

ERNST E. HILDEBRAND

Erfassung und Charakterisierung von Polyphenolen als
potentiellen Wachshemmstoffen in kompostierten
Siedlungsabfällen

Erfassung und Charakterisierung von Polyphenolen
als potentiellen Wuchshemmstoffen in kompostierten
Siedlungsabfällen

von

E.E. Hildebrand*

1. Einleitung

Die Kompostierung organischer Siedlungsabfälle gewinnt einerseits als Abfallbeseitigungsmaßnahme andererseits als Humusquelle immer größere Bedeutung. Dabei können bekanntlich Umweltprobleme von Salzen und insbesondere Schwermetallen sowie von phytotoxischen organischen Inhaltsstoffen ausgehen. Letzteres ist vor allem bei der Verwendung von Rinde als Bodenverbesserer bekannt geworden (vgl. TEPE, 1978, ZÜTTL, 1977). Phenolische Inhaltsstoffe von Rinden wie z.B. Gerbsäuren und der große Vorrat an aromatischen Zellwandbestandteilen lassen vermuten, daß primäre phyto gene Phenole und sekundäre, hauptsächlich aus dem Ligninabbau stammende Phenole an den beobachteten bakteriziden, fungiziden und wuchshemmenden Wirkungen in hohem Maße beteiligt sind. Andererseits haben Untersuchungen zur Entstehung des Humuskörpers gezeigt, daß Polyphenole als Vorstufen und Bausteine der Huminstoffe große Bedeutung besitzen (vgl. SCHEFFER u. ULRICH, 1960 und SÜCHTIG, 1961). Im Hinblick auf ein optimales Ergebnis der Kompostierung können Phenole zwei Aspekte besitzen: sie sind sowohl erwünschte Bausteine der Huminstoffsynthese als auch unerwünschte Wuchshemmer in bestimmten Phasen des Rottevorganges. Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung werden daher folgende Fragen geprüft:

- Kann durch eine einfache Fraktionierung und Bestimmung der wasserlöslichen Phenole das aktuelle Wuchshemmstoffpotential von Siedlungsabfällen und insbesondere Rindenkomposten erfaßt werden?
- Von welchen Rahmenbedingungen der Kompostierung hängen Entstehung, Ab- bzw. Umbau von Phenolen in Huminstoffe ab?

* Forstliche Versuchs- und Forschungsanstalt Baden-Württemberg, Fasanengarten, D-7000 Stuttgart 31 (Weilimdorf)

2. Material und Methoden

Die untersuchten Substrate sind in Tab. 1 aufgeführt; eine Übersicht des Untersuchungsganges gibt Abb. 1.

