
Analyse des Transferverhaltens von
Americium und Europium in Pflanzen mittels
Spektroskopie und Massenspektrometrie

Von der Fakultät für Mathematik und Physik
der Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktorin der Naturwissenschaften

Dr. rer. nat

genehmigte Dissertation von

Julia Stadler, M.Sc.

2023

Referent: **Prof. Dr. Clemens Walther**
Institut für Radioökologie und Strahlenschutz
Gottfried Wilhelm Leibniz Universität Hannover

Korreferent: **Prof. Dr. Thorsten Stumpf**
Institut für Ressourcenökologie
Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf

Korreferentin: **Prof. Dr. Petra Panak**
Institut für Nukleare Entsorgung
Karlsruher Institut für Technologie

Tag der Promotion 28. April 2023

Zusammenfassung

Die ökologischen Folgen der Freisetzung von Radionukliden durch den Reaktorunfall in Tschernobyl 1986 sind noch bis heute spürbar. Unter den vielen emittierten Radionukliden stellt das Americiumisotop ^{241}Am zum jetzigen Zeitpunkt den dominierenden α -Emitter in der Sperrzone dar und kann von Pflanzen aus kontaminiertem Boden aufgenommen werden. Damit öffnet sich ein Pfad in die menschliche Nahrungskette. Um die Aufnahme auf makroskopischer Ebene zu verstehen, wird Winterroggen (*Secale cereale* L.) mit Americium und dem chemischen Homolog Europium kontaminiert und Speziesanalysen durchgeführt. Mit einer Kombination aus Lumineszenz-Spektroskopie, Mikroskopie und hochauflösender Massenspektrometrie konnten erste chemische Verbindungen identifiziert werden. Dazu fand die Aufzucht der Pflanzen im flüssigen Nährmedium, der HOAGLAND-Lösung, statt.

Im HOAGLAND-Medium wurden Veränderungen der Europiumspezies nach Pflanzenkontakt untersucht und die Aufnahme des Eu^{3+} -Ions und von $[\text{Eu}(\text{H}_2\text{EDTA})]^+$ festgestellt. Außerdem zeigten die Ergebnisse die Anwesenheit des Pflanzenexsudats Malat komplexiert mit Europium. Anhand der Lumineszenz-Mikroskopie wurde erstmals die Speziesverteilung von drei Eu-Verbindungen mit organischem und anorganischem Phosphat sowie eine Protein-Spezies bildgebend dargestellt und Akkumulationen in bestimmten Pflanzenregionen sichtbar gemacht. Dazu ergaben Extraktionsexperimente mögliche Eu-Malat, Eu-Citrat und Eu-Aspartat-Verbindungen in der Pflanzenwurzel, welche auf einen Einfluss in den Pflanzenmetabolismus der Mitochondrien hindeuten. Weitere Informationen über die Aufnahme von Europium und Americium in Pflanzen wurde durch Untersuchungen der Auswirkung der Komplexbildner EDTA, Citrat, Malonat und Oxalat nach Zugabe zum Nährmedium erhalten und Spezies in Lösung identifiziert.

Die erhaltenen Ergebnisse geben erstmalig Hinweise auf das Verhalten von Europium- und Americiumspezies in *Secale cereale* L. und weisen auf verschiedene Transportmechanismen in Anwesenheit von organischen Komplexbildnern hin. Einhergehend mit den unterschiedlichen Eigenschaften der identifizierten Komplexe in Bezug auf die Resorption im menschlichen Körper, kann die Toxizität variieren. Dies unterstreicht die wichtige Rolle der Speziesanalyse bei der Gefährdungsbeurteilung von Radionukliden.

Keywords: Radionuklidenaufnahme in Pflanzen, Americium, Europium, Speziesanalyse, Lumineszenz-Spektroskopie, Massenspektrometrie

Abstract

Ecological consequences of the radionuclide release during the Chernobyl nuclear accident 1986 are still being observed today. Among various released nuclides, the long-lived americium isotope ^{241}Am represents the dominating α -emitter in the Chernobyl exclusion zone. Americium can enter the human food chain via uptake from contaminated soil by plants. In this work, the plant uptake of americium, its homologue europium, and their chemical species in plants were investigated on microscopic scale. For this purpose, *Secale cereale* L. (winter rye) was grown as hydroponics in the HOAGLAND-solution. By using a combination of luminescence spectroscopy, microscopy, and high-resolution mass spectrometry, chemical compounds were identified in plant and solution.

In the nutrition medium, changes in the europium species after plant contact and the possible uptake of Eu^{3+} ions and $[\text{Eu}(\text{H}_2\text{EDTA})]^+$ was determined. Afterwards, europium malate species were identified in the HOAGLAND-medium, whereby the organic ligand acts as plant exudate. In winter rye, at least three europium species were determined with the possible binding to organic and inorganic phosphate groups as well as a protein-bound species. In combination with luminescence microscopy, the species distribution was shown to be different for each species inside the plant parts. Extraction experiments resulted in possible europium malate, citrate, and aspartate compounds inside the plant root, indicating an impact on the plant metabolism in the mitochondria. Furthermore, the influence of the complexing agents EDTA, citrate, malonate, and oxalate on the europium and americium uptake was investigated. After the addition to the nutrition medium chemical species were identified.

For the first time, evidences on the behaviour of europium and americium species in *Secale cereale* L. have been obtained and point to different transport mechanisms in the presence of organic complexing agents. Along with the different properties of the identified complexes with respect to the resorption into the human body, the toxicity varies. This highlights the important role of species analysis for the risk assessment of radionuclides.

Keywords: Radionuclide uptake in plants, americium, europium, species analysis, luminescence spectroscopy, mass spectrometry

Eigenständigkeitserklärung

Hiermit versichere ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst habe. Ich versichere, dass ich keine anderen als die angegebenen Quellen benutzt und alle wörtlich oder sinngemäß aus anderen Werken übernommenen Aussagen als solche gekennzeichnet habe und dass die eingereichte Arbeit weder vollständig noch in wesentlichen Teilen Gegenstand eines anderen Prüfungsverfahrens gewesen ist.

11. Mai 2023

Julia Jäger

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	III
Abstract	V
Abkürzungsverzeichnis	XII
1 Einleitung	1
2 Die Relevanz der Betrachtung von Americium und Europium	3
2.1 Eigenschaften und Entstehung im Kernreaktor	3
2.1.1 Americium	3
2.1.2 Europium	5
2.2 Freisetzung in Tschernobyl und Migration in der Umwelt	6
3 Die Aufnahme von Radionukliden in Pflanzen	11
3.1 Morphologie und Physiologie der Pflanzen	11
3.2 Aufnahme und Transport von Americium und Europium	13
3.3 Die Rolle von Komplexbildnern	15
4 Analytische Methoden	21
4.1 Hochauflösende ESI-MS	21
4.1.1 Oritrap™	21
4.1.2 Elektrospray-Ionisation	22
4.1.3 Artefaktbildung	23
4.2 Bildgebung mit Massenspektrometrie	26
4.2.1 ToF-SIMS	26
4.2.2 rL-SNMS	28
4.2.3 Untersuchungen an Pflanzenproben	29
4.3 Lumineszenzspektroskopie	30
4.3.1 Die Fluoreszenz des Europiums	30
4.3.2 Zeitaufgelöste Emissionsspektroskopie	33
4.4 Modellierung von chemischen Spezies in Lösung	34
5 Experimenteller Aufbau	37
5.1 Pflanzenaufzucht und Kontamination	37
5.2 Konzentrationsbestimmung und Lokalisierung der Elemente	39
5.2.1 Quantitative Analyse mittels ICP-MS	39
5.2.2 Verteilung in der Pflanzenzelle	40

5.2.3	Elementlokalisierung in der Pflanze durch REM-EDX . . .	40
5.2.4	Ortsaufgelöste Analyse mit SIMS und rL-SNMS	41
5.3	Speziesbestimmung in Lösung und Pflanze	42
5.3.1	Modellierung der Speziesverteilung	42
5.3.2	Extraktionsexperimente	42
5.3.3	Analyse mit ESI-MS	42
5.3.4	Speziation mit TRLFS	44
5.3.5	Lumineszenz-Mikroskopie	45
6	Der Weg von Europium in <i>Secale cereale L.</i>	47
6.1	Elementare Akkumulation in den Pflanzenteilen	47
6.1.1	Verteilung innerhalb der Pflanze	47
6.1.2	Zelluläre Verteilung	48
6.2	Speziesbestimmung im Pflanzennährmedium	51
6.3	Veränderungen der Europiumspezies im Nährmedium	53
6.3.1	Ergebnisse der ESI-MS	53
6.3.2	Ergebnisse der TRLFS	54
6.4	Speziation in <i>Secale cereale L.</i>	57
6.4.1	Extraktion von Europiumspezies aus der Pflanze	57
6.4.2	TRLFS und Lumineszenz-Mikroskopie	58
6.5	Die Auswirkungen von Komplexbildnern	61
6.6	Veränderungen der Europiumspezies durch die EDTA-Zugabe . .	63
6.6.1	Modellierung der Spezies in Lösung	63
6.6.2	Ergebnisse der ESI-MS	64
6.6.3	TRLFS-Ergebnisse	65
6.7	Europiumspezies in der Pflanze nach EDTA-Zugabe	67
6.7.1	Ergebnisse der TRLFS	67
6.7.2	Ergebnisse der Lumineszenz-Mikroskopie	68
7	Die Verteilung von Americium in <i>Secale cereale L.</i>	71
7.1	Analyse der Nährlösung	71
7.2	Akkumulation in der Pflanze	72
7.2.1	Konzentration in den Pflanzenteilen	72
7.2.2	Lokalisation innerhalb der Pflanze	73
7.3	Die Auswirkung von organischen Liganden auf die Speziation . .	75
7.3.1	Europiumspezies im Vergleich	76

8 Diskussion der Ergebnisse	77
8.1 Die Eu- und Am-Aufnahme in die Pflanze	77
8.2 Die Speziation	78
8.2.1 Möglichkeiten und Grenzen der verwendeten Analysetechniken	78
8.2.2 Spezies in der Nährlösung	82
8.2.3 Untersuchungen an der Pflanze	84
8.3 Auswirkungen von organischen Komplexbildnern	91
8.3.1 Die Aufnahme von Europium	91
8.3.2 Die <i>score</i> -Qualität der Speziesbestimmung mit <i>MARI</i>	96
8.3.3 Americiumspezies im Nährmedium	98
8.3.4 Schlussfolgerung für die Aufnahme von Americium und die Gefährdungsbeurteilung des Menschen	99
9 Ausblick	105
Literaturverzeichnis	107
Abbildungsverzeichnis	129
Tabellenverzeichnis	131
A Anhang	133
A.1 Chemikalienliste	133
A.2 Experimentelle Daten und Parameter	134
A.3 Verteilung von Europium in der Pflanze	136
A.4 Europiumspezies in der Nährlösung	137
A.5 Speziesanalyse von Europium im Winterroggen	142
A.6 Auswirkungen von EDTA auf die Europium-Aufnahme	143
A.7 Americium im Nährmedium und in der Pflanze	151
A.8 Verteilung von Americium-Komplexen mit organischen Liganden und der Vergleich mit Europium	153
B Danksagung	159
C Lebenslauf	161

Abkürzungsverzeichnis

ATP	Adenosintriphosphat
BSE	<i>back-scattered electron</i> -Modus
CEZ	Tschernobyl Sperrzone („ <i>Chernobyl exclusion zone</i> “)
ChNPP	Kernkraftwerk Tschernobyl („ <i>Chernobyl nuclear power plant</i> “)
Cit	Citrat
CN	Koordinationszahl
CRM	Modell des geladenen Rückstandes („ <i>charge residue model</i> “)
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DP	Disproportionierungsreaktion
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EDX	Energie-dispersiver Röntgenspektroskopie
EI	Elektronenstoß-Ionisation
ESI	Elektrospray-Ionisation
FFT	schnelle Fourier-Transformation („ <i>fast Fourier transformation</i> “)
FIAM	<i>free ion activity model</i>
IAEA	<i>International Atomic Energy Agency</i>
ICP-MS	Massenspektrometer mit induktiv-gekoppeltem Plasma
ICRP	<i>International Commission on Radiological Protection</i>
IEM	Modell der Ionenverdampfung („ <i>ion evaporation model</i> “)
JESS	<i>Joint Expert Speciation System-Datenbank</i>
LET	Linearer Energieübertrag („ <i>linear energy transfer</i> “)
LMIG	<i>liquid metal ion gun</i>
M	$\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$
Malo	Malonat
MS	Massenspektrometer bzw. Massenspektrometrie
NAD ⁺	Nicotinamidadenindinukleotid; die oxidierte Form ist NADH
OS	Oxidationsstufe
Ox	Oxalat

PARAFAC	Parallele Faktoranalyse („ <i>parallel factor analysis</i> “)
PSRER	<i>Polesie State Radioecological Reserve</i>
Red.	Reduktion
REM	Rasterelektronenmikroskop
RNA	Ribonukleinsäure
SIMS	Sekundärionen-Massenspektrometrie mit resonanter Laser-Ionisation
SIT	Spezifische Ioneninteraktionstheorie („ <i>specific ion interaction theory</i> “)
rL-SNMS	Sekundärneutralteilchen-Massenspektrometrie
TCA-Zyklus	<i>Tricarboxylic acid</i> -Zyklus
ToF	<i>Time-of-Flight</i> Massenspektrometer
TRLFS	Zeitaufgelöste Laser-Fluoreszenz-Spektroskopie („ <i>time-resolved laser fluorescence spectroscopy</i> “)

1 | Einleitung

Der Reaktorunfall in Tschernobyl am 26. April 1986 hat die Radioökologie nachhaltig geprägt. Während des Unfalls in Einheit 4 wurden Radionuklide mit einer Aktivität von etwa 14 EBq freigesetzt und über große Teile Europas verteilt.¹ Ungefähr die Hälfte der Aktivität ist auf inerte Edelgase wie ^{85}Kr und ^{133}Xe zurückzuführen. Die radiologisch wichtigsten Radionuklide waren anfangs ^{131}I und ^{137}Cs , welche den Großteil der Strahlenexposition für die Bevölkerung ausmachten. Für die Betrachtung der Umweltauswirkung sind weitergehend alle freigesetzten Radionuklide, besonders jene mit langer Halbwertszeit relevant. Ein Beispiel ist das Americium (Am) mit seinen langlebigen Isotopen ^{241}Am und ^{243}Am . Dabei wird ^{241}Am durch das ebenfalls freigesetzte ^{241}Pu über einen β^- -Zerfall gebildet. Aufgrund dieses immer noch anhaltenden Zerfalls wird ^{241}Am weiter nachgebildet und stellt derzeit den dominierenden α -Emitter in der Tschernobyl Sperrzone (CEZ) dar.

Über kontaminierten Boden kann Americium potentiell in Nutzpflanzen aufgenommen werden und in die menschliche Nahrungskette eintreten. Das Radionuklid kann mit der ausgesendeten α -Strahlung radiotoxisch und chemotoxisch in Form eines Schwermetalls wirken. Als Homolog wird Europium (Eu) häufig für Forschungszwecke eingesetzt, da die chemischen Eigenschaften des dreiwertigen Am- und Eu-Ions große Ähnlichkeiten aufweisen. Die radioaktiven Isotope ^{154}Eu und ^{155}Eu wurden ebenfalls während des Unfalls in Tschernobyl freigesetzt, verweilen aufgrund ihrer kurzen Halbwertszeiten im Bereich weniger Jahre aber nicht lange in der Umwelt. Für die Aufnahme von Radionukliden in Pflanzen ist die Bioverfügbarkeit der Radionuklide im Boden entscheidend. Diese kann durch vorliegende, organische Liganden beeinflusst werden. Theoretische Modellierungen werden dabei für erste Abschätzungen der Mobilität von Radionukliden im Boden oder in Lösung eingesetzt.¹

Die Aufnahme der vorliegenden Spezies von Radionukliden in Pflanzen wurde bisher wenig untersucht und die genauen Mechanismen nicht eindeutig geklärt. Für die Risikoabschätzung der in Nutzpflanzen enthaltenen Radionuklid-Spezies ist die Speziation von großer Bedeutung. Die dafür verwendeten Analysemethoden reichen von der Massenspektrometrie bis zur Spektroskopie und helfen bei der Strukturaufklärung sowie Quantifizierung vorhandener Verbindungen. Neu entwickelte Techniken vereinfachen die Analyse immer weiter mit niedrigeren Nachweisgrenzen oder höheren Genauigkeiten, wie etwa in der Massenspektrometrie.²

Die Herausforderung der Speziation besteht darin, die chemischen Verbindung durch eine Probenaufarbeitung nicht zu verändern. Der Forscher *Sanz-Medel* formulierte für die Spurenanalytik von Elementen in biologischen Proben drei zu beachtende Punkte: Die Labilität der Spezies, die geringe Konzentration des Elements und die komplexe Einbindung dessen in die Matrix.³ Die Probenvorbereitung und Art der Analyse spielt demnach eine wichtige Rolle für die genaue Untersuchung vorliegender Verbindungen.

Speziesanalysen von Americium wurden bisher wenige veröffentlicht. *Zotina et al.* führten erste Untersuchungen zu der Verteilung von ^{241}Am in verschiedenen Pflanzenzellen durch und zeigten die höchste Akkumulation des Radionuklids in den Zellwänden.⁴ Eine Bindung zu Polysacchariden der Zellwände wird in diesem Zusammenhang vermutet. Die Aufnahme von Europium in Pflanzen wurde häufiger untersucht, allerdings wurden bisher keine genauen Verbindungen identifiziert. *Fellows et al.* fanden eine erhöhte Konzentration im Leitgewebe von Haferpflanzen (*Avena sativa*).⁵ Erste Speziesanalysen zeigen die Bildung eines inner-sphärischen und mononuklearen Eu-Komplexes. *Moll et al.* beschäftigten sich mit der Aufnahme von Europium aus Zellsuspensionen von Rapspflanzen (*Brassica napus*).⁶ Dabei deuten die Ergebnisse auf Eu-Verbindungen mit Carboxyl- und Phosphat-Gruppen hin.

Diese Arbeit knüpft an die bereits bestehenden Untersuchungen zu Europium- und Americiumspezies an und verwendet weitere Analysetechniken für die Speziesidentifikation. Dafür wird ein flüssiges Nährmedium, die HOAGLAND-Lösung, für die Pflanzenaufzucht von *Secale cereale* L. (Winterroggen) verwendet. Nach Pflanzeninkubation werden die chemischen Spezies analysiert und Veränderungen im Nährmedium und Winterroggen aufgezeigt. Zudem werden dem Nährmedium potentiell in der Natur vorliegende Komplexbildner hinzugefügt, um deren Auswirkung auf die Pflanzenaufnahme zu verstehen. Eine Kombination aus Massenspektrometrie und Lumineszenz-Spektroskopie wurde ausgewählt, um erste Einblicke in die Speziation von Radionukliden in Nutzpflanzen zu erhalten.

2 | Die Relevanz der Betrachtung von Americium und Europium

2.1 Eigenschaften und Entstehung im Kernreaktor

2.1.1 Americium

Americium (Am) ist ein künstlich erzeugtes und radioaktives Element, welches 1944 von *Seaborg et al.* als „*Transplutonium Element*“ entdeckt wurde.⁷ Das Actinid besitzt die Elektronenkonfiguration $[\text{Rn}]5f^77s^2$, wodurch Oxidationsstufen von +II bis +VII theoretisch möglich sind. Eine Übersicht der natürlich existierenden Oxidationsstufen ist in Tab. 2.1 aufgeführt. Das Am^{3+} -Ion stellt die stabilste Oxidationsstufe in wässriger Lösung und in der Natur dar. Das zweiwertige Americium ist dagegen nicht stabil und oxidiert innerhalb weniger Milisekunden zum Am^{3+} .⁸ Die höheren Oxidationsstufen sind thermodynamisch instabil und weisen Reduktions- (Red.) und Disproportionierungsreaktionen (DP) zu der jeweils niedrigeren und höheren Oxidationsstufe auf. Heptavalentes Am wurde bisher nur unter stark oxidierenden Bedingungen in Verbindung mit Komplexbildnern nachgewiesen.^{8,9}

Im Hinblick auf die Speziesanalyse sollten Hydrolyse-Reaktionen nicht außer Acht gelassen werden (Abb. 2.1a). Diese setzen bei den f-Elementen ab einem neutralen pH-Wert ein, wobei die Stärke der Reaktion bei Americium mit der Oxidationsstufe sinkt. Die Bildungskonstanten von Hydrolyse-Spezies der Actinide sinkt mit

Tabelle 2.1: Die Oxidationsstufen (OS) des Am mit der entsprechenden Stabilität im wässrigen Medium und ausgewählter Redoxpotentiale relevanter Oxidationsstufen. Dabei ist Red. die Reduktion und DP die Disproportionierungsreaktion.⁸⁻¹⁰

OS	Ion	Stabilität	Redoxreaktion	Redoxpotential / V
+III	Am^{3+}	Stabil	III \longrightarrow IV	+2,62
+IV	Am^{4+}	Red., DP*	IV \longrightarrow V	+0,84
+V	AmO_2^+	DP*	V \longrightarrow VI	+1,60
+VI	AmO_2^{2+}	Red. , DP*		
+VII	AmO_5^{3-}	unter speziellen Bedingungen existent**		

*zu der jeweilig höheren und niedrigeren Oxidationsstufe

**nur unter stark oxidierenden Bedingungen und mit Komplexbildnern nachgewiesen

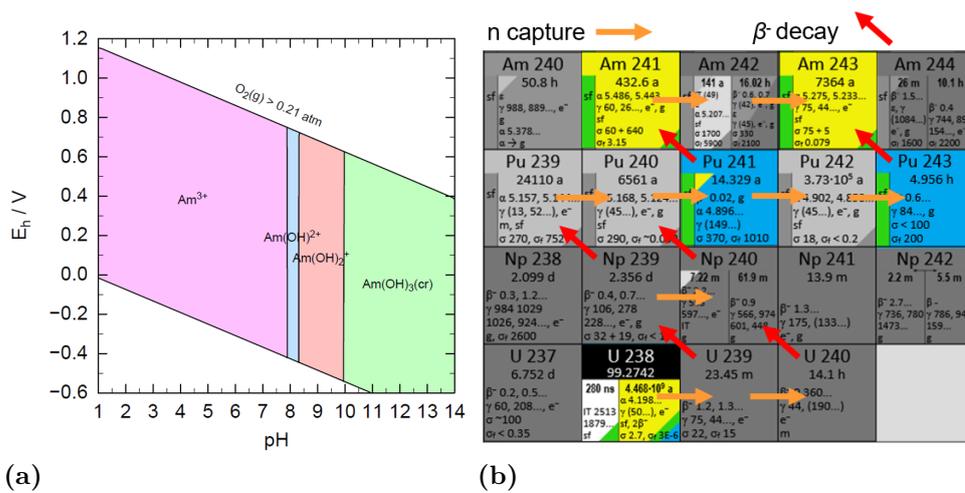


Abbildung 2.1: (a) pH-Eh-Diagramm von Americium in Wasser ([Am] = 10⁻⁹ M) berechnet mit Daten der *ThermoChimie* nach Kapitel 5.3.1 und (b) Entstehung von Pu-Isotopen und Am-Isotopen im Kernreaktor nach *Nucleonica*.¹²

steigender Ordnungszahl. Americium bildet ab pH = 8 die Hydroxide AmOH²⁺, Am(OH)₂⁺ und kristallines Am(OH)₃. Die Hydrolyse ist im neutralen pH-Bereich den Komplexbildungsreaktionen meist überlegen, abhängig von der Konzentration enthaltener Liganden.¹¹

Nach dem *Pearson*-Konzept wird Americium als „harte“ Säure klassifiziert und geht demnach bevorzugt Verbindungen mit „harten“ Basen, wie Fluor oder Sauerstoff, ein. Die Bindungen haben hauptsächlich ionischen Charakter und einen geringen kovalenten Anteil. Untersuchungen ergaben, dass „weiche“ Donor-Liganden, wie beispielsweise Stickstoff, eine höhere Affinität zu Actiniden im Vergleich zu den Lanthaniden besitzen und einen höheren kovalenten Bindungsanteil aufweisen. Verschiedene Gründe werden in diesem Zusammenhang aufgeführt, wie ein partieller Ladungsübertag in die f-Orbitale oder eine in den Liganden induzierter Dipolmoment (COULOMB-Anteil) durch die Quadrupolmoment-Übergänge im Metall-Ion.⁸

Radioaktive Am-Isotope sind für die Massenzahlen 232-247 bekannt. Gerade langlebige Isotope sind in der Radioökologie besonders relevant, da sie auch nach Jahren noch radiotoxische Auswirkungen besitzen können.¹ Diese werden bei Americium durch die Isotope ²⁴¹Am und ²⁴³Am repräsentiert. Die langen Halbwertszeiten von 432,6 a (²⁴¹Am) und 7364 a (²⁴³Am) sorgen für eine lange Verweildauer in der Umwelt. Bei beiden dominiert die Aussendung von α-Teilchen, welche nach Inkorporation eine besonders hohe biologische Wirksamkeit zeigen. Durch die geringe Eindringtiefe wird mehr Energie über eine kürzere Distanz im Körper de-

poniert, was sich wiederum in einem Dosiskonversionsfaktor von $2 \cdot 10^{-7}$ Sv/Bq für beide Isotope widerspiegelt.^{9,13,14}

In Kernreaktoren werden ^{241}Am und ^{243}Am über den Neutroneneinfang von ^{238}U und den jeweiligen Pu-Isotopen produziert (Abb. 2.1b). Dabei zerfallen ^{241}Pu und ^{243}Pu über einen β^- -Zerfall zu den jeweiligen Am-Isotopen. Neben der Aussendung von α -Teilchen sind auch Spontanspaltung und Emission niederenergetischer γ -Quanten kernphysikalische Eigenschaften beider Isotope.^{9,14}

2.1.2 Europium

Das Element Europium (Eu) zählt zu den Lanthaniden, den sogenannten seltenen Erden, und kommt natürlich mit einer Häufigkeit von $0,99 \cdot 10^{-5}$ % in der Erdkruste vor. Es besitzt zwei stabile Isotope ^{151}Eu und ^{153}Eu mit einem Verhältnis von 47,8 % und 52,2 %. Aufgrund ähnlicher chemischer Eigenschaften wird es in der Forschung als inaktives Homolog der dreiwertigen Actinide, insbesondere von Americium, eingesetzt (Tab. 2.2).^{8,9,15}

Europium liegt meist als dreiwertiges Kation in der Natur vor (Abb. 2.2a). Unter reduzierenden Bedingungen existiert zudem das divalente Ion. Die Elektronen in den 4f-Orbitalen der Lanthanide sind weitestgehend durch das 5s- und 5p-Orbital abgeschirmt und wechselwirken kaum mit der chemischen Umgebung. Bei Europium liegen aber die 4f- und 5d-Elektronen energetisch so nah beieinander, dass 5d-Elektronen in das 4f-Orbital übergehen können und so eine Zweiwertigkeit ermöglichen. In dieser Hinsicht unterscheidet es sich von den restlichen Lanthaniden (außer Sm^{2+} , Yb^{2+} und Tm^{2+}).⁸

Hydrolyse-Reaktionen von Europium finden ab einem neutralen pH-Wert statt, wobei hauptsächlich die Hydroxid-Spezies $\text{Eu}(\text{OH})_2^+$ und kristallines $\text{Eu}(\text{OH})_3$ gebildet werden. Eu^{2+} -Ionen können unter reduzierenden Bedingungen im neutralen pH-Bereich gebildet werden. Vergleichbar mit Americium entstehen im Allgemeinen bevorzugt stabile Komplexe mit Sauerstoff-Donor-Liganden und „harten“

Tabelle 2.2: Ausgewählte chemische Eigenschaften von Europium und Americium im Vergleich.^{8,9,15}

Eigenschaft	Europium	Americium
Elektronenkonfiguration	$[\text{Xe}]4f^7 6s^2$	$[\text{Rn}]5f^7 7s^2$
Stabile OS*	(+II), +III	+III
Ionenradius ($\text{CN}^{**} = 8$) in Å	1,066	1,106
Elektronegativität nach PAULING	1,2	1,3
Normalpotential ($\text{M}^{3+} + 3\text{e}^- \rightarrow \text{M}$) in V	-1,99	-2,08

*OS = Oxidationsstufe, **CN = Koordinationszahl

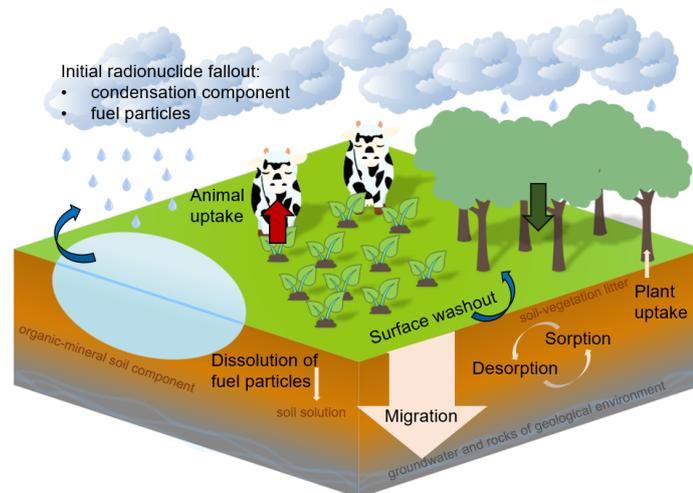


Abbildung 2.3: Freisetzung von Radionukliden und Auswirkungen auf die Umwelt nach der *International Atomic Energy Agency (IAEA)*.¹

Ein Aktivitätsmaximum wird um das Jahr 2100 erwartet.²⁰ Zudem berichteten *Kashparov et al.* im Jahr 2000 von einer geschätzten Verteilung von etwa 18 TBq ^{241}Am in den oberen 30 cm-Bodenschichten der gesamten CEZ.²¹ Die Problematik hierbei ist die bereits angesprochene Langlebigkeit des Americium, welche die Umgebung um das ehemalige Kernkraftwerk somit einige Jahrhunderte beeinflussen wird. Ebenso freigesetzt wurden die im Kernbrennstoff befindlichen Eu-Isotope, welche jedoch keine langlebigen Nuklide darstellen. *Kaspharov et al.* schätzen die Aktivität von ^{154}Eu in den oberen 30 cm-Bodenschichten der CEZ auf etwa 14 TBq im Jahr 2000 aufgrund der Untersuchung von Bodenproben und Interpolation der Ergebnisse des Radionuklid-Inventars.²¹

Werden durch einen Unfall Radionuklide in die Umwelt freigesetzt, können sie in verschiedenen Zuständen verteilt werden. Dazu zählen Gase, kondensierte Partikel oder Brennstoffpartikel. Die volatilsten Elemente und Verbindungen verbleiben zunächst in der Atmosphäre, während die partikulär gebundenen Nuklide schneller zu Boden sinken. Durch einsetzenden Niederschlag kommt es zu einem *Fallout*, der die Deposition von kondensierten Substanzen und Brennstoffpartikeln zur Folge hat. In dieser Fraktion befinden sich auch die Elemente Americium und Europium. Durch den *Fallout* wird die Natur zunächst oberflächlich mit den Radionukliden kontaminiert. Von dort können sie weitere Wechselwirkungen eingehen und sich in der Umgebung verteilen (Abb. 2.3).¹

Im Boden sind verschiedene Mechanismen, wie die Migration oder Sorption an Bodenpartikeln, möglich. Im Bodenwasser können zudem Radionuklide aus freigesetzten Brennstoffpartikeln in Abhängigkeit von ihrer Zusammensetzung und

den Bodeneigenschaften gelöst werden. *Kashparov et al.* teilte die Partikel in Abhängigkeit von ihrer Löslichkeit und Morphologie in drei verschiedene Gruppen ein: Sehr stabile U-Zr-O-Partikel, welche aus dem Glühen von UO_2 bei hohen Temperaturen entstehen, stabile UO_2 -Brennstoffpartikel aus dem Reaktor und weniger stabile UO_{2+x} -Partikel, gebildet aus der Oxidation des Brennstoffs.^{22,23} Dementsprechend werden über mehrere Jahre in Brennstoffpartikeln enthaltene Radionuklide, wie Plutonium, Americium oder auch Europium, herausgelöst, wodurch die Bioverfügbarkeit erhöht und die Mobilität verändert werden. Weitere Untersuchungen von *Kashparov et al.* aus dem Jahr 2019 zeigen, dass in oberen Bodenschichten bereits die weniger stabilen UO_{2+x} -Partikel und die Hälfte der stabileren UO_2 -Brennstoffpartikel aufgelöst wurden.²⁴ Demnach liegen die darin enthaltenen Radionuklide im Boden mit erhöhter Bioverfügbarkeit vor und können potentiell von Pflanzen aufgenommen werden.

Die Mobilität der Radionuklide im Boden wird dabei über ihren chemischen Zustand, wie die vorliegende Oxidationsstufe oder Spezies, beeinflusst. Je nach Transportmechanismus und Radionuklid können sie aus oberflächennahen Bodenschichten von Pflanzen aufgenommen werden oder in tiefere Schichten bis zum Grundwasser migrieren. Durch die Aufnahme in Nutzpflanzen und Ingestion durch Mensch und Tier gelangen die Radionuklide in die menschliche Nahrungskette. Besonders α -Emitter stellen eine große Gefahr durch Inkorporation dar, weil sie über eine kürzere Distanz mehr Energie im Körper deponieren. Dies ergibt sich aus einem erhöhten *linear energy transfer* (LET) von α -Teilchen im Vergleich zu Elektronen oder Photonen, woraus ein erhöhter Dosiskonversionsfaktor resultiert. Somit richten sie größeren Schaden im Körper an und können beispielsweise zu einem DNA-Doppelstrangbruch und der maligne Tumor-Bildung führen.¹

Aufgrund der langen Halbwertszeiten von ^{241}Am und ^{243}Am verbleiben sie länger in der Umwelt. Im Bezug auf ^{241}Am entscheiden zum einen die direkte und schnelle Migration und zum anderen die Nachbildung aus ^{241}Pu über den Transport in tiefere Bodenschichten. Dabei sind die Bodeneigenschaften, wie Redoxbedingungen und der pH-Wert, entscheidend für die vorliegende Oxidationsstufe und Mobilität der Radionuklide. Meist liegt Americium als trivalentes Am-Ion im Boden vor, wohingegen bei Plutonium das tetravalente PuO_2 dominiert.^{25,26} Außerdem kann Americium stark gebunden an Bodenpartikeln vorliegen und somit deutlich langsamer migrieren als in ionischer Form. Aufgrund der unterschiedlichen Mobilität beider Radionuklide kann in Tschernobyl anhand von Tiefenprofilen

die Migration nachvollzogen werden.^{25,27} Am^{3+} ist im Boden mobiler als PuO_2 , wodurch eine schnellere Migration in tiefere Bodenschichten erwartet wird. Untersuchungen zeigten dagegen, dass sich mehr Americium in oberflächennahen Schichten befindet.²⁷ Grund dafür ist das weniger mobile PuO_2 , welches Americium in höheren Bodenschichten nachbildet. Demnach dominiert zeitlich gesehen die Nachbildung aus der Mutter und die langsame Migration, gebunden an Bodenpartikel, den Transportweg von Americium.^{26,28,29} *Ovsiannikova et al.* haben diesbezüglich eine Studie im *Polesie State Radioecological Reserve* (PSRER), einem Naturschutzgebiet in der CEZ, im Jahr 2010 veröffentlicht.³⁰ Sie bestätigten die generell erhöhte Mobilität von Americium gegenüber Plutonium und zeigten die höchsten Aktivitäten in oberflächennahen Bodenschichten, welche mit dem bereits erwähnten langsameren Migrationsverhalten durch Sorption an Bodenpartikel begründet werden kann.

Die Migration des dreiwertigen Europiums im Boden wird weitestgehend mit dem Verhalten von Americium gleich gesetzt.¹⁷ Grund dafür sind die bereits erwähnten Ähnlichkeiten der chemischen Eigenschaften beider Elemente in ionischer Form. Da das meiste, freigesetzte Europium aus den Brennelementen stammt, ist die Betrachtung von freigesetzten Brennstoffpartikeln an dieser Stelle relevant. Aufgrund der verschiedenen Partikelarten existieren unterschiedliche Stabilitäten gegenüber Umwelteinflüssen.²³ Je nach Eigenschaft und äußerem Einfluss können Radionuklide unter bestimmten Bedingungen ausgelaugt werden. Gerade im Boden mit saurem pH-Wert wird dieser Prozess beschleunigt. Daraus resultiert, je nach Bodeneigenschaften, eine mobilere Fraktion des Europium. Untersuchungen aus der CEZ ergaben die größte Eu-Fraktion im Boden nahe der Oberfläche bis etwa 8 cm Tiefe.¹⁸ Die Aufnahme von Americium und Europium aus dem Boden in Pflanzen stellt somit ein potentiell Szenario dar. Nachfolgend werden daher die biologischen Grundlagen der Pflanzen beleuchtet und Transportwege innerhalb des komplexen, biologischen Systems diskutiert.

3 | Die Aufnahme von Radionukliden in Pflanzen

Von besonderem Interesse im Bezug auf die Radionuklidaufnahme ist die Auswirkung auf Nutzpflanzen, da diese von Mensch und Tier als Nahrung verwendet werden. Nach Ingestion kann das Nuklid im menschlichen Körper sowohl radiotoxisch als auch chemotoxisch wirken. Um die Aufnahmemechanismen zu verstehen, werden im Folgenden die Grundlagen dafür geschaffen. Thematisiert werden der strukturelle Aufbau und die bekannten Mechanismen im Bezug auf die Aufnahme von Wasser, Nährstoffen und Radionukliden in Pflanzen. Der Fokus liegt dabei auf den Samenpflanzen, welche den Gefäßpflanzen unterstellt sind.

