0,05 - 0,16

Tab. 3: Versuchsanordnung mit Salzkomponenten.

2.4.4 Silberimprägnierung

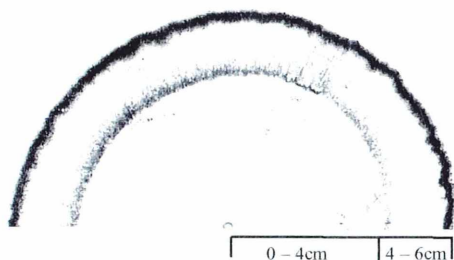
Um den Einfluss der Silberimprägnierung auf das Entstehen von typischen Bildstrukturen aus alkalischen Extrakten zu erfassen, wurde die Ausbreitung des alkalischen Humussäure-Extraktes (0,5%iges NaOH/Na-Oxalat mit 0,1%iger FLUKA-Humussäure) auf dem Filterpapier sukzessive unterbrochen. Für den Silbernachweis wurden die frischen Chromatogramme mit wässrigem NaCl behandelt. Die Farbintensität der AgCl-Niederschläge wurde nach Lichteinwirkung notiert. Auf diese Weise kann der Silberverbrauch auf der jeweils zurückgelegten Fließstrecke halbquantitativ ermittelt werden.

3 Ergebnisse

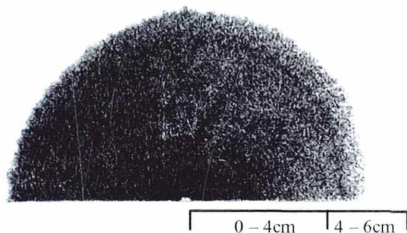
3.1 Extraktionsmittel

Chromatogramme aus **aqua dest.** bzw. **0,5%iger NaOH/Na-Oxalat-Lösung** ergeben annähernd komplementäre Bilder (Abb. 1). Das aqua dest.-Chromatogramm wird in der Folge als Standard-Bild für alle wässrigen Extrakte (WE), das 0,5%ige NaOH/Na-Oxalat-Chromatogramm als Standard-Bild für alle alkalischen Extrakte (AE) herangezogen.

Zonierung	Chromatogramm	Chromatogramm
r = 0 - 4 cm	Breiter weißer zentraler Bereich, der von einem hellgelben Farbfeld umschlossen wird.	Einheitlich braune Verfärbung, ohne zentrale Aufhellung.
r = 4 - 6 cm	Bei der 4cm-Marke, bzw. durch den Nachsaugstopp der Silberimprägnierung ¹ 1 - 2 mm darüber hinausgehend, bildet sich ein nach außen verdünnender, violetter Kranz. Bei der 6cm-Marke entsteht ein 2 - 3 mm breiter, das Bild abschließender, dunkler Ring.	Bei der 4cm-Marke, bzw. durch den Nachsaugstopp der Silberimprägnierung ¹ 1 - 2 mm außerhalb der 4cm-Marke, bildet sich ein wulstförmiger, grauer Kranz (5 - 9 mm), der das Bild bereits hier abschließt. Die übrige 4 - 6cm-Zone bleibt farblos.



aqua dest.



NaOH/Na-Oxalat

Abb. 1: Standard-Bilder der WE- bzw. AE-Chromatogramme aus den Extraktionsmitteln aqua dest. bzw. 0,5%iger NaOH/Na-Oxalat-Lösung.

Wird anstelle der 0,5%igen NaOH/Na-Oxalat-Lösung reine **0,5%ige NaOH**-Lösung angesaugt, bleibt die Färbung der 0 - 4cm-Zone in etwa gleich. Der wulstförmige Kranz der 4cm-Marke dehnt sich jedoch bis zur 6cm-Marke aus.

Wird reine **0,5%ige Na-Oxalat**-Lösung angesaugt, so ergibt sich eine hellbraune 0 - 4cm-Zone mit einer schmalen, zentralen Aufhellung. Der Kranz bei der 4cm-Marke ist gegenüber der NaOH/Na-Oxalat-Lösung weniger ausgedehnt und matter.

Wird die Konzentration der **NaOH/Na-Oxalat**-Lösung von **0,5%** auf **1%** erhöht, so ergibt sich eine dunkelbraune 0 - 4cm-Zone. Bei der 4cm-Marke tritt anstelle des

¹ Die Silberimprägnierung wird bei der 4cm-Marke durch Entfernung des Dochtes gestoppt. Allerdings steigt silberfreies Wasser auch nach Entfernen des Dochtes noch 1 - 2 mm weiter. Der Übergang zwischen nachgesaugtem Wasser und trockenem Papier wird in weiterer Folge als "Nachsaugstopp der Silberimprägnierung" bezeichnet.

Kranz nur eine leicht verdickte Linie auf. Der Rest der 4 - 6cm-Zone bleibt farblos.

1%ige NaOH-Lösung zeigt in etwa dieselbe Gestaltung der 0 - 4cm-Zone wie das gleichkonzentrierte NaOH/Na-Oxalat-Gemisch. Der Kranz bei der 4cm-Marke reicht jedoch bis zur 6cm-Markierung.

1%ige Na-Oxalat-Lösung zeigt eine braune 0 - 4cm-Zone mit einer zentralen Aufhellung. Der Kranz der 4cm-Marke fehlt, die gesamte 4 - 6cm-Zone bleibt farblos.