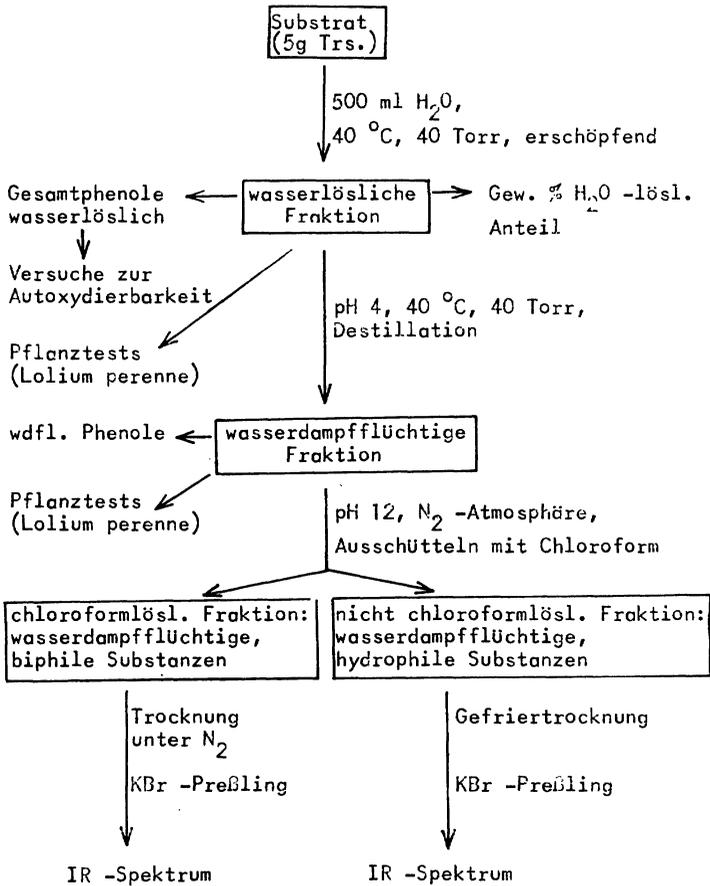


Abb. 1: Arbeitsgang zur Fraktionierung und Charakterisierung wasserlöslicher Phenole

Die Substrate wurden nach dem Soxhlett-Prinzip mit Wasser bei 40°C und 40 Torr erschöpfend extrahiert (5g/500ml/12h) und in den Extrakten die Phenolgehalte bestimmt (vgl. "Die Untersuchung von Wasser", 1974). Alle Ergebnisse wurden als monomeres Phenol berechnet. Ein Aliquot des wässrigen Extrakts wurde mit Phosphorsäure auf pH 4 gebracht und bei 40°C und 40 Torr destilliert, damit die wasserdampfvlüchtigen Phenole bestimmt werden konnten. Die Destillation als Versuch der Phenolfraktionierung wurde aufgrund der Überlegung gewählt, daß dadurch hauptsächlich niedermolekulare und damit physiologisch interessante Phenole wie Kresole, Xylenole, Guajacol, Brenzcatechin und teilweise -Naphthol angereichert werden können.

Die Wirkung der wasserlöslichen und wasserdampfvlüchtigen Bestandteile der untersuchten Substrate auf das Pflanzenwachstum wurde mit *Lolium perenne* (Deutsches Weidelgras) geprüft. Dazu wurden die Extrakte bzw. Destillate sowohl ohne Zusätze als auch mit der Nährelementkonzentration einer Nährlösung eingesetzt. Ca. 30 Samen wurden auf 2 mm breite PlexiglasKüvetten gelegt, in die zuvor mit der entsprechenden Lösung getränktes Elektrophoresepapier eingebracht worden war (vgl. Abb. 2). Nach 10 Tagen mit täglicher Tränkung des Elektrophoresepapiers wurden die Längen der Triebe gemessen und die Unterschiede der Mittelwerte pro Küvette statistisch geprüft. Die wasserdampfvlüchtigen Bestandteile wurden durch Ausschütteln mit Chloroform in biphile und ausschließlich hydrophile Fraktionen getrennt, die IR-spektroskopisch untersucht wurden.

An ausgewählten Proben wurde die Stabilität der wasserlöslichen Phenole gegenüber Autoxidation in belüfteten Lösungen bestimmt. Dazu wurden aus den Extrakten periodisch Aliquote entnommen und deren Phenolgehalt ermittelt. Um den Einfluß von Bakterien auf den Abbau von Phenolen zu erfassen, wurde eine Kontrolle mit täglicher Penicillinzugabe parallel analysiert.

3. Darstellung und Diskussion der Ergebnisse

3.1 Gehalte an wasserlöslichen und wasserdampfflüchtigen Phenolen

Die zu diskutierenden Phenolgehalte sind in Tab. 1 aufgeführt.