3.1 Morphologie und Physiologie der Pflanzen

Das komplexe System der Gefäßpflanzen besteht grundsätzlich aus den Pflanzenzellen, welche sich hinsichtlich ihrer Zellwand von den tierischen Zellen unterscheiden. Aus gleichartigen Zellen entsteht das Gewebe und bildet über definierte Funktionen morphologische Einheiten und somit die Pflanzenorgane. Diese führen zu dem vegetativen Aufbau der höheren Pflanzen: Wurzel, Sprossachse und Blatt (Abb. 3.1).^{31,32}

Bei dem Pflanzengewebe wird zwischen dem Bildungsgewebe (Meristem) und dem Dauergewebe unterschieden. Letzteres ist nicht teilungsaktiv, auf bestimmte Funktionen spezialisiert und besitzt im Vergleich zum Meristem eine Zellvakuole, welche den Großteil des Zellvolumens ausmacht. Ein Beispiel dafür ist das *Parenchym*, welches unter anderem zur Nährstoffspeicherung dient. Das Bildungsgewebe kommt als apikales Meristem bei jüngeren Pflanzen in der Wurzel- und Sprossspitze vor und erscheint als länglichere Pflanzenzellen unter dem Lichtmikroskop. Wächst die Pflanze weiter, bildet sich das vaskuläre Kambium (*vascular cambium*), woraus das Leitbündel der Pflanze entsteht. Dieses ist unterteilt in Xylem und Phloem, reicht von der Wurzel über den Spross zum Blatt und ist hauptsächlich für den Stofftransport verantwortlich. Dabei dient das Phloem der Fernleitung von organischen Verbindungen und das Xylem zur Weiterleitung von Wasser und darin gelösten Substanzen. Sie unterscheiden sich in ihrem Zellaufbau und dessen Funktion: Das Phloem besteht aus Siebzellen und Siebröhrengliedern, während sich das Xylem aus Tracheiden und Tracheen-Gliedern ausbildet.^{31,32}

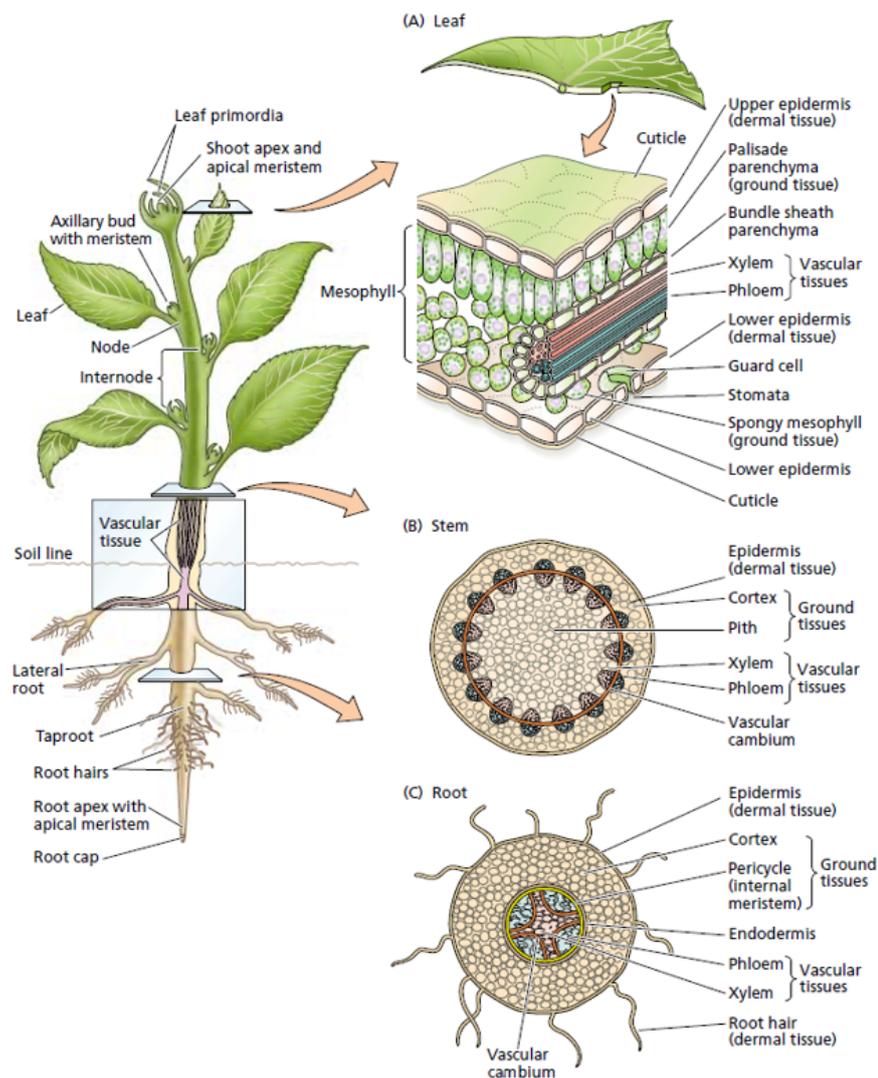


Abbildung 3.1: Aufbau und Querschnitt einer Samenpflanze. Mit freundlicher Genehmigung von *Oxford Publishing Limited (Academic)*.³¹

Um die Aufnahme von Radionukliden zu untersuchen, soll zunächst der Wassertransport und der Transport von darin gelösten Substanzen durch die Pflanze betrachtet werden. Dieser sorgt für die Versorgung aller Organe mit den nötigen Nährstoffen und findet über integrale Membranproteine (*Aquaporine*) statt. Die Proteine sind definiert aus einer Transmembran mit porenbildenden Eigenschaften und spezifisch für den Wassertransport in und zwischen den Pflanzenzellen.^{33,34} Die Wasseraufnahme aus dem Boden erfolgt in der Rhizosphäre über die Wurzelhaare, welche aus Epidermiszellen bestehen. Diese erhöhen die Wurzeloberfläche deutlich und lassen so eine erhöhte Absorption von Ionen zu. Im weiteren Verlauf gibt es drei Möglichkeiten des Ionentransports. Der apoplastische Weg führt entlang der Zellwände, der symplastische durch die Zellen über Plasmodesmen (Po-

ren) und der transmembrane ebenfalls durch die Zellen über die Zellmembranen. Wasser wird zunächst bevorzugt apoplastisch transportiert. An der Endodermis angekommen unterbricht der Casparische Streifen die Weiterleitung und zwingt die Moleküle durch die Membranen zum Xylem. Über Adhäsion und Kohäsion kann das Wasser von dort bis ins Blatt transportiert werden, wo die Photosynthese stattfindet.^{31,32}

Die zwei treibenden Hauptprozesse des Transports sind die molekulare Diffusion und der Massenstrom (*bulk flow*). Die Diffusion folgt dabei dem ersten *Fick'schen Gesetz* und transportiert die Moleküle einer bestimmten Teilchenstromdichte J entlang eines Konzentrationsgradienten $\left(\frac{\Delta c}{\Delta x}\right)$ zu Seiten niedrigeren Gehalts mit dem Diffusionskoeffizienten D :

$$J = -D \frac{\Delta c}{\Delta x} \quad (3.1)$$

Über lange Distanzen ist diese Form des Transports ineffizient und würde viel Zeit in Anspruch nehmen. Der zweite Prozess geschieht daher über kleine Molekülgruppen, welche sich entlang eines Druckgradienten bewegen. Mathematisch kann dieser Volumenstrom $\left(\frac{\Delta V}{\Delta t}\right)$ durch das *Hagen-Poiseuille Gesetz* beschrieben werden:

$$\frac{\Delta V}{\Delta t} = -\frac{\pi r^4}{8\eta} \frac{\Delta p}{\Delta x} \quad (3.2)$$

Dabei entspricht r dem Radius des Transportkanals und Δp dem Druckgradienten entlang einer Wegstrecke Δx . Des Weiteren existiert eine eher spontane Form des Transports durch Osmose über semipermeable Membranen, welche von den beiden zuvor genannten Prozessen beeinflusst wird. Demzufolge hängt die Transportrate des Wassers von den unterschiedlichen Wasserpotentialen zwischen den Membranen und den hydraulischen Kapazitäten derjenigen ab. Eine treibende Kraft ist dabei die Wassertranspiration über die Spaltöffnungen oder Stomata des Pflanzenblattes.^{31,32}

3.2 Aufnahme und Transport von Americium und Europium

Die generelle Aufnahme von Metall-Ionen in Pflanzen verläuft nach *Campbell* in drei Schritten: 1. Stofftransport oder Diffusion des Metall-Ions aus der Lösung zur Zellmembran-Oberfläche, 2. Oberflächenkomplexierung bzw. Sorption des Metall-Ions an den Bindungsstellen der Zellmembran und 3. Aufnahme des Ions über die Membran in den Pflanzenorganismus.³⁵ Um die Aufnahme der Metall-Ionen zu erklären, wurde das *free ion activity model* (FIAM) entwickelt, nach welchem nur

die chemische Aktivität des freien Metall-Ions mit der aufgenommenen Menge korreliert. Die biologische Antwort der Pflanze hängt demnach vom Gleichgewicht der Oberflächenreaktion ab und die Aufnahme wäre limitiert durch die Anzahl der Besetzungsplätze für das Metall-Ion. Das FIAM wird widersprüchlich diskutiert, da bereits Ergebnisse aus verschiedenen Untersuchungen nicht dem Modell entsprechen. Ein Beispiel ist der Einfluss von Sulfat (SO_4^{2-}) auf die Cd Aufnahme. Bei Erhöhung der SO_4^{2-} -Konzentration und damit Bildung einer CdSO_4 -Verbindung war keine Verringerung des Cd-Gehalts in der Pflanze zu erkennen, welche nach dem Modell zu erwarten gewesen wäre.³⁶ Neuere Modelle erweitern das FIAM mit weiteren Annahmen und Ergänzungen, wie die biologische Antwort der Pflanze auf das Metall. Damit nähert sich das Modell im Hinblick auf die Komplexierung des Ions der Realität an und Abwehrreaktionen oder toxische Wirkungen von Schwermetallen können genauer abgeschätzt werden.³⁷

Im Bezug auf die Radionuklid-Aufnahme wurde als Maß für die aufgenommene Menge der *Transferfaktor* (T_f) eingeführt und beschreibt das Verhältnis von aufgenommener spezifischer Aktivität (A_{spez}) zu verbleibender Menge im Boden bezogen auf das Trockengewicht:^{38,39}

$$T_f = \frac{A_{\text{spez}}(\text{Pflanze})}{A_{\text{spez}}(\text{Boden})} \quad (3.3)$$

In der CEZ wurden bereits einige Untersuchungen im Hinblick auf die Kontamination von ^{241}Am im Boden und in Pflanzen durchgeführt und Transferfaktoren bestimmt (Tab. 3.1). Dabei zeigten *Sokolik et al.* maximale Aktivitäten von 580 Bq/kg im Boden und 4,9 Bq/kg in einer Süßgras-Art, welche 12 km vom Kernkraftwerk in Tschernobyl (ChNPP) entfernt genommen wurden.^{40,41} Die Mobilität von ^{241}Am im Boden und die Bioverfügbarkeit für Pflanzen hängt stark von den Bodeneigenschaften und der Radionuklidspezies im Boden ab. Nach *Ovsiannikova et al.* ist der Anteil der mobilen bzw. bioverfügbaren Fraktion je nach Bodentyp in der CEZ bei 2,7-29 %.³⁰

Für eine Risikoabschätzung ist nicht allein die aufgenommene Menge wichtig, da die Toxizität ebenso von der vorliegenden Spezies abhängt.⁴⁴ Um eine Speziesanalyse durchzuführen, hilft es, die Aufnahmemechanismen und Transportwege des Radionuklids in der Pflanze nachzuvollziehen. In diesem Zusammenhang ist das chemische Homolog Europium weit mehr erforscht als das Americium. *Fellows et al.* stellten eine erhöhte Eu^{3+} -Konzentration im Leitgewebe, besonders im Phloem und im sich entwickelnden Xylem-Parenchyma in Haferpflanzen (*Avena sativa*), fest. Ein inner-sphärischer und mononuklearer Komplex wird dabei

Tabelle 3.1: Transferfaktoren (T_f) von ^{241}Am in einigen, ausgewählten Pflanzenarten.

Pflanzenart (Jahr)	Probenahmeort	$T_f(^{241}\text{Am})$
Moos (1998) ⁴⁰	46 km ChNPP	$(4 \pm 1) \cdot 10^{-3}$
Kriech-Quecke (1998) ⁴⁰	12 km ChNPP	$(1,4 \pm 0,4) \cdot 10^{-4}$
Süßgräser (2001) ⁴⁰	40 km ChNPP	$(1,0 \pm 0,2) \cdot 10^{-3}$
Sommerweizen (1984) ⁴¹	Laborversuch	$(3,0 \pm 2,4) \cdot 10^{-5}$
Kartoffel, Schale (1984) ⁴²	Laborversuch	$6,8 \cdot 10^{-3}$
Kartoffel, Frucht (1984) ⁴²	Laborversuch	$9,6 \cdot 10^{-5}$
Weizen, Wurzel (2021) ⁴³	Laborversuch	$2,7 \cdot 10^{1*}$
Weizen, Blatt (2021) ⁴³	Laborversuch	$3,8 \cdot 10^{-2*}$
Weizen, Frucht (2021) ⁴³	Laborversuch	$3,5 \cdot 10^{-2*}$

*Mittelwert aus verschiedenen RefeSol-Böden

in den Wurzeln vermutet.⁵ Weitere Untersuchungen deuten auf die Aufnahme des dreiwertigen Europium durch Calcium-Transportkanäle hin.⁴⁵ Aber auch eine Bindung an bestimmte Enzyme, wie Calmodulin oder α -Amylase, wurde näher analysiert.^{46,47} *Moll et al.* vermuten in Zellsuspensionen von Raps (*Brassica napus*) Eu-Bindungen zu Carboxyl- und Phosphat-Gruppen, wobei die Ergebnisse auf drei verschiedene Spezies hindeuten.⁶ Erste Hinweise von Am-Experimenten deuten auf eine erhöhte Akkumulation in Cellulose-ähnlichen Polysacchariden der Zellwände hin.⁴

Das Ziel dieser Arbeit ist das Anknüpfen an diese Ergebnisse, um mehr Informationen über die Risikoabschätzung von Europium und Americium in Pflanzen erhalten zu können.

3.3 Die Rolle von Komplexbildnern

Als Komplexbildner werden an dieser Stelle sowohl wasserlösliche Carboxylsäuren, als auch Chelate bezeichnet, welche die Eigenschaften besitzen, Metall-Ionen zu binden. Sie weisen mehr als eine Bindungsstelle für Kationen auf, wodurch eine höhere Stabilität der Komplexe entsteht. Diese Komplexbildner kommen natürlich im Boden vor, können aber auch aus anthropogen Quellen stammen. Ein Beispiel für letzteres ist die mittlerweile ubiquitäre Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA). Besonders im Bereich der Rhizosphäre spielen organische Säuren eine große Rolle und können einen Einfluss auf die Aufnahme von Metall-Ionen ausüben. Dabei gelangen sie über Pflanzen, organisches Material und Mikroorganismen in den Boden.^{48,49}

Im Folgenden wird genauer auf die Rolle der Komplexbildner EDTA, Citrat, Malat, Oxalat und Malonat in Boden und Pflanze eingegangen. Diese sind Beispiele

für bekannte Verbindungen in beiden Kompartimenten. Ihr Einfluss auf die Aufnahme von Europium und Americium in Pflanzen wurde in dieser Arbeit näher untersucht.

EDTA

Ethylendiamintetraessigsäure, kurz: EDTA, ist ein fünf-zähliger Chelatbildner und besonders für die Komplexbildung mit zweiwertigen Kationen bekannt (Abb. 3.2). Der Komplexbildner wurde erstmals 1935 patentiert und seither in vielen Bereichen der Industrie eingesetzt. Die EDTA-Konzentration in der Umwelt, insbesondere in den Kompartimenten Boden und Wasser, steigt kontinuierlich, da nur wenige und langsame Abbaumechanismen für den Komplexbildner existieren.⁵⁰ Im Boden kann die organische Verbindung die Bioverfügbarkeit von Metall-Ionen für Pflanzen beeinflussen. *Huang et al.* zeigten beispielsweise eine erhöhte Bleiaufnahme unter Anwesenheit von EDTA.⁵¹ Ähnliches wurde von *Tawussi et al.* für Plutonium (^{238}Pu) dargestellt.⁵² Diese Erkenntnisse machen EDTA interessant für die Phytoremediation, also das Absorbieren von Schwermetallen aus belasteten Böden durch Pflanzen.

Bei der Aufnahme der Metall-EDTA-Komplexe wird ein passiver Transport ('*bypass flow*') in die Pflanze vermutet. Dieser verläuft über den apoplastischen Weg mit Überquerung des teilweise unvollständig gebildeten Casparischen Streifens, ohne die Zellmembranen zu durchqueren. Diese Öffnungen im Casparischen Streifen können üblicherweise beim Pflanzenwachstum auftreten. Ungereimtheiten in den Ergebnissen zeigen jedoch die Komplexität der EDTA-Aufnahme. *Bell et al.* untersuchten die Aufnahme verschiedener Metall-EDTA-Komplexe und konnten einen erhöhten EDTA-Transport in die Blätter mit steigender, negativer Ladung der Verbindungen feststellen. Diese beobachtete Selektivität konnte nicht allein über den passiven Transport erklärt werden und wiesen auf alternative Aufnahme- und Transportmechanismen hin.⁵³ Dabei bieten Aquaporine als Kanäle die Möglichkeit, hydrophile, organische Substanzen durch Zellmembranen zu transportieren.^{54,55} *Schaider et al.* wollten den Einfluss der negativen La-

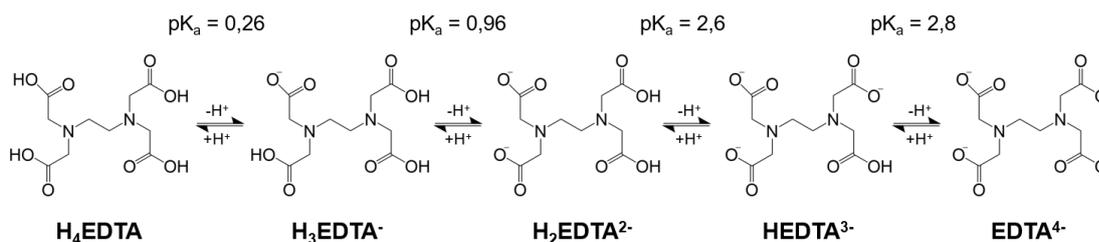


Abbildung 3.2: Strukturformel und Deprotonierung von EDTA mit pK_a -Werten.⁵⁶

derung überprüfen und untersuchten die Aufnahme der Komplexe $[\text{PbEDTA}]^{2-}$ und $[\text{CdEDTA}]^{2-}$ im Vergleich zu $[\text{FeEDTA}]^{-}$. Dabei wurden der Fe- und Pb-Komplex in ähnlicher Konzentration im Xylem identifiziert und eine Unterscheidung der Pflanze zwischen essenziellen und nicht-essenziellen Elementen vermutet.⁵⁷

Citrat

Im Gegensatz zur anthropogenen EDTA kommt das Citrat bzw. die Zitronensäure natürlich vor (Abb. 3.3). Sie ist eingruppiert als Tricarbonsäure und ein wichtiger Bestandteil im Pflanzenmetabolismus. Der *Tricarboxylic acid*-Zyklus (TCA-Zyklus) oder *Krebs*-Zyklus beschreibt im Pflanzenstoffwechsel die Energieproduktion in aeroben Zellen und findet in den Mitochondrien statt (Abb. 3.4). Er ist der zweite Schritt der Zellatmung nach der Glykolyse. Dabei wird Adenosintriphosphat (ATP) durch die Umwandlung von Pyruvat verbraucht, welches u.a. bei der Glykolyse entsteht. Des Weiteren kann Citrat zu Isocitrat umgewandelt und in das Pflanzencytosol transportiert werden, um in der Aminosäuren-Synthese mitzuwirken.^{48,58}

Ausgehend von biotischem oder abiotischem Stress führt ein weiterer Weg der organischen Säure über die Wurzeln als Pflanzenexsudat in den Boden. Diese Aussonderung von Säuren ist im Allgemeinen in einer erhöhten Enzymaktivität, je nach Auslöser und Carboxylsäure, begründet. Weit erforscht ist die Aussonderung von organischen Säuren, wie Citrat, bei Aluminium-induziertem Stress. Aluminium kann als unkomplexiertes Metall-Ion in den Energiehaushalt der Pflanze eingreifen und beispielsweise mit ATP reagieren. Die Carboxylsäure dient als Ligand zur Detoxifizierung von Aluminium im Boden. Aufgrund einer höheren Komplexbildungskonstante des Al-Citrats ($\beta_{[\text{Al}(\text{H}_2\text{Cit})]^+} = 9,32^{59}$), verglichen mit dem Al-ATP-Komplex ($\beta_{[\text{Al}(\text{ATP})]} = 7,38^{60}$), wird vermehrt Al-Citrat gebildet und das Metall-Ion hat weniger Einfluss auf den Energielieferanten im Pflanzenmetabolismus. Die toxische Wirkung wird somit reduziert. Dabei bilden sich Al-Citrat-Komplexe der Stöchiometrie 1:1 aus.^{61,62}

Weiterhin können Carboxylsäuren die Bioverfügbarkeit einiger Nährstoffe im Bo-

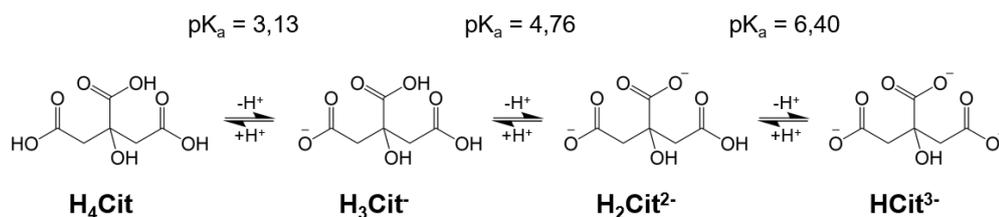


Abbildung 3.3: Strukturformel und Deprotonierung der Zitronensäure mit pK_a -Werten.⁶³

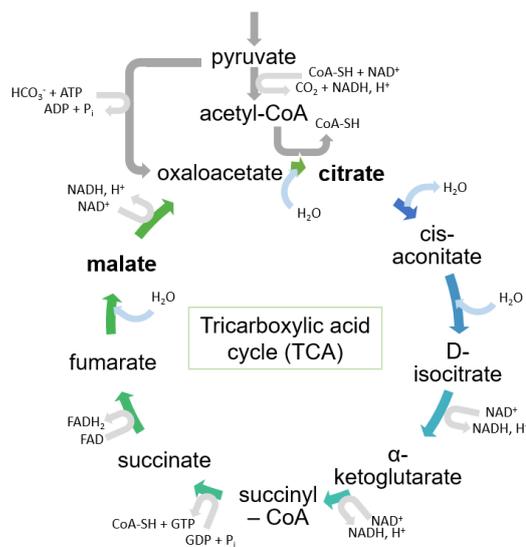


Abbildung 3.4: Schematische Darstellung des TCA-Zyklus nach Korla und Mitra.⁵⁸

den verändern. Ein Beispiel ist das essenzielle Phosphat, welches als schwerlösliche Verbindung im Boden vorliegt und durch die Aussonderung von Citrat aus der Pflanze gelöst werden kann. So wird die Mobilität des Minerals erhöht und kann von der Pflanze aufgenommen werden.^{48,64,65}

Malat

Eine weitere Carbonsäure ist die Äpfelsäure bzw. als Anion das Malat (Abb. 3.5). Es ist Teil des TCA-Zyklus und dementsprechend wichtig in der Energieproduktion der Pflanze. Des Weiteren dient Malat als Kohlenstoffspeicher für die CO_2 -Fixierung bzw. Reduktion in der sogenannten Dunkelreaktion. Der *Aspartat-Malat-Shuttle*, auch *Oxaloacetat-Malat-Shuttle*, stellt einen indirekten Transport des Energielieferanten Nicotinamidadeninindinukleotid (NADH, in oxidierter Form) über die Membran der Mitochondrien dar.^{66,67}

Neben weiteren Funktionen, wie der Beeinflussung der Stomata-Bewegung und der pH-Regulation, wird die Dicarbonsäure auch als Pflanzenexsudat ausgeschieden. Auslöser ist, ähnlich wie beim Citrat, induzierter Stress bei Pflanzen, der z.B. durch eine erhöhte Schwermetallkonzentration im Boden ausgelöst wird. Je nach Pflanzenart und Schwermetall werden bevorzugte Carboxylsäuren ausgesondert. So wurde im Roggen von Li *et al.* eine höhere Malat-Konzentration im simulierten Bodenmedium in Anwesenheit von Aluminium festgestellt.⁶⁸ Zudem weisen Forschungsergebnisse auf einen Transport von Zn-Malat aus dem Cytosol in die Pflanzenvakuolen hin, um dort zu dissoziieren und Zn-Citrat- oder Zn-Oxalat-Komplexe zu bilden. Die dadurch gebildeten Verbindungen besitzen

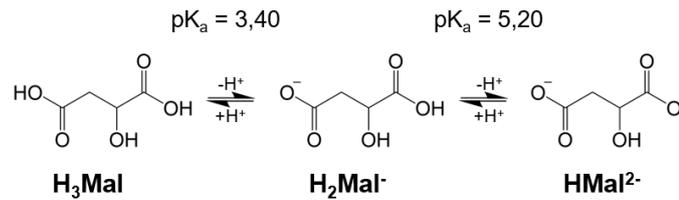


Abbildung 3.5: Darstellung der Deprotonierung der Äpfelsäure (Säure des Malats) mit pK_a -Werten.⁷⁰

höhere Komplexbildungskonstanten, können Zink stärker in der Vakuole binden und die Pflanze somit vor höheren Metallkonzentrationen schützen. Dieser Mechanismus wurde hauptsächlich in pflanzlichen Hyperakkumulatoren identifiziert. Demnach können verschiedene Carboxylsäuren unterschiedliche Funktionen, wie Transport oder Speicherung, ausüben.^{67,69}

Oxalat

Das Oxalat ist das Anion der Oxalsäure, einer Dicarbonsäure, die im Pflanzenmetabolismus eine relevante Rolle spielt (Abb. 3.6). Es wird über verschiedene Wege, wie über die Oxidation von Oxaloacetat aus dem TCA-Zyklus, gebildet. Carboxylsäuren können im Allgemeinen als Protonendonator in der Pflanze fungieren und sind so Teil der pH-Regulation in den Zellen. Dabei wird das Proton meist durch ein aufgenommenes Kation, wie Ca^{2+} , ersetzt und der Komplex in den Vakuolen gespeichert. Oxalat ist dabei ein bekannter Vertreter und bildet mit Ca^{2+} eine kristalline Verbindung in den Vakuolen, um so den Ca-Metabolismus zu regulieren. Dieser Prozess ist mit dem Stickstoff-Stoffwechsel verbunden. Aufgenommenes Nitrat reagiert mit Protonen, wird zu Ammoniak reduziert und der pH-Wert in der Zelle steigt. Um den pH-Haushalt zu regulieren, werden Protonen von den Carboxylsäuren nachgeliefert.^{71,72}

Wie die zuvor beschriebenen organischen Säuren, wird auch Oxalat bei der Detoxifizierung von Metall-Ionen gebildet. Es kann einerseits von den Wurzeln ausgesondert werden oder es bildet mit dem Metall-Ion eine unschädliche Verbindung innerhalb der Pflanze. Für den letztgenannten Fall wurden bei Aluminium-

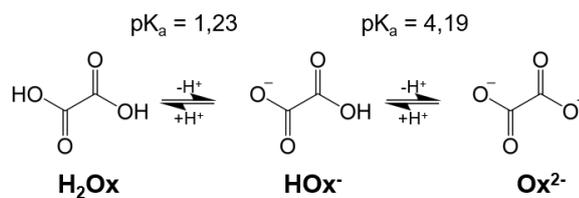


Abbildung 3.6: Darstellung der Deprotonierung der Oxalsäure mit pK_a -Werten.⁷³

induziertem Stress hauptsächlich Al-Oxalat-Komplexe mit einer Stöchiometrie von 1:3 identifiziert.^{48,72}

Malonat

Das Malonat ist das Salz der Malonsäure und in höheren Konzentrationen besonders in Gemüsepflanzen sowie krautigen Pflanzen vorhanden (Abb. 3.7). Bisher wurden wenige Untersuchungen der organischen Säure veröffentlicht. Malonat stellt ein essentielles Anion für den Stickstoff-Metabolismus dar und kann in Verbindung mit Acetyl-CoA zu Malonyl-CoA reagieren, einem *Precursor* für die Lipide-Synthese. Bei Sauerstoffmangel (Hypoxie) wurde eine Umwandlung in Malat festgestellt, welches in den TCA-Zyklus gelangt. Des Weiteren kann Malonat negative Auswirkungen auf die Pflanze ausüben: Es hemmt ein wichtiges Enzym (*Succinat Dehydrogenase*) in dem TCA-Zyklus, wodurch die Zellatmung gestört wird.^{74,75}

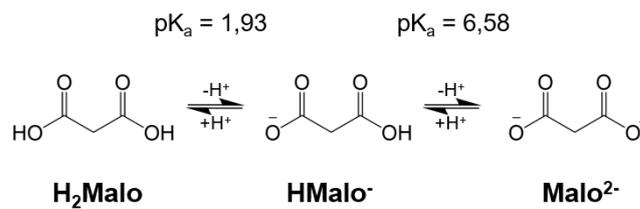


Abbildung 3.7: Strukturformel und Deprotonierung der Malonsäure mit pK_a -Werten.⁷⁰

4 | Analytische Methoden

4.1 Hochauflösende ESI-MS

4.1.1 Orbitrap™

Ein hochauflösendes Massenspektrometer eignet sich hervorragend für die Analyse von chemischen Spezies, da es sich durch eine hohe Massenauflösung und Massengenauigkeit auszeichnet. Ein bekannter Analysator ist die Orbitrap™, welche 2005 durch Thermo Fisher Scientific auf den Markt gebracht wurde. Das Messprinzip wurde in den 90er Jahren von Alexander Makarov vorgestellt und entwickelte sich aus der Ionenfalle.⁷⁶ Es handelt sich um eine zentrale, spindelförmige Elektrode, welche von einer zweiten, fassförmigen Elektrode umgeben ist (Abb. 4.1). Die Ionen werden in einem elektrostatischen Feld, bestehend aus einer Kombination von Quadrupol und logarithmischem Potential, gefangen und bewegen sich in stabilen Kreisbahnen um die Zentralelektrode entlang der z -Achse:

$$U(r,z) = \frac{k}{2} \left(z^2 - \frac{r^2}{2} \right) + \frac{k}{2} (R_m)^2 \ln \left[\frac{r}{R_m} \right] + C \quad (4.1)$$

Dabei ist r die zylindrische Koordinate des Analysators, R_m der charakteristische Radius der Ionen, k die Feldkrümmung und C eine Konstante. Von der harmonischen Oszillation der Ionen entlang der z -Achse (ω_z) kann das Masse-zu-Ladungsverhältnis (m/z) aus der Ionenladung z und der jeweiligen Masse m_i abgeleitet werden:

$$\omega_z = \sqrt{k \left(\frac{z}{m_i} \right)} \quad (4.2)$$

Die Ionen erzeugen durch ihre Bewegungen im elektrostatischen Feld eine Ladungsverschiebung auf den Elektroden. Aufgrund der Isolation beider Elektroden kann die Influenz auf der äußeren als Spannung gemessen werden. Für jedes m/z wird somit eine sinusförmige Spannungskurve erhalten, welche durch einen Verstärker verarbeitet und mit Hilfe einer *fast Fourier transformation* (FFT) in ein Signal bzw. ein Spektrum umgerechnet wird. Mit diesem Prinzip kann derzeit eine Massenauflösung $m/\Delta m$ von bis zu 480.000 und eine Genauigkeit im ppb- bis ppm-Bereich erreicht werden.^{76,77}

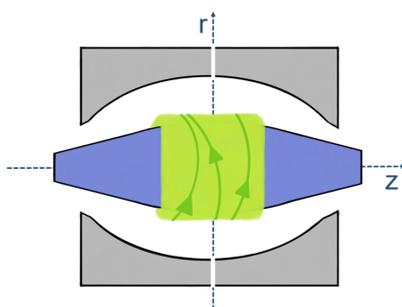


Abbildung 4.1: Schematischer Aufbau des Orbitrap™-Massenanalysators und beispielhafte Darstellung der Ionentrajektorien (grün).

4.1.2 Elektrospray-Ionisation

Um die Ionen in der Orbitrap™ messen zu können, müssen sie als Erstes durch Ionisation erzeugt werden. Dafür existieren unterschiedliche Methoden, je nach Anforderungen an die Analyse. Eine harte Ionisation, wie die Elektronenstoß-Ionisation (EI), wird für eine starke Fragmentierung von Molekül-Ionen benötigt, während bei einer weichen Ionisation die Moleküle weitestgehend intakt bleiben. Die Elektrospray-Ionisation (ESI) wird als weiche Ionisationsmethode in der Spektroskopie eingesetzt und findet unter Atmosphärendruck statt. Für die Interpretation von erhaltenden Massenspektren einer Probe ist das Verständnis über die Mechanismen der ESI äußerst wichtig. Dabei wird die zu ionisierende Lösung in eine Sprühkapillare mit einem Durchmesser im μm -Bereich gegeben, an welche eine Hochspannung im niedrigen kV-Bereich angelegt wird. Die Gegenelektrode ist dabei der Einlass zum Massenspektrometer, dem *orifice*. Durch das elektrische Feld entsteht eine Ladungstrennung in der Lösung und die Ausbildung eines TAYLOR-Konus an der Oberfläche der Kapillare (Abb. 4.2). Sind die elektrostatischen Kräfte an der Konusspitze größer als die Oberflächenspannung, entsteht ein feiner Strahl der Lösung. Dieser zerfällt in ein Elektrospray, bestehend aus kleinen Tröpfchen, welche sich aufgrund ihrer gleichartigen Ladung abstoßen (COULOMB-Abstoßung).