3.2 Huminstoffe

3.2.1 Niedermolekulare Humussäuren in aqua dest.

Bei stufenweiser Konzentrationserhöhung von in Wasser gelösten, niedermolekularen Humussäuren verändert sich das Standard-Bild der WE-Chromatogramme folgendermaßen: Der periphere hellgelbe Bereich der 0 - 4cm-Zone (Innenzone) nimmt eine hellbeige Farbe an, die sich allmählich in Richtung 4 - 6cm-Zone verschmälert und ab 0,02% fehlt.

Die 4 - 6cm-Zone (Randzone) nimmt allmählich eine hellbeige, später hellbraune Farbe an, die sich in Richtung 6cm-Marke verschmälert. Der periphere Abschlussring der 6cm-Marke beginnt ab 0,02% nach innen leicht wellige Linien abzuschneiden, die an Regelmäßigkeit zunehmen und ab etwa 0,08% zu deutlichen, bäumchenartigen Einstülpungen auswachsen, wobei die Braunfärbung auf diesen Bereich beschränkt wird. Nach Erhitzen der wässrigen Humussäure-Extrakte wird ab 0,04% das gesamte Bild ansatzweise von radialen Linien durchzogen.

3.2.2 Nieder- und höhermolekulare Humussäuren in 0,5%igem NaOH/Na-Oxalat

Wird die Konzentration von in NaOH/Na-Oxalat gelösten nieder- und höhermolekularen Humussäuren stufenweise erhöht, so ist bei 0,06% eine beginnende radiale Strukturierung der braunen 0 - 4cm-Zone (Innenzone) zu erkennen. Der wulstförmige Kranz der 4cm-Marke zeigt ein ausgefranstes Muster mit ansatzweise radialen Strukturen. Bei 0,1% nimmt der wulstförmige Kranz deutliche Zackenform an. Ab dieser Konzentration tritt bei der 6cm-Marke eine wellige, braune, periphere Umrandung auf. Bei 0,2% ist die innere Hälfte der Innenzone hellbeige aufgehellt und wenig radial strukturiert. Dieser Effekt nimmt mit steigender Konzentration zu. Bei 0,25% werden die Zacken undeutlich.

Prinzipiell ist festzustellen, dass je höher die Huminstoffkonzentration, umso ausgeprägter und dunkler sind die Flecken, die die Zacken in der 4 - 6cm-Zone umgeben.

Das 0,1%ige Humussäure-AE-Chromatogramm wird in der Folge für die Versuchsreihen mit den mineralischen Substanzen als Standard-Bild herangezogen.

3.2.3 Niedermolekulare Humussäuren in 0,5%igem NaOH/Na-Oxalat

Bilder aus niedermolekularen, alkalischen Humussäure-Extrakten unterscheiden sich von zuletzt beschriebenen Chromatogrammen v. a. in 3 Merkmalen:

Mit zunehmender Huminstoffkonzentration breitet sich ein immer ausgedehnteres graues Feld ums Zentrum aus, das ab ca. 0,1% auch radial strukturiert ist. Dieser zentrale Aufhellungsfleck hat große Ähnlichkeit mit den später beschriebenen Bildern der in NaOH/Na-Oxalat gelösten Mineralrückstände.

Sind Zacken vorhanden, dann sind sie unscharf und stumpf.

Die Zone zwischen den Zacken und der 6cm-Marke ist ein einheitlich gefärbtes, fleckenloses Feld.

3.3 Mineralische Substanzen

3.3.1 Mineralrückstand in 0,5%igem NaOH/Na-Oxalat

Das Standard-Bild der AE-Chromatogramme wird durch den nicht näher bestimmten Mineralrückstand (mineralische Substanzen) der Komposte im Zentralbereich beeinflusst: Je nach Kompoststreife bildet sich eine mehr oder weniger ausgeprägte graue Aufhellung:

Das frühe Rottestadium zeigt eine deutliche zentrale, fleckenartige Aufhellung, welche etwa die Hälfte der 0 - 4cm-Zone ausfüllt.

Das mittlere Rottestadium weist eine gegenüber dem frühen Rottestadium räumlich weniger ausgeprägte Aufhellung auf.

Das späte Rottestadium ist durch einen sehr schmalen, zentralen Aufhellungsfleck gekennzeichnet. Wird die Mineralrückstand-Konzentration erhöht, so bildet sich auch hier um das Zentrum ein ausgedehnteres graues Feld aus.

3.3.2 Mineralrückstand im Alkaliextrakt aus nieder- und höhermolekularen Humussäuren

Der Mineralrückstand beeinflusst die braune, radial strukturierte Innenzone des in 3.2.2 beschriebenen 0,1%igen Humussäure-AE-Chromatogrammes folgendermaßen:

Mineralrückstände aus unreifen Komposten (frühes bzw. mittleres Rottestadium) ergeben Humussäure-Bilder mit einer breiten, grauen Aufhellung der Innenzone.

Mineralrückstände aus reifen Komposten (spätes Rottestadium) beeinflussen die Innenzone der Humussäure-Bilder nicht.

3.3.3 Salzkomponenten

In aqua dest. kommt unter den geprüften mineralischen Komponenten v. a. dem **Chlorid-Ion** NH_4Cl und NaCl zeigen die gleiche Wirkung eine farb- und strukturgebende Bedeutung zu:

Die Innenzone des Standard-aqua dest.-Chromatogrammes nimmt einen zarten Grau/Violett-Ton an, der Kranz bei der 4cm-Marke verliert an Deutlichkeit, die Randzone färbt sich zart grau/violett.