Substrat	Behandlung	Gesamtphenole mg/1000g Trs.	wdf1. Phenole mg/1000g Trs.
Ri Fi/Ta	frisch	90	1,2
Ri Fi/Ta	1 Woche Waldlagerung	77	0,6
Rindenkomp. I	Bioreaktor + Harnst.	112	0,6
II		95	0,5
III	Bioreaktor + Harnst. + Phosphat	45	0,3
IV		30	0,3
Klärschlamm- kompost	mit Nachrotte	23	0,2
	ohne Nachrotte	49	4,8
Ganzbaum- material Fi	1 Woche Waldlagerung	41	2,7
Handelstorf	entsäuert	9	n.b.
F -Lage Moder		22	n.b.
O -Lage Rohhumus		30	n.b.
Müllkompost		5	0,1

Tab. 1: Gehalte an wasserlöslichen und wasserdampfflüchtigen Phenolen von Rinden, Rindenkomposten und Vergleichs-substraten

Bei den Gesamtphenolen zeigen Rinden und Rindenkomposte erwartungsgemäß die höchsten Gehalte. Durch Kompostierung der Rinde im Bioreaktor können die Gesamtphenole sowohl zu- als auch abnehmen. Sie nahmen immer dann deutlich ab, wenn neben Harnstoff auch Phosphat zugesetzt worden war.

Bei der wasserdampfvlüchtigen Phenolfraktion zeigt sich, daß einfache Alterung oder gezielte Kompostierung bei den untersuchten Substraten immer zu einer deutlichen Verminderung der wasserdampfvlüchtigen Fraktion geführt hat, unabhängig davon, ob die Gesamtphenole zunahmen oder nicht. Dies weist darauf hin, daß die beginnenden Humifizierungsprozesse einen verstärkten Abbau niedermolekularer Phenole bewirkt haben.

Ein ähnliches Verhalten zeigt auch das Vergleichssubstrat Klärschlammkompost. Während durch aerobe Nachrotte der Gehalt an wasserlöslichen Phenolen halbiert wurde, bewirkte diese Maßnahme in der wasserdampfvlüchtigen Fraktion eine Reduzierung des Phenolgehaltes auf ca. 1/20 des Wertes ohne Nachrotte. Müllkompost weist entsprechend seinen Kompostierungsparametern (hoher pH-Wert, gute Durchlüftung, hoher Vorrat an Nährelementen) geringe Phenolgehalte in der wasserlöslichen und wasserdampfvlüchtigen Fraktion auf.

3.2 Pflanztests mit wässrigen Extrakten und deren Destillaten

Tab. 2 gibt eine Übersicht über die Ergebnisse der durchgeführten Pflanztests; Abb. 2 zeigt beispielhaft die Wirkung der wasserdampfvlüchtigen Komponenten von frischer Koniferenrinde.

Substrat	Verhalten im Pflanztest			
	wasserlösl. Fraktion		wdf. Fraktion	
	mit	ohne	mit	ohne
Nährelementzugabe				
Ri Fi/Ta frisch	-***	-***	0	-***
Ri Fi/Ta alt	-***	-***	0	0
Rindenkompote (Bioreaktor)	0	***	0	0
Klärschlammkompost mit Nachrotte	0	***	0	0
ohne Nachrotte	-***	-***	0	-***

Tab. 2: Ergebnisse der Pflanztests mit wässrigen Extrakts und deren Destillaten (Lolium perenne, Versuchsdauer: 10 Tage)

- Wuchshemmung

+ Wuchsverbesserung

0 keine signifikante Änderung des Wachstums

** $p < 1\%$, *** $p < 0,1\%$

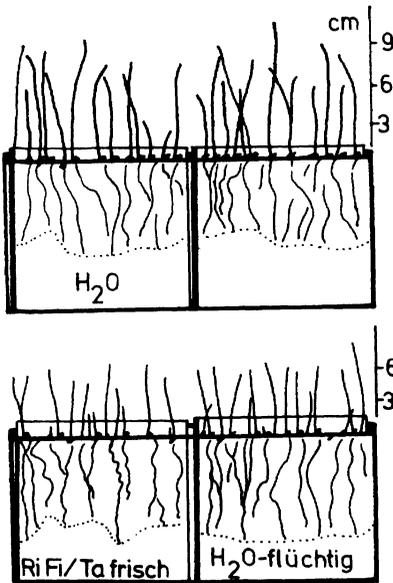


Abb. 2: Wirkung der wasserdampf-
flüchtigen Fraktion von
frischer Rinde (Fi/Te)
auf das Wachstum von
Lolium perenne innerhalb
von 10 Tagen.
(Methodik vgl. Abschn. 2)