Der Tröpfchen-Zerfall wurde zunächst als eine COULOMB-Explosion beschrieben: Lösungsmittel verdampft aus den Tröpfchen, die Ladungsdichte an der Oberfläche steigt bis die Abstoßung der Ionen größer ist als die Oberflächenspannung. Diese ist durch das RAYLEIGH-Limit definiert als:⁷⁸

$$q = \sqrt{64 \pi^2 \epsilon_0 \gamma r^3} \quad (4.3)$$

Jedem Tröpfchenradius r ist demnach eine maximale Ionenladung q zugeordnet,

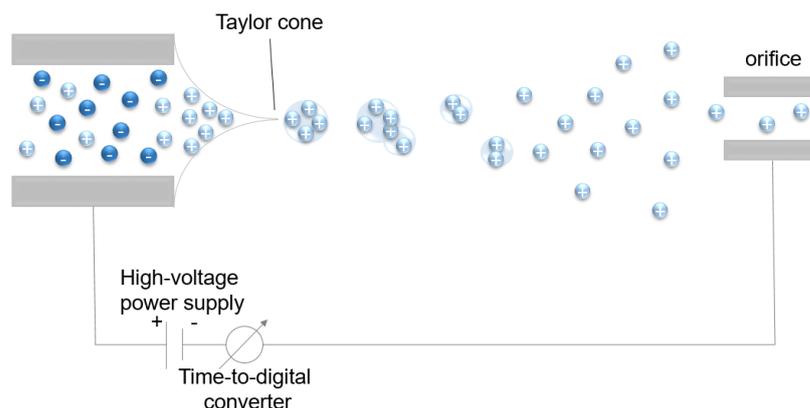


Abbildung 4.2: Elektrospray-Ionisation mit Ausbildung eines Taylor-Konus und Tröpfchenbildung. Dargestellt ist der positive Ionenmodus nach *Gross*⁷⁷.

welche von der Permittivität im Vakuum ϵ_0 und der Oberflächenspannung γ abhängt. Es kommt folglich zu einem Zerplatzen bzw. einer Explosion der Tröpfchen. Der Prozess wird kaskadenförmig wiederholt, wodurch Mikrotröpfchen ausgebildet werden. Ein weiterer Ansatz, den Tröpfchenzerfall zu beschreiben, ist mit der *Droplet Jet Fission*. Dieser Prozess beschreibt die Deformation der Tröpfchen im Flug, durch welche sich gleich geladene Ionen abstoßen und aus den Tröpfchen herausgelöst werden. Aus den resultierenden, solvatisierten Ionen entsteht das Elektrospray. Idealerweise besteht dieses aus freien Ionen in der Gasphase. In der Realität verbleiben häufig Lösungsmittel-Moleküle um die Ionen und Artefaktbildungen sind möglich.⁷⁷

Für die Beschreibung der Entstehung von Analyt-Ionen existieren verschiedene Modelle. Das Ionenverdampfungsmodell (IEM) beschäftigt sich mit der Bildung kleinerer Ionen, wie Metall-Kationen. Dabei wird ein Ion ab einer bestimmten Tröpfchengröße aus der geladenen Oberfläche herausgelöst. Ein weiteres Modell, das *charge residue model* (CRM), erklärt die Entstehung größerer Ionen, wie ionisierte Proteinen und anderen Makromolekülen: Lösungsmittelmoleküle verdampfen aus dem Tropfen, wodurch sie zerplatzen bis nur noch ein Analyt-Ion vorhanden ist. Weiterhin weisen Untersuchungen auf Protonentransfer-Reaktionen in der Gasphase hin, welche von der Protonenaffinität der verschiedenen Moleküle abhängig sind.^{77,79–81}

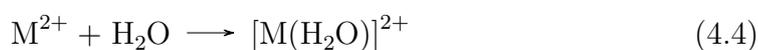
4.1.3 Artefaktbildung

Ob sich die Massenspektrometrie mit Elektrospray-Ionisation (ESI-MS) für die Abbildung der Spezies in Lösung eignet, wird vielseitig diskutiert. Neben dem Einfluss der Ionisationsbedingungen auf die Speziesbildung, wie der Temperatur

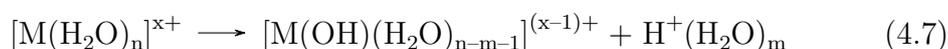
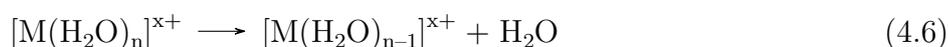
und den Spannungen am *orifice*, können Messartefakte zu einer falschen Darstellung der (real) vorliegenden Spezies führen. Der Ursprung dieser Artefakte wird auf verschiedene Entstehungsprozesse bei der Ionisation zurückgeführt, welche bis heute nicht hinreichend verstanden sind. Die Messartefaktbildungen reichen von Hydrolyse-Reaktionen über Aufkonzentrationseffekte bis hin zu pH-Werteinflüssen. Einige relevante Prozesse werden in den nachfolgenden Unterkapiteln erläutert.⁸²

Hydrolyse und Übertragungs-Reaktionen

Während des ESI-Prozesses werden kleine Tröpfchen mit dem Lösungsmittel gebildet, welche bei einer wässrigen Lösung durch H₂O-Moleküle repräsentiert sind. Moleküle oder Fragmente des Lösungsmittels finden sich sehr häufig unter den identifizierten Spezies im Massenspektrum wieder. Diese stammen aus dem Ionisationsprozess und können einerseits das Analyt-Ion vor äußeren Einflüssen schützen. Andererseits können die Moleküle des Lösungsmittels Reaktionen induzieren, welche als Hydrolyse-Reaktionen bezeichnet werden. *Beyer et al.* postulierten für einige zweiwertige Metall-Ionen (M) die Bildung von Hydroxid-Spezies durch den Protonentransfer von Wasser zu einem weiteren Wassermolekül:⁸³



Ein ähnlicher Prozess wird durch *Bush et al.* beim Verdampfen des Wassers für die Lanthanide beschrieben und führt gleichzeitig zur Reduktion von mehrfach geladenen Metall-Ionen:⁸⁴



Das Auftreten dieser Reaktionen ist dabei abhängig von der Größe der Wassercluster, den Reaktionsbedingungen und dem Zentral-Ion. Beispielsweise bewirken härtere Ionisationsbedingungen eine erhöhte Bildung der Hydroxid-Spezies aus Gleichung 4.7. Mit der *blackbody infrared radiative dissociation* (BIRD) Methode stellten die Forscher fest, dass bei niedrigem n eher die Reaktion der Ladungsübertragung dominiert. Für Eu³⁺ sind beide Reaktionen bei etwa $n = 18,5$ im Gleichgewicht. Außerdem wird ein Zusammenhang zwischen der ersten Hydrolysekonstante der Lanthanide und dem Gleichgewicht der beiden Reaktionen 4.6

und 4.7 vermutet.⁸⁴

Die Bildung der Hydrolyse-Spezies kann durch Zugabe von weiteren Anionen unterbunden werden. Diese können wiederum weitere Effekte im ESI-Prozess auslösen, wie die Übertragung von Sauerstoff auf das Analyt-Ion. Ein solcher Vorgang ist am Beispiel von Nitrat-Ionen wie folgt nachzuvollziehen:



Weitergehend kann eine O_2 Eliminierung durch einen metastabilen Zwischenzustand über $[\text{MO}(\text{O}_2)(\text{NO}_2)]^-$ zu $[\text{MO}(\text{NO}_2)]^-$ erfolgen. Dieser Mechanismus wurde für Nickel identifiziert und erreicht so ein energetisches Minimum der Bindungsenergien.⁸⁵ Bei dem dreiwertigen Aluminium verhält sich der Prozess ähnlich, verläuft über einen Nitrat-Nitrit-Zwischenzustand und den Verlust von NO_3^- , NO_3^\bullet , NO_2^\bullet und O_2 zu dem Al-Oxo-Komplex $[\text{AlO}(\text{NO}_3)_3]^-$.⁸⁶

Konzentrationseffekte

Der pH-Wert der Analyt-Lösung hat bekanntlich einen Einfluss auf die Präsenz verschiedener Spezies, aber auch pH-Verschiebungen während des ESI-Prozesses wurden bereits festgestellt. Durch das Verdampfen von Wasser verändert sich das Volumen V im Tropfen, während die Stoffmenge n nach dem chemischen Gleichgewicht erhalten bleibt. Dadurch kommt es zu einer Konzentrationserhöhung von c im Tropfen nach:

$$n_{\text{Ende}} = n_{\text{Anfang}} \Leftrightarrow c_{\text{Ende}} = \frac{V_{\text{Anfang}} c_{\text{Anfang}}}{V_{\text{Ende}}}; \quad \text{mit } n = c V \quad (4.10)$$

Im Falle der Protonen-Konzentration in Lösung sinkt der pH-Wert per Definition:

$$\text{pH} = -\log(c_{\text{H}^+}) \quad (4.11)$$

Erste Untersuchungen zeigen eine leichte pH-Verschiebung bei der Speziesanalyse von Uranyl-Ionen UO_2^{2+} und dessen Hydroxiden durch Messungen mit ESI-MS und der Fluoreszenzspektroskopie.⁸⁷ Des Weiteren kann dieser Effekt zur Aufkonzentration von Metall-Ionen und neutralen Spezies im Tropfen führen. *Steppert et al.* identifizierten diese Artefakte bei der Analyse der Polymerisation von Uranyl-Ionen.⁸⁸

4.2 Bildgebung mit Massenspektrometrie

4.2.1 ToF-SIMS

Die Analyse mit der Sekundärionen-Massenspektrometrie (SIMS) kann für die bildgebende Analyse von Feststoffproben eingesetzt werden. Dabei dient in dieser Arbeit ein Time-of-Flight Massenspektrometer (ToF) als Massenanalysator. Das erste ToF wurde bereits 1946 von dem Forscher *Stephens* erfunden.⁸⁹ Ionenpakete werden beschleunigt und in einer feldfreien Driftstrecke anhand ihrer unterschiedlichen Masse-zu-Ladungsverhältnisse m/z während des Fluges aufgetrennt. Die Zeit t , die die Ionen auf einer definierten Strecke s benötigen ist proportional zu m/z mit:

$$t = \frac{s}{2eU} \sqrt{\frac{m}{z}} \quad (4.12)$$

in Abhängigkeit von dem angelegten Potential U und der Elementarladung e . Leichte Ionen treffen demnach früher am Detektor ein als schwere Ionen. Um die Flugstrecke zu verlängern, wurde das Reflektron entwickelt. Dieses reflektiert alle Ionen in einem elektrischen Feld mit etwa der 1,05 bis 1,10-fachen Beschleunigungsspannung, wobei sich die kinetische Energie der Ionen nicht ändert. Mit dieser Technik werden höhere Massenaufösungen erreicht, wodurch derzeit gängige Modelle eine Auflösung von etwa $m/\Delta m = 10\,000$ aufweisen. Eine maximale Auflösung von $m/\Delta m = 450\,000$ ist nach aktuellem Forschungsstand möglich.^{77,90}

Um den Analyten zu ionisieren und aus der Feststoffprobe zu extrahieren, wird bei der SIMS ein Primärionen-Strahl, bestehend aus atomaren oder molekularen Ionen oder Ionenclustern verwendet. Der Primärionenstrahl wird unter Hochspannung beschleunigt und auf die Probe fokussiert. Dort angekommen werden durch elastische und inelastische Kollisionen aus den Analyten-Atomen und Molekülen Ionen erzeugt. Die dadurch entstehenden Sekundärionen werden aus der Probe *gesputtert* und in den Massenanalysator überführt. Die Entstehung eines solchen Ionenstroms folgt dabei der Gleichung:

$$I_{\text{sek},x} = I_{\text{prim}} c_x S \gamma F \quad (4.13)$$

Der Sekundärionenstroms einer Spezies x ($I_{\text{sek},x}$) ist demnach abhängig von dem Primärionenstrom I_{prim} , der Konzentration der Spezies c_x , der Sputterausbeute S , der Ionisationseffizienz γ und der Transmission im System F . Für die Ionenquelle ist die Sekundärionen-Effizienz E ebenfalls wichtig, welche von der Sputteraus-

beute und dem Abtragungsquerschnitt der Probe σ beeinflusst wird:

$$E = \frac{S}{\sigma} \quad (4.14)$$

Ein Beispiel für eine hohe Effizienz ist ein Primärionenstrahl aus Bi_3^+ -Clustern mit einem $E = 17,1 \cdot 10^8 \text{ cm}^{-2}$.⁹¹ Der Oberbegriff der häufig verwendeten Bismut-Quelle ist *liquid metal ion gun* (LMIG), welche einen fein fokussierten Ionenstrahl erzeugt. In der Theorie reicht der Primärionenstrahl zwei bis drei Atomlagen in die Probe, wird aber in der Realität durch Mehrfachkollisionen während des *Sputterns* um wenige Nanometer erhöht. Wegen der geringen Eindringtiefe gilt diese Ionisation als nicht-destruktive Methode. Dabei wird zwischen der Oberflächenanalyse (statische SIMS) und der Tiefenprofilierung (dynamische SIMS) unterschieden.⁹¹ Weitergehend beeinflusst die chemische Form des Analyten und dessen Umgebung die Ionenausbeute. Die daraus resultierenden Inhomogenitäten werden auch als Matrixeffekte bezeichnet. Dieser Effekt erschwert eine Quantifizierung der Spezies in inhomogenen Proben, wie beispielsweise organischen Systemen. Die Erstellung und Anwendung von Standards in der verwendeten Probengeometrie und -matrix kann die quantitative Analyse erst ermöglichen.⁹¹

Der gesamte schematische Aufbau eines ToF-SIMS-Systems ist in Abb. 4.3 dargestellt. Nach der Ionisation werden die Sekundärionen mit Hilfe eines Extraktors in das Massenspektrometer geleitet, anhand ihrer m/z -Verhältnisse aufgetrennt und zum Detektor fokussiert, welcher meist aus einer Mikrokanalplatte besteht. Mit Hilfe eines Analog-Digital-Konverters wird das erhaltene Ionensignal in ein digitales Signal umgewandelt.^{77,91}

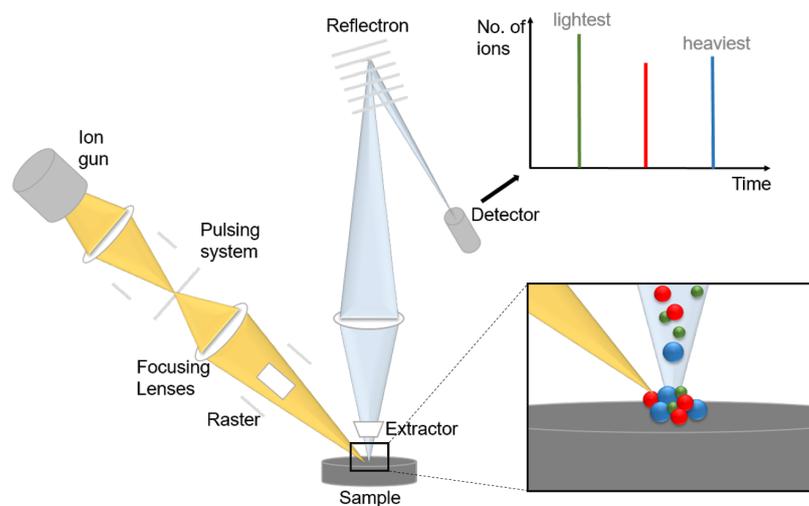


Abbildung 4.3: Schematische Darstellung einer ToF-SIMS mit gepulster Ionenquelle, Optiken und Rastereinheit sowie Extraktor, Reflektoren und Detektor nach *Fearn*.⁹¹

4.2.2 rL-SNMS

Das Messsystem der Sekundärneutralteilchen-Massenspektrometrie mit resonanter Laser-Anregung (rL-SNMS) entstand am Institut für Radioökologie und Strahlenschutz aus vorangegangenen Arbeiten.⁹²⁻⁹⁴ Der Aufbau des Analysesystems ist dem der SIMS sehr ähnlich, allerdings werden die direkt erzeugten Sekundärionen bei der rL-SNMS durch eine Gegenspannung im Extraktor unterdrückt. Somit bildet sich nach einer Wartezeit im Bereich von einigen Hundert Nanosekunden (*delay*) über der Probe eine Wolke aus *gesputterten* Neutralteilchen, welche mit fokussierten Laser-Pulsen in definierten Wellenlängen resonant angeregt werden. Durch diese gezielte Anregung einzelner Elemente können isobare Interferenzen bei Radionukliden, wie ^{241}Pu und ^{241}Am , eliminiert werden. Dabei gibt es zwei Möglichkeiten, die Anregung der Neutralteilchenwolke zu realisieren. Zum einen können sie in einen RYDBERG-Zustand angeregt werden, welcher nahe des Ionisationslimits (I_p) liegt. Die Ionisation kann anschließend über einen geringen Energieübertrag, wie über Teilchenstöße, erfolgen. Zum anderen kann ein Hüllenelektron durch den Energieübertrag von mehreren, gezielt angeregten Valenzelektronen über das Ionisationslimit angehoben werden. Solche Autoionisationszustände ermöglichen eine selektive Ionisation der Elemente und werden bei der rL-SNMS für den eindeutigen Nachweis verwendet. Die Wellenlängen der Laser sind auf das jeweils zu untersuchende Element angepasst, welche schrittweise entlang optischer Resonanzlinien in höhere Zustände angeregt werden (Abb. 4.4). Dabei sind mindestens zwei Laser-Pulse für die elementspezifische Ionisation notwendig.⁹⁵

Ein unerwünschter Nebeneffekt kann durch nicht-resonanter Laserionisation anderer Elemente auftreten, wodurch ein Atom ins Ionisationskontinuum angeregt und ein Elektron emittiert wird. Dies kann zu Überlagerungen mit dem eigent-

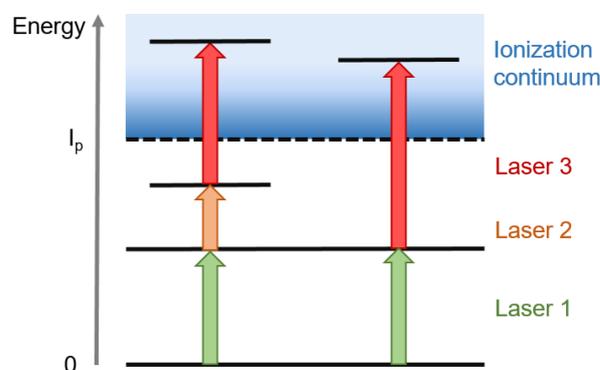


Abbildung 4.4: Schematisches Beispiel für die resonante Ionisation von Atomen nach *Walther und Wendt*⁹⁵. Gezeigt sind ein zwei- und dreistufiges Anregungsschema.

lichen Signal führen, aber durch Messung von resonantem und nicht-resonantem Signal identifiziert und gegebenenfalls korrigiert werden. Besonders bei der Messung von biologischen Proben kann dieser Effekt durch die Matrix auftreten.^{95,96}

4.2.3 Untersuchungen an Pflanzenproben

Sowohl die SIMS als auch die rL-SNMS wurden bereits an organischen Materialien getestet und Elementverteilungen mit verschiedensten Intentionen untersucht. Ein großer Vorteil ist die hohe laterale Auflösung des Ionenstrahls im Nanometerbereich und die Detektion mit einer hohen Massenauflösung $m/\Delta m$ von etwa 10 000 bei Nutzung eines ToF-Geräts. Eine vorangegangene Kalibrierung der Massen und der lateralen Auflösung ist dabei essenziell, um eine qualitative Analyse zu ermöglichen. *Iijima et al.* konnten den Wassertransport in Soja-Pflanzen durch Verwendung von deuteriertem Wasser mit einer SIMS nachvollziehen. Das Gewebe des Pflanzenstammes wies auf eine Wasserzufuhr durch das Phloem bei hohem Verdampfungsbedarf hin, während das Xylem das Wasser zum Wachstumsort in der Nacht transportiert.⁹⁷ Die Verteilung von den Lanthaniden Gadolinium und Yttrium in Maiswurzeln (*Zea mays*) wurde ebenfalls mittels SIMS analysiert und einzelne *Hotspots* in der Pflanzenhaut identifiziert. *Saatz et al.* zeigten dabei eine reduzierte Aufnahme in die Zellen aufgrund einer gebildeten Gadoliniumoxid-Phase in der Epidermis.⁹⁸ Die Nuklide ^{127}I , ^{185}Re und ^{187}Re wurden in Pflanzenteilen und auf Zellebene von Karotten (*Daucus carota*) und Erbsen (*Pisum sativum*) mit ähnlicher Vorgehensweise untersucht. Diese bilden beide vorwiegend anionische Spezies unter Normalbedingungen. Rhenium wurde als Homolog für das ^{99}Tc eingesetzt, welches im Anschluss mit rL-SNMS untersucht wurde. Erstmals konnte durch diese Messtechnik die Verteilung der genannten Elemente auf der Zellebene identifiziert werden. Die rL-SNMS Ergebnisse wiesen dabei eine Atomanzahl im Bereich von 10^{10} des ^{99}Tc in der obersten Schicht auf.⁹⁶

Diese Forschungsergebnisse zeigen das große Potential der Analysemethoden für die qualitative Untersuchung von Pflanzenproben. Die Bestimmung einer Elementverteilung für Radionuklide mit isobaren Interferenzen ist mit den üblichen massenspektrometrischen Methoden nicht möglich und kann durch die resonante Anregung realisiert werden. Außerdem werden störende Verbindungen aus der organischen Matrix eliminiert und so das Signal-zu-Rausch-Verhältnis erhöht. Hinweise auf vorliegende chemische Spezies können ebenfalls aus diesen Ergebnissen gewonnen und wichtige Indizien für die Risikoabschätzung bei Ingestion kontaminierter Pflanzen erhalten werden.

4.3 Lumineszenzspektroskopie

Die Analyse von vorliegenden Lanthanid- und Actinid-Spezies kann mit Hilfe der Lumineszenzspektroskopie durchgeführt werden. Beide Elementgruppen besitzen die Eigenschaft der schrittweisen Auffüllung der f-Orbitale mit Elektronen mit steigender Ordnungszahl. Die Anregung dieser Elektronen mit definierten Wellenlängen erzeugt eine Fluoreszenz im sichtbaren Bereich des Lichtes. Je nach Element unterscheiden sich die Elektronenkonfigurationen und die damit einhergehenden elektronischen Zustände. Demnach sind die benötigten Anregungswellenlängen und die erhaltenen charakteristischen Emissionsbanden verschieden. Im weiteren Verlauf soll die Lumineszenzspektroskopie am Beispiel von Europium näher erläutert werden.

4.3.1 Die Fluoreszenz des Europiums

Das Eu^{3+} -Ion besitzt sechs 4f-Elektronen deren Entartung durch Elektronenabstoßung, Spin-Orbit-Kopplung, Kristallfeld-Störungen und den ZEEMAN-Effekt beeinflusst werden kann. Für Eu^{3+} ergibt sich eine Anordnung der niedrigeren Energielevel im $4f^6$ -Orbital mit dem Grundzustand ${}^7\text{F}_0$ nach Abb. 4.5a. Eine optimale Anregung der Elektronen erfolgt mit 394 nm vom Grundzustand in das Energieniveau ${}^5\text{L}_6$, von wo sie strahlungslos in den ${}^5\text{D}_0$ -Zustand relaxieren. Durch diesen Mechanismus kommt es zu einem STOKES-Shift, welcher die Verschiebung des Emissionsspektrums zu höheren Wellenlängen als das Absorptionsspektrum beschreibt. Üblicherweise wird der Übergang vom ${}^5\text{D}_0$ -Zustand in die ${}^7\text{F}_J$ -Niveaus ($J = 0-6$) betrachtet, bei welchem Photonen im Bereich von 570-840 nm emittiert werden. Die Energiedifferenzen der Niveaus folgen dabei der *Landéschen Intervallregel* für die Feinstruktur und steigen proportional zu dem Gesamtdrehimpuls J an. Um die erhaltenen Spektren zu interpretieren werden die Eigenschaften der Eu^{3+} -Emissionsbanden kurz erläutert mit Fokus auf der Relaxation in die $J = 0-4$ Zustände (Abb. 4.5b).⁹⁹

${}^5\text{D}_0 \longrightarrow {}^7\text{F}_0$. Die Relaxation vom ${}^5\text{D}_0$ -Niveau in den Grundzustand ist definiert durch einen induzierten, elektrischen Dipolübergang. Er wird als induziert oder erzwungen beschrieben, da elektrische Übergänge innerhalb der Orbitale nach der *Laporte-Regel* verboten sind. Da bei einem Ion in einer Matrix die Elektronenstruktur aufgrund von Kristallfeld-Wechselwirkungen „aufgeweicht“ wird, kann ein elektrischer Dipolübergang durch vibronische Kopplungen trotzdem stattfinden. Die Intensität der resultierenden Emissionsbande ist vergleichsweise klein,

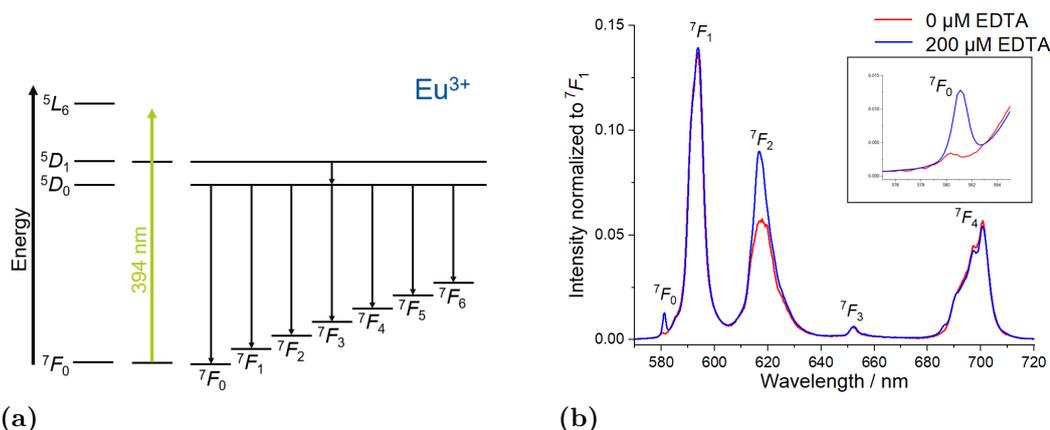


Abbildung 4.5: (a) Anregungsschema der niedrigen Energieniveaus des $4f^6$ -Zustandes des Eu^{3+} -Ions nach *Binnemans*.⁹⁹ (b) Emissionsspektrum einer Eu -HOAGLAND-Lösung mit 0 und 200 μM EDTA. Zu erkennen sind die Emissionsbanden ${}^7\text{F}_0$, ${}^7\text{F}_1$, ${}^7\text{F}_2$, ${}^7\text{F}_3$ und ${}^7\text{F}_4$.

welche mit der *Judd-Ofeld-Theorie* begründet werden kann. Des Weiteren sind Übergänge mit $\Delta J = 0$ und $\Delta L = 0$ laut der Auswahlregeln verboten und finden nur mit einer sehr geringen Wahrscheinlichkeit statt. Diese gelten streng genommen nur bei einem beteiligten Elektron und für zentrosymmetrische Atome oder Moleküle. In einigen Eu^{3+} -Spektren ist eine sichtbare Emission in den ${}^7\text{F}_0$ -Zustand zu erkennen, wozu zwei naheliegende Theorien existieren. Die Erste beschäftigt sich mit Störungen durch Kristallfelder: Haben die Wellenfunktionen der Sub-Level verschiedener J -Niveaus die gleiche Symmetrie, können sie sich vermischen (*J-mixing*) und neue J -Zustände zulassen. Die zweite Theorie beinhaltet die Vermischung von $4f^6$ -Zuständen von Atom und Ion oder Ion und Ligand, wodurch Elektronen untereinander ausgetauscht werden können (*charge transfer*). Ein solcher Übergang ist nach *Laporte-Regel* erlaubt und weist eine höhere Intensität auf.

Die ${}^7\text{F}_0$ -Emissionsbande tritt auf, wenn der Übergang durch die Symmetrie des Liganden ermöglicht wird. Dabei wurde ein Intensitätsgewinn bei asymmetrischen Komplexen festgestellt und somit als Maß für die Asymmetrie postuliert. Des Weiteren existiert für jede Eu^{3+} -Spezies eine einzige ${}^7\text{F}_0$ -Bande, mit welcher eine Abschätzung der Speziesanzahl durchgeführt werden kann. Durch Direktanregung der jeweiligen Wellenlängen können genauere Informationen über die chemische Umgebung des Eu^{3+} erhalten werden. Typischerweise befindet sich die Emissionswellenlänge in einem Bereich von 570-585 nm.^{99,100}

${}^5\text{D}_0 \longrightarrow {}^7\text{F}_1$. Der Übergang in das ${}^7\text{F}_1$ -Energieniveau hat einen magnetischen Dipolcharakter und ist nach der *Laporte-Regel* erlaubt. Bei einem magnetischen Dipolübergang wechselwirkt die magnetische Feldkomponente der Strahlung mit

dem Eu^{3+} -Ion. Daher kann die Annahme getroffen werden, dass der Relaxationsschritt in den ${}^7\text{F}_1$ -Zustand von der Umgebung unbeeinflusst ist. Die daraus resultierende Emissionsbande zwischen 585 und 600 nm wird in den Spektren meist zur Normierung verwendet.

${}^5\text{D}_0 \longrightarrow {}^7\text{F}_2$. Eine Besonderheit ist die Relaxation in das ${}^7\text{F}_2$ -Niveau dar: Sie stellt einen hypersensitiven Übergang dar und ist durch einen elektrischen Dipolübergang definiert. Die Hypersensitivität folgt einer eigenen Auswahlregel mit $|\Delta S| = 0$, $|\Delta L| \leq 2$ und $|\Delta J| \leq 2$ und wird als pseudo-Quadrupol Übergang bezeichnet. Die Intensität der resultierenden Emissionsbande steigt mit am Europium gebundenen Liganden im Vergleich zum Eu^{3+} -Aquo-Ion deutlich an (Abb. 4.5b). Dabei geht dieses Phänomen nicht nur auf einen Ursprung, wie eine Symmetrieänderung, zurück, sondern wird stark von seiner Umgebung beeinflusst. Der genaue Mechanismus hinter der Hypersensitivität ist bis heute nicht eindeutig geklärt. Bisher ist bekannt, dass der Prozess mit einem erhöhten Übergangsmatrixelement, d.h. einer erhöhten Wahrscheinlichkeit des Übergangs, einhergeht. Die Emissionsbande ist in einem Bereich von 610 bis 630 nm zu erkennen und definiert die charakteristische Fluoreszenz des dreiwertigen Europiums. Bei der Interpretation von Emissionsspektren wird das Verhältnis aus ${}^7\text{F}_2$ - zur ${}^7\text{F}_1$ -Bande häufig als Maß für die Komplexbildung eingesetzt.⁹⁹

${}^5\text{D}_0 \longrightarrow {}^7\text{F}_3$. Ähnlich wie die Relaxation in das ${}^7\text{F}_0$ -Niveau ist auch dieser Übergang nach der *Judd-Ofeld-Theorie* verboten. Der induzierte, elektrische Dipolübergang ist daher schwach ausgeprägt und weitestgehend unabhängig von der chemischen Umgebung des Eu^{3+} -Ions. Erhöht werden kann die Intensität der Emissionsbande durch die bereits erwähnte Kristallfeld-Störung und das *J-mixing*. Sichtbar wird die Bande bei 640-660 nm.⁹⁹

${}^5\text{D}_0 \longrightarrow {}^7\text{F}_4$. Die ${}^7\text{F}_4$ -Emissionsbande resultiert ebenfalls aus einem elektrischen Dipolübergang und wird von der Umgebung des Lanthanid-Ions beeinflusst. Da dieser Übergang keine Hypersensitivität aufweist, wird er bei der Interpretation seltener betrachtet, weil das ${}^7\text{F}_1/{}^7\text{F}_2$ -Verhältnis mehr Informationen über die chemische Umgebung des Eu^{3+} -Ions liefert. Dennoch kann diese Bande für manche Spezies charakteristisch erscheinen und bei der Analyse hilfreich sein. Sie befindet sich üblicherweise zwischen 680 und 710 nm im Emissionsspektrum.⁹⁹

Die Übergänge in das ${}^7\text{F}_5$ und ${}^7\text{F}_6$ -Energieniveau werden meist nicht berücksichtigt, da die Intensitäten und der Informationsgewinn gering ausfallen.⁹⁹

4.3.2 Zeitaufgelöste Emissionsspektroskopie

Neben den Emissionsspektren kann auch die Lebensdauer der Fluoreszenz τ durch Anlegen eines *delays*, d.h. eine zeitversetzte Messaufnahme, ermittelt werden. Die Intensitätsabnahme der Fluoreszenz $I(t)$ folgt dabei einer Exponentialfunktion erster Ordnung:

$$I(t) = \sum_i I_{0,i} e^{-\frac{t}{\tau_i}} \quad (4.15)$$

Mit I_0 als Ausgangsintensität und der Zeit t für die Spezies i . Anhand von Anlegen eines exponentiellen Fits kann die Lebensdauer der Eu^{3+} -Spezies abgeschätzt werden. Diese Messmethode wird als zeitaufgelöste Laser-Fluoreszenz-Spektroskopie (TRLFS) bezeichnet. Generell erfolgt die Abnahme der Fluoreszenz im Bereich von 10^{-12} - 10^{-7} s und ist damit deutlich kurzlebiger als die Phosphoreszenz (10^{-3} - 10 s). Bei Eu^{3+} -Verbindungen liegen die Lebensdauern im Bereich von 10^{-6} - 10^{-5} s, werden aber trotzdem der Fluoreszenz zugeordnet. Grund dafür ist der Übergang aus einem angeregten Singulettzustand bei diesem Prozess, wobei die Aussendung des Photons ohne Spin-Umkehr erfolgt und somit Spin-erlaubt ist. Die Phosphoreszenz verläuft nach strahlungsloser Desaktivierung und Spin-Umkehr (*Intersystem Crossing*) aus einem angeregten Triplettzustand, welcher Spin-verboten ist. Daraus resultiert eine deutlich längere Lebensdauer. Eine schematische Darstellung der Emission von Photonen ist in Abb. 4.6a anhand eines vereinfachten JABLONSKI-Diagramms aufgeführt.

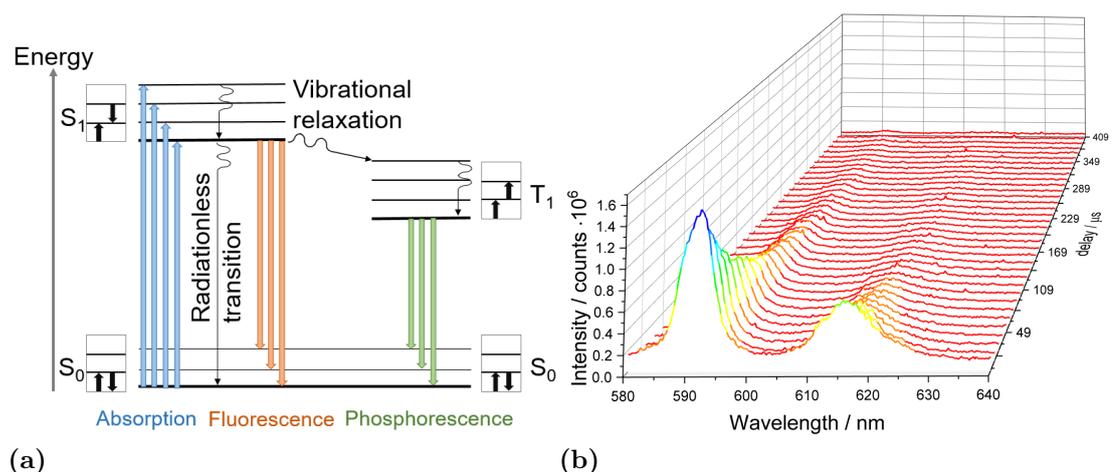


Abbildung 4.6: (a) JABLONSKI-Diagramm (vereinfacht) zur Darstellung der Wechselwirkungen von elektromagnetischer Strahlung mit Materie nach *Lakowicz*¹⁰¹. Gezeigt sind elektrische Übergänge vom Grundzustand (S_0) in einen angeregten Singulettzustand (S_1) und Triplettzustand (T_1) und deren Relaxation durch Fluoreszenz und Phosphoreszenz. (b) Aufnahme einer Lebensdauerermessung des Eu^{3+} -Aquo-Ions mit $[\text{Eu}] = 1$ mM nach Anregung bei 266 nm.

Ein weiterer Prozess, der für eine schnellere Fluoreszenzabnahme sorgt, ist das *Quenching*. Dabei wird Energie strahlungslos an umliegende Moleküle über Schwingungen abgegeben. *Horrocks et al.* untersuchten die Auswirkungen von benachbarten Wassermolekülen des Eu^{3+} -Ions auf die Lebensdauer der Fluoreszenz.¹⁰² Die Moleküle besitzen eine vierte Oberschwingung im ähnlichen Energiebereich wie der angeregte ${}^5\text{D}_0$ -Zustand, wodurch ein effizienter Übertragungsweg entsteht und die Fluoreszenzlebensdauer des Eu^{3+} -Aquo-Ions auf $\tau = 110 \mu\text{s}$ verkürzt wird (Abb. 4.6b). Im Vergleich zum H_2O -Molekül liegt beim D_2O die sechste Oberschwingung in diesem Bereich, woraus ein weniger effizienter Energieübertrag entsteht und die Lebensdauer auf $\tau = 2700 \mu\text{s}$ ansteigt. Aus diesen Erkenntnissen wurde eine Gleichung zur Berechnung der Anzahl umliegender Wassermoleküle in der ersten Koordinationssphäre des Eu^{3+} -Ions hergeleitet¹⁰²:

$$n(\text{H}_2\text{O}) \pm 0,5 = \frac{1,07}{\tau} - 0,62 \quad (4.16)$$

mit τ in Millisekunden. Aus experimentellen Befunden ergab sich für das Eu^{3+} -Aquo-Ion eine Spezies $[\text{Eu}(\text{H}_2\text{O})_9]^{3+}$ mit neun Wassermolekülen in der ersten Koordinationssphäre.⁸ Anhand der Berechnung von $n(\text{H}_2\text{O})$ nach der HORROCKS-Gleichung 4.16 können Abschätzungen über Anzahl besetzter Koordinationsplätze von Liganden in der ersten Koordinationssphäre des Eu^{3+} -Ions durchgeführt und Hinweise auf den Bindungszustand gewonnen werden.

4.4 Modellierung von chemischen Spezies in Lösung

Die theoretische Berechnung von verschiedenen chemischen Spezies und deren Verhalten spielt in der Hydrogeochemie eine wichtige Rolle. Dabei werden experimentelle Befunde auf theoretische Systeme angewandt, um die Verteilung im definierten System zu bestimmen. In Hinblick auf die potentielle Verteilung von Radionukliden im Gestein oder Boden nach der Endlagerung in einem geologischen Tiefenlager ist dieses Thema auch für die Radioökologie äußerst relevant. In dieser Arbeit wird die Verteilung von chemischen Europium- und Americiumspezies im wässrigen Nährmedium einer Pflanze, dem HOAGLAND-Medium, betrachtet.

Bei den theoretischen Berechnungen stehen vor allem die Wechselwirkungen gelöster Spezies untereinander im Vordergrund. Das Massenwirkungsgesetz dient als Grundlage der thermodynamischen Bildungskonstanten für eine Reaktion mit

den Beispiel-Molekülen A, B, C und D:



$$K = \frac{[C]^c [D]^d}{[A]^a [B]^b} \quad (4.18)$$

K beschreibt die thermodynamische Gleichgewichtskonstante und kann auf verschiedene Reaktionen, wie die Komplexbildung mit der Konstanten β , übertragen werden. Um die experimentell erhaltenen Konstanten auf Standardbedingungen ($T = 25 \text{ °C}$, $p = 1,013 \text{ bar}$) zu beziehen, wird die *Van't Hoff'sche Gleichung* (Gl. 4.19) bzw. eine Umformung auf den Druck (Gl. 4.20) verwendet:

$$\log K = \log K_0 + \frac{H^0}{2,303R} \frac{T_K - T_{K0}}{T_K T_{K0}} \quad (4.19)$$

$$\ln K = \ln K_{\text{SDD}} - \frac{\Delta V}{TR\kappa} \ln \frac{\rho(p)}{\rho_{\text{SDD}}} \quad (4.20)$$

Dabei entspricht K_0 der Gleichgewichtskonstante bei Standardtemperatur, H^0 der Standardreaktionsenthalpie, R der allgemeinen Gaskonstante, T_K der experimentellen Temperatur in Kelvin und T_{K0} der Standardtemperatur in Kelvin. Bei der Umformung zum Druck ist K_{SDD} definiert durch die Gleichgewichtskonstante bei Sättigungsdampfdruck, ΔV durch die Volumenänderung der Reaktion, κ durch die isotherme Kompressibilität des Wassers, $\rho(p)$ ist die Dichte des Wassers beim Druck p und ρ_{SDD} diese bei Sättigungsdampfdruck.