Bei einer Chlorid-Konzentration von 0,1-0,16% wird das gesamte Bild von radialen Linien durchzogen.

Hinsichtlich des peripheren Abschlussringes bei der 6cm-Marke kann prinzipiell festgestellt werden: Je höher die Chlorid-Konzentration, desto schmaler wird der Abschlussring. Bei 0,16% ist er annähernd aufgelöst, das Bild ist am Rand unterbrochen.

Die Ammoniumsalze NH_4SO_4 bzw. $\text{NH}_4\text{P}_2\text{O}_5$ ergeben keine mit den Kompost-Chromatogrammen übereinstimmende Strukturen.

Wird 0,5%iges $\text{NaOH}/\text{Na-Oxalat}$ verwendet, kommt von den geprüften mineralischen Komponenten v. a. den **Ammonium-** und den **Chlorid-Ionen** eine mit Kompost-Chromatogrammen vergleichbare farb- und strukturgebende Bedeutung zu:

NaCl bedingt eine graue 0 - 4cm-Zone, ansonsten ergibt sich keine Veränderung des Standard- $\text{NaOH}/\text{Na-Oxalat}$ -Bildes.

Wird NH_4Cl angesaugt, so zeigt sich der Chlorid-Einfluss im grauen Innenfeld (0 - 4cm-Zone). Die Wirkung des Ammonium-Iones äußert sich in einer mehr oder weniger breiten zentralen Aufhellung und einem Bildabschluss bei der 6cm-Marke in Form eines Ringes, der aus mehreren gewellten Linien besteht. Zwischen der 4 - 6cm-Marke bildet sich ein graues Farbfeld aus, welches mit zunehmendem Silberverbrauch durch das Chlorid-Ion im Innenfeld in Richtung 6cm-Marke geschoben wird. Damit löst sich auch der wulstförmige Kranz der 4 cm-Marke auf

Die Bilder mit NH_4SO_4 und $\text{NH}_4\text{P}_2\text{O}_5$ unterscheiden sich von den zuletzt besprochenen nur durch ein braunes Innenfeld.

Werden dem Alkaliextrakt aus nieder- und höhermolekularen Humussäuren Salzkomponenten zugefügt, so werden sowohl die braune, radial strukturierte 0 – 4 cm-Zone als auch die von den Zacken bzw. peripheren Flecken geprägte 4 – 6 cm-Zone des 0,1%igen Humussäure-AE-Chromatogrammes beeinflusst:

NaCl bewirkt eine graue Verfärbung der 0 – 4cm-Zone.

NH₄Cl bedingt gleichfalls ein graues Innenfeld. Die Zacken sind bei geringerer Konzentration verschwommen, bei höherer überhaupt nicht ausgebildet. Die Zone zwischen den Zacken und der 6cm-Marke ist bei geringerer Konzentration ein einheitliches, fleckenloses braunes Farbfeld, welches bei höherer Konzentration in Richtung 6cm-Marke gedrückt wird.

Die Bilder von **NH₄SO₄** und **NH₄P₂O₅** weichen von den NH₄Cl-Bildern durch die braune Verfärbung der Innenzone und die Ausbildung einer schmalen zentralen Aufhellung ab.

3.4 Silberverbrauch des laufenden Alkaliextraktes

Die stufenweise Unterbrechung des sich am Filterpapier ausbreitenden Alkaliextraktes aus 0,1%iger, nieder- und höhermolekularer Humussäure-Lösung ergibt folgende Bilder:

Dem radial laufenden Extrakt eilt bis zur 4cm-Marke stets eine farblose, nach außen glattrandig abschließende Front voraus, die 1 – 2 mm breit ist und sich im Licht braun färbt. Hierbei handelt es sich um eine "Silberfront", die sich v. a. aus weggeschobener und unverbrauchter Silberimprägnierung zusammensetzt. Nach innen schließt ein braunes, radial durchstrahltes Feld an, es ist die Abbildung des Extraktes. Je weiter sich der Extrakt vom Zentrum wegbewegt, desto unregelmäßiger, d. h. welliger und lappiger wird der Außenrand dieses Feldes. Dieser Außenrand wird in weiterer Folge als "Huminstofffront" bezeichnet.

Zwischen dem Ansaug- und Nachsaugstopp der Silberimprägnierung bei der 4cm-Marke entscheidet der bisherige Silberverbrauch über die weitere Bildgestaltung. Die Ausstülpungen der "Huminstofffront" welche die schnelllaufenden Lösungsanteile repräsentieren, durchbrechen die bis dahin vorauseilende "Silberfront" (Abb. 2a). Diese schnelllaufenden Lösungskomponenten sind bei Überschreiten der 4cm-Marke silberarm; demnach wurde auf der zurückgelegten Fließstrecke die Silberimprägnierung größtenteils aufgebraucht.

Die langsamlaufenden Anteile, dargestellt durch die Einbuchtungen der "Huminstofffront", haben bisher wesentlich weniger Silber verbraucht. Innerhalb der Einbuchtungen ist noch ein hoher Silberanteil vorhanden. Der geringe Silberverbrauch spiegelt sich auch darin wider, dass die silberarmen radialen Strukturen der 0-4cm-Zone schwerpunktmäßig an den Einbuchtungen münden. Aus dem Silber der Einstülpungen entwickeln sich die Zacken. Die Einstülpung

wird mit zunehmender Lauflänge immer schmaler und schließlich wird sie wie ein Vesikel von der übrigen "Huminstofffront" abgeschnürt (Abb. 2b). Die typischen Flecken der Randzone flankieren die Einbuchtungen von außen und bewegen sich mit ihnen mit.