Die wasserlöslichen Bestandteile der unkompostierten Rinden wirken stark wuchshemmend, und zwar sowohl im Ansatz ohne als auch mit Nährelementen. Bei den untersuchten Rindenkomposten sind diese wuchshemmenden Substanzen abgebaut, da in den Ansätzen mit Nährelementen keine signifikante Beeinflussung des Wachstums durch wasserlösliche Bestandteile auftritt. Die positive Wirkung der Extrakte in den Ansätzen ohne Nährelementzusatz dürfte auf die Anwesenheit kompostbürtiger Nährelemente zurückzuführen sein. Analog zum Abbau wuchshemmender Substanzen bei der Rindenkompostierung bewirkt die Nachrotte bei dem untersuchten Klärschlammkompost einen Abbau phytotoxischer, wasserlöslicher Bestandteile.

Die wasserdampf-
flüchtige Fraktion von frischer Rinde und Klärschlammkompost ohne Nachrotte verursachte deutliche Wuchshemmungen, während bei gelagerter Rinde und bei den Rindenkomposten keine signifikanten Einflüsse auf das Wachstum auftraten. In den Ansätzen mit Nährelementen blieb in den wasserdampf-
flüchtigen Fraktionen eine negative Wirkung immer aus, was entweder durch höhere Toleranz der Pflanzen bei verbesserter Nährelementzufuhr oder durch Inaktivierung der Hemmstoffe aufgrund von Reaktionen mit den Nährelementen erklärt werden

kann.

Zur Frage, ob die Phytotoxizität der wässrigen und wasserdampfvlüchtigen Fraktionen durch die Phenolgehalte bedingt ist oder zumindest durch sie charakterisiert werden kann, gibt Abb. 3 einen Hinweis.

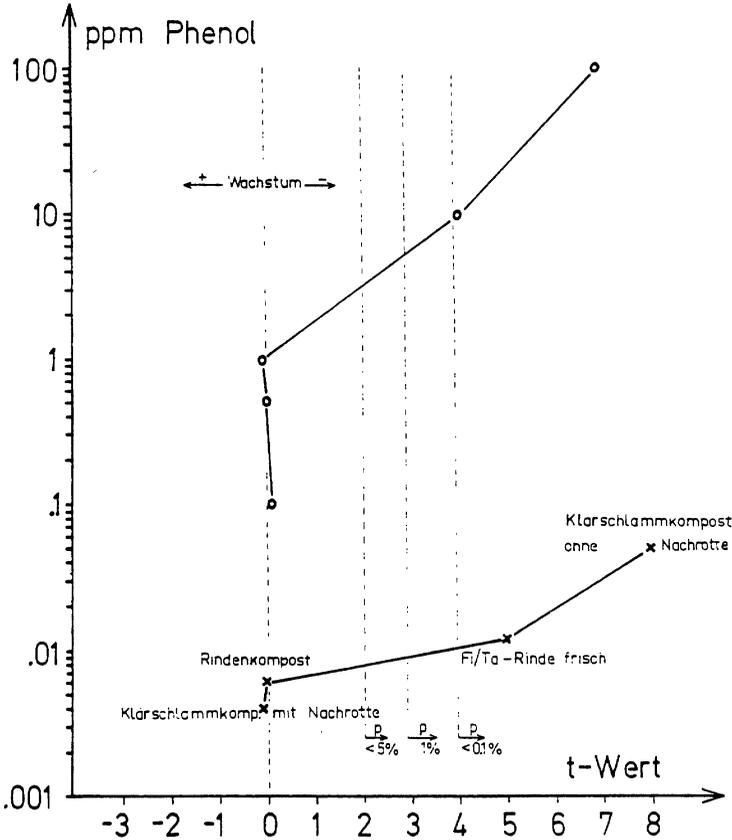


Abb. 3: Zusammenhang zwischen dem Grad der Wuchshemmung (t-Werte aus den statistischen Tests) und den Gehalten an wasserdampfvlüchtigen Phenolen
untere Linie: Siedlungsabfälle
obere Linie: monomeres Phenol