Weitergehend können die Wechselwirkungen der Ionen anhand der Betrachtung von Gleichgewichtskonstanten und Aktivitäten in Lösung ermittelt werden. Dabei wird zunächst die Ionenstärke nach

$$I = \frac{1}{2} \sum_i m_i z_i^2 \quad (4.21)$$

mit den Molalitäten der Ionen m_i und der Ladung z_i berechnet. Diese wird benötigt, um eine genaue Abschätzung der Aktivitätskoeffizienten f_i in Lösung zu erhalten. In der Ionendissoziationstheorie wird die *Debye-Hückel-Gleichung* als Näherung verwendet und mit steigender Ionenstärke durch verschiedene Terme ergänzt. Für Ionenstärken kleiner als 0,005 mol/kg gilt:

$$\log(f_i) = -A z_i^2 \sqrt{I}; \quad \text{für } I < 0,005 \text{ mol/kg} \quad (4.22)$$

$$\text{mit } A = \frac{1,82483 \cdot 10^6 \sqrt{\rho}}{(\epsilon T_K)^{3/2}} \quad (4.23)$$

Dabei ist A ein temperaturabhängiger Parameter, bestehend aus der Dichte ρ , der Dielektrizitätskonstante ϵ und der Temperatur in Kelvin T_K . Bei der Theorie gelten die Annahmen, dass nur COULOMB-Wechselwirkungen vorliegen, die Ionenstärke nicht die Ionengröße ändert und Ionen gleichen Vorzeichens nicht miteinander wechselwirken. Sie gilt nur für Lösungen mit niedriger Ionenstärke bis maximal 1 mol/kg, da die vereinfachten Annahmen ab diesem Wert nicht mehr erfüllt werden. Eine weitere Möglichkeit der Beschreibung von Wechselwirkungen der Ionen in Lösung ist die Ioneninteraktionstheorie mit dem bekannten Modell nach PITZER und die *spezifische Ioneninteraktionstheorie* (SIT). Beide beruhen auf der *Debye-Hückel-Gleichung* und berücksichtigen Interaktionen der Ionen durch Ergänzung eines weiteren Berechnungsterms. Experimente zeigen eine genauere Übereinstimmung der beiden Modelle bei höheren Ionenstärken.^{103,104} Ein Programm für die Berechnung von chemischen Speziesverteilungen in Lösung ist PHREEQC, welches auch in der Hydrogeochemie häufig Verwendung findet. Es verwendet Ionenassoziation, PITZER- und SIT-Gleichungen, um die vorliegenden chemischen Spezies zu ermitteln. Dabei wird ein System-Gleichgewicht angestrebt, um auch mögliche Gas- und Festphasen miteinbeziehen zu können. Eine zusätzliche Angabe des Redoxpotentials der vorliegenden Lösung ermöglicht eine Bestimmung der Verteilung von redox-sensitiven Elementen und die Möglichkeit zur Darstellung von Prädominanzdiagrammen (pH-Eh-Diagramme). Für die Berechnungen wird eine thermodynamische Datenbank benötigt, welche der Verantwortung des Nutzers obliegt. Diese Daten besitzen einen großen Einfluss auf die Ergebnisse und sollten aus referenzierten Quellen verwendet werden.^{105,106}

5 | Experimenteller Aufbau

5.1 Pflanzenaufzucht und Kontamination

Als zu betrachtende Nutzpflanze wurde *Secale cereale* L. (Winterroggen) vom *Bioland Hof Jeebel* (Salzwedel, Deutschland) verwendet. Die Pflanze zählt zu den Süßgräsern und ist eine Unterart der Samenpflanzen. Roggen wird hauptsächlich in Europa angebaut und stellt ein wichtiges Getreide für die menschliche Ernährung dar. Der Winterroggen ist winterresistent und keimt nur nach einer Kälteperiode. Außerdem ist er besonders robust gegenüber Schwermetallen.

Die Pflanzen wurden im flüssigen Nährmedium, der HOAGLAND-Lösung, aufgezogen. Die Zusammensetzung dieser Lösung ist in Tab. 5.1 dargestellt und beinhaltet alle wichtigen Nährstoffe für das Pflanzenwachstum, darunter den Zusatz von EDTA für eine erhöhte Fe-Aufnahme. Für die Speziesanalyse in Pflanzen ist es relevant die vorliegenden chemischen Spezies in der Wurzelumgebung zu kennen, welche mit einer Nährlösung deutlich vereinfacht wird.^{107–110}

Zur Anzucht wurden die Samen in feuchtem Zellulose-Papier eingelegt und für fünf Tage bei Raumtemperatur im Dunkeln gelagert. Wenn die Keimlinge eine Größe von mindestens 2-3 cm erreichten, wurden sie in mit HOAGLAND-Lösung gefüllten 1,5-L Boxen überführt (Abb. 5.1a). Ein Schlauch mit Luftzufuhr gewährleistete einen konstanten Sauerstoffgehalt in der Nährlösung. Anschließend wuchsen die Pflanzen zwei Wochen in einer Klimakammer mit einem Tag/Nacht-Zyklus von 18/6 h bei $22 \pm 1/18 \pm 1$ °C unter einer Kalt-Fluoreszenz-Lampe bei

Tabelle 5.1: Ausgewählte Zusammensetzung der HOAGLAND-Lösung für die Pflanzenaufzucht mit $\text{pH} = 5,1 \pm 0,01$ und $\text{Eh} = 570 \pm 60$ mV.

Substanz	$c / \mu\text{M}$
KNO_3	1000
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	300
$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	200
$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	100
H_3BO_3	5
$\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	2
$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$	1
$\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$	1
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$	0,08
H_2MoO_4	0,06
$\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$	0,03

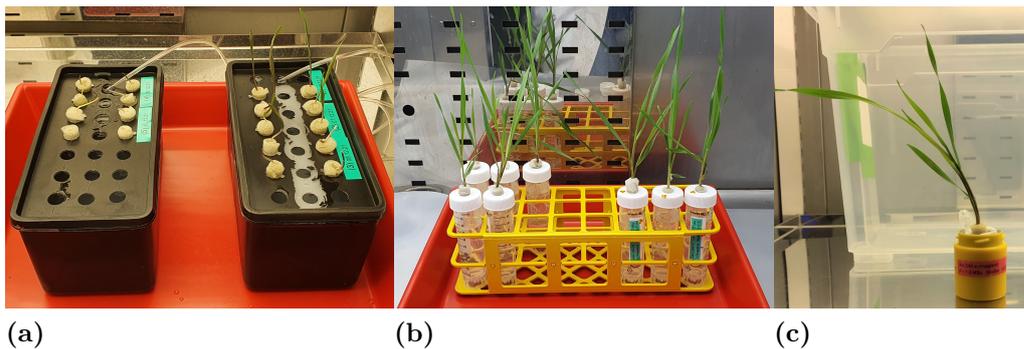


Abbildung 5.1: (a) Aufzucht von *Secale cereale* L. im HOAGLAND-Medium unter Luftzufuhr über einen Schlauch in die Lösung wenige Tage nach dem Umsetzen der Keimlinge. (b) Kontamination von *Secale cereale* L. mit $[Eu] = [Am] = 100 \text{ nM}$ und (c) $[Am] = 1 \text{ mM}$ in einem Bleigefäß.

einer Bestrahlungsstärke von $120 \mu\text{E}/\text{m}^2\text{s}$.

Um die aufgenommene Menge von Europium in den Winterroggen zu analysieren, wurde $\text{Eu}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ zu der HOAGLAND-Lösung zugegeben. Neben einer Kontroll-Lösung ohne Eu-Zugabe wurden Eu-Konzentrationen von 1, 5 und 10 mM für diese Experimente verwendet. Es wurde eine Kontaktzeit von fünf Tagen gewählt und drei Parallelproben untersucht. Dabei wurde eine niedrigere Phosphat-Konzentration ($[\text{NH}_4\text{PO}_4] = 25 \mu\text{M}$) verwendet, um das Ausfällen von schwerlöslichem EuPO_4 zu vermeiden. Für die bessere Vergleichbarkeit der Ergebnisse mit der später folgenden Zugabe von Komplexbildnern wurde eine EDTA-Konzentration von $20 \mu\text{M}$ zugegeben.

Um die Auswirkung von Komplexbildnern auf die Eu-Aufnahme zu analysieren, wurde eine Konzentration von $[Eu] = 5 \text{ mM}$ verwendet und kein Fe-EDTA in die HOAGLAND-Lösung zugegeben. Die Konzentrationen der Komplexbildner waren wie folgt: EDTA mit 20, 200, 2000 μM , Citrat und Malonat mit jeweils 20, 200 μM und Oxalat mit 20 μM . Bei 200 μM Oxalat bildete sich ein weißer Niederschlag, weshalb die Lösung nicht verwendet wurde. Die Pflanzen wurden fünf Tage in den Lösungen inkubiert und jeweils drei Parallelproben untersucht. Die pH-Werte der Lösungen wurden vor und nach Pflanzenkontakt mit einer pH-Referenzsonde mit einem Standardfehler von $\pm 0,01$ bestimmt. Die Experimente wurden im Rahmen einer Bachelorarbeit durchgeführt, welche im Zusammenhang mit dieser Arbeit geplant und betreut wurde.¹¹¹

Die Am-Kontamination erfolgte mit zwei Ansätzen: Zum einen wurden 50 mL einer 100 nM ^{243}Am -Lösung ($A = 9 \text{ kBq}$) in Zentrifugenröhrchen hergestellt

(Abb. 5.1b) und zum anderen 1 mL einer 1 mM ^{243}Am -HOAGLAND-Lösung ($A = 1,8 \text{ MBq}$) vorbereitet. Letztere wurde in ein Eppendorf-Tube gefüllt und mit einem Bleigefäß umschlossen (Abb. 5.1c). Für die Konzentrationsbestimmung der 100 nM-Pflanzen wurden drei Parallelproben untersucht und die Standardabweichung bestimmt. Dagegen wurde für die 1 mM ^{243}Am -Lösung aus Strahlenschutzgründen nur eine Pflanze vorbereitet und analysiert. Das Experiment fand dabei in einer verschlossenen Plastikbox mit Luftlöchern und darüber liegendem Filterpapier unter kontrollierten Bedingungen in der Klimakammer statt. Mit diesem Aufbau konnte eine potentielle Kontamination der Umgebung ausgeschlossen werden. Die Pflanze wurde stehen gelassen bis die komplette Lösung aufgenommen wurde. Dies entsprach einer Inkubationszeit von drei Tagen. Vergleichsexperimente mit stabilem Europium wurden nach dem selben Prozedere durchgeführt.

Die Ernte der Pflanzen unterscheidet sich je nach verwendeter Analysetechnik und wird daher in den nachfolgenden Kapiteln näher erläutert. Eine Gemeinsamkeit besteht im Waschen der Wurzeln nach der Ernte, um adsorbierte Elemente und Verbindungen von der Oberfläche möglichst zu entfernen.

5.2 Konzentrationsbestimmung und Lokalisierung der Elemente

5.2.1 Quantitative Analyse mittels ICP-MS

Zum einen wurden die Pflanzen, kontaminiert mit den verschiedenen Eu-Konzentrationen, im Hinblick auf die aufgenommene Menge des Elements untersucht. Zum anderen erfolgte eine Analyse der Kinetik der Aufnahme von Europium in den Winterroggen über max. sieben Tage. Dabei wurden täglich Proben der mit 5 mM Europium inkubierten Pflanzen analysiert. Da für die jeweilige Messung die Pflanze komplett aufgeschlossen werden musste, wurden für jede Bestimmung drei Parallelproben angesetzt. Nach der Kontaminationszeit wurden die Pflanzen geerntet und mit einem Schnitt über dem Wurzelhals in die Bestandteile Blatt und Wurzel unterteilt. Die Pflanzenteile wurden bei 105 °C getrocknet, für die Bestimmung des Trockengewichts gewogen, verascht und durch einen Mikrowellenaufschluss mit 10 mL einer 3 mM HNO_3 aufgeschlossen. Nach dem anschließenden Verdampfen der restlichen Säure wurden sie in 2 % HNO_3 überführt und für die nachfolgende Messung verdünnt.

Die Konzentrationsbestimmungen erfolgte mit einem Massenspektrometer mit induktiv-gekoppeltem Plasma (ICP-MS), einer iCAPQ™ von Thermo Fisher Scientific. Es wurden Standardreihen für das jeweilige Element hergestellt und die Messergebnisse anhand des Kalibrationsverfahrens nach DIN 38402 Teil 51 ausgewertet.¹¹² Des Weiteren wurden durch die Anwendung der DIN 32645 (2008) die charakteristischen Grenzen bestimmt.¹¹³

5.2.2 Verteilung in der Pflanzenzelle

Eine Methode zur Analyse der Verteilung von Europium innerhalb der Pflanzenzelle wurde in einer vorangegangenen Bachelorarbeit in Anlehnung an eine Methode von *Weigel et al.* untersucht und im Rahmen dieser Arbeit betreut.^{114,115} Der Winterroggen wurde in Wurzel und Blatt unterteilt und mit flüssigem Stickstoff eingefroren. Die darauf folgenden Schritte wurden bei unter 4 °C in einer Eisbox und mit flüssigem Stickstoff durchgeführt. Mit einer Kugelmühle (18 Hz) konnten die eingefrorenen Pflanzenteile 30 s zerkleinert und eine 1 mL Pufferlösung aus 50 mM TRIS-HCl, 250 mM Saccharose und 1 mM Dithioerythritol zugegeben werden. Der Puffer gewährleistete die Unversehrtheit der Zellen während der darauf folgenden Zerkleinerung für 5 s. Durch das Ausspülen des Kugelmühlen-Gefäßes mit weiterer Pufferlösung konnte die gesamte Zelllösung in ein Eppendorf-Tube überführt werden. Es folgten zwei Zentrifugationsschritte, um Zellwand, Zellorganelle und eine lösliche Fraktion anhand ihrer Dichte von einander zu trennen. Die Zellwand blieb als Rückstand nach 15 min bei etwa 1300 rpm zurück, während die Zellorganellen bei etwa 15 000 rpm für 30 min abgetrennt wurden. Übrig blieb die lösliche und leichteste Fraktion der Pflanzenzelle. Es wurde jeweils eine Kontrollprobe und eine Eu-Probe nach diesem Schema präpariert.

Die Eu-Konzentration in den Zellkompartimenten wurde wie in Kapitel 5.2.1 beschrieben mit der ICP-MS gemessen und ausgewertet.

5.2.3 Elementlokalisierung in der Pflanze durch REM-EDX

Für die Bestimmung des Transportweges von Europium wurden die Pflanzen nach der Inkubation mit 10 mM verwendet und mit einem Skalpell in kleinere Segmente aufgeteilt. Es wurden Querschnitte von etwa 1 mm Dicke angefertigt und auf einem Aluminium-Träger mit einer Kohlenstoff-Klebefolie befestigt. Die Proben konnten mit einem Rasterelektronenmikroskop (REM) im *back-scattered electron*-Modus (BSE) gemessen werden. Zur Identifikation von Europium und weiterer Elemente wurde die Energie-dispersive Röntgenspektroskopie (EDX) verwendet.

Die Analysen fanden an einem SEM Philips XL30 gekoppelt mit einem EDX von RemX GmbH statt. Dabei wurden ein Niedrigvakuum von 1 mbar und eine Beschleunigungsspannung von 30 kV für die Messungen der biologischen Proben gewählt.

5.2.4 Ortsaufgelöste Analyse mit SIMS und rL-SNMS

Der Winterroggen, inkubiert mit Americium (1 mM) und Europium (1 mM und 5 mM), wurden für die ortsaufgelöste Analyse mittels SIMS und rL-SNMS ausgewählt. Dafür wurden die Pflanzenteile Wurzel und Blatt zunächst separat in einem Puffer aus 4,6 %_{w/v} Glycerin und 13,7 %_{w/v} Saccharose für 10 min platziert. Danach folgt das Einlegen in eine Lösung aus 50 %_{w/v} Glycerin und 50 %_{w/v} Saccharose für 30 min. Diese Schritte sind nötig, um das Pflanzengewebe während der Präparation und Messung intakt zu halten. Nach dem Entfernen überschüssiger Lösung wurden die Pflanzenteile in einem Probenhalter mit einem flüssigen Kleber (Richard-Allan Scientific™ Neg-50™, Thermo Fisher Scientific) eingebettet und eingefroren. Der Kleber bleibt nach dem Einfrieren fest und gewährleistet die Stabilität der 10 µm dicken Pflanzenschnitte. Diese wurden mit einem Kryomikrotom (CryoStar NX50, Thermo Fisher Scientific) bei -15 °C angefertigt. Eine Schnittkontrolle erfolgte mit einem Lichtmikroskop nach Überführung der Probe auf einen Glasträger. Für die SIMS und rL-SNMS Messungen wurde ein Aluminiumblock, aufgrund der benötigten Leitfähigkeit, als Probenträger verwendet.⁹⁶

Die Analyse erfolgte mit dem Gerät TOF.SIMS 5 von IONTOF GmbH mit einer Bi₃⁺-Ionenquelle und 30 kV Beschleunigungsspannung im „*fast imaging*“-Modus (Pulsbreite 100 ns). Ein *delay* von 360 ns wurde für die Messung der SIMS eingestellt und eine Auflösung von $m/\Delta m = 5700$ sowie eine laterale Auflösung von 300 nm erreicht.

Für die Analyse von Americium mit Hilfe der rL-SNMS wurde ein zwei-Stufen-Anregungs-schema mit 23 437,000 cm⁻¹ bei 6,1 mW und 25 033,570 cm⁻¹ bei 30,6 mW angewendet.⁹³ Am Extraktor wurde eine Gegenspannung von 500 V angelegt. Nach einem *delay* von 600 ns wurden die Laser in das System geleitet und die Americiumatome angeregt, ionisiert und analysiert. Im sogenannten *spectrometry*-Modus wird eine Massenauflösung $m/\Delta m$ von etwa 10 000 erhalten.

5.3 Speziesbestimmung in Lösung und Pflanze

5.3.1 Modellierung der Speziesverteilung

Für die Speziesanalyse in Pflanzen spielen die vorliegenden chemischen Verbindungen in der HOAGLAND-Lösung und die gebildeten Komplexe mit Europium und Americium eine wichtige Rolle. Um experimentelle Ergebnisse zu verifizieren, wurden theoretische Berechnungen mit PHREEQC durchgeführt.¹⁰⁶ Die graphische Darstellung erfolgte mit PhreePlot, welches PHREEQC als Berechnungsgrundlage verwendet.¹¹⁶ Eine Beispieldatei mit den entsprechenden Werten und Befehlen ist dem Anhang zu entnehmen (Abb. A.2.1).

Die *ThermoChimie*-Datenbank von Andra (French National Radioactive Waste Management Agency) wurde für die thermodynamischen Daten verwendet, welche die Konstanten der Radionuklide aus der *Thermodynamical Database* der Nuclear Energy Agency (NEA-TDB) beinhaltet.¹¹⁷ Da diese keine Daten für Eu-EDTA-Komplexe enthält, wurden alle Eu-Spezies aus dem *Joint Expert Speciation System* (JESS) herausgefiltert.¹¹⁸

5.3.2 Extraktionsexperimente

Die Extraktion erfolgte im Anschluss an die Pflanzenkontamination mit 5 mM Europium und deren Ernte sowie der Aufteilung in Blatt und Wurzel des Winterroggens. Nach Einwaage der frischen Pflanzenteile (etwa 50-70 mg) wurden diese mit flüssigem Stickstoff eingefroren und in einer Kugelmühle bei 18 Hz für 30 s gemahlen. Anschließend erfolgte die Zugabe von 200 μL eines Methanol-Wasser-Gemisches (Volumenverhältnis 3:1) und weiterem flüssigen Stickstoff, um die Temperatur bei etwa 4 °C zu halten. Ein weiterer Mahlschritt für 60 s sorgte für die Extraktion der Proben. Um eine homogene Lösung ohne Pflanzenpartikel zu erhalten, wurde die Lösung bei etwa 15 000 rpm für 30 min zentrifugiert, 100-200 μL in ein neues Gefäß pipettiert und bei Bedarf mit einem Spritzenvorsatzfilter (0,45 μm) gefiltert. Die Speziation erfolgte anschließend mit der ESI-MS, wobei die Proben bis zur Messung im Gefrierschrank gelagert wurden. Die verwendeten Messparameter sind dem nachfolgenden Kapitel zu entnehmen.

5.3.3 Analyse mit ESI-MS

Mit der hochauflösenden ESI-MS wurden sowohl chemische Spezies in Extraktionsproben aus den Pflanzen als auch in der Nährlösung (Eu, Am) identifiziert. Dabei wurden die Extraktionslösungen wie in Kapitel 5.3.2 vorbereitet. Die Pro-

ben der Nährlösungen enthielten Europium und Americium mit einer Konzentration von jeweils 500 nM und die Komplexbildner EDTA, Citrat, Malonat und Oxalat nach Kapitel 5.1. Die daraus erhaltenen Proben konnten ohne Probenaufarbeitung gemessen werden.

Um Am-Spezies in der Massenspektrometrie eindeutig zu identifizieren ist die Verwendung eines bekannten Isotopenverhältnisses von ^{241}Am und ^{243}Am eine Möglichkeit. Dieses Verhältnis kann als Isotopenmuster leicht im Massenspektrum erkannt werden, wofür Lösungen in Verhältnissen von 5:5, 4:6 und 3:7 ($^{241}\text{Am}:$ ^{243}Am) untersucht wurden. Gleichzeitig musste für die Am-Messungen aufgrund des offenen Messsystems die Methodik im Hinblick auf eine potentielle Am-Inhalation getestet werden. Dabei wurden zunächst Umgebungsmessungen während der Analyse von gering-aktiven Proben mit $A \approx 1,3 \text{ kBq/mL}$ ($[\text{Am}] = 100 \text{ nM}$) durchgeführt. Die Konzentration des Americium wurde kontinuierlich erhöht, bis entsprechende Signale in der OrbitrapTM messbar und keine Aktivität im Luftfilter zu finden waren. Es ergab sich eine Konzentration von 500 nM mit dem Isotopenverhältnis von 4:6 für $^{241}\text{Am}:$ ^{243}Am . Die größte Am-Aktivität befand sich nach der Messung auf dem *orifice* und wurde nach jedem Durchlauf gereinigt.

Für die Speziesanalyse wurde eine OrbitrapEliteTM von Thermo Fisher Scientific mit einer nano-ESI-Quelle im positiven Ionenmodus eingesetzt. Das Probenvolumen für jede Messung betrug 10 μL und die angelegte Spannung an der Sprühnadel und am *orifice* variierte zwischen 1 und 2 kV, je nach Höhe des Ionsignals der Probe. Für Vergleichsmessungen wurde die Spannung konstant gehalten. Ein Stickstoffstrom konnte optional zur Unterstützung der Ionisation eingeleitet werden. Weitere Parameter waren die Temperatur am *orifice* mit 250 °C, eine Massenauflösung von 120 000, ein Messfenster von 100-1000 m/z und eine Aufnahmezeit des Spektrums über 2 min. Da die OrbitrapTM nur Ionenpakete messen kann, ist ihr eine *C-Trap* vorgeschaltet, welche die Ionen für eine definierte Zeit sammelt und in den Analysator schickt. Diese Ionen-Injektionszeit der *C-Trap* betrug bei den Messungen 10 ms. Für die Massengenauigkeit wurde das Gerät mit einer Kalibrierlösung (positiver und negativer Ionenmodus) im semi-automatischen Modus kalibriert. Die Abweichung der Masse-zu-Ladungsverhältnisse war in keinem Fall höher als 9,5 ppm.

Die Auswertung der Spezies erfolgte mit dem Programm *MARI* (*Mass spectra Analysis by Recognition of Isotopic pattern*), welches am Institut für Radioökolo-

gie und Strahlenschutz in einer im Rahmen dieser Arbeit betreuten Masterarbeit erstellt wurde.¹¹⁹ Es beruht auf der Identifikation von definierten Isotopenverhältnissen, wie bei den stabilen Isotopen ^{151}Eu und ^{153}Eu . Dabei werden dem Programm gesuchte Elemente oder Isotope genannt, woraus die zu erwartenden Massen- sowie Intensitätsverhältnisse berechnet und Übereinstimmungen in den Massenspektren gesucht werden. Des Weiteren ist es möglich, eine Spezies-Datenbank zu integrieren, um gezielt Verbindungen mit dem Element oder Isotop zu identifizieren. Die Details der verwendeten Algorithmen sind der Masterarbeit zu entnehmen. Um die gefundenen Spezies zu verifizieren, wurde zusätzlich das Programm *FreeStyle* von Thermo Fisher Scientific verwendet.

5.3.4 Speziation mit TRLFS

Für die Eu^{3+} -Speziesanalyse wurden sowohl Emissions- als auch Lebensdauermessungen von Eu-HOAGLAND-Lösungen und kontaminierten Pflanzenteilen durchgeführt. Diese fanden am Institut für Ressourcenökologie des Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf (HZDR) statt. Die Lösungen wurden in eine Quarz-Küvette gefüllt und direkt analysiert. Die Messung der Pflanzenteile erfolgte nach Separation und Auswahl eines repräsentativen Querschnittes ebenfalls in einer Quarz-Küvette. Generell wurden die Elektronen der Eu^{3+} -Ionen mit einem Laser der Wellenlänge 394 nm angeregt. Die verwendeten Aufbauten und Parameter der zwei Messsysteme A und B sind dem Anhang (Tab. A.2.1) zu entnehmen.

Für eine erste Speziesabschätzung erfolgte die Auswertung der Lebensdauermessungen aus System A mit dem Programm *physica*. Sie wurde mit einer Untergrundkorrektur mit festgesetzten Grenzwerten und der Integration über die ${}^7\text{F}_1$ - und ${}^7\text{F}_2$ -Bande durchgeführt. Darauf folgte die Bestimmung der Lebensdauern zweier Spezies (τ_1 und τ_2) mit einem bi-exponentiellen Fit der Form

$$f(x) = y_0 + A_1 e^{-x/\tau_1} + A_2 e^{-x/\tau_2} \quad (5.1)$$

mit den jeweiligen Fit-Anteilen A_i . Das Ergebnis eines Beispiel-Fits einer Eu-Oxalat-Lösung ist in Abb. 5.2 dargestellt.

Auf Grundlage der Lebensdaueranalysen wurde die Anzahl koordinierender H_2O -Moleküle nach der *Horrocks-Gleichung* 4.16 bestimmt.

Bei Messsystem B wurde die Lebensdauer-Auswertung mit der parallelen Faktoranalyse (PARAFAC) am HZDR durchgeführt. Diese Analysemethode ist ein

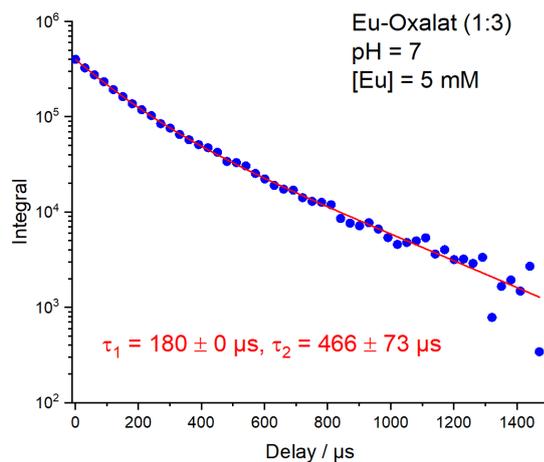


Abbildung 5.2: Beispiel der Lebensdauerbewertung einer Eu-Oxalat-Lösung ($[\text{Eu}] = 5 \text{ mM}$, $[\text{Eu}]:[\text{Ox}] = 1:3$) bei $\text{pH} = 7$ durch das Anwenden eines bi-exponentiellen Fits nach Gleichung (5.1) mit *physica* nach *Kogiomtzidis*.¹²⁰.

mathematisches Verfahren zur Zerlegung der erhaltenen Zerfallskurven, um Lebensdauer und Anzahl der Spezies zu identifizieren. Der Vorteil dieses Verfahrens ist, dass für jede Spezies ein Emissionsspektrum bestimmt wird. Dadurch werden detailliertere Informationen über die chemische Umgebung des Eu^{3+} -Ions erhalten und einzelne Spezies können leichter identifiziert werden. Sie basiert auf einer dreidimensionalen Datenmatrix, wobei ein Datensatz aus einer Linearkombination der chemischen Spezies und dem Untergrundrauschen entsteht. Die drei Dimensionen sind definiert durch die Zerfallskurve der Lebensdauer, die Emissionsspektren der jeweiligen Spezies und einer dritte Variable, wie dem pH-Wert oder der Ligand-Konzentration. Aus diesen Dimensionen (Matrizen) kann die Minimierung der Residuen bestimmt werden. Das detaillierte Verfahren ist in der Literatur ausgeführt.^{47,121,122}

5.3.5 Lumineszenz-Mikroskopie

Die Speziesverteilung verschiedener Eu^{3+} -Spezies im Winterroggen wurde bildgebend mit einem Raman-Mikroskop aufgenommen. Dabei wurden Probenschnitte mit einem Skalpell frisch geschnitten und auf einen Glaträger mit einem Tropfen NaCl (0,1 M) überführt. Mit dem Raman-Mikroskop (LabRAM, HORIBA Jobin Yvon) wurde anschließend die Speziesverteilung bestimmt. Dabei wurden keine Raman-Spektren erhalten, sondern die Wellenlänge von 532 nm des enthaltenen Lasers genutzt, um die Eu^{3+} -Fluoreszenz anzuregen und Emissionsspektren aufzunehmen. Der in dem Gerät vorhandene Laserstrahl besitzt eine lateralen Auflösung von $2,6 \mu\text{m}$ (10-fache optische Vergrößerung) oder $0,9 \mu\text{m}$ (50-fache

optische Vergrößerung) für das Abrastern der Probe. Die resultierende Fluoreszenz des dreiwertigen Europium gelangt über eine Lochblende (200 μm) zum Spektrometer mit einer *Input split*-Größe von 200 μm und einem *Grating* von 300 l/mm. In Verbindung mit dem im Gerät enthaltenen Lichtmikroskop wird eine orts aufgelöste Verteilung der chemischen Spezies erhalten. Das System wurde am Institut für Ressourcenökologie (HZDR) erstmals verwendet und wird derzeit für weitere Anwendungen optimiert.¹²³

Die Datenerfassung erfolgte mit dem Programm *LabSpec 5* von HORIBA Jobin Yvon und eine Untergrund-Korrektur wurde durchgeführt. Die Auswertung der Lebensdauern erfolgte analog zum beschriebenen Messsystem B aus Kapitel 5.3.4.

6 | Der Weg von Europium in *Secale cereale* L.

6.1 Elementare Akkumulation in den Pflanzenteilen

6.1.1 Verteilung innerhalb der Pflanze

Der Weg von Europium im Winterroggen beginnt bei der Analyse der Aufnahme des Elements in die Pflanze. Der Einfluss verschiedener Eu-Konzentrationen im HOAGLAND-Medium wurde dafür mit ICP-MS-Messungen untersucht (Abb. 6.1a). Grundsätzlich steigt die Menge in den Pflanzenteilen mit der Konzentration im HOAGLAND-Medium an. Den Ergebnissen zufolge entspricht der Zuwachs des Eu-Gehaltes im Vergleich zur Kontrolle in den Wurzeln 82 % und in den Blättern 100 % bei Zugabe von 1 mM Europium zu der Lösung. Bei einer Erhöhung von 1 mM auf 5 mM Europium in Lösung bleibt die aufgenommene Menge in den Wurzeln gleich und nimmt in den Blättern um 60 % zu. Mit der doppelten Eu-Konzentration von 10 mM ist der Gehalt nochmals 60 % höher in den Wurzeln und 30 % in den Blättern. Gleichzeitig steigen die Standardabweichungen der Parallelproben und deuten auf größere Schwankungen in der Aufnahme hin. Die Ergebnisse zeigen einen schnelleren Anstieg in den Blättern als in den Wurzeln, was auf eine Kompensation der Aufnahme durch einen erhöhten Transport hinweist. Da Metall-Ionen in den Zellvakuolen gespeichert werden können, erhöht

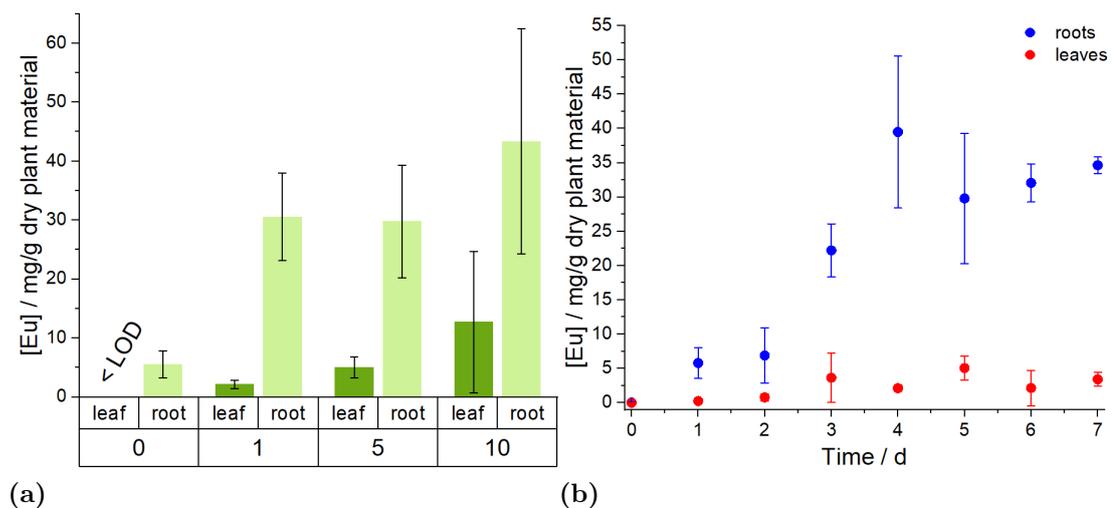


Abbildung 6.1: (a) Eu-Gehalt in den Pflanzenteilen Wurzel und Blatt der Kontrollpflanzen und mit 1 mM, 5 mM und 10 mM Europium kontaminierten Pflanzen. (b) Kinetikexperimente des Eu-Gehalts in Wurzel und Blatt nach der Kontamination mit $[Eu] = 5$ mM. Die dargestellten Fehler entsprechen der Standardabweichung von drei Parallelproben.¹²⁴

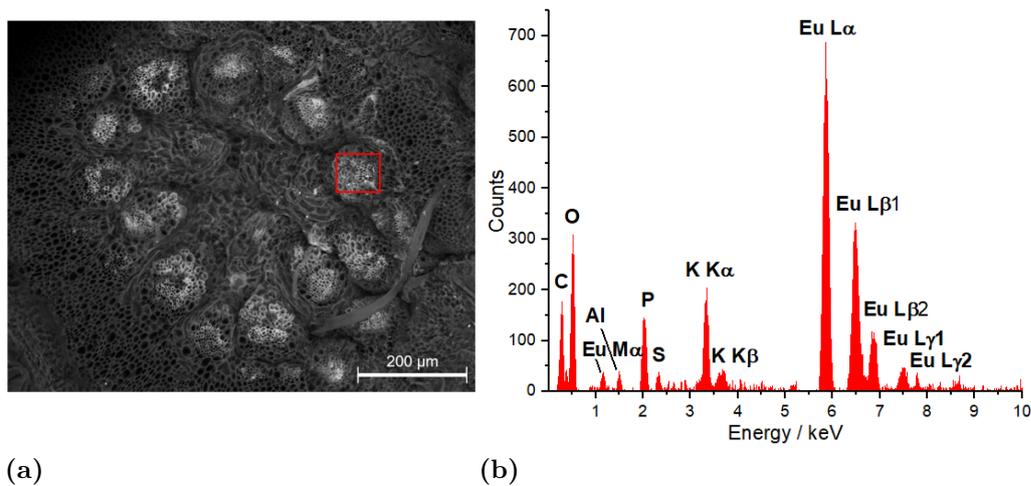


Abbildung 6.2: (a) REM-Aufnahme vom Wurzelhals im BSE-Modus. (b) EDX-Spektrum des rot-markierten Areals in der REM-Aufnahme.¹²⁴

ein Weitertransport in die Blätter die Kapazität der Speicherung.¹²⁵

Kinetikexperimente über sieben Tage mit 5 mM Europium aus Abb. 6.1b zeigen einen schnellen Anstieg der Aufnahme bis Tag 4 in den Wurzeln und Tag 5 in den Blättern. Die Standardabweichungen steigen mit der aufgenommenen Menge wie zuvor an und deutet auch hier auf größere Schwankungen hin. Ab Tag 5 bleibt der Gehalt in den Pflanzenteilen im Rahmen der Unsicherheiten konstant.

Die örtliche Lokalisation von Europium zeigt anhand von REM-EDX-Messungen eine erhöhte Akkumulation in den Transportkanälen der Pflanze (Abb. 6.2). Die hellen Bereiche in der REM-Aufnahme konnten anhand des erhaltenen EDX-Spektrums eindeutig Europium zugeordnet werden und beweisen die Aufnahme und Weiterleitung des Elements in die Blätter. Weitere identifizierte Elemente sind Kalium, Phosphor und Schwefel in den Leitungsbahnen des Wurzelhalses. Aluminium- und Kohlenstoff-Signale sind auf den Probenträger zurückzuführen sowie Sauerstoff auf die Verwendung des Niedrigvakuums.

6.1.2 Zelluläre Verteilung

Die Betrachtung der Eu-Verteilung auf zellulärer Ebene ist für die Interpretation des Metabolismus sehr hilfreich. SIMS-Messungen einer Pflanzenzelle der Winterroggenwurzel (Abb. 6.3, A.3.1) zeigen eine deutliche Anlagerung des Europium an den Zellwänden, sowie einen Hotspot im Inneren. Im Hinblick auf die Größe im Zellinneren könnte es sich hierbei um die Vakuole handeln. Nitrat- und Schwefel-Signale sind ebenfalls im Inneren zu erkennen, was ein Hinweis auf mög-

liche Verbindungen liefert. Vereinzelt Hotspots in den Zellwänden weisen auf eine Eu-Phosphat-Verbindung hin, da die Signale in diesen Bereichen übereinstimmen.

Eine Bestätigung für die bevorzugte Akkumulation in den Zellwänden der Wurzel liefern die ICP-MS-Ergebnisse der zellulären Verteilung (Abb. 6.4). $69 \pm 1,1$ % des Europium befinden sich in den Zellwänden, $30 \pm 1,0$ % in den Zellorganellen und $0,20 \pm 3,9 \cdot 10^{-4}$ % in der löslichen Fraktion. Im Blatt steigt der Konzentrationsanteil in den Organellen auf 82 ± 31 % an, während er in der Wurzel auf $17 \pm 9,2$ % sinkt und sich in der löslichen Fraktion auf $0,36 \pm 0,010$ % nahezu verdoppelt. Dies bestätigt eine erhöhte Speicherung des Europium in der Vakuole aus den vorangegangenen ICP-MS-Messungen.