Abb. 2a: Die schnelllaufenden Lösungsanteile der "Huminstofffront" durchbrechen die "Silberfront" bei der 4cm-Marke.

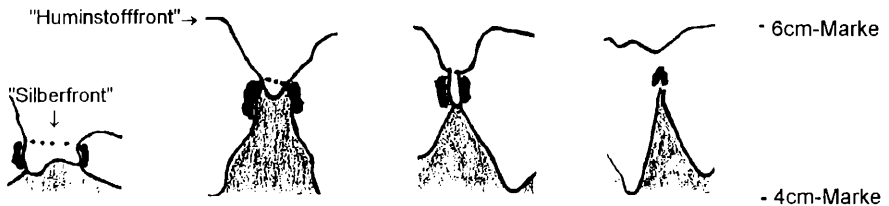


Abb. 2b: Das Entstehen von typischen AE-Bildstrukturen nach der 4cm-Marke (Zacken- und Randzone).

Ab der 4cm-Marke besitzt der Zackenbereich den höchsten halbquantitativ erfassten Silberanteil, gefolgt von den braunen Flecken der Randzone und schließlich von der hellbraunen Randzone zwischen den Zacken. Der wellige Abschluss bei der 6cm-Marke dürfte größtenteils silberfrei sein.

4 Diskussion

4.1 Extraktionsmittel

Reaktionen zwischen dem jeweiligen Extraktionsmittel und der Silberimprägnierung prägen die grundlegende Charakteristik eines Kompost-Chromatogrammes.

Breitet sich **aqua dest.** im Filterpapier aus, so wird zunächst die gesamte, zwischen den Zellulosefasern haftende, gut wasserlösliche Silberimprägnierung herausgelöst,

wodurch der zentrale Bereich der 0 - 4cm-Zone weiß bleibt. Mit zunehmender Fließstrecke wird die Silberkonzentration in der Laufmittelfront immer höher, bis es zur Überschreitung des Löslichkeitsproduktes von Silberverbindungen kommt. Dadurch bildet sich im peripheren Bereich der 0 - 4cm-Zone ein hellgelber Niederschlag. Hierbei könnte es sich um wasserunlösliches, hellgelbes Silbercarbonat handeln (FALBE & REGITZ 1992).

Der violette Kranz bei der 4cm-Marke, der ca. 1 - 2 mm außerhalb des Ansaugstopps der Silberimprägnierung ansetzt, hängt damit zusammen, dass die wässrige Imprägnierung nach Entfernen des Dochtes bei der 4cm-Marke noch 1 - 2 mm weiter steigt. Dabei handelt es sich um silberfreies Wasser. Diese Wasserzone dürfte der Silbernitrat-Lösung auch während des Imprägnierungsaktes, also während der Verteilung auf dem Papier vorausziehen, da Wassermoleküle wegen ihrer Kleinheit und günstigen räumlichen Struktur vom Kapillarsystem des Filterpapiers besonders rasch angesaugt werden. Dadurch werden im Papier haftende Staubpartikel und mögliche Rückstände aus der Papierherstellung in vorderster Front gelöst und bis zum Nachsaugstopp der Silberimprägnierung geschoben. Bei der Herstellung des Chromatogrammes dürften diese Substanzen mit der vorbeifließenden Silberlösung reagieren und so für die Bildung des Kranzes bei der 4cm-Marke verantwortlich sein. Bestärkt wird diese Annahme durch folgenden Versuch: Läßt man Wasser auf dem noch nicht imprägnierten Filterpapier deutlich über die 4cm-Marke laufen, so zeigt das spätere Chromatogramm beim Nachsaugstopp der Silberimprägnierung anstelle des Kranzes nur eine violette Linie. Der violette Kranz selbst setzt exakt an der Stelle an, an der das Wasser, welches das Papier vor der Imprägnierung durchlaufen hat, gestoppt wurde. Dies widerspricht der Annahme von HAAVE & AALVIK (1980), die den Kranz der 4cm-Marke als Silberionen interpretieren, deren Konzentration beim Übergang zum trockenen Papier am höchsten ist.

Der größte Teil der gut wasserlöslichen Silberimprägnierung wird aber in den Rand geschoben. So entsteht der 2 - 3 mm breite, braunschwarze Abschlussring der 6cm-Marke (Abb. 1). Die Cellulose reduziert die Silberionen zu elementarem, schwarzem Silber (FALBE & REGITZ 1992).

Breitet sich 0,5%iges **NaOH/Na-Oxalat** im Filterpapier aus, so fällt Silberoxid als brauner, in Wasser wenig löslicher Niederschlag nach der Reaktionsgleichung $2\text{AgNO}_3 + 2\text{NaOH} \Leftrightarrow \text{Ag}_2\text{O} \downarrow + 2\text{NaNO}_3 + \text{H}_2\text{O}$ aus (BURCK 1988). Die braune Verfärbung der 0 - 4cm-Zone resultiert aus dieser Reaktion (Abb. 1). Aber auch Na-Oxalat verbraucht innerhalb der 0 - 4cm-Zone Silber. Dabei entsteht mit wässrigem Silbernitrat ein lichtempfindlicher, weißer Niederschlag (FLUCK & MAHR 1985).