Auf der Abszisse ist der den Grad der Hemmwirkung charakterisierende t-Wert aus dem statistischen Vergleich gegenüber der Phenolkonzentration auf der Ordinate aufgetragen. Bei den untersuchten Substraten ergibt sich ein Schädigungsgrenzwert von ca. 0.01 ppm Phenol. Da bis jetzt im Bereich höherer Gehalte an wasserdampfflüchtigen Phenolen nur wenige Punkte vorliegen, ist es fraglich, ob die Hemmwirkung tatsächlich durch den Phenolgehalt erklärt wird. Im Rahmen der untersuchten, sehrheterogenen Proben erwies sich die wasserdampfflüchtige Phenolfraktion als brauchbarer Indikator des aktuellen Wuchshemmstoffpotentials.

Zum Vergleich ist die Wirkung von monomerem Phenol in analoger Weise aufgetragen. Bei diesem Ansatz traten der Schädigungsgrenzwert und die entsprechenden Schädigungsgrade bei etwa 100 mal höheren Phenolgehalten auf als in den Destillaten. Dies weist darauf hin, daß entweder die Phenole der wasserdampfflüchtigen Fraktionen durch Ringsubstitutionen phytotoxischer als monomeres Phenol sind, oder daß nicht phenolische, wasserlösliche und wasserdampfflüchtige Verbindungen an der Hemmwirkung beteiligt sind.

Die Gehalte an wasserlöslichen Phenolen lassen keinen Zusammenhang mit den Ergebnissen der Pflanztests erkennen, da bei manchen Rindenkomposten der Phenolgehalt gegenüber den eingesetzten Rinden zunehmen kann (vgl. Tab. 1), die Extrakte der Rindenkomposte bei den Pflanztests jedoch nicht wuchshemmend wirkten (vgl. Tab. 2).

3.3 IR-Analyse der wasserdampfflüchtigen Fraktionen

Die IR-Spektren der wasserdampfflüchtigen Fraktionen von frischer Rinde, gelagerter Rinde und Rindenkompost sind in den Abb. 4 (nicht chloroformlöslicher Teil) und Abb. 5 (chloroformlöslicher Teil) dargestellt. Die Spektren der nicht chloroformlöslichen, also ausschließlich hydrophilen Komponenten, weisen bei WZ 2950 kaum Absorption auf d.h. es sind wenig aliphatische C-H-Bindungen vorhanden.