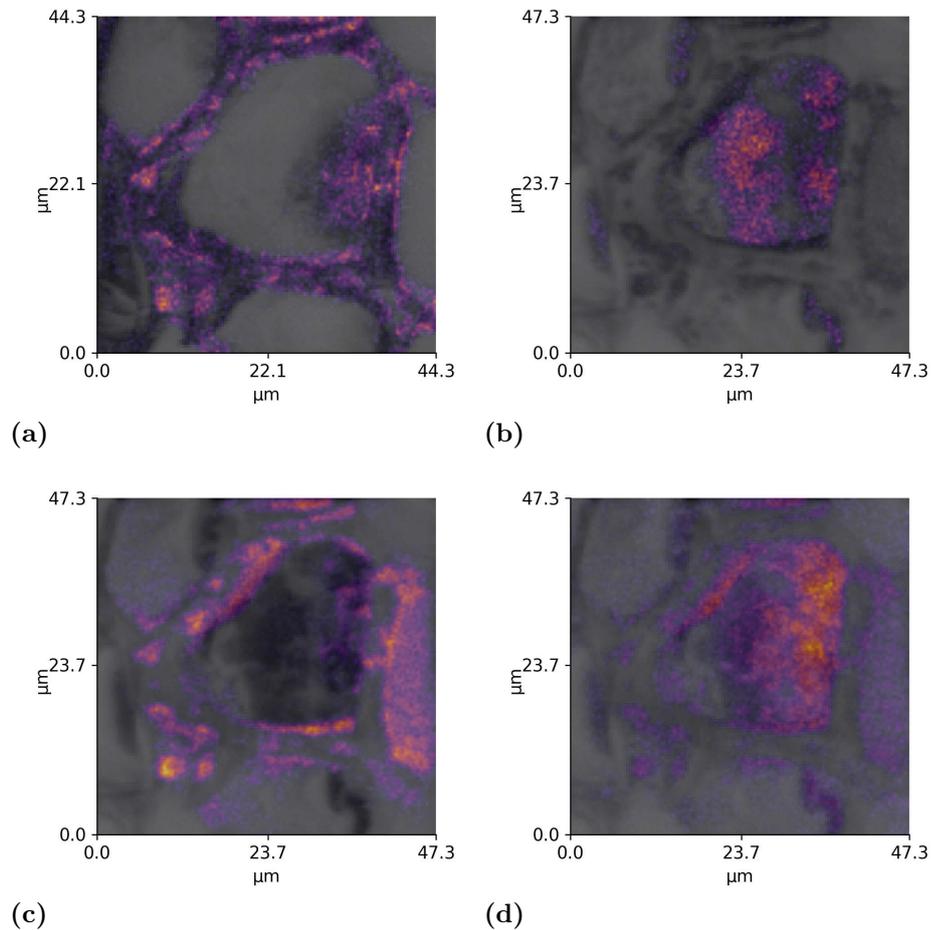


Abbildung 6.3: Ergebnisse der ToF-SIMS Messungen an einer Pflanzenzelle der Wurzel nach Zugabe von 5 mM Eu in die HOAGLAND-Lösung. Overlay von Total-Ionenbild mit (a) Europium, (b) Nitrat, (c) Phosphat und (d) Schwefel.

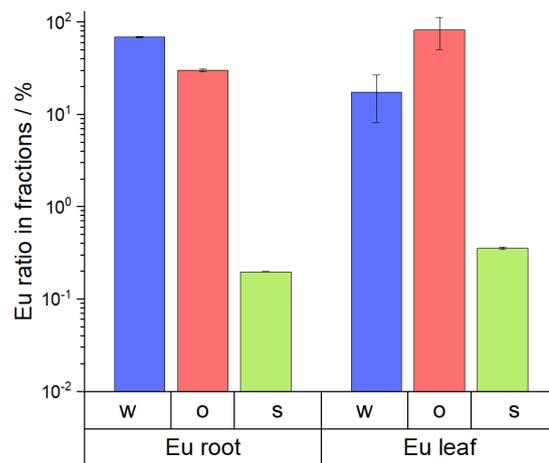


Abbildung 6.4: Eu-Anteile in den Pflanzenteilen Wurzel und Blatt sowie in den Zellkompartimenten Zellwand (w), Zellorganelle (o) und lösliche Zellfraktion (s).¹¹⁴ Die angegebenen Fehler ergeben sich aus den Messunsicherheiten der ICP-MS.

6.2 Speziesbestimmung im Pflanzennährmedium

Für die Abschätzung aufgenommener Eu-Spezies in die Pflanze wird die Analyse der vorliegenden Verbindungen in der Eu-HOAGLAND-Lösung herangezogen. Theoretische Berechnungen geben einen ersten Hinweis und werden im Folgenden mit den experimentellen Ergebnissen der ESI-MS verglichen.

Die Berechnungen mit PHREEQC zeigen bei einem pH-Wert der Lösung von 4,16 das Eu^{3+} -Ion als Hauptbestandteil mit etwa 96 % (Abb. 6.5, Tab. A.4.1). Darauf folgt mit ca. 1,5 % der Komplex $[\text{Eu}(\text{SO}_4)]^+$. Weitere, vorliegende Spezies sind $[\text{Eu}(\text{NO}_3)]^{2+}$, $[\text{Eu}(\text{EDTA})]^-$ und $[\text{Eu}(\text{HCO}_3)]^{2+}$ mit einem Anteil von unter 1 %. Letztere ergibt sich aus dem gelösten CO_2 aus der Luft in Lösung. Ab einem neutralen pH-Wert steigen die Carbonat-Spezies an und auch der Hydroxid-Anteil nimmt zu, welcher aus der Hydrolyse des Europium resultiert. Eine Veränderung des pH-Wertes während der Pflanzeninkubation ist möglich, weshalb der Bereich um 4,16 ebenfalls dargestellt ist.

Die experimentellen Ergebnisse der Eu-HOAGLAND-Lösung wurden nur im positiven Ionenmodus aufgrund der Signalstärke und Qualität des ESI-MS-Spektren erhalten (Abb. A.4.1, Tab. A.4.2). Sie zeigen die Anlagerung von bis zu drei H_2O -Molekülen, welche auf Lösungsmittel-Rückstände während des ESI-Prozesses hinweisen. In Tab. 6.1 sind die identifizierten Eu-Spezies mit den Ergebnissen der theoretischen Berechnung verglichen. Dabei werden bei der Modellierungen nur die positiv geladenen Komplexe berücksichtigt.

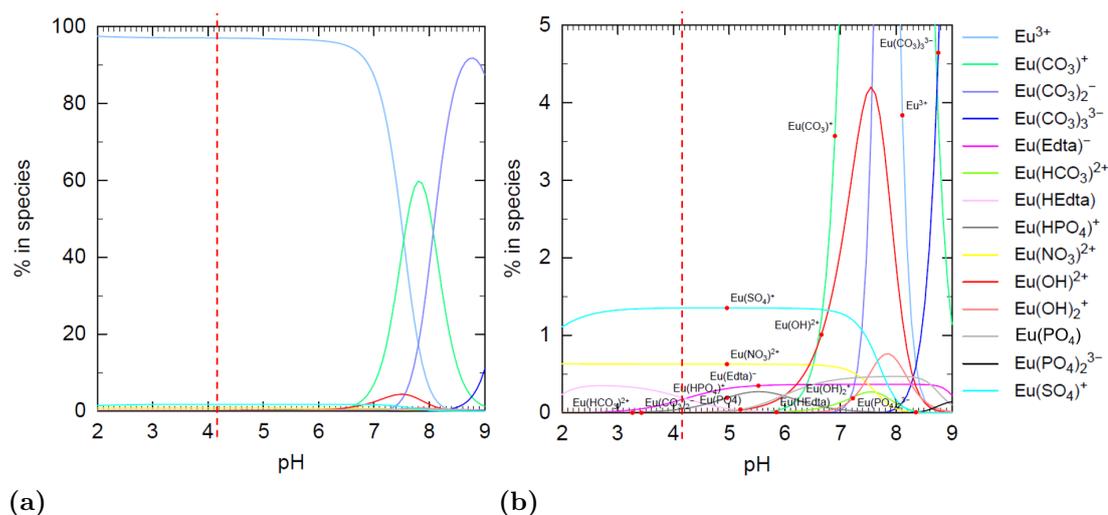


Abbildung 6.5: Theoretische Berechnung der Speziesverteilung einer Eu-HOAGLAND-Lösung mit $[\text{Eu}] = 5 \text{ mM}$ in einem pH-Bereich von 2 bis 9. (a): Speziesverteilung bis 100 %, (b): Speziesverteilung bis 5 %. Der experimentell bestimmte pH-Wert liegt bei 4,16 (rot gestrichelt).

Tabelle 6.1: Vergleich von experimentell (exp.) identifizierten, relativen Speziesanteilen in Lösung (A) der Eu-HOAGLAND-Lösung ($[Eu] = 5 \text{ mM}$) und theoretischer Berechnung (theor.) im positiven Ionenmodus. Intensitäten von experimentell bestimmten Spezies mit unterschiedlichen Wasseraddukten wurden zu einer Hauptspezies addiert.

Exp. Spezies	A / %		Theor. Spezies	A / %
$[Eu(OH)_2]^+$	45	} Eu^{3+} } $[Eu(NO_3)_x]^{y+}$ } $[Eu(OH)_x]^{y+}$	Eu^{3+}	96
$[Eu(OH)]^+$	18		$[EuOH]^{2+}$	$6,1 \cdot 10^{-3}$
$[Eu(OH)(NO_3)]^+$	16		$[Eu(NO_3)]^{2+}$	0,73
$[Eu(OH)_2]^{2+}$	6,2			
$[Eu(NO_3)_2]^+$	8,1			
$[Eu(NO_3)]^+$	5,5			
$[EuO]^+$	$4,8 \cdot 10^{-1}$			
$[EuO_2]^+$	$1,2 \cdot 10^{-1}$			
$[Eu]^{2+}$	$1,4 \cdot 10^{-1}$			
$[Eu]^+$	$4,4 \cdot 10^{-2}$			
$[Eu(SO_4)]^+$	$4,4 \cdot 10^{-1}$		$[Eu(SO_4)]^+$	2,8
$[Eu(HPO_4)]^+$	$8,5 \cdot 10^{-2}$		$[Eu(HPO_4)]^+$	0,12
			$[Eu(H_2PO_4)]^{2+}$	0,11
$[Eu(C_2H_3O_2)(OH)]^+$	$6,2 \cdot 10^{-2}$			
$[Eu(C_2H_3O_2)]^+$	$5,5 \cdot 10^{-2}$			
$[Eu(H_2EDTA)]^+$	$9,8 \cdot 10^{-4}$		$[Eu(H_3EDTA)]^{2+}$	$1,2 \cdot 10^{-6}$

Hauptsächlich sind ein- und zweiwertige Eu-Spezies experimentell zu erkennen, wobei die Hydroxid-Spezies dominieren. Weitergehend sind mehr Nitrat-Spezies im ESI-MS-Spektrum vorhanden als die theoretischen Berechnungen aufweisen (8,1 % und 5,5 %). Wird die Artefaktbildung der Eu-Spezies während des ESI-Prozesses betrachtet, können die Eu-Hydroxide als freie Eu^{3+} -Ionen interpretiert werden. Der theoretische Anteil der Hydroxid-Spezies unterstützt diese Hypothese. Der erhöhte Nitrat-Anteil und das Auftreten der Oxide im ESI-Spektrum können mit Übertragungs-Reaktionen und Ladungskompensation verstanden werden. Die praktisch gemessenen Eu-Nitrat-Spezies weichen von den theoretisch berechneten Werten ab, weil sowohl Artefaktbildung als auch real vorliegende Verbindungen vermischt werden. Darüber hinaus sind in den ESI-MS-Spektren Spezies mit zweiwertigem Europium zu erkennen, welche auf Ladungsüberträge und damit eine Reduktion des Eu^{3+} -Ions hindeuten. Werden diese Reaktionen herausgerechnet, ergibt sich ein Anteil des freien Eu^{3+} -Ions von 99 %, welcher um 3 % von den theoretischen Daten abweicht.

Eu-Sulfat befindet sich mit 0,44 % im Mittelfeld der vorliegenden Verbindungen. Eine Phosphat-Spezies liegt mit 0,085 % in Lösung vor und weicht somit von den theoretischen Daten ab. Der $[C_2H_3O_2]^-$ -Ligand (Acetat-Anion) könnte auf ei-

ne EDTA-Fragmentierung hindeuten. Der relative Anteil der Eu-EDTA-Spezies liegt experimentell höher als in den Modellierungen. Die verwendete thermodynamische Datenbank enthielt nur eine positiv geladene Verbindung, welche mit $[\text{Eu}(\text{H}_3\text{EDTA})^{2+}]$ ein H-Atom und eine positive Ladung mehr besitzt als die experimentell identifizierte Spezies $[\text{Eu}(\text{H}_2\text{EDTA})]^+$. Dies deutet auf Protonentransferreaktionen in der ESI-MS hin.

6.3 Veränderungen der Europiumspezies im Nährmedium

6.3.1 Ergebnisse der ESI-MS

Ein Veränderung der chemischen Eu-Spezies während der Pflanzenkontamination ist ein wahrscheinliches Szenario und kann Hinweise auf die aufgenommenen Verbindungen liefern. Der Vergleich zwischen erhaltenen ESI-MS-Spektren vor und nach der Inkubation weisen kaum Unterschiede in den relativen Intensitätsverhältnissen auf (Abb. 6.6a). Für den weiteren Vergleich wurden die identifizierten ^{153}Eu -Spezies auf das höchste Signal bei m/z 204,94 normiert und die relativen Intensitäten nach der Kontamination durch das entsprechende Pendant vor der Kontamination geteilt. Bei einem relativen Verhältnis von Eins ist der Anteil vor und nach Pflanzenkontakt gleich, über Eins ist der Anteil nach Kontakt erhöht und entsprechend unter Eins vor dem Pflanzenkontakt höher. Ein nachfolgender GRUBBS-Test zeigt potentielle Ausreißer auf, wodurch Veränderungen im Medium

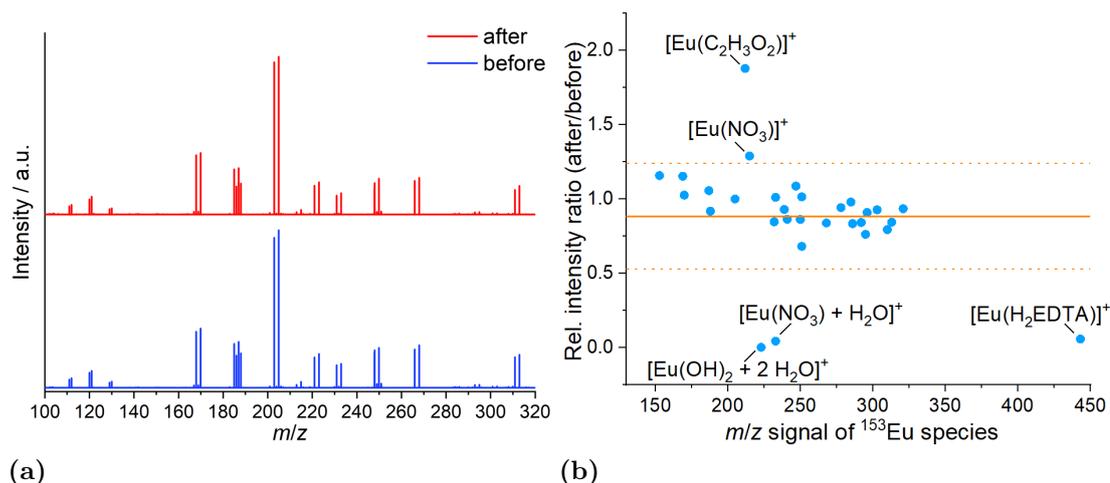


Abbildung 6.6: (a) Ergebnisse der ESI-MS-Messungen einer Eu-HOAGLAND-Lösung ($[\text{Eu}] = 5 \text{ mM}$) vor und nach Pflanzenkontakt sowie (b) berechnete relative Intensitätsverhältnisse der ^{153}Eu -Spezies in hellblau mit ihrem kalkulierten Mittelwert in orange und der Standardabweichung vom Mittelwert (orange gepunktet). Gekennzeichnet sind die Ausreißer nach Durchführung eines GRUBBS-Tests.

festgestellt werden können (Abb. 6.6b, Tab. A.4.3). Diese Berechnungen wurden für die 30 höchsten Eu-Signale und den $[\text{Eu}(\text{H}_2\text{EDTA})]^+$ -Komplex (rel. Intensität $9,8 \cdot 10^{-4}$) durchgeführt.

Es wurden fünf Ausreißer identifiziert, dabei befinden sich zwei über einem Wert von Eins und drei darunter. Der Anteil der identifizierten Eu-Nitrat-Spezies $[\text{Eu}(\text{NO}_3)]^+$ ist nach Pflanzenkontakt erhöht, wohingegen dieser der Spezies $[\text{Eu}(\text{NO}_3) + \text{H}_2\text{O}]^+$ vor dem Kontakt höher liegt. Da sich beide nur um ein gebundenes H_2O -Molekül unterscheiden, ist eine Speziesumwandlung sehr wahrscheinlich und stellt keinen realen Ausreißer in Lösung dar. Das Signal des gefundenen Eu-Acetat-Ions ($[\text{EuC}_2\text{H}_3\text{O}_2]^+$) ist nach der Kontamination nahezu doppelt so groß. Dies ist ein erster Hinweis auf die Aussonderung von organischen Molekülen durch die Pflanzenwurzel (Exsudate). Die letzten Ausreißer sind definiert als das freie Eu^{3+} -Ion, welches durch den ESI-Prozess zum Hydroxid reagiert ist (Artefaktbildung) und der Komplex $[\text{Eu}(\text{H}_2\text{EDTA})]^+$. Beide Speziesanteile sind vor dem Pflanzenkontakt erhöht und deuten auf eine Veränderung in der Nährlösung hin.

6.3.2 Ergebnisse der TRLFS

Die Lumineszenzmessungen der Eu-HOAGLAND-Lösungen vor und nach Pflanzenkontakt geben weitere Hinweise auf die vorhandenen Eu-Spezies. Sowohl Emissionsspektren (Abb. 6.7) als auch Lebensdauermessungen (Tab. 6.2, Abb. A.4.2) weisen auf Veränderungen durch den Einfluss der Pflanze hin. Eine leichte Verschiebung der ${}^7\text{F}_0$ -Emissionsbande deutet auf eine Änderung der vorliegenden Spezies hin, während die Erhöhung aus der Bildung einer asymmetrischen Eu-Spezies resultiert. Zudem erhöht sich das ${}^7\text{F}_2/{}^7\text{F}_1$ -Verhältnis von 0,76 (vorher)

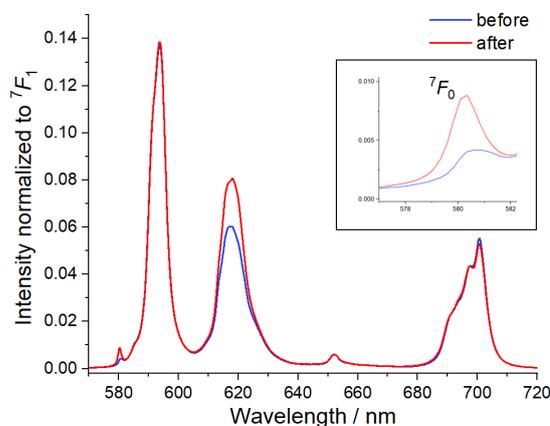


Abbildung 6.7: Emissionsspektren von Eu-HOAGLAND-Lösungen ($[\text{Eu}] = 5 \text{ mM}$) vor und nach der Pflanzenkontakt aufgenommen mit Messsystem A.¹¹¹

Tabelle 6.2: Ermittelte Lebensdauern von Eu^{3+} -Spezies in der Eu-HOAGLAND-Lösungen mit $[\text{Eu}] = 5 \text{ mM}$ und $[\text{EDTA}] = 20 \text{ }\mu\text{M}$ vor sowie nach der Pflanzeninkubation. Lebensdauern mit einem Fehler von ± 0 wurden für den Fit fixiert.

Probe	$\tau_1 / \mu\text{s}$	$n_1(\text{H}_2\text{O})$	$\tau_2 / \mu\text{s}$	$n_2(\text{H}_2\text{O})$
vorher	110 ± 3	$9,1 \pm 0,5$	383 ± 29	$2,2 \pm 0,5$
nachher	110 ± 0	$9,1 \pm 0,5$	127 ± 17	$7,8 \pm 0,5$

auf 0,94 (nachher). Demnach steigt das Maß der Komplexierung des Eu^{3+} -Ions nach Pflanzenkontakt an.

Die Lebensdauermessungen der Eu-Fluoreszenz weisen auf zwei Spezies hin. Aufgrund der vorangegangenen Ergebnisse der theoretischen Berechnungen und der ESI-MS-Messungen wurde die erste Spezies als Eu^{3+} -Aquo-Ion bei $\tau_1 = 110 \text{ }\mu\text{s}$ fixiert. Die Eu-HOAGLAND-Lösung vor der Pflanzeninkubation zeigt eine deutlich längere, zweite Lebensdauer, welche auf einen Eu-EDTA-Komplex hindeutet. Mit Hilfe der ESI-MS-Analyse der Lösung wurde bereits die positiv geladene Spezies $[\text{Eu}(\text{H}_2\text{EDTA})]^+$ identifiziert. Literaturwerte zeigen Lebensdauern von 160-320 μs je nach Eu-EDTA-Komplex, wobei bisher ungeladene und negativ geladene Verbindungen untersucht wurden.¹²⁶⁻¹²⁸ Nach *Thakur et al.* ergeben sich Lebensdauern für den Komplex $[\text{Eu}(\text{HEDTA})]$ von $284 \pm 5 \text{ }\mu\text{s}$ ($\text{pH} = 3,6$) und für $[\text{Eu}(\text{HEDTA})(\text{OH})]^-$ von $446 \pm 10 \text{ }\mu\text{s}$.¹²⁶ Letzterer liegt bei $\text{pH} = 9$ vor und entsteht im neutralen bis alkalischen Bereich unter Anwesenheit von Hydroxid-Ionen. Da der pH -Wert der HOAGLAND-Lösung bei 4,16 liegt, ist die Anwesenheit des $[\text{Eu}(\text{HEDTA})(\text{OH})]^-$ unwahrscheinlich. Generell steigen die Lebensdauer von Eu-EDTA-Komplexen tendenziell mit erhöhter Stöchiometrie des Liganden und dem pH -Wert, wie $[\text{Eu}(\text{HEDTA})_2]^{3-}$ mit $\tau = 740 \text{ }\mu\text{s}$ ($\text{pH} = 6$).¹²⁷ Neben der identifizierten, positiv geladenen Eu-EDTA-Spezies aus der ESI-MS-Analyse scheinen weitere Spezies in Lösung vorzuliegen. Möglich ist eine Mischung von $[\text{Eu}(\text{HEDTA})]$ und $[\text{Eu}(\text{HEDTA})_2]^{3-}$. Die anorganischen Eu-Spezies in der HOAGLAND-Lösung sind schwieriger zu differenzieren, da die Lebensdauern alle im Bereich von 120 μs liegen. Dadurch ist eine Überlagerung mit dem EDTA-Komplex und Aquo-Ion nach Fixieren der ersten Lebensdauer auf 110 μs wahrscheinlich.^{129,130}

Nach der Pflanzeninkubation sinkt die Lebensdauer der zweiten Eu-Spezies deutlich. Zusammen mit den ESI-MS-Ergebnissen, dem erhöhten Anteil von $[\text{Eu}(\text{H}_2\text{EDTA})]^+$ vor der Inkubation, deutet dies auf eine Aufnahme der Eu-EDTA-Spezies in die Pflanze hin. Zurück bleiben die anorganischen Verbindungen, welche zu dem erhaltenen Lebensdauern von $127 \pm 17 \text{ }\mu\text{s}$ führen.

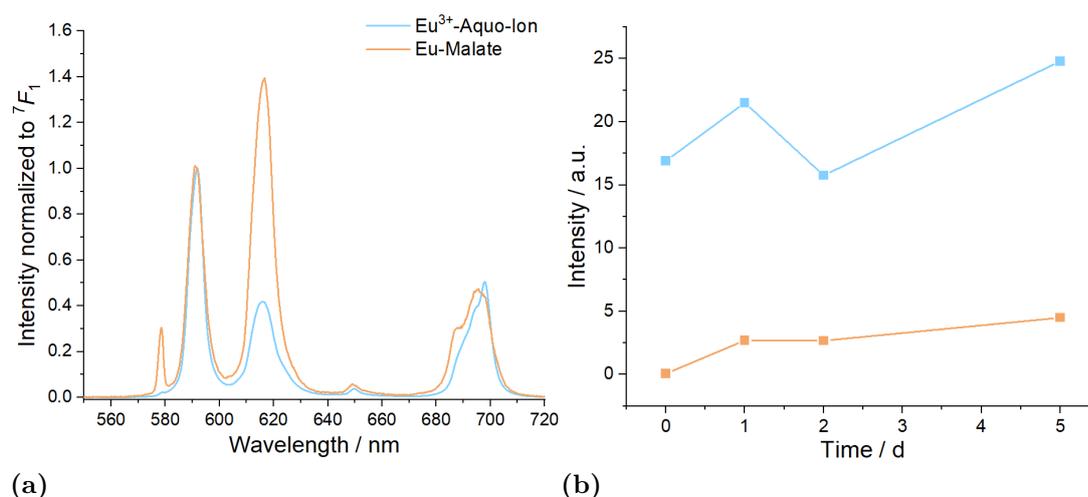


Abbildung 6.8: (a) Emissionsspektren mit Messsystem B der Eu-HOAGLAND-Lösung nach Pflanzenkontamination mit den zugewiesenen Spezies Eu³⁺-Aquo-Ion (blau) und Eu-Malate (orange). (b) Verlauf der Fluoreszenz-Intensitäten über die fünf Tage.¹²⁴

Die Auswertung der TRLFS-Ergebnisse der Lösung nach Pflanzeninkubation mit PARAFAC ermöglicht weitere Einblicke (Abb. 6.8). Neben dem Eu³⁺-Aquo-Ion, mit einem ⁷F₂/⁷F₁-Verhältnis von 0,42, konnte eine Spezies mit einer Lebensdauer von $135 \pm 1 \mu\text{s}$ und einem ⁷F₂/⁷F₁-Verhältnis von 1,39 bestimmt werden (Abb. A.4.3). Vergleichsmessungen mit Eu-Malate weisen auf die Anwesenheit dieses Komplexes hin. Der Verlauf der zwei Spezies über die Inkubationszeit von fünf Tagen zeigt dabei einen geringeren relativen Anteil des Malat-Komplexes. Dieses Ergebnis konnte mit ESI-MS Messungen der gleichen Lösung bestätigt werden (Abb. A.4.4). Es wurden dabei die Komplexe [Eu(H-Mal)]⁺ und [Eu(Mal)]⁺ mit verschiedener Anzahl H₂O-Molekülen identifiziert. Die Gesamtintensität beider Spezies steigt mit der Zeit an, was mit der steigenden Europiumkonzentration in der Pflanze einher geht (Kap. 6.1.1).¹²⁴

6.4 Speziation in *Secale cereale* L.

6.4.1 Extraktion von Europiumspezies aus der Pflanze

Der nächste Schritt für ein besseres Verständnis der Eu-Aufnahme ist die Speziesanalyse. Um erste Hinweise zu erhalten, wurde die Extraktion der Wurzeln mit einem H₂O-CH₃OH-Gemisch (1:3) durchgeführt und das erhaltene Extrakt mit der ESI-MS untersucht. Das Ergebnis ist in Abb. 6.9 dargestellt und zeigt neben bereits im Eu-HOAGLAND-Medium vorhandenen Hydroxid- und Nitrat-Verbindungen zehn weitere Eu-Spezies (Tab. A.5.1). Diese sind definiert als fünf Eu-Malat-Spezies [Eu(H-Mal)]⁺, [Eu(Mal) + H₂O]⁺, [Eu(H-Mal) + H₂O]⁺, [Eu(Mal) + 2 H₂O]⁺ und [Eu(H-Mal)₂]⁺, drei Eu-Citrat-Komplexe [Eu(H₂Cit) + H₂O]⁺, [Eu(H₂Cit) + 2 H₂O]⁺ und [Eu(H₃Cit)]⁺, eine Eu-Citrat-

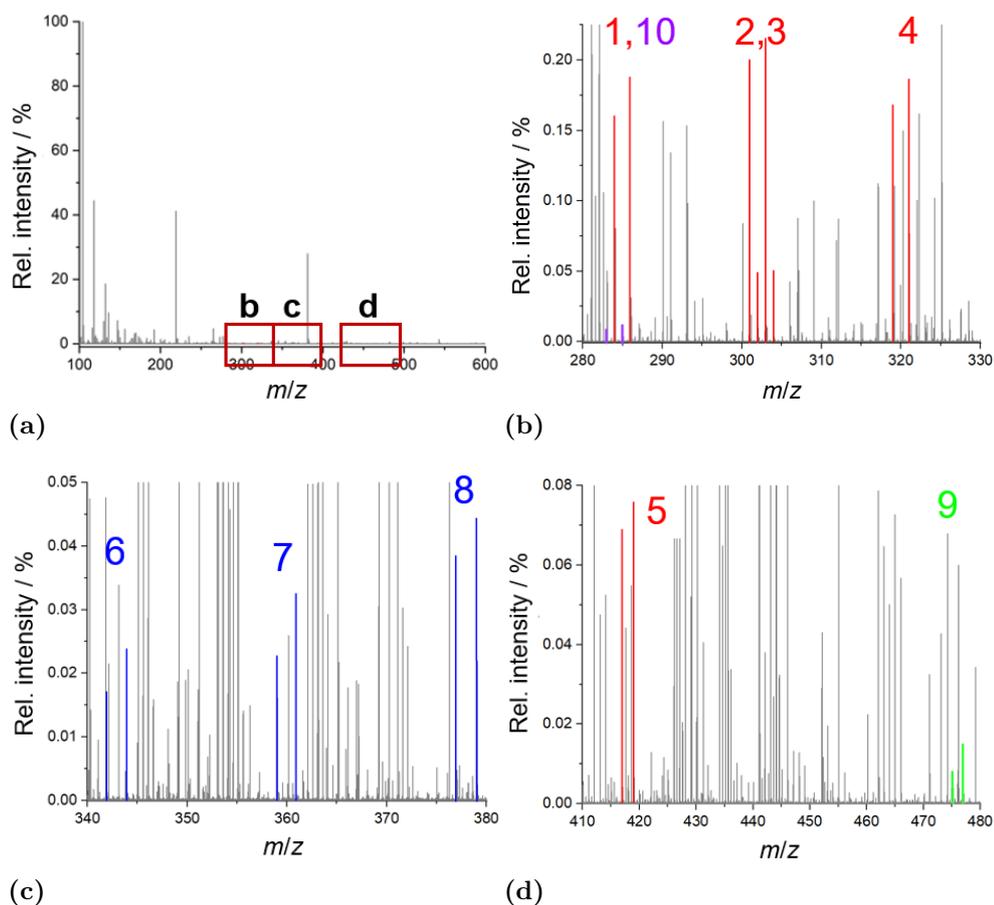


Abbildung 6.9: (a) ESI-MS Spektrum des Wurzelextrakts von Winterroggen nach der Inkubation mit Eu und (b,c,d) Zoom auf die markierten Bereiche. Die gefärbten Signale entsprechen verschiedenen Eu-Spezies: 1: [Eu(H-Mal)]⁺, 2: [Eu(Mal) + H₂O]⁺, 3: [Eu(H-Mal) + H₂O]⁺, 4: [Eu(Mal) + 2 H₂O]⁺, 5: [Eu(H-Mal)₂]⁺, 6: [Eu(H₂Cit) + H₂O]⁺, 7: [Eu(H₂Cit) + 2 H₂O]⁺, 8: [Eu(H₃Cit)]⁺, 9: [Eu(H₂Cit)(H-Mal) + H₂O]⁺ und 10: [Eu(Asp)]⁺. Im Anhang sind die Verbindungen und Referenzmessungen aufgeführt (Tab. A.5.1, A.5.2).¹²⁴

Malat-Verbindung $[\text{Eu}(\text{H}_2\text{Cit})(\text{H-Mal}) + \text{H}_2\text{O}]^+$ sowie eine Eu-Aspartat-Spezies $[\text{Eu}(\text{Asp})]^+$. Dabei bilden sich für drei identifizierte Spezies des Eu-Malats, Eu-Citrats, und des Eu-Aspartats jeweils ein stöchiometrisches Verhältnis von 1:1 aus. Weitere entdeckte Spezies sind eine 1:2-Verbindung des Eu-Malats und eine 1:1:1 Eu-Malat-Citrat-Verbindung. Die Ergebnisse wurden anhand von Messungen mit Referenzsubstanzen verifiziert (Tab. A.5.2).¹²⁴

6.4.2 TRLFS und Lumineszenz-Mikroskopie

Die Aufnahme von Emissionsspektren und Lebensdauermessungen des dreiwertigen Europium wurde an zwölf separierten Pflanzenquerschnitten durchgeführt. Mit Hilfe der PARAFAC-Auswertung konnten zwei Hauptspezies identifiziert und deren Verteilung in den Segmenten ermittelt werden. Die in der Abb. 6.10 dargestellte, graue Spezies weist eine erhöhte ${}^7\text{F}_0$ -Emissionsbande und ein höheres ${}^7\text{F}_2/{}^7\text{F}_1$ -Verhältnis mit 2,8 im Vergleich zu 1,4 der in Braun dargestellten Spezies auf. Die Spektren unterscheiden sich deutlich von dem des Eu^{3+} -Aquo-Ions

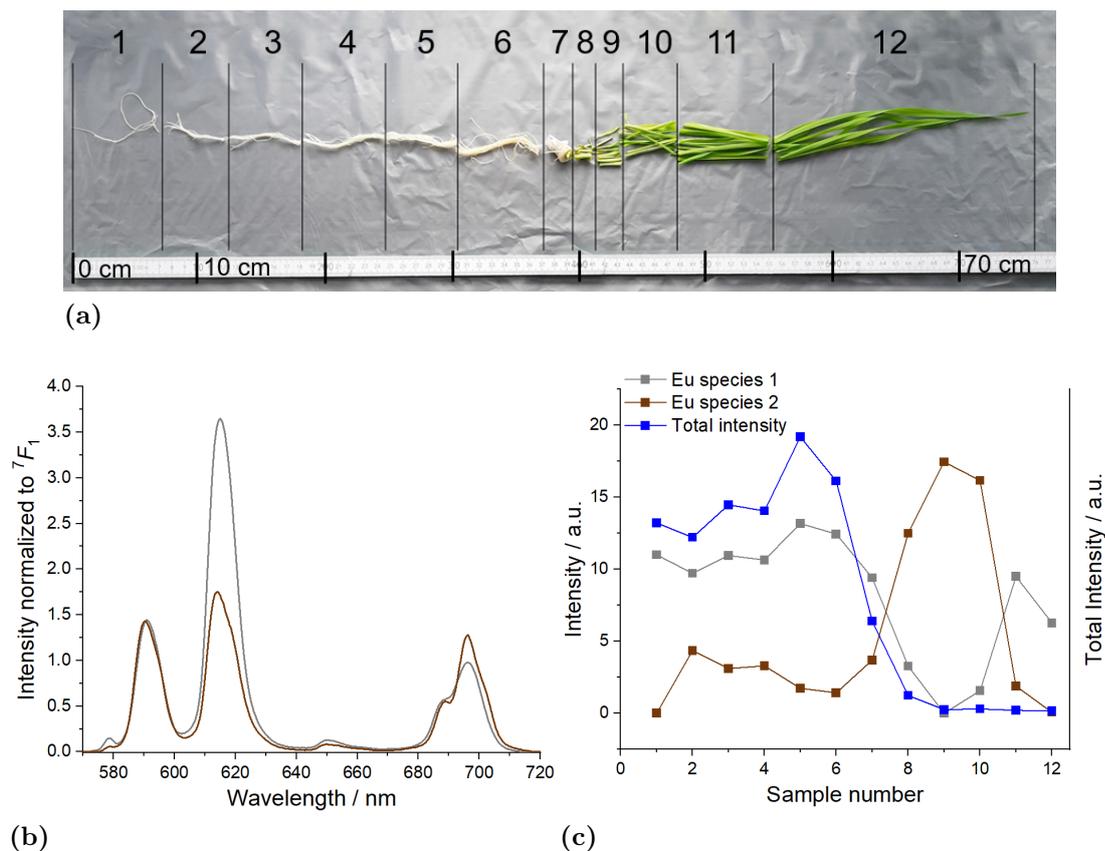


Abbildung 6.10: (a) Geteilten Pflanzensegmente mit Probennummern, (b) Emissionsspektren von zwei ermittelten Spezies in der gesamten Pflanze und (c) Intensitätsverteilung der Spezies und Gesamtintensität über die zwölf Pflanzensegmente. Die Analyse wurde mit Messsystem B durchgeführt.¹²⁴

(Vergleich mit Abb. 6.8). Des Weiteren nimmt die Gesamtintensität mit der Nummer der Pflanzensegmente ab, was auf eine Verringerung der Eu-Konzentration hindeutet. Dieses Ergebnis bestätigt die bereits ermittelten Werte der Konzentrationsbestimmung mittels ICP-MS. Der Anteil der braun markierten Spezies steigt bis zum Segment 9 und dominiert den Bereich des unteren Blattes, während die grau dargestellte Spezies in dem Wurzel- und Wurzelhals-Areal dominiert. Die ermittelten Lebensdauern sind mit $184 \pm 6 \mu\text{s}$ (grau) und $240 \pm 5 \mu\text{s}$ (braun) länger als die reiner, anorganischer Nitrat-, Phosphat- oder Sulfat-Spezies.^{124,129,130}

Aufnahmen mit der bildgebenden Lumineszenz-Mikroskopie zeigen die detaillierte Verteilung von drei verschiedenen Eu-Spezies im Winterroggen (Abb. 6.11). Dafür wurden Aufnahmen der Wurzelspitze (Abb. 6.11a), eines Wurzelhaares (Abb. 6.11b), eines Wurzel-Längsschnittes (Abb. 6.11c), eines Querschnittes des Wurzelhalses (Abb. 6.11d) und des Blattes (Abb. 6.11e) ausgewertet. Die Spezies in Violett dargestellt fällt dabei mit ihrem ${}^7\text{F}_2/{}^7\text{F}_1$ -Verhältnis von 1,0 im Vergleich zu der gelb (3,7) und grün markierten Spezies (3,4) auf (Abb. 6.11f).¹²⁴

Die Verteilung der drei identifizierten Eu-Spezies unterscheidet sich je nach Pflanzensegment. In der Wurzelspitze befindet sich die violett dargestellte Spezies besonders an den Wurzelhaaren, die gelb und grün markierten bevorzugt im Gewebe. Zudem lagert sich die Eu-Verbindung in Grün an den Wurzelhaaren an. Während diese in der Wurzel vermehrt in dem Meristem zu erkennen ist, sind gelb und violett dargestellte Eu-Spezies in den Transportkanälen zu finden. Im Wurzelhals und im Blatt dominiert die violett markierte Eu-Verbindung in den Leitungsbahnen der Pflanze.