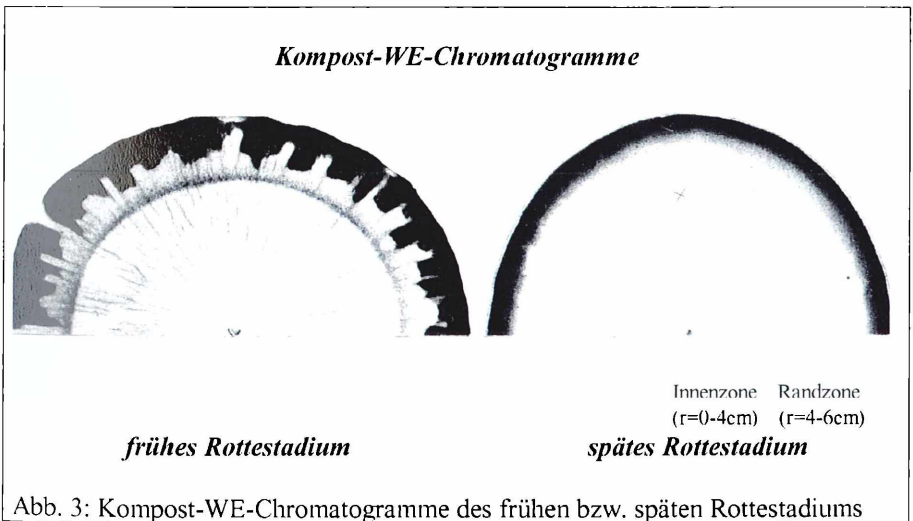
Der wulstförmige, graue Kranz der 4cm-Marke wird erst im Licht sichtbar. Es ist unklar um welchen lichtempfindlichen, weißen Niederschlag es sich handelt. Vielleicht sind es sehr geringe Spuren des wenig wasserlöslichen Silberoxides, welches bei Lichteinfluss unter Bildung von elementarem, schwarzem Silber zerfällt.

Die Breite des 4cm-Kranzes ist vom Silberverbrauch innerhalb der 0 - 4cm-Zone abhängig: Während er bei 0,5- und 1%iger NaOH-Lösung die gesamte 4 - 6cm-Zone ausfüllt, reicht er bei 0,5%iger NaOH/Na-Oxalat-Lösung nur noch bis zur Hälfte der 4 - 6cm-Zone, um bei 1%iger NaOH/Na-Oxalat-Lösung noch weiter zu schrumpfen. Das bedeutet, dass der NaOH/Na-Oxalat-Extrakt gegenüber dem NaOH-Extrakt ab der 4cm-Marke weniger Silber zur Verfügung hat: Hier kommt der zusätzliche Silberverbrauch durch das Oxalat innerhalb der zuvor durchlaufenen 0 - 4cm-Zone zum Ausdruck.

4.2 Umsetzung der experimentellen Versuche auf die Interpretation der Kompost-Chromatogramme

4.2.1 Kompost-WE-Chromatogramme

Bei Betrachtung der einzelnen Zonen in Kompost-WE-Bildern könnten die radialen Strukturen früher Rottestadien, die sowohl die Innen- als auch die Randzone durchziehen, u. a. auf mineralische Lösungskomponenten, die in der frühen Rottephase vermehrt auftreten, zurückzuführen sein (Abb. 3).



So wurde nachgewiesen, dass bei hoher Chlorid-Konzentration radiale Strukturen entstehen. Nach der Reaktionsgleichung $\text{NaCl} + \text{AgNO}_3 \leftrightarrow \text{AgCl} \downarrow + \text{NaNO}_3$ bildet Chlorid in wässriger Lösung mit Silbernitrat in Wasser praktisch unlösliche, weiße AgCl-Niederschläge, die bei längerer Beleuchtung photochemisch zersetzt werden und eine grau/violette Farbe annehmen (HAHN & HAUBOLD 1993).

Aber auch niedermolekulare, synthetische Humussäuren bedingen radiale Linien - allerdings nur, wenn der wässrige Humussäure-Extrakt zuvor erhitzt wird. Die Wärmezufuhr dürfte zu einer Depolymerisation von Humussäuren geführt haben. Vielleicht ist das ein Hinweis darauf, dass nicht niedermolekulare Huminstoffe, sondern Huminstoffvorstufen an der radialen Strukturierung beteiligt sind. Frühe Rottestadien sind durch einen hohen Anteil von Huminstoffvorstufen gekennzeichnet, sie werden in weiterer Folge zu niedermolekularen und diese zu höhermolekularen Huminstoffen polymerisiert (GOTTSCHELL 1985).

Die Einstülpungen des peripheren Abschlussringes in der Randzone früher Rottestadien sind höchstwahrscheinlich eine Abbildung der wasserlöslichen, niedermolekularen Huminstoffe, da WE-Bilder aus niedermolekularen, synthetischen Humussäuren einen sehr ähnlich gestalteten Bildabschluss zeigen. Die Lücken im peripheren Abschlussring könnten mit dem Silberverbrauch in der Innenzone durch mineralische Lösungskomponenten zusammenhängen, wodurch nicht ausreichend Silber in die Randzone transportiert wird.