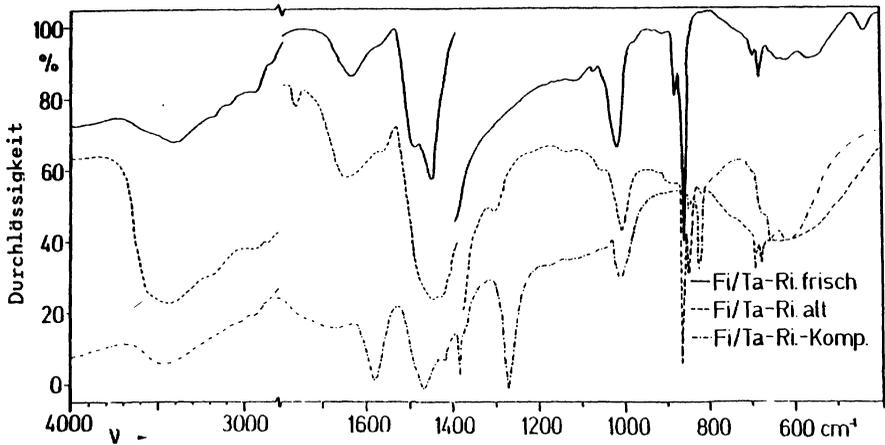


Abb. 4: IR -Spektren H_2O -flüchtiger, nicht $CHCl_3$ -löslicher Fraktionen

Es ist also anzunehmen, daß diese Fraktion hauptsächlich aus Aromaten besteht. Dies wird bestätigt durch die zumindest im Fall der frischen Rinde deutlichen Ringschwingungen des Benzols bei WZ 1580 und 1500. Auffallend ist auch, daß bis auf die Lactonbande bei gelagerter Rinde (WZ 1780) keine Carbonyle vorhanden sind. Bei Rindenkompost fallen gegenüber den anderen Substraten drei ausgeprägte Banden auf: die Absorptionen bei WZ 1580 und 1380 lassen auf das Vorliegen von Carboxylionen schließen. Die Absorption bei WZ 1275 wird aromatischen Äthern zugeordnet (bei gelagerter Rinde ist diese Bande angedeutet). Hinweise darauf, wie diese Strukturelemente verknüpft sind, gibt die scharfe Bande bei WZ 860, die die "out of plane" -Schwingung zweier benachbarter, aromatisch gebundener H-Atome charakterisiert, und damit darauf hinweist, daß als vorherrschende Substitutionstypen para -disubstituierte, oder 1,2,4 -substituierte Benzole vorliegen. Die genannten Strukturelemente sind z.B. bei Vanillinsäure in dem geforderten Substitutionstyp vereinigt, so daß ein großer Teil der wasserdampfvlüchtigen Phenole des Rindenkompostes diesem Ligninbaustein sehr nahe kommen

dürfte. Bei den unkompostierten Rinden ist dagegen aufgrund des Fehlens typischer Carboxyl- und Methoxylabsorptionen das Vorliegen von Phenolen des Kresol- oder Oxykresoltyps anzunehmen.

Die Spektren der wasserdampfflüchtigen, chloroformlöslichen Fraktionen (vgl. Abb. 5) zeigen bei WZ 2950 und 2850 ausgeprägte, aliphatische C-H -Schwingungen. Die Trennung der wasserdampfflüchtigen Fraktionen mit Chloroform bewirkte also eine Fraktionierung in Überwiegend aromatische und aliphatische Bestandteile. Abb. 5 zeigt auch, daß diese aliphatischen Komponenten bei WZ 1730 deutliche Carbonylbanden aufweisen und zwar in zunehmender Intensität mit Zunahme des Grades der Kompostierung. Es handelt sich bei dieser Fraktion wohl hauptsächlich um teilweise ungesättigte Fettsäuren, wie die Banden der C=C -Doppelbindung bei WZ 1620-1650 vermuten lassen.

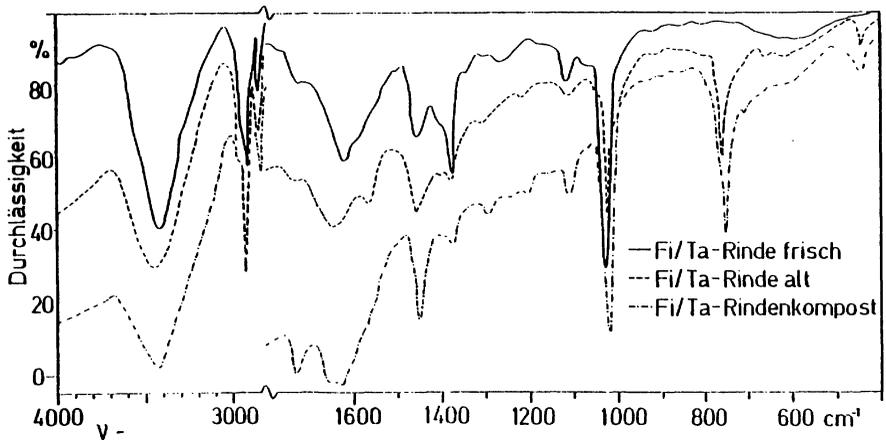
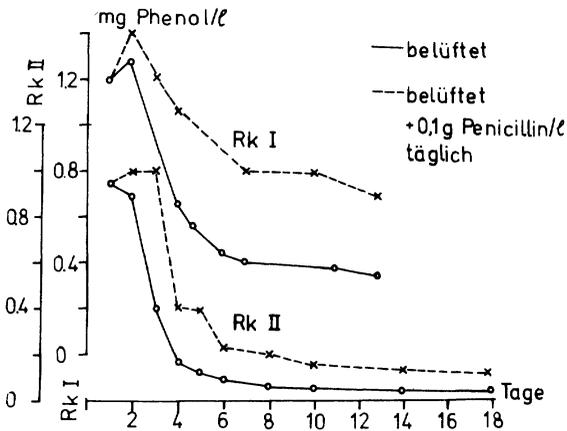