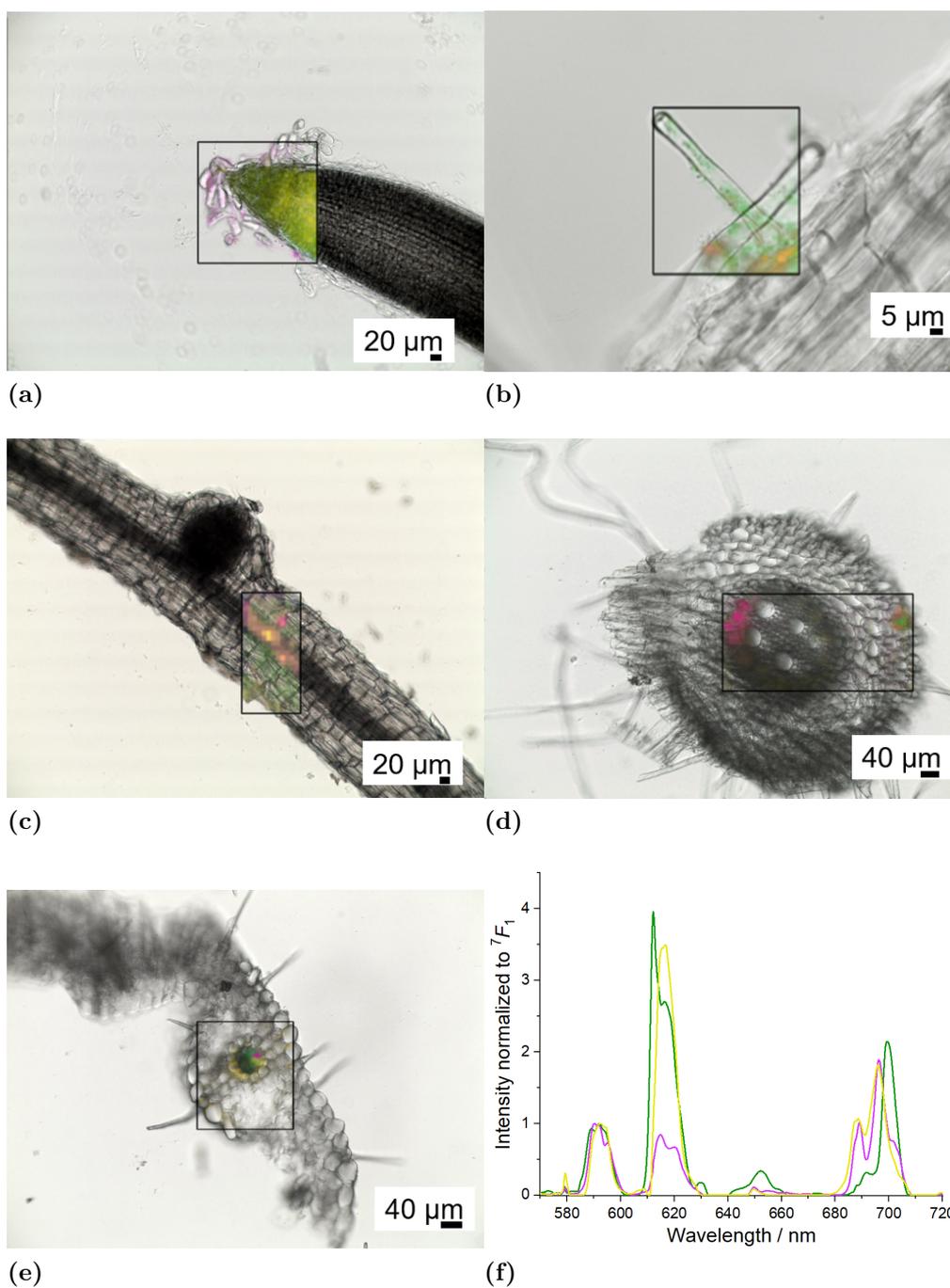


Abbildung 6.11: Aufnahmen der Lumineszenz-Mikroskopie und Speziesverteilung von (a) Wurzelspitze, (b) einem Wurzelhaar, (c) einem Wurzel-Längsschnitt, (d) vom Wurzelhals und (e) vom Transportkanal im Blatt. (f) Emissionsspektren der jeweiligen Eu-Spezies in *Secale cereale* L.¹²⁴

6.5 Die Auswirkungen von Komplexbildnern

Die Auswirkungen verschiedener Komplexbildner auf die Aufnahme von Europium in den Winterroggen wurden durch Zugabe verschiedener Konzentrationen EDTA, Citrat (Cit), Malonat (Malo) und Oxalat (Ox) zum Eu-HOAGLAND-Medium untersucht. Zunächst werden die pH-Werte in Lösung vor und nach Pflanzenkontakt betrachtet, welche Aufschluss über mögliche Änderungen im Nährmedium sowie vorliegende Spezies geben kann. Generell sind die pH-Werte nach Inkubation höher als zuvor (Abb. 6.12), was auf die Aussonderung basischer Verbindungen oder auf die Aufnahme saurer Spezies hindeutet. Mit steigender Ligand-Konzentration sinkt tendenziell der pH-Wert der Nährlösung, besonders bei Zugabe von EDTA. Malonat weist einen geringeren pH-Wert mit erhöhter Konzentration im Nährmedium vor dem Pflanzenkontakt auf. Nach der Inkubationszeit gleichen sich die Ergebnisse bei beiden Konzentrationen an. Die Citratkonzentration dagegen scheint keinen Einfluss auf den pH-Wert auszuüben. Für Oxalat konnte nur eine Konzentration von 20 μM analysiert werden, weshalb kein Vergleich für die pH-Werte vorliegt.

Weitergehend wurde die Auswirkung auf den Eu-Gehalt in den Pflanzenteilen Wurzel und Blatt untersucht (Abb. 6.13). Mit Erhöhung der EDTA-Konzentration im Nährmedium steigt die Eu-Aufnahme in Wurzel und Blatt tendenziell an. Außerdem wurde ein höherer Anteil Europium bei der Zugabe von 20 μM EDTA in die Blätter transportiert verglichen mit 200 μM EDTA. Insgesamt liegen die

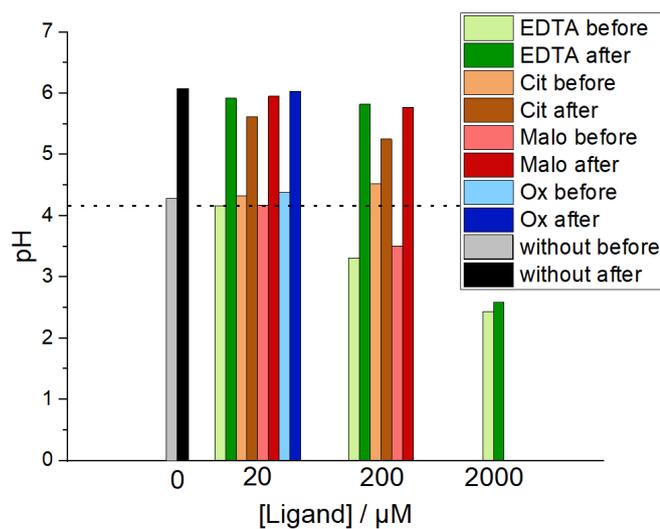


Abbildung 6.12: Darstellung der pH-Werte der Eu-HOAGLAND-Lösungen nach Zugabe verschiedener organischer Liganden vor und nach Pflanzenkontakt.¹¹¹ Markiert ist der pH-Wert der regulären Eu-HOAGLAND-Lösung mit 4,16 (schwarz gepunktete Linie).

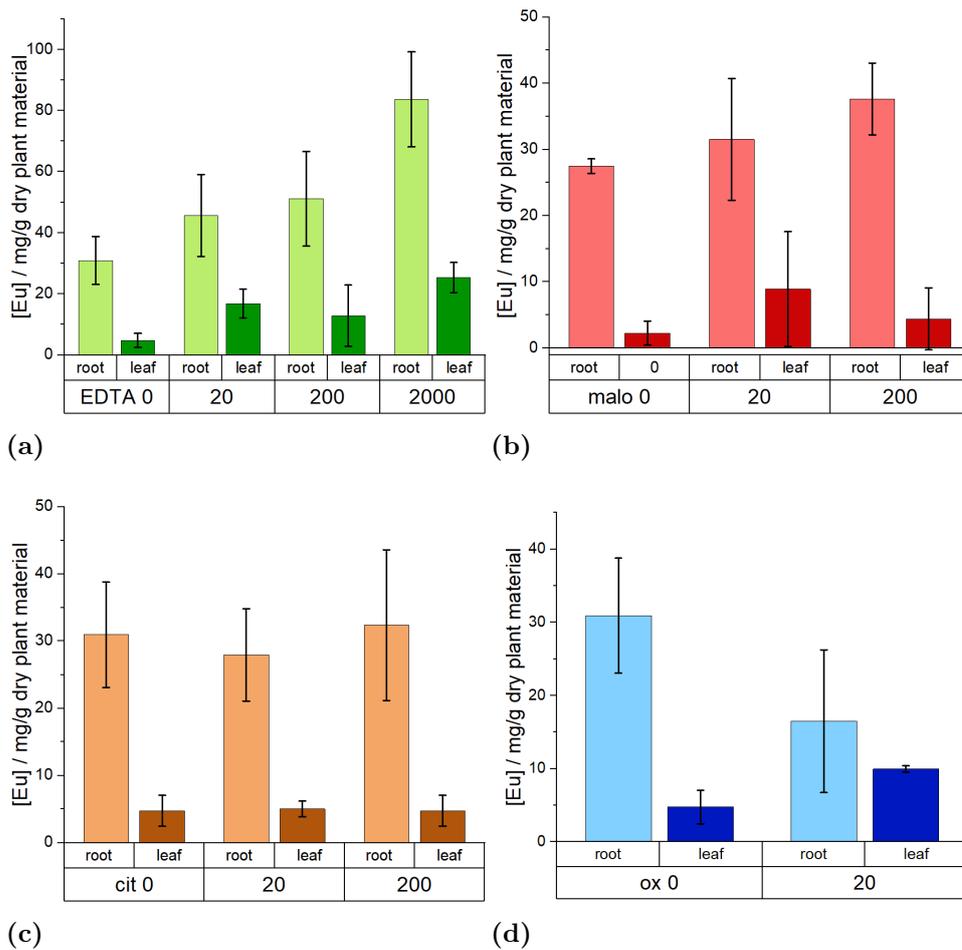


Abbildung 6.13: Eu-Gehalte in Wurzel und Blatt von *Secale cereale* L. bei verschiedenen Komplexbildnern im Eu-HOAGLAND-Medium ($[Eu] = 5 \text{ mM}$). (a) $[EDTA] = 0\text{-}2 \text{ mM}$, (b) $[Malo] = 0\text{-}200 \text{ }\mu\text{M}$, (c) $[Cit] = 0\text{-}200 \text{ }\mu\text{M}$ und (d) $[Ox] = 0$ und $20 \text{ }\mu\text{M}$. Ergebnisse nach Damböck¹¹¹ und ergänzt durch eigene Messungen.

gemessenen Konzentrationen in den jeweiligen Pflanzenteilen innerhalb der Unsicherheiten. Eine Zugabe von Malonat zum Nährmedium zeigt eine Erhöhung der Eu-Konzentration in den Wurzeln mit steigender Ligand-Konzentration. Außerdem ist ein veränderter Transport von Europium in die Blätter zu sehen. Da die erhaltenen Werte mit größeren Standardabweichungen einhergehen, liegen die Ergebnisse im Rahmen der Unsicherheiten. Bei der Zugabe verschiedener Citrat-Konzentrationen ändert sich die aufgenommene Menge von Europium nicht signifikant. Verglichen mit den Kontrollpflanzen ohne Zugabe organischer Liganden weisen die Ergebnisse auf eine geringere Eu-Akkumulation in den Wurzeln und einen erhöhten Transport in die Blätter unter Anwesenheit von Oxalat hin. In den nachfolgenden Kapiteln werden aufgrund der erhaltenen Ergebnisse der Eu-Aufnahme in den Winterroggen die Auswirkungen von EDTA auf die Pflanzen näher untersucht und Speziesanalysen in Lösung und Pflanze durchgeführt.

6.6 Veränderungen der Europiumspezies durch die EDTA-Zugabe

6.6.1 Modellierung der Spezies in Lösung

Für eine erste Abschätzung der vorliegenden Eu-Verbindungen vor und nach EDTA-Zugabe wurden theoretische Berechnungen der Eu-HOAGLAND-Lösungen durchgeführt. Bei der Zugabe verschiedener EDTA-Konzentrationen ändern sich zwei grundlegende Parameter: Die Ligand-Konzentration (20, 200 und 2000 μM) und der pH-Wert der Ausgangslösungen (Abb. 6.12b). Beide besitzen einen entscheidenden Einfluss auf die vorliegenden Eu-Spezies in der HOAGLAND-Lösung, welcher durch die theoretische Berechnungen bestätigt wird. In Abb. 6.14 sind die Ergebnisse der Modellierungen der Eu-HOAGLAND-Lösungen mit den verschiedenen EDTA-Konzentrationen dargestellt. Die experimentell bestimmten pH-

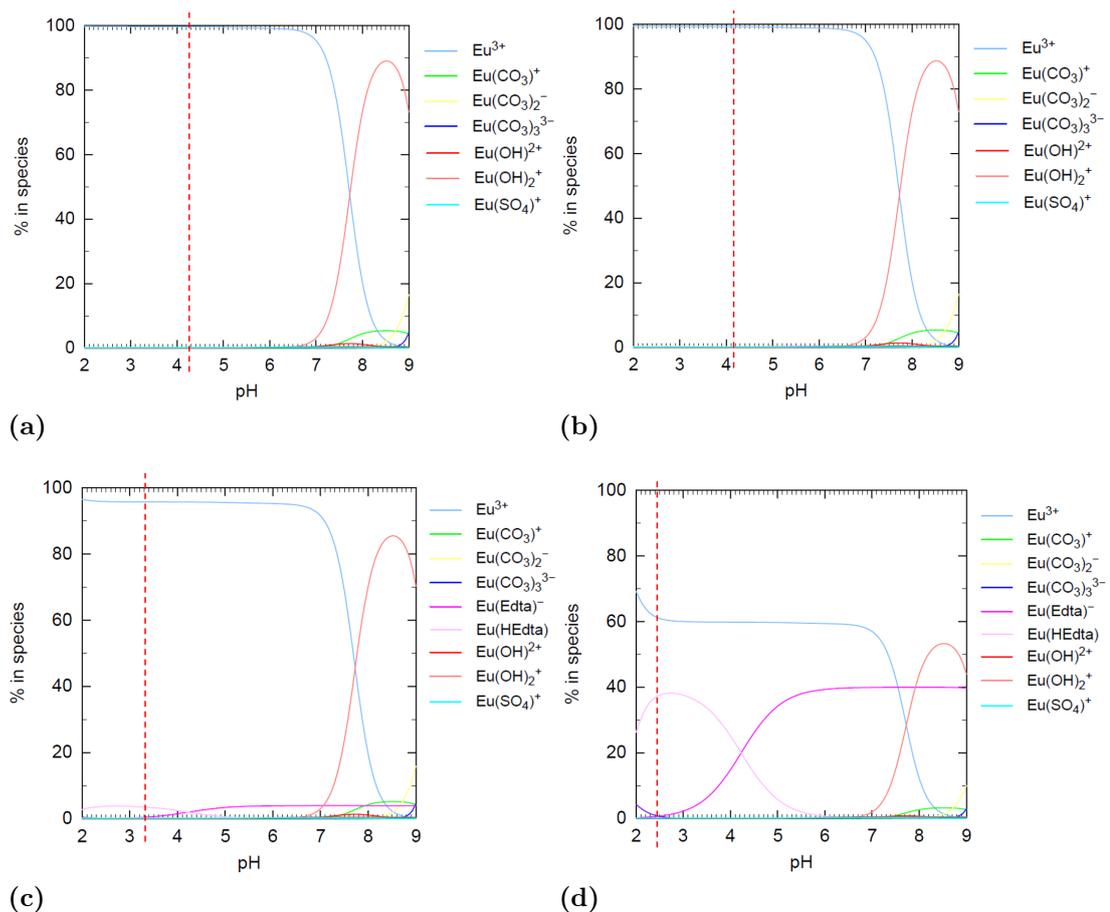


Abbildung 6.14: Speziesverteilung in Eu-EDTA-HOAGLAND-Lösungen mit 5 mM Eu und (a) 0 μM , (b) 20 μM , (c) 200 μM und (d) 2000 μM EDTA theoretisch berechnet mit PhreePlot und PHREEQC (Tab. A.6.1-A.6.4). In Rot markiert sind die jeweiligen pH-Werte der realen Lösungen.

Werte dienen als Berechnungsgrundlage für die theoretische Speziesverteilung. Der Hauptanteil der Eu-Spezies ist in allen Lösungen durch das freie Eu^{3+} -Ion definiert. Generell nimmt der Eu-EDTA-Anteil im Vergleich zu den übrigen Eu-Spezies mit der EDTA-Konzentration zu. Unter Berücksichtigung der höheren Komplexbildungskonstanten von Eu-EDTA-Komplexen (Tab. A.8.2) entspricht dieses Ergebnis den Erwartungen. Der Speziesanteil steigt von 0,4 % (20 μM) über 4,00 % (200 μM) auf 39,50 % (2000 μM).

6.6.2 Ergebnisse der ESI-MS

Die Eu-HOAGLAND-Lösungen mit verschiedenen EDTA-Konzentrationen wurden weitergehend experimentell mit ESI-MS vor und nach Pflanzenkontakt untersucht. Dabei wurden verschiedene, positiv geladene Eu-EDTA-Spezies erhalten (Tab. A.6.5-A.6.8). Mit der Zugabe von 20 μM EDTA wurden die Komplexe $[\text{Eu}(\text{H}_2\text{EDTA})]^+$, $[\text{Eu}(\text{H}_3\text{EDTA}) + \text{H}_2\text{O}]^+$ und $[\text{Eu}(\text{OH})(\text{H}_3\text{EDTA}) + 3 \text{H}_2\text{O}]^+$ mit einem Gesamtanteil von $8,0 \cdot 10^{-4}$ % im HOAGLAND-Medium identifiziert. In der Lösung mit 200 μM EDTA ergaben sich ähnliche Spezies mit $[\text{Eu}(\text{H}_2\text{EDTA})]^+$ sowie $[\text{Eu}(\text{H}_2\text{EDTA}) + \text{H}_2\text{O}]^+$ und einem summierten Speziesanteil von $4,8 \cdot 10^{-3}$ %. Die Lösung mit der höchsten EDTA-Konzentration von 2000 μM weist die gleichen Spezies auf: $[\text{Eu}(\text{H}_2\text{EDTA})]^+$ und $[\text{Eu}(\text{H}_2\text{EDTA}) + \text{H}_2\text{O}]^+$ mit einem Gesamtanteil von 0,43 %. Demzufolge ist ein deutlicher Anstieg der entstehenden Eu-EDTA-Komplexe bzw. deren Speziesanteile um drei Größenordnungen mit Erhöhung der EDTA-Konzentration in Lösung zu erkennen. Ein direkter Vergleich mit den theoretischen Berechnungen ist an dieser Stelle schwierig, da es sich hier um ausschließlich positiv geladene Verbindungen handelt, welche nicht in den thermodynamischen Daten enthalten sind.

Die Zugabe verschiedener EDTA-Konzentrationen verändert auch die experimentell bestimmten, chemischen Spezies in der HOAGLAND-Lösung nach dem Pflanzenkontakt. Dies wird durch ESI-MS-Messungen bestätigt. Dazu wurde die bereits in Kapitel 6.3.1 verwendete Berechnung der relativen Intensitätsverhältnisse vor und nach Pflanzenkontakt auf die verschiedenen Lösungen angewandt. Die ermittelten Ausreißer nach Anwendung des GRUBBS-Tests weisen auf eine Veränderung der Eu-Spezies in Lösung hin (Abb. 6.15 und Tab. A.6.9). Die Ausreißer mit 20 μM EDTA wurden bereits in Kapitel 6.3.1 erläutert und sind für den Vergleich erneut aufgeführt. Eine EDTA-Konzentration von 200 μM zeigt im Vergleich zur 20 μM Lösung neben $[\text{Eu}(\text{H}_2\text{EDTA})]^+$ eine weitere Eu-EDTA-Spezies mit $[\text{Eu}(\text{H}_2\text{EDTA}) + \text{H}_2\text{O}]^+$, welche sich in der Wasseranzahl zur bereits

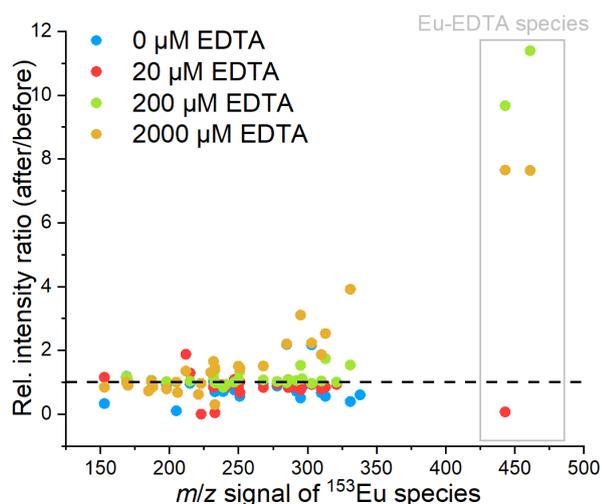


Abbildung 6.15: Relative Intensitätsverhältnisse von ^{153}Eu -Spezies vor und nach der Pflanzenkontamination mit Eu-HOAGLAND-Lösungen ($[\text{Eu}] = 5 \text{ mM}$) verschiedenen EDTA Konzentrationen von 0-2000 μM . Verwendet wurden die 30 Eu-Spezies höchster Intensität und die Eu-EDTA-Komplexe. Die gestrichelte Linie markiert das Verhältnis von Eins.

identifizierten Spezies unterscheidet. Die Bestimmung der relativen Intensitätsverhältnisse ergibt bei 200 μM EDTA-Zugabe Eu-EDTA-Spezies als Ausreißer mit Werten über Eins, demnach sind deren Anteile nach Pflanzenkontakt höher als zuvor. Ein ähnliches Verhalten der Eu-EDTA-Komplexe ist mit der Zugabe von 2000 μM EDTA zu erkennen, allerdings konnten aufgrund der großen Streuung der Verhältnisse keine Ausreißer festgestellt werden. Erst ab einem relativen Intensitätsverhältnis von 8,5 wäre ein Ausreißer zu erkennen gewesen.

6.6.3 TRLFS-Ergebnisse

Weitere Informationen über das Verhalten von Eu-Spezies unter Zugabe von EDTA wurden mit TRLFS-Messungen der HOAGLAND-Lösungen erhalten. Die Emissionsspektren der Eu-EDTA-HOAGLAND-Lösungen vor Pflanzenkontakt zeigen eine steigende Intensität der ${}^7\text{F}_0$ -Bande mit der EDTA-Konzentration (Abb. 6.16a). Diese deutet auf die Bildung weiterer Eu-Komplexe hin. Außerdem ist eine leichte Verschiebung der Bande von 580,34 nm (0 μM) über 580,85 nm (20 μM) zu 581,10 nm (200 μM und 2000 μM) zu erkennen, welche nach *Thakur et al.* auf die Bildung von Eu-EDTA-Komplexen hinweist.^{127,128} Auch die ${}^7\text{F}_2/{}^7\text{F}_1$ -Verhältnisse werden mit 0,73 (0 μM und 20 μM), 0,89 (200 μM) und 1,84 (2000 μM) größer und bedeuten ein erhöhtes Maß der Komplexierung des Eu^{3+} -Ions in Lösung. Der Vergleich mit den Spektren nach Pflanzenkontakt zeigt die größten Änderungen der Lösungen ohne und mit 20 μM EDTA (Abb. 6.16b). Die Intensitäten der ${}^7\text{F}_0$ -Banden steigen leicht an. Zudem erhöht sich bei 20 μM das

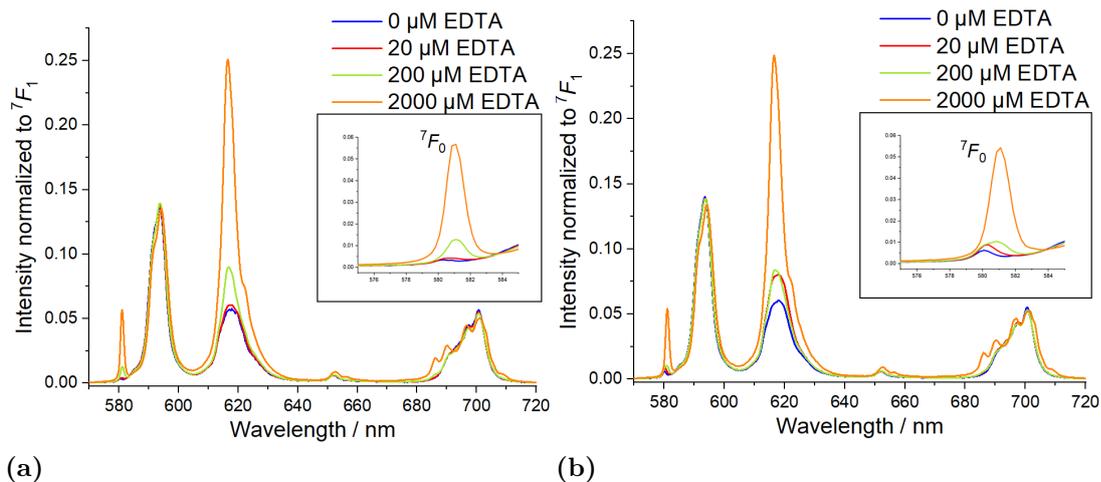


Abbildung 6.16: Emissionsspektren von (a) vor und (b) nach Pflanzenkontakt mit verschiedenen EDTA-Konzentrationen von 0-2000 μM in einer Eu-HOAGLAND-Lösung ($[\text{Eu}] = 5 \text{ mM}$).¹¹¹

${}^7\text{F}_2/{}^7\text{F}_1$ -Verhältnis auf 0,92. Die Emissionsspektren der Lösungen mit den höchsten EDTA-Konzentrationen weisen kaum Änderungen auf. Die ${}^7\text{F}_0$ -Emissionsbanden verschieben sich wie zuvor leicht zu höheren Wellenlängen mit: 580,09 nm (0 μM), 580,34 nm (20 μM), 580,85 nm (200 μM) und 581,10 nm (2000 μM). Verglichen mit den Emissionswellenlängen vor Pflanzenkontakt verlagern sich diese von 0 μM bis 200 μM EDTA nach der Inkubation zu niedrigeren Werten. Es werden Differenzen von -0,25 nm (0 μM), -0,50 nm (20 μM) und -0,25 nm (200 μM) erhalten, welche auf Veränderungen der Eu-Verbindungen in Lösung hindeuten.

Lebensdauermessungen der Eu-Floreszenz geben weitere Einblicke in die Speziesänderungen in Lösung. Bei der Auswertung wurde die erste Eu^{3+} -Spezies auf das Aquo-Ion ($\tau_1 = 110 \mu\text{s}$) fixiert und die zweite über den bi-exponentiellen Fit berechnet. Vor dem Pflanzenkontakt sinkt die Lebensdauer der HOAGLAND-Lösungen mit steigender EDTA-Konzentration. Die Erhöhung der Ligand-Konzentration hat laut dem *Prinzip von Le Chatelier* eine vermehrte Bildung von Eu-EDTA-Komplexen zur Folge, wobei die Stöchiometrie des Liganden ebenfalls zunehmen kann. Nach *Thakur et al.* sollte eine solche Erhöhung der EDTA-Stöchiometrie zu einem Anstieg der Lebensdauer führen und würde gleichzeitig eine Erhöhung des pH-Wertes bedeuten.^{126,127} Da der pH-Wert der vorliegenden Lösungen aber mit der EDTA-Konzentration sinkt (Abb. 6.12b), reduziert sich die Lebensdauer in Lösung. Somit verändert sich die Stöchiometrie von Eu:EDTA in den gebildeten Komplexen vermutlich nicht. Dieses Ergebnis spiegelt sich in den vorangegangenen ESI-MS-Messungen der positiven Eu-EDTA-Komplexe wi-

Tabelle 6.3: Lebensdauern der zweiten Eu-Spezies (τ_2) in den Eu-HOAGLAND-Lösungen mit verschiedenen EDTA-Konzentrationen (c) gemessen mit TRLFS (Messsystem A).¹¹¹

c / mM	sample	τ_2 / μs	$n_2(\text{H}_2\text{O})$
0	vorher	423 ± 37	$1,9 \pm 0,5$
	nachher	143 ± 17	$6,8 \pm 0,5$
20	vorher	383 ± 29	$2,2 \pm 0,5$
	nachher	127 ± 17	$7,8 \pm 0,5$
200	vorher	420 ± 6	$1,9 \pm 0,5$
	nachher	144 ± 5	$6,8 \pm 0,5$
2000	vorher	231 ± 2	$4,0 \pm 0,5$
	nachher	219 ± 2	$4,3 \pm 0,5$

der (Kapitel 6.6.2). Mögliche negativ geladene Spezies sind $[\text{Eu}(\text{EDTA})]^-$ mit einer Lebensdauer von $264 \pm 6 \mu\text{s}$ ($\text{pH} = 3,6\text{-}8,0$) und gelöstes $\text{Eu}(\text{HEDTA})$ sowie $[\text{Eu}(\text{HEDTA})_2]^{3-}$, welche bereits bei den Ergebnissen der Eu-HOAGLAND-Lösung in Kapitel 6.3.2 erwähnt wurden.^{126,127}

Nach Pflanzenkontakt verringert sich die Lebensdauer der zweiten Eu-Spezies, wobei die Differenz (vorher-nachher) mit der EDTA-Konzentration sinkt. Da der pH-Wert nach Pflanzenkontamination steigt, spricht diese Veränderung für eine Verringerung des Eu-EDTA-Anteils in Lösung und dessen mögliche Aufnahme in die Pflanze.

6.7 Europiumspezies in der Pflanze nach EDTA-Zugabe

6.7.1 Ergebnisse der TRLFS

Nach der Analyse der Nährmedien wird der Einfluss von EDTA auf die Eu-Spezies im Winterroggen mittels TRLFS untersucht. Emissionsspektren der Wurzeln und Blätter wurden aufgenommen und verglichen (Abb. 6.17). In dem Wurzelbereich ist keine ${}^7\text{F}_0$ -Emissionbande sichtbar, was auf die Ausbildung symmetrischer Spezies hindeutet. Die Größe der ${}^7\text{F}_2/{}^7\text{F}_1$ -Verhältnisse folgen dem Trend: $3,8$ ($20 \mu\text{M}$) $>$ $3,0$ ($200 \mu\text{M}$) $>$ $2,4$ ($2000 \mu\text{M}$) $>$ $2,1$ ($0 \mu\text{M}$).

In den Blättern sind die Übergänge in das ${}^7\text{F}_0$ -Energielevel sichtbar und deren Intensität folgt den ${}^7\text{F}_2/{}^7\text{F}_1$ -Verhältnissen mit $4,8$ ($20 \mu\text{M}$) $>$ $4,2$ ($0 \mu\text{M}$) $>$ $3,9$ ($200 \mu\text{M}$) $>$ $1,9$ ($2000 \mu\text{M}$). Bei einem Vergleich der Emissionsspektren der verschiedenen EDTA-Konzentrationen innerhalb einer Pflanze zeigt sich eine erhöhte Komplexierung im Wurzelhals (Abb. A.6.1). Somit ist eine chemische Umwandlung der Eu-Spezies innerhalb der Pflanze sehr wahrscheinlich.

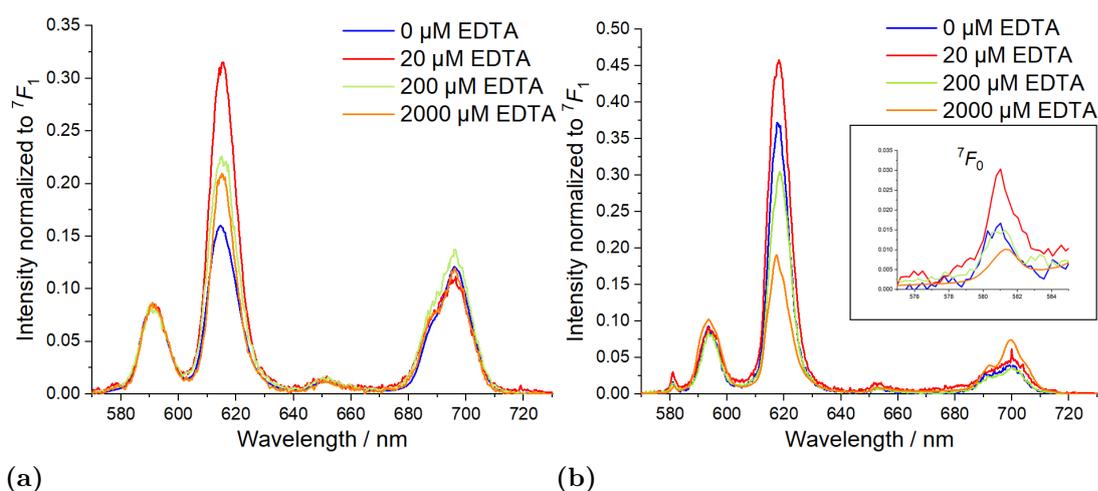


Abbildung 6.17: Emissionsspektren von (a) Wurzel und (b) Blatt kontaminiert mit verschiedenen EDTA-Konzentrationen, gemessen mit Messsystem A.¹¹¹

Die ermittelten Lebensdauern in den Pflanzenteilen sind im Allgemeinen deutlich höher als in den Nährlösungen (Tab. 6.4). Dies weist auf eine Komplexierung an Pflanzenteilen, wie den Zellwänden, hin. Dabei zeigen die Blätter kürzere Lebensdauern der zweiten Eu-Spezies als die Wurzeln. Neben den Lebensdauern steigen auch die Unsicherheiten der Werte. Ein Grund ist, dass der betrachtete, spektrale Bereich mit dem der Chlorophyll-Lumineszenz überlappt und somit einen Einfluss auf die Lebensdauer ausüben kann.¹³¹

6.7.2 Ergebnisse der Lumineszenz-Mikroskopie

Ortsaufgelöste Lumineszenz-Mikroskopie-Aufnahmen geben weitere Hinweise auf die vorliegenden Eu-Spezies und deren Verteilung innerhalb der Pflanze (Abb. 6.18). An der Oberfläche der Wurzelspitze ist eine in Blau markierte Spezies zu erkennen mit einer geringen 7F_0 -Emissionsbande und einem ${}^7F_2/{}^7F_1$ -Verhältnis

Tabelle 6.4: Lebensdauern der zweiten Eu-Spezies (τ_2) in *Secale cereale* L. mit verschiedenen EDTA-Konzentrationen (c) gemessen mit TRLFS (Messsystem A).¹¹¹

c / mM	sample	τ_2 / μ s	$n_2(\text{H}_2\text{O})$
0	Wurzel	596 ± 64	$1,2 \pm 0,5$
	Blatt	511 ± 15	$1,5 \pm 0,5$
20	Wurzel	611 ± 90	$1,1 \pm 0,6$
	Blatt	538 ± 222	$1,4 \pm 1,9$
200	Wurzel	917 ± 346	$0,6 \pm 1,0$
	Blatt	814 ± 62	$0,7 \pm 0,5$
2000	Wurzel	715 ± 43	$0,9 \pm 0,5$
	Blatt	699 ± 9	$0,9 \pm 0,5$

von 2,0. Die orange dargestellte Spezies im Inneren der Wurzelspitze ist deutlich präsenter, besitzt eine ebenso große 7F_0 -Bande und ein höheres ${}^7F_2/{}^7F_1$ -Bandenverhältnis von 3,0. Aufnahmen der Wurzel zeigen ähnliche Spezies mit ${}^7F_2/{}^7F_1 = 2,0$ (blau) und 3,8 (orange). Eine weitere Eu-Verbindung ist im Wurzel-

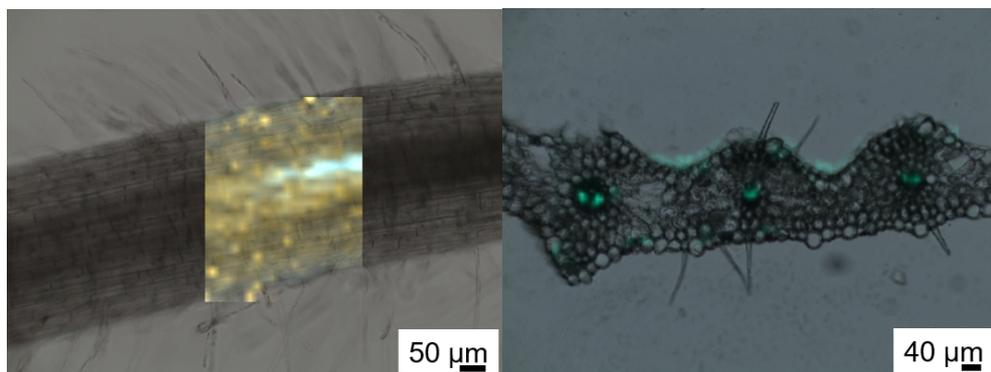
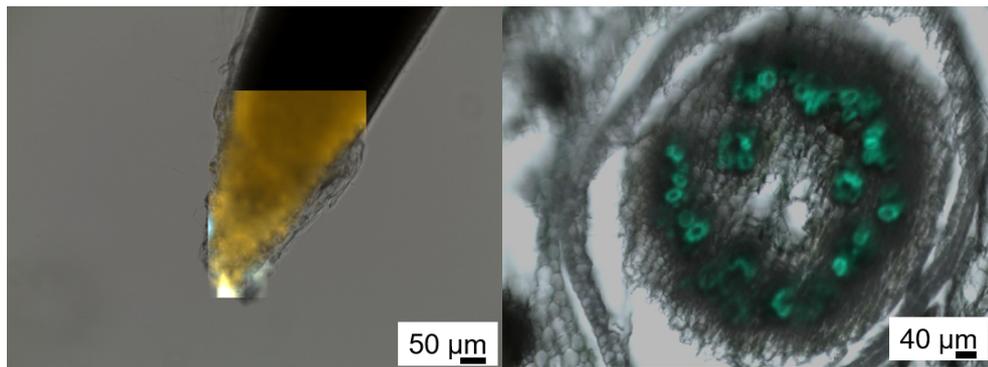
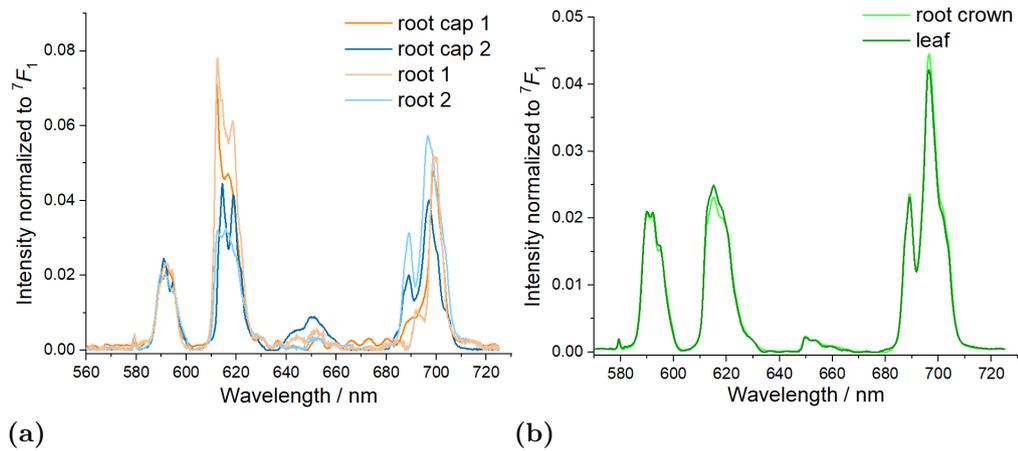


Abbildung 6.18: Emissionsspektren von (a) der Wurzel und Wurzelspitze sowie (b) des Wurzelhalses und des Blattes (Messsystem B). Lumineszenz-Mikroskopie-Aufnahmen (c) der Wurzelspitze, (d) des Wurzelhalses, (e) der Wurzel und (f) des Blattes von *Secale cereale* L. inkubiert mit 2000 μM EDTA und 5 mM Europium.

hals und den Leitungsbahnen des Blattes zu finden. Diese ist definiert durch einen gering intensiven Übergang in das 7F_0 -Energieniveau und ein ${}^7F_2/{}^7F_1$ -Verhältnis von 1,4 für beide Emissionsspektren (grün).