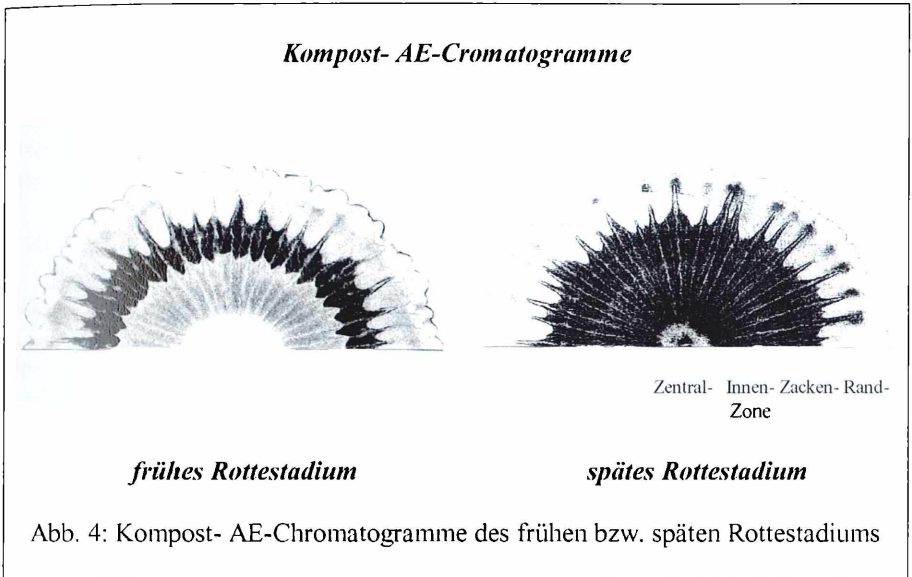
Kompost-WE-Bilder später Rottestadien zeigen eine gute Übereinstimmung mit dem aqua dest.-Grundtypus, da in dieser Rottephase kaum noch wasserlösliche bildgestaltende Komponenten extrahiert werden.

Zu berücksichtigen ist, dass die Kombination aus synthetischen Humussäuren und mineralischen Komponenten keine idente Reproduktion der Kompost-WE-Chromatogramme zulässt. Das ist auch nicht zu erwarten, da in frühen Rottestadien mit einem hohen Anteil an nichtgefärbten, niedermolekularen organischen Substanzen wie Zuckern, Proteinen, Peptiden usw. zu rechnen ist. Vielen dieser Substanzen wird eine hohe Silberaffinität zugeschrieben (FALBE & REGITZ 1992), wodurch die Chromatogramme entsprechend modifiziert werden.

4.2.2 Kompost-AE-Chromatogramme

An der radialen Strukturierung der Innenzone dürften Huminstoffe beteiligt sein, da AE-Chromatogramme aus nieder- und höhermolekularen synthetischen Humussäuren sehr ähnliche Strukturen aufweisen (Abb. 4). Dies widerspricht der Vermutung von TONDL (1989), dass Huminstoffe an der Strukturierung der Innenzone nicht beteiligt sind.

Die braune, d. h. dunkle Farbe der Innenzone später Rottestadien dürfte in erster Linie auf den braunen Silberoxid-Niederschlag rückführbar sein, der aus der Reaktion zwischen Extraktionsmittel und Silberimprägnierung resultiert. Keinesfalls handelt es sich hier um die Eigenfarbe höhermolekularer, dunkler Huminstoffe, wie von HERTELENDY (1975) angenommen.



Die graue, d. h. helle Farbe der Innenzone früher Rottestadien dürfte zum Teil auf dem Einfluss von mineralischen Komponenten, die in der frühen Rottephase vermehrt auftreten, beruhen. So färbt sich die Innenzone grau, wenn Chlorid hinzugefügt wird, da Chlorid mit der wässrigen Silberimprägnierung $AgCl$ -Niederschläge bildet, die sich im Licht infolge photochemischer Zersetzung grau/violett färben. Mineralrückstände von unreifen Komposten bewirken gleichfalls eine graue Verfärbung der Innenzone. Die Mineralstoffzusammensetzung unreifer Komposte weist u. a. einen hohen Chloridanteil auf. Aber auch niedermolekulare Huminstoffe dürften an der Farbgebung des Innenfeldes beteiligt sein, da niedermolekulare, synthetische Humussäuren ebenfalls eine graue Verfärbung in der 0 – 4cm-Zone bedingen.

Zacken- und Randzone, die ab der 4cm-Marke ansetzen, resultieren aus dem Imprägnierungsstopp bei der 4cm-Marke und dem Silberverbrauch in der zuvor durchlaufenen 0 - 4cm-Zone. Würde man die Silberimprägnierung bis zur 6cm-Marke laufen lassen, kämen die bildgestaltenden Konzentrationsunterschiede der

verbleibenden Imprägnierungsreste aus der 0 - 4cm-Zone nicht zur Geltung. Die im Papier haftende Imprägnierung wäre gegenüber den Silberresten aus der 0 - 4cm-Marke wesentlich höher konzentriert und damit bildbestimmend - die Innenzone würde sich bis zur 6cm-Marke erstrecken, Zacken- und Randzone würden fehlen (s. auch TONDL 1989).

Die scharfe Zacken- sowie die gefleckte Randzone der späten Rottephase dürften in erster Linie durch höhermolekulare Huminstoffe verursacht sein, da höhermolekulare, synthetische Humussäuren sehr ähnliche Strukturen bedingen. Höhermolekulare Huminstoffe charakterisieren einen fortgeschrittenen Rotteprozess.