Abb. 5: IR -Spektren H₂O -flüchtiger, CHCl₃ -löslicher Fraktionen

3.4 Stabilität wasserlöslicher, rindenbürtiger Phenole gegenüber Autoxidation

In den Abb. 6 und 7 sind die zeitlichen Änderungen der Phenolkonzentrationen in belüfteten wässrigen Extrakten dargestellt. Abb. 6 zeigt am Beispiel von zwei gleichbehandelten Rindenkomposten, daß die Zugabe von Penicillin einen verzögerten Abbau der Phenole bewirkte. Bei den unbehandelten Varianten war der Großteil der Phenole nach 6-8 Tagen abgebaut, danach stellten sich Grenzwerte von 1/5 - 1/10 des Anfangsgehaltes ein.



*3 Wochen Bioreaktor, 4 kg Harnstoff/m³

Abb. 6: Änderung der Phenolkonzentrationen der wässrigen Extrakte von 2 Rindenkomposten in Abhängigkeit von der Zeit

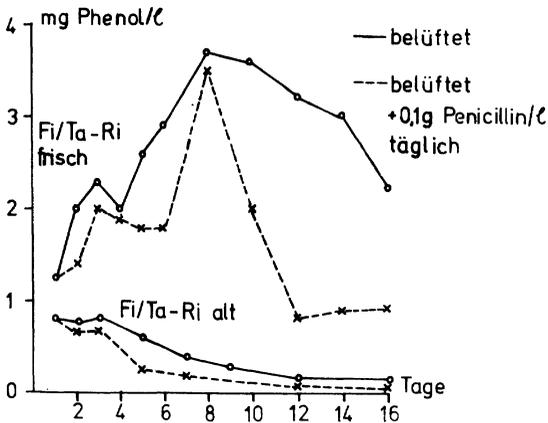


Abb. 7: Änderung der Phenolkonzentrationen der wässrigen Extrakte von frischer Rinde (oben) und gelagerter Rinde (unten) in Abhängigkeit von der Zeit

Aus Abb. 7 ist ersichtlich, daß im Gegensatz zu den Komposten die Penicillinzugabe bei Extrakten aus unkompostierten Rinden ein niedrigeres Niveau der Phenol-Zeitkurven verursachte. Die Keimzählung bei diesen Extrakten ergab, daß Aktinomyceten auftraten und zwar in besonders hohen Keimzahlen bei frischer Rinde. Am 16. Tag (Versuchsende) enthielt die penicillinbehandelte Variante 10^5 Strahlenpilzkeime/ml gegenüber nur 10^3 Keimen/ml bei der unbehandelten Variante, während am 8. Tag, also zum Zeitpunkt des gemeinsamen Maximums der Phenolkonzentrationen die penicillinbehandelte Variante 10^6 Keime/ml gegenüber 10^5 Keimen/ml bei der unbehandelten Variante aufwies. Man kann also annehmen, daß in diesem Fall die Beseitigung bakterieller Umsetzungsprozesse die im Phenolabbau leistungsfähigeren Aktinomyceten begünstigt hat (vgl. HAIDER u. MARTIN, 1979 und KÜSTER, 1979). Bemerkenswert ist auch, daß bei dem Extrakt aus frischer Rinde zunächst ein sehr starker Anstieg der Phenolgehalte auf mehr als das 3-fache des Anfangsgehaltes zu verzeichnen war, der bei den anderen Substraten nur andeutungsweise auftrat (vgl. Abb. 6). Verantwortlich dafür müssen leicht abbaubare wasserlösliche Ausgangsstoffe sein. Da die Extrakte aus frischer Rinde an den ersten 4-6 Tagen immer keimfrei waren, ist diese Zunahme abiotisch erfolgt. Es handelt sich dabei wohl um hydrolytischen Abbau fungi- und bakterizider Gerbsäuren, die für die Zunahme