7 | Die Verteilung von Americium in *Secale cereale* L.

7.1 Analyse der Nährlösung

Für die Identifikation von Americiumspezies im flüssigen Nährmedium wurden zunächst theoretische Berechnungen durchgeführt. Für die Pflanzeninkubation mit dem Actinid wurde wie zuvor bei Europium eine EDTA-Konzentration von 20 μM verwendet. Bei einer Am-Konzentration von 500 nM wird $\text{Am}[\text{EDTA}]^-$ als häufigste, zu erwartende chemische Spezies erhalten (Abb. 7.1 und Tab. A.7.1). Bei einem $\text{pH} < 4$ sind Am^{3+} und $\text{Am}[\text{HEDTA}]$ als gelöste Verbindung zu erkennen. Im Bereich des gemessenen pH-Wertes der realen Lösung von 4,2 ist mit 99 % die negativ geladene Am-EDTA-Spezies hauptsächlich vorhanden.

Neben den theoretischen Berechnungen wurde die Am-HOAGLAND-Lösung mit ESI-MS analysiert und die Am-Spezies identifiziert (Tab. 7.1). Diese befinden sich in einem niedrigen Intensitätsbereich, was eine erhöhte Unsicherheit der Messwerte zur Folge hat. Im Rahmen der Auswertung werden die detektierten Peaks daher auf ihre Richtigkeit überprüft. Unter einer absoluten Intensität von 100 counts im MS-Spektrum wurden die Verbindungen daher zu den „restlichen Spezies“ zusammengefasst und nicht einzeln ausgewertet. Mit 34 % stellen die Am-EDTA-

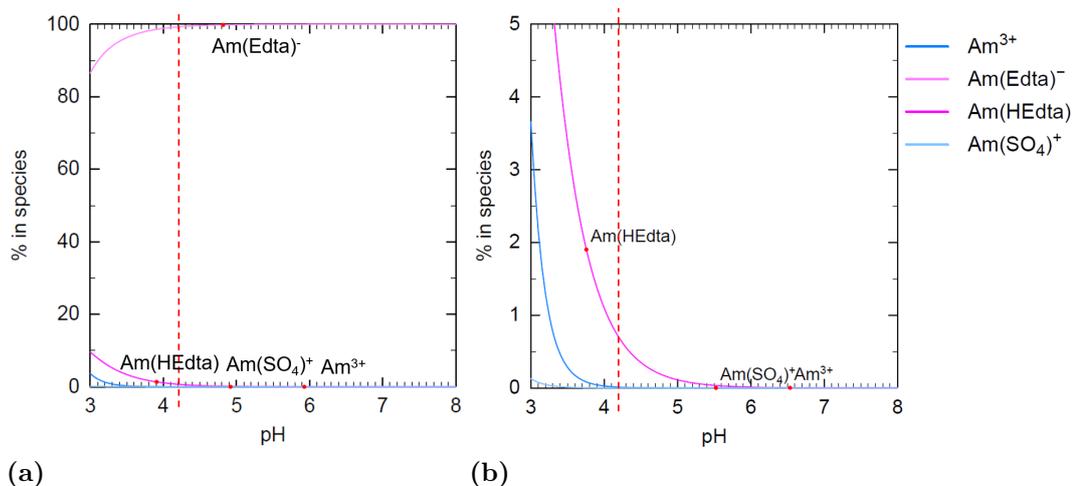


Abbildung 7.1: Theoretische Berechnung der Speziesverteilung einer Am-HOAGLAND-Lösung mit $[\text{Am}] = 500 \text{ nM}$ in einem pH-Bereich von 3 bis 8. (a): Speziesverteilung bis 100 %, (b): Speziesverteilung bis 5 %. In Rot markiert ist der pH-Wert der Lösung mit 4,2.

Tabelle 7.1: Speziesanteile in der Am-HOAGLAND-Lösung mit 20 μM EDTA und 500 nM Americium gemessen mit ESI-MS und ausgewertet mit dem Programm *MARI*. Die Grenze für die minimale, absolute Intensität I zur eindeutigen Identifizierung wurde auf 100 counts gesetzt und alle darunter liegenden Spezies als „restlichen Spezies“ zusammengefasst.

Spezies	$m/z(^{243}\text{Am})$	Abs. I	Anteil / %
$[\text{Am}(\text{H}_3\text{EDTA}) + \text{H}_2\text{O}]^{2+}$	276,08	130	19
$[\text{Am}(\text{H}_3\text{EDTA})(\text{NO}_3)]^+$	596,13	100	15
$[\text{Am}(\text{NO}_3)_2 + 2 \text{H}_2\text{O}]^+$	403,06	100	15
restliche Spezies		<100	51

Komplexe die häufigst detektierte Spezies in Lösung dar. Am-Nitrat ist zudem mit 15 % enthalten. 51 % der erwarteten Am-Signale liegen unter einer absoluten Intensität von 100 counts im MS-Spektrum. Da das Signal-zu-Rausch-Verhältnis in diesem Bereich zu hoch ist, um eine eindeutige Identifikation durchzuführen, kann das Auftreten der Spezies $[\text{Am}(\text{HSO}_4) + 2 \text{H}_2\text{O}]^+$ und $[\text{Am}(\text{SO}_4) + 3 \text{H}_2\text{O}]^+$, mit jeweiligen Anteilen von 9 % und 8 % nicht gesichert bestätigt werden (Tab. A.7.2).

Wie bereits bei Europium ist der direkte Vergleich von theoretischen Berechnungen und experimentellen Ergebnissen in der Am-HOAGLAND-Lösung schwierig, da keine positiv geladenen Am-EDTA-Spezies in den thermodynamischen Daten vorhanden sind. Bisher gibt es zu diesen keine referenzierten Vergleichswerte.

7.2 Akkumulation in der Pflanze

7.2.1 Konzentration in den Pflanzenteilen

Der Winterroggen wurde für Vergleichszwecke sowohl mit Americium als auch Europium mit Konzentrationen von jeweils 100 nM (A) und 1 mM (B) über den gleichen Zeitraum inkubiert. Um die aufgenommene Menge beider Elemente in den Winterroggen zu vergleichen, wurden die Konzentrationen in den Pflanzenteilen Wurzel und Blatt bestimmt. Americium und Europium zeigen innerhalb ihrer Fehler ähnliche Ergebnisse in den Pflanzenteilen (Abb. 7.2). Dabei wurden bei 100 nM etwa 94,2 % Eu und 98,6 % Am in den Wurzeln sowie 5,8 % Eu und 1,4 % Am in den Blättern bestimmt. Bei der höheren Konzentration von 1 mM gleichen sich die Anteile an: 99,5 % Eu und 99,7 % Am (Wurzeln) bzw. 0,5 % Eu und 0,3 % Am (Blätter). Entsprechend der prozentualen Anteile, deuten die Ergebnisse auf eine ähnliche oder sogar gleiche Verteilung der beiden untersuchten Elemente innerhalb der Pflanze hin. Ein Großteil verbleibt in den Wurzeln, während nur ein geringer Teil in die Blätter transportiert und eingebaut wird.

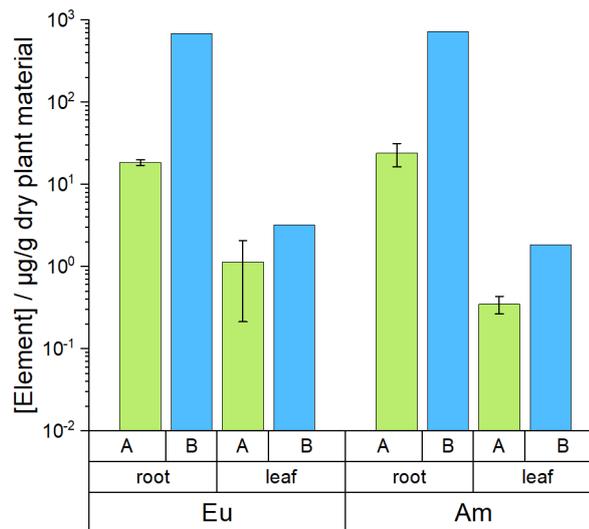


Abbildung 7.2: Element-Konzentration in *Secale cereale* L. kontaminiert mit jeweils 100 nM (A) sowie 1 mM (B) Americium und Europium gemessen mit ICP-MS. Die angegebenen Fehler sind die Standardabweichungen (A). Für (B) wurde nur eine Pflanze untersucht.

7.2.2 Lokalisation innerhalb der Pflanze

Die Verteilung von Europium und Americium in einer Winterroggenwurzel, inkubiert mit gleichzeitig 1 mM beider Elemente, wurde mit Hilfe von SIMS- und rL-SNMS-Messungen untersucht. Die Ergebnisse zeigen die Akkumulation von Europium (SIMS) und Americium (rL-SNMS) in der Wurzel (Abb. 7.3a, b) und ein erhöhtes Signal im äußeren Cortex. Dabei befindet sich Europium bevorzugt im Inneren der Wurzel, während Americium homogener im äußerem Cortex verteilt ist. Bei der SIMS werden zu den Signalen der Metall-Spezies auch diese von organischen Bestandteilen der Pflanze erhalten, weshalb das Signal-zu-Rausch-Verhältnis geringer ist im Vergleich zur rL-SNMS. Abb. 7.3c, d zeigt rL-SNMS-Ergebnisse im *spectrometry*-Modus, weshalb die laterale Auflösung reduziert ist. Dabei wird die Anwesenheit von Americium im Bereich des Wurzel-Cortex, bevorzugt in den Zellwänden (w) im unteren Teil der Aufnahme, deutlich. Die Eu-Signale in der rL-SNMS-Messung wurden im nicht-resonanten Spektrum bei der Am-Anregung erhalten. Sie weisen eine homogenere Verteilung auf mit einer Akkumulation im selben Bereich wie das Actinid. Da die Analyse nicht auf die Identifikation dieses Elements abgestimmt ist, fällt die Signalintensität deutlich geringer aus im Vergleich zu der von Americium. Die jeweiligen Massenspektren sind dem Anhang zu entnehmen (Abb. A.7.1).

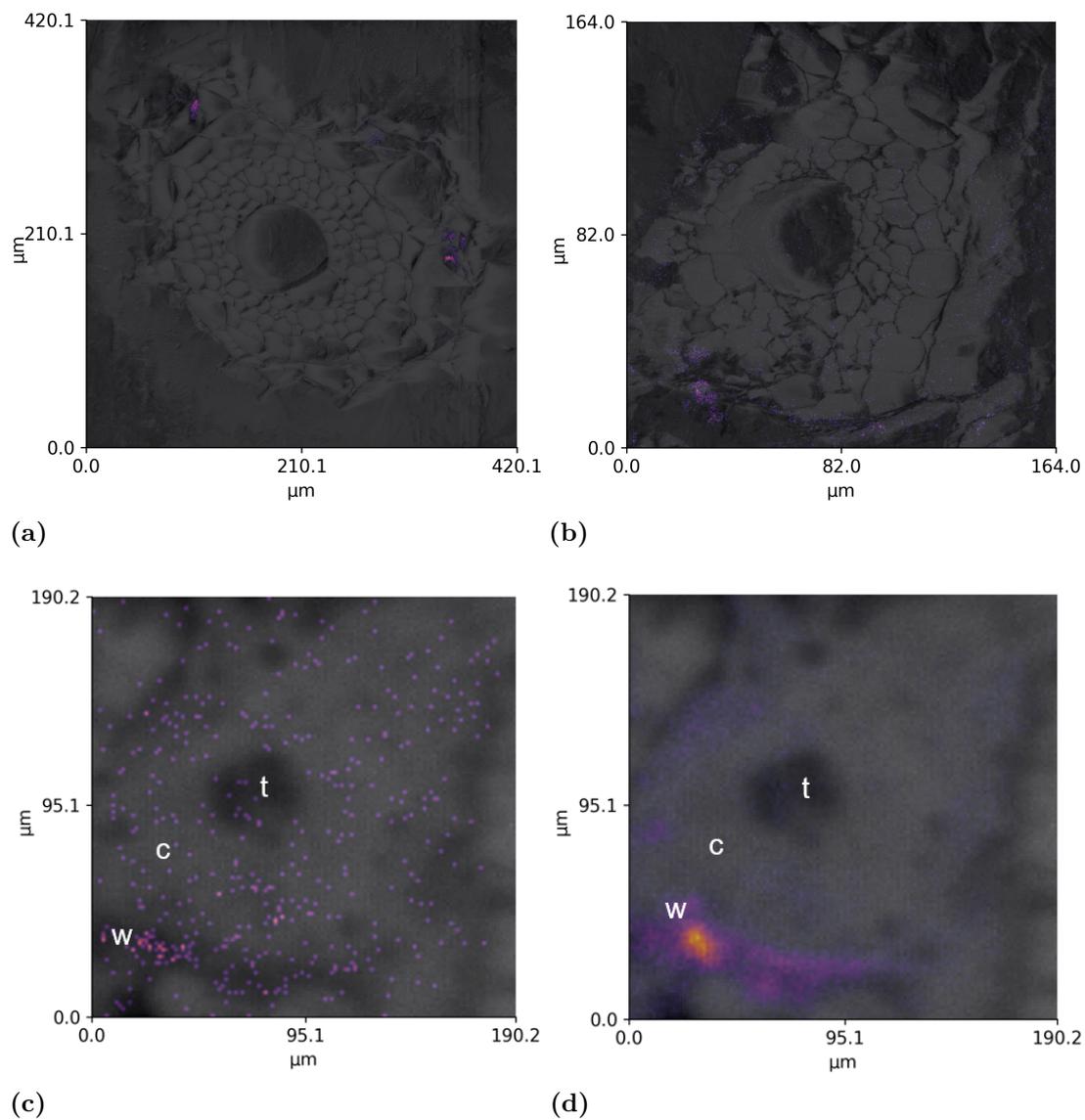


Abbildung 7.3: (a) Ergebnisse der SIMS-Messungen einer Winterroggenwurzel mit Eu und (b) rL-SNMS-Ergebnisse im *fast imaging*-Modus von Am ($[\text{Eu}] = [\text{Am}] = 1 \text{ mM}$). Korrespondierende rL-SNMS-Ergebnisse der Probe aus (b) im *spectrometry*-Modus mit Signalen von (c) $[\text{Eu}(\text{OH})]^+$ und (d) Am. Dabei entspricht „t“ dem Transportkanal, „c“ einem Bereich des Cortex und „w“ einem Areal von Zellwänden.

7.3 Die Auswirkung von organischen Liganden auf die Speziation

In Anlehnung an die Eu-HOAGLAND-Lösungen mit EDTA, Malonat, Citrat und Oxalat wurden Am-Lösungen mit einer Konzentration von 500 nM Americium und einem Isotopenverhältnis von 4:6 ($^{241}\text{Am}:$ ^{243}Am) hergestellt. Theoretische Modellierungen der Am-EDTA-Lösung vor dem Pflanzenkontakt aus Kapitel 7.1 zeigten bereits die Schwierigkeit des Vergleichs mit den erhaltenen ESI-MS-Ergebnissen. In den thermodynamischen Daten sind wenig bis keine positiven organischen Am-Spezies enthalten, welche mit der ESI-MS identifiziert werden können. Daher werden an dieser Stelle die Ergebnisse der experimentell bestimmten Am-Spezies im HOAGLAND-Medium mit den verschiedenen organischen Komplexbildnern dargestellt, welche im Anhang in Tab. A.8.1 aufgeführt sind. Die Identifikation der Summenformeln wurde mit dem Auswerteprogramm *MARI* durchgeführt. Da die Auswertung der m/z -Signalintensitäten unter einer absoluten Intensität von 100 counts zu Fehlinterpretationen führen kann, werden diese Verbindungen als „restliche Spezies“ zusammenfasst.

Bei den EDTA-Lösungen mit zugegebenen Konzentrationen von 20 und 200 μM , wurden als Hauptspezies Am-EDTA-Verbindungen identifiziert. Diese sind repräsentiert durch die Komplexe $[\text{Am}(\text{H}_3\text{EDTA}) + \text{H}_2\text{O}]^{2+}$ und $[\text{Am}(\text{H}_3\text{EDTA})(\text{NO}_3)]^+$ bei 20 μM und $[\text{Am}(\text{H}_2\text{EDTA})]^+$ bei 200 μM EDTA. Der Gesamtanteil dieser Spezies steigt dabei mit der EDTA-Konzentration von 34 % auf 41 %. Weitere Am-Verbindungen sind eine Am-Nitrat- (20 μM) und eine Am-Nitrit-Spezies (200 μM).

Bei der Zugabe von Citrat zu den Am-HOAGLAND-Lösungen ergeben sich die Verbindungen $[\text{Am}(\text{NO}_2)(\text{H}_3\text{Cit}) + 3 \text{H}_2\text{O}]^+$ mit 4,2 % bei 20 μM Citrat und $[\text{Am}(\text{H}_3\text{Cit}) + 2 \text{H}_2\text{O}]^{2+}$ mit 9,0 % bei 200 μM Citrat. Diese entsprechen nicht den Hauptspezies in Lösung, welche als Am-Nitrate bzw. Am-Hydroxide vorliegen.

Nach der Zugabe von 20 μM Malonat wurde keine Am-Spezies über einer absoluten Signalintensität von 100 counts identifiziert. In Anwesenheit von 200 μM Malonat sind zwei Komplexe $[\text{Am}(\text{H-Malo}) + 2 \text{H}_2\text{O}]^{2+}$ und $[\text{Am}(\text{H-Malo}) + \text{H}_2\text{O}]^{2+}$ mit 0,63 % und 0,45 % Speziesanteil vorhanden. Wie beim Citrat sind in dieser Lösung die Hauptspezies durch Am-Hydroxide und Nitrate repräsentiert.

Eine Am-Oxalat-Verbindung konnte nicht im ESI-MS-Spektrum nach in der 20 μM Oxalat-HOAGLAND-Lösung detektiert werden. Auch hier dominieren Am-Hydroxid-, Nitrat-, und eine Phosphat-Spezies.

7.3.1 Europiumspezies im Vergleich

Um die Speziesverteilung in der HOAGLAND-Nährlösung von Europium und Americium vergleichen zu können, wurden analog zu den im vorangegangenen Kapitel Lösungen mit 500 nM Europium und den verschiedenen Komplexbildnern hergestellt und die Eu-Spezies mittels ESI-MS analysiert. Die erhaltenen organischen Verbindungen sind zusammen mit denen von Americium in Tab. 7.2 dargestellt. Der Speziesanteil von dem Komplex $[\text{Eu}(\text{H}_2\text{EDTA})]^+$ in Lösung nach Zugabe von 20 μM EDTA ist mit 92 % deutlich größer als bei den Am-Spezies. Mit einer höheren EDTA-Konzentration in Lösung konnte dagegen keine Eu-EDTA-Verbindung identifiziert werden. Der gleiche Sachverhalt ergibt sich bei der Zugabe von 20 μM Citrat. Mit 200 μM Citrat-Zugabe wurden drei organische Eu-Komplexe identifiziert: $[\text{Eu}(\text{H}_2\text{Cit}) + \text{H}_2\text{O}]^+$, $[\text{Eu}(\text{H}_3\text{Cit}) + \text{H}_2\text{O}]^{2+}$ und $[\text{Eu}(\text{H}_3\text{Cit})_2]^+$ mit einem Anteil von insgesamt 1,6 %. Nach Addition von Malonat wurden, wie bei Americium, nur bei der erhöhten Konzentration zwei Verbindungen detektiert als $[\text{Eu}(\text{NO}_3)(\text{H-Malo}) + 2 \text{H}_2\text{O}]^+$ und $[\text{Eu}(\text{NO}_2)(\text{H-Malo}) + \text{H}_2\text{O}]^+$ mit zusammen gerechnet 1,2 % Speziesanteil. Ebenso wie bei der Analyse von Americium wurde keine Eu-Oxalat-Spezies identifiziert.

Tabelle 7.2: Speziesanteile (A) der Am- und Eu-HOAGLAND-Lösung mit jeweils 20 und 200 μM EDTA, Citrat und Malonat und 500 nM Am bzw. Eu gemessen mit ESI-MS und ausgewertet mit dem Programm *MARI*.

EDTA-Spezies					
20 μM		A/%	200 μM		A/%
Am	$[\text{Am}(\text{H}_3\text{EDTA}) + \text{H}_2\text{O}]^{2+}$	19	$[\text{Am}(\text{H}_2\text{EDTA})]^+$		41
	$[\text{Am}(\text{H}_3\text{EDTA})(\text{NO}_3)]^+$	15			
Eu	$[\text{Eu}(\text{H}_2\text{EDTA})]^+$	92	-		
Citrat-Spezies					
20 μM		A/%	200 μM		A/%
Am	$[\text{Am}(\text{NO}_2)(\text{H}_3\text{Cit}) + 3\text{H}_2\text{O}]^+$	4,2	$[\text{Eu}(\text{H}_2\text{Cit}) + \text{H}_2\text{O}]^+$ $[\text{Eu}(\text{H}_3\text{Cit}) + \text{H}_2\text{O}]^{2+}$ $[\text{Eu}(\text{H}_3\text{Cit})_2]^+$		9,0 0,59 0,59 0,43
Eu	-				
Malonat-Spezies					
20 μM		A/%	200 μM		A/%
Am	-		$[\text{Am}(\text{H-Malo}) + 2\text{H}_2\text{O}]^{2+}$ $[\text{Am}(\text{H-Malo}) + \text{H}_2\text{O}]^{2+}$		0,63 0,45
Eu	-				
			$[\text{Eu}(\text{NO}_3)(\text{H-Malo}) + 2\text{H}_2\text{O}]^+$ $[\text{Eu}(\text{NO}_2)(\text{H-Malo}) + \text{H}_2\text{O}]^+$		0,80 0,39

8 | Diskussion der Ergebnisse

8.1 Die Eu- und Am-Aufnahme in die Pflanze

Europium wird nachweislich über die Winterroggenwurzel aus dem Nährmedium aufgenommen und über die Transportkanäle in die Blätter transportiert, wie die ICP-MS- und REM-EDX-Messungen aus Kapitel 6.1.1 belegen. Dabei nimmt mit steigender Eu-Konzentration im Nährmedium der Gehalt des Elements in der Pflanze zu. Die Kinetikexperimente weisen nach fünf Tage ein Plateau auf, welches für eine Regulation der Eu-Aufnahme durch die Pflanze spricht, um ein chemisches Gleichgewicht aufrechtzuerhalten. Unter Einbezug des Wassertransports in die Pflanze ist eine solche Regulierung schlüssig, da dieser durch Diffusion, Volumenstrom und Osmose gesteuert wird. Die Forscherin *Irina Shtangeeva* untersuchte die Geschwindigkeit der Eu-Aufnahme aus dem Boden in Roggen-Pflanzen und stellte einen zunächst langsameren gefolgt von einem schnelleren Anstieg der Konzentration in den Wurzeln innerhalb von zehn Tagen fest.¹³² Die Blätter nahmen etwa eine Größenordnung weniger Europium auf als die Wurzeln, welches den hier erhaltenen Ergebnissen entspricht. Die Eu-Konzentration erreichte nach *Shtangeeva* kein Plateau in der Wurzel, vermutlich aufgrund der verwendeten, geringeren Eu-Konzentration von 10-50 mg/kg im Boden im Vergleich zu etwa 760 mg/kg in Lösung aus dieser Arbeit. Außerdem erfolgt die Aufnahme von Metall-Ionen in Hydrokulturen meist schneller als aus dem Boden, da sie dort an Bodensubstanzen oder Komplexbildner binden können und somit weniger bioverfügbar vorliegen.^{30,57} In einer früheren Arbeit veröffentlichten *Shtangeeva und Ayrault* eine Theorie zur Wasserverdampfung aus Weizenblättern zusammen mit gelöstem Europium.¹³³ Sie untersuchten dazu den Eu-Gehalt in der Rhizosphäre sowie in der Pflanze und stellten eine Eu-Abnahme in beiden Kompartimenten fest. Demnach würde sich ein Gleichgewicht zwischen der Verdampfung des Wassers mit darin enthaltenem Europium durch die Spaltöffnungen im Blatt und den aufgenommenen Metall-Ionen aus dem Boden einstellen. Das Erreichen eines Plateaus in der Eu-Aufnahme kann folglich mit dem Wassertransport in die Pflanze begründet werden.¹²⁴

Der Vergleich der aufgenommenen Menge von Europium und Americium in den Winterroggen mit ICP-MS wurde in Kapitel 7.2.1 aufgeführt. Dabei wurden Konzentrationen beider Elemente von 100 nM und 1 mM dem Nährmedium zugegeben

und die aufgenommenen Mengen der Pflanzenteile Wurzel und Blatt untersucht. Die Ergebnisse zeigen keine signifikanten Unterschiede in der Aufnahme der beiden Elemente. Tendenzen zeigen eine leicht erhöhte Weiterleitung von Europium in die Blätter bei 100 nM im Vergleich zu Americium, allerdings liegen die Werte innerhalb der Unsicherheiten. In Pflanzenproben können Standardabweichungen generell größer ausfallen, da jedes biologische System individuell ist. Trotz gleicher Zeit der Aussaat und Wachstumsbedingungen unterscheiden sich die Pflanzen oft in der Größe und Anzahl der Blätter oder Wurzeln, welches Auswirkungen auf die Aufnahme von Substanzen hat. Dabei müssen Nährstoffe sowie nicht essenzielle Elemente, wie Europium und Americium, unter erhöhtem Energieaufwand der Pflanze über eine längere Wegstrecke transportiert oder weiter verteilt werden. Daraus resultieren größere Schwankungen in den aufgenommenen Mengen.³¹ Um die Aufnahmemechanismen nicht nur über die variablen Konzentrationsbestimmungen zu ermitteln, wurden weitere Untersuchungen durchgeführt. Die Ergebnisse der rL-SNMS-Messungen aus Kapitel 7.2.2 deuten auf die erhöhte Akkumulation von Americium und Europium in den Zellwänden und im äußeren Cortex der Wurzel hin. Dies wird durch die Analyse der Zellverteilung von Europium im Winterroggen (Kap. 6.1.2) bestätigt, in welcher 69 ± 11 % der aufgenommenen Menge in der Zellwand der Wurzel detektiert wurde. *Zotina et al.* zeigten die Aufnahme von ^{241}Am in verschiedene aquatische Pflanzenarten und fanden ebenfalls die höchste Konzentration in den Zellwänden.⁴ Der Eu-Anteil entsprach etwa 76-92 % der gesamten aufgenommenen Menge, wohingegen in der Protein- und Kohlenhydrat-Fraktion ca. 2-24 % identifiziert und der Anteil in den Lipiden <1 % ausmachte. Verglichen mit den hier dargestellten Eu-Experimenten der zellulären Verteilung stimmt dies mit den Ergebnissen der Zellwand (69 ± 11 %), Organellen ($30 \pm 1,0$ %) und löslichen Fraktion ($0,20 \pm 3,9 \cdot 10^{-4}$ %) überein. Zusammen mit der rL-SNMS-Analyse von Americium und Europium wird ein ähnliches Aufnahmeverhalten beider Elemente in den Winterroggen vermutet.

8.2 Die Speziation

8.2.1 Möglichkeiten und Grenzen der verwendeten Analysetechniken

Die Herausforderung der Speziation in biologischen Proben besteht in der Instabilität der Spezies, der geringen Konzentration des Analyten und der komplexen Einbindung dessen in die Matrix.³ Die Probenvorbereitung und Art der Analyse spielt demnach eine wichtige Rolle für die genaue Untersuchung vorliegender Verbindungen. Die Problematik hierbei ist, dass während des Analyseprozesses

die chemische Spezies beeinflusst oder verändert werden können. Für die Speziesanalyse wurden in dieser Arbeit die Lumineszenz-Spektroskopie (TRLFS) und die hochauflösende Massenspektrometrie (ESI-MS) verwendet, um Informationen über vorliegenden Verbindungen erhalten. Die Speziesidentifikation wurde mit stabilem Europium durchgeführt, da für die Pflanzenanalyse eine hohe Ausgangskonzentration des Elements nötig war. Unterhalb einer Konzentration von 5 mM im Nährmedium konnte die Nachweisgrenze der ESI-MS nicht erreicht und die Spezies nicht eindeutig identifiziert werden. Die verwendeten analytischen Methoden besitzen jeweils Vor- und Nachteile für die Speziation, welche im Folgenden diskutiert werden.

Ein großer Vorteil der Lumineszenz-Spektroskopie ist die Möglichkeit zur direkten Analyse der Probe ohne eine Probenvorbereitung und somit ohne Beeinflussung der chemischen Umgebung. Gleichzeitig kann mit Hilfe des Lasers gezielt Eu^{3+} in einem definierten Bereich angeregt und somit Informationen über die erste Koordinationssphäre des Elements erhalten werden. Besonders relevant für die Analyse von Umweltproben ist zudem die geringe Nachweisgrenze dieser Technik im Bereich von 10^{-9} M.¹³⁴ So untersuchten *Fellows et al.* zum ersten Mal Eu-Spezies in Hafer und fanden ein erhöhtes Fluoreszenzsignal in der Wurzelspitze der Pflanze.⁵ Anhand der Emissionsspektren und Fluoreszenz-Lebensdauern konnten erste Abschätzungen der vorliegenden chemischen Spezies durchgeführt werden.

Eine genaue Einordnung dieser Verbindungen scheint dahingehend komplizierter, weil in der spektroskopischen Analyse ein gemittelttes Signal der Eu-Fluoreszenz in dem zu untersuchenden Bereichs der Probe erhalten wird. Die resultierenden Emissionsspektren ergeben eine Mittlung aller vorliegenden Eu-Komplexe, was die Auswertung bei Anwesenheit von mehreren Spezies erschwert. Über das abnehmende Signal der Fluoreszenz-Lebensdauer und einen exponentiellen Fit mit der vermuteten Speziesanzahl können Hinweise auf die vorliegenden Eu-Verbindungen erhalten werden. Allerdings geschieht dies ebenfalls über das gemittelte Signal, wodurch die Differenzierung zwischen verschiedenen Spezies mit naheliegenden Lebensdauern nicht eindeutig erfolgen kann. Bei einem System mit einer Vielzahl an Eu-Komplexen wird die Auswertung über diese Methode ungenau und liefert nur Ergebnisse für die Spezies mit den größten Fluoreszenz-Intensitäten und ausreichend verschiedenen Lebensdauern, je nach Qualität der erhaltenen Spektren. Mit der Auswertemethode der Parallelen Faktoranalyse (PARAFAC) ist es möglich anhand der Emissions- und Lebensdauerspektren detailliertere Informationen über die vorhandenen Spezies zu generieren. Sie ist eine mathematische Entfal-

tungsmethode über *multiway data arrays* („Multiweg-Datenfeldern“). Dabei werden drei variable Parameter benötigt, um eine mathematisch eindeutige Lösung zu erhalten.¹²¹ Zusammen mit TRLFS wurde die Methode bereits für verschiedene Systeme, wie die Uran-Hydrolyse, die Speziation von Eu-Acetat und die Anbindung von Europium und Curium an dem Enzym Calmodulin, verwendet.^{47,135,136} Insgesamt kann die Auswertung mit PARAFAC für jede einzelne Spezies ein Emissionsspektrum liefern, wodurch eine Identifikation vereinfacht wird. Trotzdem wird hierfür das gemittelte Fluoreszenz-Spektrum ausgewertet und die grundsätzliche Herausforderung der Lumineszenz-Spektroskopie in komplexen Systemen bleibt bestehen.

Die zweite verwendete Analysetechnik ist die ESI-MS mit einem hochauflösenden OrbitrapTM-Massenanalysator. Anhand der hohen Massenauflösung können aus flüssigen Proben geladene Spezies voneinander unterschieden und durch ihr charakteristisches Masse-zu-Ladungsverhältnis (m/z) identifiziert werden. Unge-ladene Verbindungen werden bei der Massenspektrometrie nicht detektiert. Durch Auswertung der gemessenen m/z -Signale ergeben sich Vorschläge für mögliche Summenformeln, welche Informationen auf die vorhandenen Spezies liefern. Vor allem mit Hilfe der Messung einer Referenzlösung kann der eindeutige Nachweis einer Spezies erbracht werden. Befinden sich die Analyten nicht in einer flüssigen Phase, müssen sie zuvor aufbereitet werden. Dadurch wird die chemische Umgebung der Probe und der Analyten verändert und verfälschen möglicherweise die Ergebnisse der Speziesanalyse.

Des Weiteren kann es zu den bereits in Kapitel 4.1.3 beschriebenen Artefaktbildungen kommen, welche die Realität der vorhanden Spezies in Lösung beeinträchtigen. Bei der Analyse von Verbindungen mit Metall-Ionen in komplexen Matrices, wie biologischen Proben, ist die Auswertung eine große Herausforderung. Ein Beispiel-Spektrum ist in Abb. 8.1 dargestellt, welches in anderer Form in Kapitel 6.4.1 erläutert wurde. Es zeigt das Ergebnis der Extraktion von Eu-Spezies aus der Winterroggenwurzel mit einem Methanol-Wasser-Gemisch (3:1). In Grau ist das Hintergrundspektrum, bestehend aus Metaboliten der Pflanze und Verbindungen aus der Umgebungsluft, zu erkennen. Diese m/z -Signale füllen den Großteil des MS-Spektrums, während die farbig markierten Analyt-Spezies des Europiums in geringerer, relativer Intensität detektiert werden. Die Identifikation von Eu-Verbindungen wird demnach deutlich durch die Hintergrundsignale erschwert. Um die Identifikation zu vereinfachen, wurde das Auswerteprogramms *MARI* in einer Masterarbeit und im Zusammenhang mit dieser Arbeit entwickelt.¹¹⁹ Dabei wird

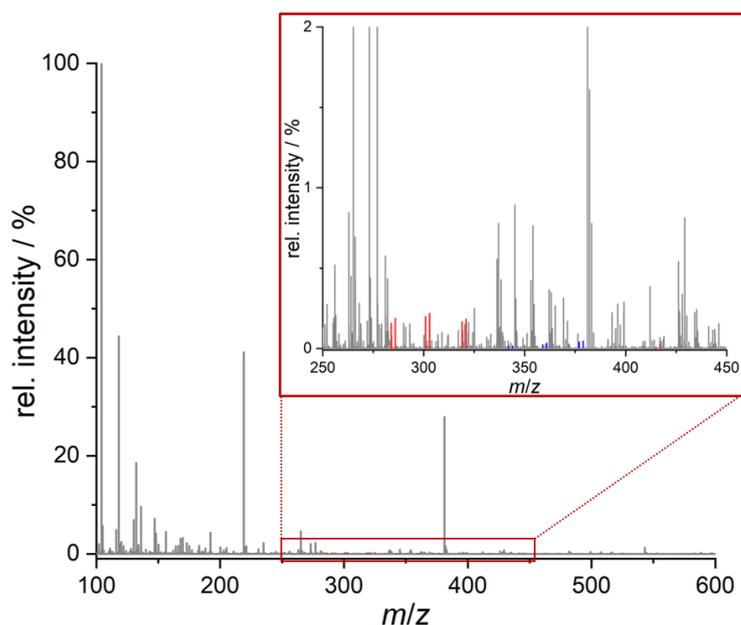


Abbildung 8.1: Hochauflösendes ESI-MS-Spektrum eines Extraktes aus der Winterroggenwurzel mit einem Methanol-Wasser-Gemisch (3:1). Markiert sind die identifizierten Eu-Spezies im m/z -Bereich von 250-450: Eu-Malat (rot) und Eu-Citrat (blau) nach Abb. 6.9.

das charakteristische Isotopenverhältnis der stabilen Isotope ^{151}Eu (47,8 %) und ^{153}Eu (52,2 %) für die Suche genutzt. Neben der Identifikation der Eu-Signale kann zusätzlich eine Datenbank von möglichen Liganden erstellt und die m/z -Signale der potentiellen Eu-Verbindungen berechnet werden. Der Abgleich mit dem MS-Spektrum ermöglicht somit eine eindeutige Auswertung der Spezies.