Eine unscharfe Zackenzone, kombiniert mit einer gefärbten, fleckenlosen Randzone, charakterisieren Chromatogramme sehr früher Rottestadien. Eine solche Bildgestaltung könnte auf die Wirkung mineralischer Lösungsanteile basieren. Durch die Beifügung von Ammonium, welches in unverrotteten Materialien in hohen Konzentrationen auftritt, waren Bilder früher Rottestadien sehr gut reproduzierbar. Nach der Reaktionsgleichung $\text{Ag}^+ + 2\text{NH}_4^+ \leftrightarrow [\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+ + 2\text{H}^+$ bindet dissoziiertes Ammonium Silber in Form von gut wasserlöslichen Silberdiamin-Komplexen (HAHN & HAUBOLD 1993). Dadurch wird Silber in die Randzone transportiert, wo ein einheitlich gefärbtes Feld entsteht. Gleichzeitig ist für eine deutliche Zackenbildung zu wenig Silber vorhanden. Aber auch niedermolekulare, synthetische Humussäuren bedingen tendenzmäßig solche Bilder: Sie bilden mit Silberionen gleichfalls wasserlösliche Komplexe (SCHEFFER & SCHACHTSCHABEL 1989).

Kompost-Extrakte mit sehr hohen alkalilöslichen Huminstoffanteilen bewirken eine unbefriedigende graphische Auftrennung: Unabhängig vom Rottefortschritt entstehen sehr ähnliche Bilder, bei denen Rand- und Zackenzone ineinander geschoben oder unscharf voneinander getrennt sind. Die beige Innenzone ist undeutlich bis kaum radial strukturiert. Hochkonzentrierte alkalische Extrakte aus nieder- und höhermolekularen synthetischen Humussäuren liefern annähernd dasselbe Ergebnis. Die außergewöhnlich lange Laufzeit solcher Extrakte mag auf eine Überforderung der Kapillarwirkung infolge der überhöhten Huminstoffkonzentration hindeuten. Durch den hohen Anteil einiger Lösungskomponenten könnte es aber auch zu einem großflächigen Abtransport der Silberimprägnierung, eventuell durch wasserlösliche Silberkomplexe aus der Innenzone gekommen sein. Den ansonsten bildbestimmenden Lösungsanteilen fehlt es nun an Silber für eine mögliche Reaktion. So dürfte die beige Farbe des Innenfeldes großteils durch die Huminstoffe selbst bedingt sein. Durch die hohe Silberkonzentration in der Laufmittelfront fehlt die klare Auftrennung der

Lösungsanteile ab der 4-cm-Marke: Rand- und Zackenzone sind ansatzweise miteinander verschmolzen bzw. nicht deutlich voneinander getrennt.

So wie bei den WE-Kompost-Chromatogrammen können durch die synthetischen Humussäuren und mineralischen Substanzen keine identen Kompost-AE-Chromatogramme reproduziert werden. Den manipulierten Bildern fehlt es v. a. an Plastizität. Ein Problem ist, dass NaOH/Na-Oxalat nicht huminstoffselektiv wirkt und daher auch nichtgefärbte niedermolekulare organische Stoffe, wie Proteine und deren Abbauprodukte, niedermolekulare Säuren, reduzierende Zucker usw. gelöst werden. Vielen dieser Stoffe wird ein hohes Reaktionsvermögen mit Silber attestiert, wodurch sie an der Gestaltung der Chromatogramme beteiligt sein dürften.

5 Zusammenfassung

An einer papierchromatographischen Methode, welche zur Rotteindikation von Komposten herangezogen wird (PFEIFFER 1958, Leobener Umwelttechnik Ges.m.b.H. B.A.R.A.B.A.R.A. 1994), wurde im experimentellen Ansatz der bildgestaltende Anteil von Extraktionsmitteln, unterschiedlich polymerisierten Huminstoffen, verschiedenen Mineralrückständen aus Komposten und ausgewählten Salzkomponenten sowie der Einfluss der Silberimprägnierung getestet.

Die Gestalt der Bilder definiert sich aus der unterschiedlichen Silberaffinität einzelner Lösungskomponenten sowie der unterschiedlichen Löslichkeit gebildeter Silberverbindungen.

Es zeigte sich, dass das jeweilige Lösungsmittel nicht nur einen Einfluss auf die Art der gelösten Komponenten hat, sondern selbst die grundlegende Charakteristik eines Kompost-Chromatogrammes bestimmt. Demnach sind Chromatogramme nur dann vergleichbar, wenn dasselbe Extraktionsmittel in derselben Konzentration verwendet wird.

Huminstoffe beeinflussen die Chromatogramme v. a. hinsichtlich Strukturierung und Zonierung: Bei den Chromatogrammen aus alkalischen Extrakten sind sie an der Bildung von radialen Strukturen in der Innenzone, Zacken in der Zackenzone sowie Flecken in der Randzone beteiligt. Bei Bildern aus wässrigen Extrakten prägen sie die Gestaltung der Randzone. Auch Huminstoffvorstufen sind möglicherweise für die Bildung von radialen Strukturen in Innen- und Randzone mitverantwortlich.

Der Einfluss mineralischer Lösungsanteile liegt bei den alkalischen Extrakten v. a. in der Färbung bzw. Strukturierung der Innen- bzw. Randzone. In den wässrigen Extrakten sind sie an der Bildung von radialen Strukturen in Innen- und Randzone beteiligt.

Mit den vorliegenden Untersuchungen konnte die Wirkung verschiedener substrat- und extraktbedingter Einflussfaktoren auf die rotteabhängige Bildgestaltung ansatzweise dargestellt werden. Vieles liegt noch im Dunkeln, was mit den komplexen, biochemischen Reaktionsmechanismen zusammenhängt. Eine Aufklärung der wichtigsten bildgestaltenden Faktoren ist jedoch notwendig, um dieser chromatographischen Schnellmethode jenen Stellenwert in der Kompostdiagnostik zu sichern, der ihr aufgrund der relativ einfachen Handhabung zusteht.