der Phenolkonzentration bei frischer Rinde verantwortlich sind. Bekanntlich können phenolische Gerbsäuren nicht über chinoide Zwischenprodukte oxidiert werden, da ihre Phenolgruppen meist in meta-Positionen stehen (vgl. FLAIG et al., 1975).

4. Zusammenfassung

Es wurden von Rinden, Rindenkomposten und anderen Vergleichssubstraten die wasserlöslichen und wasserdampfvlüchtigen Phenole bestimmt. Die Hemmwirkung der Extrakte und Destillate wurde in Pflanztests geprüft. Dabei ergab sich ein Zusammenhang zwischen den Gehalten an wasserdampfvlüchtigen Phenolen in den Destillaten und deren Hemmwirkung in den Pflanztests, während ein solcher Zusammenhang bei den wasserlöslichen Phenolen nicht auftrat. Die Brauchbarkeit der wasserdampfvlüchtigen Phenolfraktion als Indikator des aktuellen Wuchshemmstoffgehaltes muß an weiteren Substraten überprüft werden. Die IR-Analyse der wasserdampfvlüchtigen Fraktionen, die mittels Chloroform in eine bipolare und hydrophile Fraktion getrennt wurden, ergaben neben den typischen Banden phenolischer para-disubstituierter oder 1,2,4-substituierter Aromaten auch Hinweise auf das Vorliegen von aliphatischen Carboxylsäuren und Lactonen.

Die wasserlöslichen Phenole der Rindenkomposte werden in Extrakten im Gleichgewicht mit Luftsauerstoff in 6-8 Tagen zu 70-90% abgebaut. Bei frischer Rinde kann innerhalb dieser Zeit eine Verdreifachung des Anfangsgehaltes an wasserlöslichen Phenolen eintreten. Als Ursache hierfür wird ein abiotischer, hydrolytischer Abbau bakterizid und fungizid wirkender phenolischer Gerbsäuren vermutet.

5. Literatur

- FLAIG, W., BEUTELSPACHER, H. und RIETZ, E.: Chemical Composition and Physical Properties of Humic Substances: in: Soil Components Vol I: Organic Components. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1975.
- HAIDER, K. und MARTIN, J.P.: Abbau und Umwandlung von Pflanzenrückständen und ihren Inhaltsstoffen durch die Mikroflora des Bodens. Z. Pflanzenernähr. Bodenkd. 142, 456-475, 1979.
- KÜSTER, E.: Bedeutung der Aktinomyceten für den Abbau von Cellulose, Lignin und Huminstoffen im Boden. Z. Pflanzenernähr. Bodenkd. 142, 365-374, 1979.
- SCHEFFER, F. und ULRICH, B.: Humus und Humusdüngung I. Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart, 1960.
- SÜCHTIG, H.: Zur Erfassung der bei der Strohhotte gebildeten Ligninabbauprodukte: Kennzeichnung durch UV-Spektren. Landbauforsch. Völkenrode 11, 13-15, 1961.
- TEPE, W.: Verwendung von aufbereiteter Schälrinde als Humusdünger. Mitteilg. Dtsch. Bodenkundl. Gesellsch. 27, 67-92, 1978.
- ZÜTTL, H.W.: Rinde - Abfall oder Rohstoff? Allgem. Forstzeitschrift 6, 154-155, 1977.
- "Die Untersuchung von Wasser"
Selbstverlag der Fa. Merck, Darmstadt, 1974.

Diese Arbeit wurde im Institut für Bodenkunde und Waldernährungslehre der Universität Freiburg mit finanzieller Hilfe der Deutschen Forschungsgemeinschaft durchgeführt. Ich danke Fr. G. Mattmüller für die Mitwirkung bei den Analysen.