6 Summary

Paperchromatography was used in the past by different authors for testing the compost maturity (PFEIFFER 1958, Leobener Umweltechnik Ges.m.b.H. 1994). The mechanism of picture-arranging effects is not yet satisfactorily explained.

The aim of the present study is to investigate the effect of the used extractants, differently polymerized humic substances, mineral components as well as the influence of silver impregnation on the shape of the chromatogram in order to facilitate the use of the method as a standard method for testing the compost maturity.

The pattern of the chromatograms is defined by the variable silver affinity of individual solution components as well as by their solubility.

From the present investigation is concluded that the characteristics of compost chromatograms are basically influenced by the used extractant. Therefore chromatograms can be recommended as standard testing methods only if the same extractant is used in the same concentration.

In further test series it was found that the structure and zonation of compost chromatograms are influenced by humic substances. In alkaline extracts humic substances develop radial structures in the inner zone of the chromatograms, jags in the jagged zone and spots in the peripheral zone, whereas in aqueous extracts the humic substances form the peripheral zone. Precursors of humic substances are probably responsible for the formation of the radial structures in the inner and also in the peripheral zone.

The mineral components influence the alkaline extracts by colouring the inner and structuring the peripheral zone. In the aqueous extracts they are also involved in formation of radial structures of the inner and the peripheral zone.

In the present study preliminary results, considering the various factors that actually determine the pattern of compost chromatograms, are introduced. The mechanism of pattern-forming is probably connected with the complex biochemical reactions occurring during maturing of the compost. These factors should be also investigated.

7 Literatur

- BURCK, H. C. (1988): Histologische Techniken. 6. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York. 205 pp.
- DANNEBERG, O. H. (1973): Über die Extraktion von Huminstoffen aus Schwarzerde. Die Bodenkultur 24, 111-119.
- FALBE, J. & M. REGITZ (HRSG.) (1992): RÖMPP Chemie Lexikon. Bd. 5, 3467-4428 9. Auflage, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York.
- FLUCK, E. & C. MAHR (1985): Anorganisches Grundpraktikum. 6. Auflage, Verlag Chemie, Weinheim, Deefield Beach, Basel. 480 pp.
- GOTTSCHALL, R. (1985): Kompostierung. Optimale Aufbereitung und Verwendung organischer Materialien im ökologischen Landbau. 2. Aufl., C.F. Müller Verlag, Karlsruhe. 283 pp.
- HAAVE, J. & B. AALVIK (1980): Eine chromatographische Schnellmethode zum Nachweis von Fremdproteinen in Hackfleisch. Archiv für Lebensmittelhygiene 1, 16-22.
- HAHN, F. J. & G. HAUBOLD (1993): Analytisches Praktikum. 2. Auflage, Bd. 2a, Verlag Chemie, Weinheim, New York, Basel, Cambridge, Tokyo. 181 pp.
- HERTELENDY, K. (1975): Papierchromatographische Methode zur raschen Beurteilung des Humifizierungsgrades von Müllkomposten. Müll und Abfall 6, 167-172.
- Leobener Umwelttechnik Ges.m.b.H. B.A.R.B.A.R.A. (1994): Kompost-untersuchung Herstellung und Auswertung von Papierchromatogrammen SOP CM 01. 6 pp. Adresse: Fabrikgasse 11, A-8700 Leoben/Hinterberg.
- LUMMERSTORFER, E. (1989): Experimentelle Untersuchungen zum "Chroma-Boden-Test" Diplomarbeit, Paris-Lodron-Universität, Salzburg. 69 pp.
- ÖNORM S 2023 (1986): Untersuchungen und Güteüberwachung von Müllkompost. Wien. 21 pp.
- PFEIFFER, E. E. (1958): The art and science of composting. Bio-Dynamics 49, 1-20.
- PFEIFFER, E. E. (1959a): Eine qualitative chromatographische Methode zur Bestimmung biologischer Werte. Teil 1: Unterschiede von Humus- und Kompostqualität. Lebendige Erde 5, 205-215.

- PFEIFFER, E. E. (1959b): Eine qualitative chromatographische Methode zur Bestimmung biologischer Werte. Teil 2: Studien an Vitaminpräparaten. *Lebendige Erde* 6, 241-249.
- SCHEFFER, F. & P. SCHACHTSCHABEL (1989): Lehrbuch der Bodenkunde. 12. Auflage, Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart. 491 pp.
- SPRINGER, U. (1948): Neue Methoden zur Untersuchung der organischen Substanz. *Z. Pflanzenernähr., Düng., Bodenk.* 40, 168.
- TONDL, M. (1989): Zur Methodik und Interpretationsmöglichkeit des Boden-Chroma-Testes nach Pfeiffer. Diplomarbeit, Universität für Bodenkultur, Wien. 77 pp.
- VOITL, H. & E. GUGGENBERGER (1986): Der Chroma-Boden-Test. Verlag Orac, Wien. 181 pp.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Berichte der Naturwissenschaftlich-Medizinischen Vereinigung in Salzburg](#)

Jahr/Year: 2001

Band/Volume: [13](#)

Autor(en)/Author(s): Köck Anneliese, Peer Thomas

Artikel/Article: [EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN AN EINER PAPIERCHROMATOGRAPHISCHEN METHODE ZUR ROTTEINDIKATION VON KOMPOSTEN. 7-26](#)