Beide Analysetechniken, die Lumineszenz-Spektroskopie und die ESI-MS, besitzen Vor- und Nachteile in der Speziation. Diese sollten bei der Auswertung der Ergebnisse nicht außer Acht gelassen werden. Eine Kombination beider Methoden kann detailliertere Informationen über die Aufnahmemechanismen in Pflanzen geben. Daher wurden sie in dieser Arbeit für die Speziesanalyse erstmals eingesetzt.

Die Übertragung der Europiumexperimente auf Americium war aufgrund der Nachweisgrenze der verwendeten Analysetechniken eine große Herausforderung. Eine Konzentration von 5 mM Europium war nötig, um bei Extraktions- und TRLFS-Versuchen die nötige Signalstärke bei der Analyse zu erhalten. Die Aktivität von Americium, mit einem Isotopenverhältnis von 4:6 (^{241}Am : ^{243}Am), läge bei dieser Konzentration bei 67 MBq/mL. Sowohl für die Pflanze als auch für die nachfolgende Probenaufarbeitung und Analyse ist diese Aktivität sehr hoch. Schon Aktivitäten im Bq/mL-Bereich zeigen negative Folgen für die Pflanze, wie DNA-Schäden oder Auswirkungen auf die Photosynthese. Begründet ist

die Schadenswirkung nicht nur durch radiotoxische Effekte, sondern auch durch die chemotoxische Wirkung des Americium, welches ein Schwermetall ist. Auch die biologische Antwort der Pflanze kann sich unterscheiden und Auswirkungen auf die chemischen Spezies besitzen, da beispielsweise reaktive Sauerstoffspezies gebildet werden.¹³⁷ Mit steigender Aktivität nehmen auch die Schäden zu und können nach kurzer Zeit zum Zelltod führen. Während die Probenaufarbeitung bei höheren Aktivitäten in Handschuhboxen weniger problematisch ist, ist die Analyse in einem offenen Messsystem, wie der ESI-MS, mit erhöhtem Risiko verbunden. Bei den ESI-MS-Messungen würde eine potentielle Inhalation, konservativ gerechnet, zu Folgedosen von 180 μSv pro ESI-Probe ($V = 10 \mu\text{L}$) führen. Bei der verwendeten TRLFS-Analyse ist die geringere Quantenausbeute des Am^{3+} -Ions, verglichen mit der des Eu^{3+} -Ions, ein großer Nachteil. Aufgrund der verringerten Abschirmung der 5f- im Vergleich zu den 4f-Elektronen des Europium sind die Energieniveau-Abstände für die Emission von Photonen geringer. Die Quantenausbeute des Actinid-Ions wird somit deutlich stärker von den Schwingungsmoden des umgebenden Mediums beeinflusst.¹³⁸ Aufgrund dessen wurden die bereits diskutierten ICP-MS-, SIMS- und rL-SNMS-Ergebnisse für einen ersten Vergleich herangezogen. Im weiteren Verlauf der Arbeit werden die erhaltenen ESI-MS-Ergebnisse und die Speziation von Americium und Europium im HOAGLAND-Nährmedium mit Konzentrationen von 500 nM nach Zugabe organischer Komplexbildner diskutiert. Daraus können Abschätzungen für das Aufnahmeverhalten des Actinids in Pflanzen erhalten werden.

8.2.2 Spezies in der Nährlösung

Erste Informationen über die Aufnahme von Europium in den Winterroggen werden aus Untersuchungen des Nährmediums vor und nach Pflanzenkontakt mit ESI-MS und TRLFS erhalten (Kapitel 6.2 und 6.3). Trotz der sanften Ionisationsmethode (ESI-MS) ist eine Veränderung der real vorliegenden Spezies in der Probe durch Artefaktbildung möglich. Unter Berücksichtigung dieser Effekte dominiert das Eu^{3+} -Ion in Lösung. Eine Veränderung der relativen Intensitäten von Eu-Spezies im Massenspektrum ist nach der Pflanzeninkubation sichtbar und deutet auf eine mögliche Aufnahme des Eu^{3+} -Ions und der Spezies $[\text{Eu}(\text{H}_2\text{EDTA})]^+$ hin. Auch die Verringerung der Fluoreszenz-Lebensdauer der Eu-Spezies (τ_2) von $383 \pm 29 \mu\text{s}$ auf $127 \pm 17 \mu\text{s}$ zeigt die Aufnahme eines langlebigeren Komplexes. Da eine solch lange Lebensdauer im HOAGLAND-Medium aufgrund ihrer Zusammensetzung nur durch einen Eu-EDTA-Komplex hervorgerufen werden kann, weist dies auf die Aufnahme der Spezies $[\text{Eu}(\text{H}_2\text{EDTA})]^+$ hin.

Nach Pflanzenkontakt wurde anhand der TRLFS-Ergebnisse Eu-Malat im Nährmedium identifiziert. *Taube et al.* ermittelte für den 1:1-Komplex des Eu-Malat eine Lebensdauer von $157 \pm 28 \mu\text{s}$ bei $\text{pH} = 4$ im Chlorid-System, welche im Rahmen der Unsicherheiten mit der hier erhaltenen Lebensdauer von $127 \pm 17 \mu\text{s}$ übereinstimmt.¹³⁹ TRLFS-Referenzmessungen von Eu-Malat im NaCl- und HOAGLAND-System ergaben ein ähnliches Ergebnis und deuten auf eine leichte Verringerung der Lebensdauer im Nährmedium hin. Diese Verringerung kann durch weitere Elemente bzw. Spezies oder Metabolite erzeugt werden (*Quenching*).¹²⁴ Dieser Mechanismus wurde von *Kuke et al.* anhand von Eu-Verbindungen mit Salicylsäure und Glycolsäure untersucht.¹⁴⁰ Die Forscher analysierten die Komplexierung der beiden Liganden mit dem dreiwertigen Europium mit Hilfe von TRLFS-Messungen. Bei der Entstehung des Eu-Salicylsäure-Komplexes wurde festgestellt, dass die Lebensdauer nicht mit der Stöchiometrie des Liganden bzw. die Anzahl umliegender Wassermoleküle ansteigt. Dieser Effekt wäre bei einem *Quenching*-Mechanismus über die OH-Schwingungen nach HORROCKS zu erwarten gewesen, weshalb ein Ligand-spezifisches *Quenching* vermutet wird.¹⁰² Potentielle Auswirkungen von weiteren Liganden, wie organische Säuren, werden dabei nicht betrachtet. Dementsprechend ist die Verringerung der Fluoreszenz-Lebensdauer im HOAGLAND-Medium nicht ungewöhnlich, erschwert jedoch die Interpretation der spektroskopischen Messungen.

Das Emissionsspektrum von Eu-Malat zeigt nach *Taube et al.* eine erhöhte ${}^7\text{F}_2$ -Bande im Vergleich zur normierten ${}^7\text{F}_1$ -Bande. Dieses Bild wird in dieser Arbeit nach Pflanzenkontakt anhand des gesamten Emissionsspektrums nicht bestätigt und zeigt ein geringeres ${}^7\text{F}_2/{}^7\text{F}_1$ -Verhältnis von 0,76 (Abb. 6.7). Durch die Aufnahme eines gemittelten Spektrums über alle enthaltenen Eu-Spezies kann das Fluoreszenzsignal der Eu-Malat-Verbindung von anderen Eu-Komplexen überlagert werden, wie beispielsweise Eu-Phosphat, -Nitrat, oder-Sulfat, welche ${}^7\text{F}_2/{}^7\text{F}_1$ -Verhältnisse unter Eins aufweisen.^{129,130} Mit Hilfe der Auswertung über PARAFAC können zwei Emissionsspektren von Eu-Spezies herausgerechnet werden. Dabei stimmt ein Spektrum (Abb. 6.8, in Orange dargestellt) mit dem des Eu-Malat nach *Taube et al.* überein.

Bei einer Überlagerung von Emissionsspektren verschiedener Eu-Spezies kann außerdem die Analyse der HOAGLAND-Lösung mit der ESI-MS Aufschluss über die Zusammensetzung nach Pflanzenkontakt geben. Die Ergebnisse zeigen die Anwesenheit von Eu-Malat-Komplexen mit einer Stöchiometrie von 1:1 mit den Komplexen $[\text{Eu}(\text{H-Mal})]^+$, $[\text{Eu}(\text{Mal}) + \text{H}_2\text{O}]^+$, $[\text{Eu}(\text{H-Mal}) + \text{H}_2\text{O}]^+$ und $[\text{Eu}(\text{H-Mal}) + 2 \text{H}_2\text{O}]^+$, wodurch die Anwesenheit dieser Spezies erstmals nach-

gewiesen wurde.¹²⁴

Eine potentielle Aussonderung von Pflanzenexsudaten, wie dem Malat, und die Komplexbildung mit Europium wurde bereits von *Jessat et al.* in Untersuchungen an Raps-Zellen (*Brassica napus*) festgestellt.¹⁴¹ Anhand der Ergebnisse wird die Komplexbildung von Eu^{3+} -Ionen mit Pflanzenmetaboliten im Zellüberstand vermutet. TRLFS-Messungen weisen eine Erhöhung des ${}^7\text{F}_2/{}^7\text{F}_1$ -Verhältnis und eine längere Lebensdauer im Überstand nach und deuten auf eine Veränderung der Spezies innerhalb weniger Stunden hin. Die Änderung des Bandenverhältnisses wird in dieser Arbeit in der Eu-HOAGLAND-Lösung nach Pflanzenkontakt bestätigt. Im Gegensatz dazu ergeben die TRLFS-Messungen eine Verringerung der zweiten Lebensdauer. Ein möglicher Grund dafür ist die unterschiedliche Aufnahme von Europium aus dem Zellmedium, bestehend aus einer Zelllinie, und aus dem komplexeren System der Pflanze.

8.2.3 Untersuchungen an der Pflanze

Weitergehend sind durch die Speziesanalyse im Winterroggen aus Kapitel 6.4 Eu-Verbindungen mit Malat, Citrat und Aspartat im Extrakt der Winterroggenwurzel nachgewiesen worden. Zum einen wird die Beteiligung von Malat und Citrat am Langstreckentransport („*long distance transport*“) von Metall-Ionen in der Pflanze vermutet.¹⁴² Zum anderen bedienen die identifizierten Liganden auch bestimmte Funktionen im Pflanzenmetabolismus. Malat ist in vielen Bereichen des Pflanzenmetabolismus beteiligt, unter anderem im TCA-Zyklus in den Mitochondrien. Außerdem spielt es eine wichtige Rolle als Pflanzenexsudat, um potentiell toxische Schwermetalle im Boden zu binden. Die Ergebnisse deuten auf eine Akkumulation der Eu-Malat-Komplexe $[\text{Eu}(\text{H-Mal})]^+$, $[\text{Eu}(\text{Mal}) + \text{H}_2\text{O}]^+$, $[\text{Eu}(\text{H-Mal}) + \text{H}_2\text{O}]^+$, $[\text{Eu}(\text{Mal}) + 2 \text{H}_2\text{O}]^+$ und $[\text{Eu}(\text{H-Mal})_2]^+$ an der Wurzeloberfläche hin, da diese ebenfalls im Nährmedium identifiziert wurden. Eine Ausnahme stellt der 1:2-Komplex dar, welcher nicht in der HOAGLAND-Lösung nach Pflanzenkontakt detektiert wurde. Es ist nicht zu unterscheiden, ob die Eu-Malat-Komplexe als solches von der Pflanze ausgeschieden werden oder ob Malat ausgesondert und erst an der Wurzeloberfläche Verbindungen mit Europium ausbildet. Die nachfolgende Aufnahme des Komplexes kann ebenfalls ein mögliches Szenario darstellen, welches mit TRLFS Messungen an der Pflanze überprüft wurde (Kapitel 6.4.2). Die Analyse ergab eine Eu-Spezies mit einem ${}^7\text{F}_2/{}^7\text{F}_1$ -Verhältnis von 1,4 und eine Lebensdauer von $240 \pm 5 \mu\text{s}$ (braun markierte Spezies). Eu-Malat stellt eine potentielle Verbindung dar, wobei das Bandenverhältnis mit 1,49 und die Lebensdauer mit $197 \pm 18 \mu\text{s}$ (pH = 1,2-6,4) im Vergleich zur Lite-

ratur leicht verschieden sind.¹³⁹ Eine längere Fluoreszenz-Lebensdauer deutet auf eine zusätzliche Komplexierung des Eu^{3+} -Ions mit dem umliegenden Pflanzengewebe und dessen funktionelle Gruppen, wie Carboxyl- oder Phosphat-Gruppen, hin. Außerdem wurde bereits ein *Quenching* im HOAGLAND-Medium festgestellt, welches durch Pflanzenbestandteile, wie Metabolite oder Minerale, ebenfalls hervorgerufen werden kann. Diese Umstände erschweren den Vergleich mit in der Literatur vorhandenen Ergebnissen und damit die genaue Identifikation der Eu-Spezies in der Pflanze mit TRLFS-Messungen.¹²⁴

Als eine weitere, extrahierte Verbindung wurde Eu-Citrat mit den Spezies $\text{Eu}(\text{H}_2\text{Cit}) + \text{H}_2\text{O}^+$, $[\text{Eu}(\text{H}_2\text{Cit}) + 2 \text{H}_2\text{O}]^+$ und $[\text{Eu}(\text{H}_3\text{Cit})]^+$ in der Pflanzenwurzel identifiziert. Citrat besitzt ähnliche Funktionen wie Malat im Pflanzenmetabolismus. *Álvarez-Fernández et al.* zeigten die Zusammensetzung des Xylemsafts einiger Pflanzenarten nach Kontakt mit verschiedenen Metall-Ionen.¹⁴² Darunter befinden sich in höheren Konzentrationen einige Komplexe mit Malat und Citrat, welche im Winterroggen ebenfalls mit Europium als Komplexverbindungen vorliegen können. Je nach Art der Pflanze und Schwermetall werden unterschiedliche Konzentrationen der Carboxylsäure ausgesondert.⁶⁸ Obwohl Citrat ein Pflanzenexsudat darstellt, wurde keine Eu-Citrat-Spezies in der HOAGLAND-Lösung nach Pflanzeninkubation detektiert. Erklärt wird diese Beobachtung durch die stattfindende Aufkonzentration des Analyten bei der Extraktion. Während hierbei spezifische Verbindungen gelöst und aus der Matrix entfernt werden, findet dieser Prozess bei einer direkten Messung des Nährmediums nicht statt. Demnach ist auch das Auftreten eines Eu-Citrat-Komplexes im Nährmedium nicht auszuschließen.¹²⁴

In geringerem relativen Anteil konnte Eu-Aspartat als $[\text{Eu}(\text{Asp})]^+$ -Komplex im Wurzel-Extrakt mit Hilfe der ESI-MS identifiziert werden. Aspartat ist eine Aminosäure, aus welcher in der Pflanze weitere, essenzielle Aminosäuren synthetisiert werden. Es spielt zudem eine wichtige Rolle im sogenannten *Aspartat-Malat-Shuttle* der Pflanze, welcher als indirekter Energietransfer von NADH in die Mitochondrien fungiert (Abb. 8.2). Dabei wird Malat in die Matrix der Mitochondrien über sogenannte *Membrancarrier* transportiert. Eine Reaktion zu Oxalacetat bildet aus NAD^+ den Elektronen-Lieferanten NADH. Über die Rückreaktion von Oxalacetat und Glutamat entstehen α -Ketoglutarat und Aspartat, welche über die *Carrier* zurück in das Cytoplasma transportiert werden. Außerhalb findet die gleiche Reaktion in umgekehrte Richtung statt und aus NADH wird wieder NAD^+ gebildet. Die jeweiligen *Membrancarrier* sind spezifisch für die aufgeführten Verbindungen und können somit NADH für die Zellatmung in den Mitochondrien

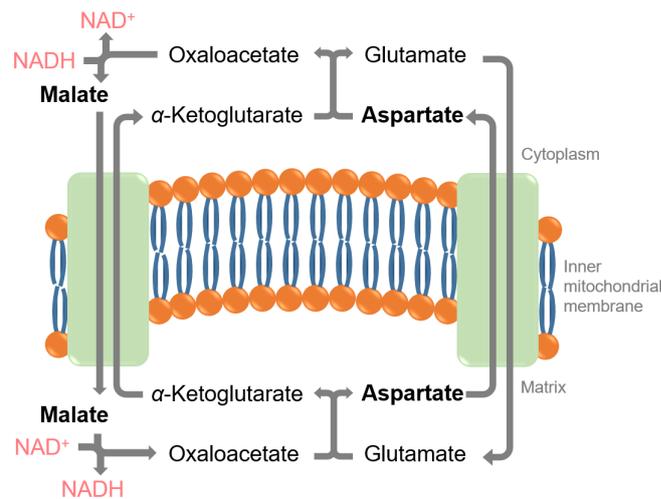


Abbildung 8.2: Schematische Darstellung des *Aspartat-Malat-Shuttles* vom Cytoplasma über die innere Mitochondrienmembran in die Matrix der Mitochondrien nach Berg et al.¹⁴³

bereitstellen.^{124,143}

Die erwähnten Mechanismen des TCA-Zyklus (Zellatmung) und der *Aspartat-Malat-Shuttle* finden beide in den Mitochondrien statt. Da Europium Komplexbildungen mit chemischen Substanzen innerhalb dieser Prozesse eingeht, wird der Eingriff durch die Eu-Aufnahme auf die Energie-produzierenden Mechanismen der Zellen verdeutlicht. Die Ergebnisse der zellulären Eu-Verteilung anhand von SIMS- und ICP-MS-Messungen aus Kapitel 6.1.2 sprechen ebenfalls für den Eintritt in das Zellinnere bzw. die Zellorganellen und weisen auf einen möglichen Beteiligung des Lanthanid-Ions im Pflanzenmetabolismus hin.

Diese Beobachtungen sollten im Hinblick auf die Extraktion und chemische Aufarbeitung kritisch betrachtet werden. Je nach Möglichkeiten zur Komplexbildung durch die vorliegenden Substanzen, können sich während der chemischen Extraktion bevorzugt Verbindungen mit höherer Stabilität bilden. Eine Abschätzung der vorliegenden Eu-Verbindungen ist anhand der Komplexbildungskonstanten möglich. Für Eu-Malat entspricht diese etwa 3,70, für Eu-Citrat ist sie deutlich höher mit ca. 7,90 und für Eu-Aspartat wird eine Konstante um etwa 4,81 geschätzt.^{139,144,145} Bei Anwesenheit von Citrat könnte sich das Gleichgewicht nach dem *Prinzip von Le Chatelier* zu Seiten des Eu-Citrats verlagern und somit die Stabilität anderer vorliegenden Eu-Komplexe beeinflussen. Zudem ist die Bildung der organischen Komplexe durch das Herauslösen während der Probenpräparation möglich. Die genannten Einflussfaktoren werden allerdings weitestgehend durch die verwendete Präparationsmethode bei 4 °C und das Einfrieren des Probenmaterials ausgeschlossen. Da das thermodynamische Gleichgewicht von

der Temperatur abhängt, finden chemische Reaktionen bzw. Umwandlungen seltener statt. Auch das Verwenden eines Zell-Puffers verhindert das Zerplatzen der Pflanzenzelle und mögliche Reaktionen mit den Zellbestandteilen.¹²⁴

Weitere Hinweise auf die vorliegenden Eu-Spezies in der Pflanze werden mit den Ergebnissen der bildgebenden Lumineszenz-Mikroskopie aus Abb. 6.11 erhalten. Die Aufnahmen zeigen drei Spezies mit unterschiedlicher Verteilung innerhalb der Pflanze. Aufgrund der Emissionsbandenverhältnisse der violett gefärbten Spezies, des schmalen 7F_0 -Signals und der Form der 7F_4 -Bande, ist das Vorliegen einer Eu-Verbindung mit anorganischem Phosphat wahrscheinlich. Die gelb dargestellte Spezies weist die größte 7F_0 -Bande und das höchste ${}^7F_2/{}^7F_1$ -Verhältnis auf und zeigt Ähnlichkeiten mit Eu-Protein-Komplexen. Die charakteristische Form der 7F_2 - und 7F_4 -Emissionsbande der Spezies in Grün deuten auf eine organische Phosphat-Verbindung hin, welche unter anderem in der DNA und RNA enthalten sind. Weitere Beispiele sind die Phytinsäure, welche Metall-Kationen stark bindet und Phosphoenolpyruvat, ein wichtiger Bestandteil der Glykolyse in Pflanzen.^{6,123,146}

Moll et al. haben Eu-Spezies in Raps-Zellen (*Brassica napus*) untersucht und Ähnlichkeiten des erhaltenen Spektrums mit einer Verbindung aus Europium und Phytinsäure (Eu-Phytat) festgestellt.⁶ In einer während dieser Arbeit betreuten Bachelorarbeit wurde die Aufnahme von dem Lanthanid in die Pflanzenarten Erbse (*Pisum sativum* L.) und Buschbohne (*Phaseolus vulgaris* L.) analysiert und TRLFS-Messungen an den Pflanzenteile Wurzel, Sprossachse und Blatt sowie der Erbsenfrucht durchgeführt.¹²⁰ Dabei wurde Eu-Phytat in verschiedenen Konzentrationsverhältnissen und pH-Werten als Referenzsubstanz in Perchlorsäure verwendet. Sowohl Tieftemperaturmessungen an den Pflanzenteilen als auch Direkt- und UV-Anregung des Eu^{3+} -Ions wiesen keine Übereinstimmungen mit den Referenzspektren auf. Diese Erkenntnisse können zum einen auf Unterschiede zwischen den Pflanzenarten (Raps, Erbse und Bohne) hindeuten und zum anderen auf verschiedene Mechanismen der Eu-Aufnahme im Zellmedium verglichen mit der Pflanze zurückzuführen sein. Während Europium im Zellmedium direkt von den Zellen aufgenommen werden kann, besitzt die Pflanze komplexere Aufnahmemechanismen. Dazu zählen z.B. der passive oder der apoplastische Transport von Metall-Ionen. Zudem liegen in der Pflanze verschiedene Gewebearten, wie das Meristem oder das Dauergewebe, vor. Diese weisen unterschiedliche Zellbestandteile und Zellfunktionalitäten auf. Bei den erwähnten Zellexperimenten nach *Moll et al.* wurde eine Zelllinie der Keimzellen von Rapspflanzen verwendet.⁶

Weitergehend wurde bereits das *Quenching*-Verhalten von Pflanzenbestandteilen diskutiert, welche einen Vergleich mit Referenzen in Lösung erschweren. In den hier dargestellten PARAFAC-Ergebnissen zeigt sich allerdings deutlich ein Emissionsspektrum in Grün mit einer charakteristischen 7F_2 - und 7F_4 -Bande, welche auf eine organische Phosphat-Verbindung hindeutet. Dementsprechend werden durch die Auswertung mit der mathematischen Rechenmethode durchaus weitere Hinweise auf die vorliegenden Spezies erhalten. Trotzdem wird das gemittelte Emissionsspektrum über alle Eu^{3+} -Verbindungen in der Pflanze betrachtet und nur die Spezies mit ausreichender Intensität identifiziert, weshalb weitere Eu-Spezies vorliegen können.¹²⁴

Die Eu-Phosphat-Spezies (violett) liegt bevorzugt in den Leitungsbahnen vor und wurde ebenfalls an den Wurzelhaaren identifiziert (Abb. 6.11). Bereits zuvor wurden Eu-Phosphat-Verbindungen im Xylem verschiedener Pflanzenarten bestimmt und auch die hier erhaltenen REM-EDX-Ergebnisse deuten auf die Anwesenheit von Phosphor in den Leitungsbahnen hin.¹⁴⁷⁻¹⁴⁹ Bezogen auf den Xylem-Transport zeigte sich eine schnellere Weiterleitung von negativ geladenen Verbindungen aufgrund der COULOMB-Wechselwirkung mit der ebenfalls negativ geladenen Oberfläche der Zellwände.⁵³ Im Umkehrschluss erfolgt der Transport von Metall-Kationen langsamer. Die Pflanze kann bei Nährstoffmangel dagegen vorgehen, indem sie beispielsweise durch das Öffnen der Stomata die Wassertranspiration erhöht und so ein größerer Nährstofffluss entsteht. Eine weitere Möglichkeit ist die Komplexierung der Metall-Kationen, um die Transportzeit zu verkürzen. Aufgrund dessen sind auch stark komplexierte Eu-Verbindungen in den Leitungsbahnen vorhanden.^{150,151} Im Phloem werden bevorzugt organische Verbindungen transportiert, weshalb auch in diesen die Eu-Komplexverbindungen vorhanden sind.^{124,152}

Die bereits diskutierte organische Eu-Phosphatverbindung (grün), wie z.B. DNA oder RNA, befindet sich bevorzugt im umliegenden Gewebe und an den Wurzelhaaren. Die Protein-gebundene Eu-Spezies (gelb) ist ebenfalls im Gewebe, aber auch in den Leitungsbahnen der Pflanze zu erkennen (Abb. 6.11). Das Auftreten dieser beiden Verbindungen scheint zunächst an den Wurzelregionen fragwürdig, da sie durch keine typischen Pflanzenexsudate entstehen können. In diesem Zusammenhang fanden *Wen et al.* extrazelluläre DNA (exDNA) als Bestandteil eines Schleimes an der Wurzelspitze.¹⁵³ Dieser Schleim dient der Resistenz gegen Infektionen der Pflanze und enthält neben DNA auch Proteine und Polysaccharide. Bezogen auf die identifizierten Eu-Spezies erklärt dieser Sachverhalt die Akkumulation in den genannten Bereichen der Pflanze. Des Weiteren zeigten *Fellows*

et al. eine erhöhte Eu-Lumineszenz an der Wurzelspitze von Hafer.⁵ Die Forscher begründen dies mit einer erhöhten Zellteilung im apikalen Meristem, woraus ein größerer Anteil DNA und Proteine in diesem Bereich resultiert und was wiederum zu einer stärkeren Komplexierung des Eu führen kann. Sie stellten außerdem die Hypothese eines favorisierten Transports von Europium durch Diffusion in das Xylem bei einem nicht vollständig entwickelten Casparischen Streifen auf. Dieser kann beim Pflanzenwachstum Brüche aufweisen und so den symplastischen Transport in die Pflanze bevorzugen. Die Untersuchungsergebnisse unterstützen die in dieser Arbeit identifizierten Eu-Spezies.

Bereits vorangegangene Untersuchungen beschäftigten sich mit der Bindung des Eu^{3+} -Ions an Proteinen. Im Winterroggen machen Proteine etwa 6,5 % der gesamten Biomasse der Pflanze aus.¹⁵⁴ Dabei wurde die Verbindungen der Enzyme Calmodulin und α -Amylase mit Europium bisher anhand von TRLFS untersucht. *Drobot et al.* analysierten die Struktur und Bindungsplätze von Calmodulin mit Eu^{3+} und Cm^{3+} .⁴⁷ Das Enzym kommt mit einem Anteil von etwa 0,1 % der Proteinfraction in Pflanzen vor und fungiert als Bindungspartner für Ca^{2+} , dessen Komplex zur Aktivierung weiterer Enzyme notwendig ist.¹⁵⁵ Die Bindung erfolgt über einen spezifischen Bereich im Protein (*EF-Hand*) und verschiedene Bindungsstellen, woran unterschiedliche Aminosäuren, z.B. auch Aspartat, beteiligt sind. Da Eu^{3+} und Ca^{2+} einen ähnlichen Ionenradius besitzen, kann auch das Lanthanid-Ion mit Calmodulin wechselwirken. Die Forscher fanden dabei Unterschiede in der Bindung zwischen Europium und Curium im Vergleich zu Calcium: Eine höhere Affinität des Lanthanid- und Actinid-Ions zu den vier Bindungsstellen des Proteins und damit einhergehend eine veränderte Struktur des Komplexes.⁴⁷ Dabei identifizierten sie zwei Fluoreszenz-Lebensdauern mit $310 \pm 2,3 \mu\text{s}$ für die erste Bindungsstelle und $405 \pm 2,0 \mu\text{s}$ für die Bindungsstellen Nummer Zwei und Vier. Das dabei identifizierte ${}^7\text{F}_2/{}^7\text{F}_1$ -Verhältnis von Vier der Koordination mit der 2. und 4. Bindungsstelle passt zu der hier detektierten Protein-Spezies in der Lumineszenz-Mikroskopie. Die Komplexierung von Eu^{3+} mit α -Amylase (Amy) wurde von *Barkleit et al.* untersucht.¹⁵⁶ Dieses spielt eine wichtige Rolle bei der Verdauung von Polysacchariden und kann nachweislich Metall-Ionen binden kann. Das Enzym ist nicht nur im menschlichen Verdauungstrakt, sondern auch in Getreidepflanzen vorhanden und dort für die Zersetzung von Polysacchariden, wie Stärke, besonders während des Pflanzenwachstums verantwortlich.¹⁵⁷ Dabei fungieren verschiedene Aminosäuren, wie Aspartat und Glutamat, als Hauptbindungsstellen zu den Kationen. Es wurden Fluoreszenz-Lebensdauern mit TRLFS von $380 \pm 40 \mu\text{s}$ und $630 \pm 50 \mu\text{s}$ für die Proteinkomplexe $\text{Eu}(\text{Amy-COO})^{2+}$

und $\text{Eu}(\text{Amy-COO})_3$ bestimmt.¹⁵⁶ Dabei wird die Bindung von Europium zu den funktionelle Carboxyl-Gruppen, wie z.B. die des Aspartats (Abb. 8.3), vermutet. Die Lebensdauern beider Protein-Komplexe liegen etwas höher als die im Winterroggen gemessenen.

Die Strukturaufklärung zeigt an dieser Stelle die Komplexität der Bindung des Lanthanid-Ions in der Pflanze. Hierzu zeigten *Moll et al.* verschiedene Eu-Komplexbildungsreaktionen in unterschiedlichen Zellkompartimenten von Raps (*Brassica napus*).¹⁵⁸ Sie identifizierten die größte Eu-Fraktion gebunden an den Zellwänden, was mit den Ergebnissen dieser Arbeit übereinstimmt. Außerdem wurden mit TRIFS nach *Moll et al.* für die unterschiedlichen Zellkompartimente leicht verschiedene Lebensdauern und Emissionsbandenverhältnisse gemessen.¹⁵⁸ Dies ist ein Hinweis auf eine chemische Veränderung des Europiums innerhalb der Pflanzenzelle und auf das Vorliegen von einigen, verschiedenen Eu-Spezies. Sehr wahrscheinlich liegen im Winterroggen mehr Verbindungen des Lanthanid-Ions vor als anhand der gezeigten Ergebnisse bestimmt wurden.

Mit den Extraktions- und Lumineszenz-Ergebnissen in der Pflanze wurden unterschiedliche Eu-Spezies identifiziert. Ein Grund dafür liegt in den verschiedenen Messmethoden. Bei der Extraktion befinden sich bevorzugt Verbindungen im Extraktionsmittel in Abhängigkeit ihrer Löslichkeit. Im hier verwendeten Methanol-Wasser-Gemisch sind dies hauptsächlich polare und ionische Substanzen. Dabei entscheiden auch die Parameter der Probenpräparation, wie Extraktionszeit und die Stärke der nachfolgenden Zentrifugation, über die enthaltenen Spezies. Schwere Substanzen, wie Eu-Verbindungen zu Zellwänden oder Proteinen, befinden sich bei der verwendeten, hohen Umdrehungszahl der Zentrifuge bevorzugt im Rückstand der Probe und nicht im gemessenen Extrakt. Bei einem Vergleich der verwendeten Zentrifugationsstärke in der Analyse der zellulären Verteilung (Kap. 6.1.2) und der Extraktion befindet sich im Extrakt bevorzugt die lösliche Fraktion. Sorbiertes bzw. gebundenes Europium an Zellwänden wird zum einen durch die Komplexbildungskonstante der vorliegenden Verbindung und zum anderen durch das Löslichkeitsprodukt im Extraktionsmittel bestimmt. Wenn entspre-

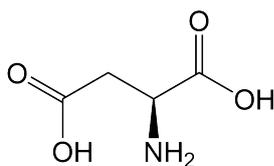


Abbildung 8.3: Darstellung der Struktur von Asparaginsäure, der Säure des Aspartats.

chende Komplexverbindungen keine oder nur eine geringe Löslichkeit im Extraktionsmittel aufweisen, besteht die Möglichkeit, dass diese nicht im Extrakt detektiert werden können. Die Lumineszenz-Messungen dagegen nehmen das gesamte Fluoreszenzspektrum des dreiwertigen Europiums auf und weisen auf Änderungen in der ersten Koordinationssphäre hin. Entsprechend der erhaltenen Ergebnisse wird davon ausgegangen, dass mehr als eine Spezies in den Aufnahmemechanismus involviert ist. Daraus resultieren mögliche Überlagerungen der Fluoreszenz verschiedener, chemischer Eu-Umgebungen und eine Unterschätzung oder Vermischung der vorliegenden Spezies. Gering konzentrierte Eu-Verbindungen oder Spezies, welche die chemische Umgebung des Lanthanid-Ions nicht stark verändern, werden dadurch möglicherweise nicht detektiert. Daher führt erst die kombinierte Verwendung beider Analysetechniken und ihrer Vorteile zu einem Gesamtbild der vorhandenen Spezies. Ein Überblick über die enthaltenen Eu-Verbindungen im Winterroggen zeigt mindestens sechs beteiligte Spezies. Diese werden sowohl durch anorganische als auch organische Verbindungen repräsentiert und legen die Komplexität der Aufnahme von Lanthaniden beruhend auf den vielfachen Möglichkeiten des Transports und der Akkumulation innerhalb der Pflanze dar.¹²⁴

8.3 Auswirkungen von organischen Komplexbildnern

8.3.1 Die Aufnahme von Europium

Aus der Analyse von Europium im Nährmedium und im Winterroggen, versetzt mit verschiedenen EDTA-Konzentrationen, können wichtige Erkenntnisse über den Pflanzenmetabolismus bzw. die Aufnahme des Elements erhalten werden. Als Erstes werden die Veränderungen im Eu-HOAGLAND-Medium, gemessen mit der TRLFS und ESI-MS, aus Kapitel 6.6 betrachtet. Die ESI-MS-Ergebnisse zeigen bei der Nährlösung ohne Komplexbildner einen verringerten relativen Anteil der Spezies $[\text{Eu}]^+$ sowie der Eu-Hydroxid- und Eu-Nitrat-Verbindungen nach Pflanzenkontakt. Somit weisen sie auf eine mögliche Aufnahme in die Pflanze oder eine Umwandlung im Nährmedium hin. Die Anteile von Eu-Phosphat und -Sulfat sind nach Pflanzenkontakt etwa doppelt so hoch. Eine mögliche Erklärung dafür könnte die Nicht-Aufnahme der Spezies in die Pflanze sein, wodurch die relativen Intensitäten im Massenspektrum erhöht werden. Eine Aussonderung von Sulfat und Phosphat ist unwahrscheinlich, da beide Anionen essenzielle Nährstoffe darstellen. Außerdem wurden bisher hauptsächlich Metabolite als Pflanzenexsudate identifiziert.¹⁵⁹ Mit der massenspektrometrischen Technik wurden zudem nur positiv geladene Ionen detektiert. Das Entstehen von ungeladenen oder negativ

geladenen Molekülen wird bei der Analyse nicht berücksichtigt.

Die Ergebnisse der Massenspektrometrie und Spektroskopie der 20 μM EDTA-Lösung deuten auf die bevorzugte Aufnahme des Eu^{3+} -Ions und des Komplexes $[\text{Eu}(\text{H}_2\text{EDTA})]^+$ hin. Mit steigender EDTA-Konzentration nimmt der Eu-EDTA-Anteil in Lösung und gleichzeitig die Eu-Aufnahme in den Winterroggen zu. Demnach kann eine erhöhte Elementaufnahme aufgrund des steigenden Eu-EDTA-Anteils vermutet werden. Zudem sinken nach Pflanzenkontakt die Fluoreszenz-Lebensdauern von $383 \pm 29 \mu\text{s}$ auf $127 \pm 17 \mu\text{s}$. Eine erhöhte Lebensdauer im Nährmedium kann nur durch Eu-EDTA-Komplexe entstehen, weshalb durch diese Messmethode ebenfalls die Aufnahme von Eu-EDTA vermutet wird. Mit ESI-MS wurden die positiv geladenen Komplexe $[\text{Eu}(\text{H}_2\text{EDTA})]^+$, $[\text{Eu}(\text{H}_3\text{EDTA}) + \text{H}_2\text{O}]^+$ und $[\text{Eu}(\text{OH})(\text{H}_3\text{EDTA}) + 3 \text{H}_2\text{O}]^+$ identifiziert. Weitergehend können neutrale oder negativ geladene Verbindungen vorliegen, wie $[\text{Eu}(\text{HEDTA})]$ und $[\text{Eu}(\text{HEDTA})_2]^{3-}$, da diese mit Lebensdauern von $284 \pm 5 \mu\text{s}$ (pH = 3,6) und $740 \mu\text{s}$ (pH = 6) nahe am ermittelten Ergebnis liegen.^{126,127} Dabei liegt der pH-Wert der Eu-HOAGLAND-Lösung bei 4,16 und entscheidet über die vorliegende Eu-EDTA-Spezies. Diese Komplexe konnten nicht mit der verwendeten ESI-MS analysiert werden, da Messungen im negativen Ionenmodus deutlich weniger Signalintensität lieferten als im positiven Messmodus. Aufgrund der Ergebnisse beider Messmethoden werden überwiegend Verbindungen mit einer 1:1 Stöchiometrie (Eu:EDTA) vermutet. Dies wird durch die theoretischen Berechnungen aus Kapitel 6.2 bestätigt. Eine Zusammenfassung der berechneten Anteile der Eu-EDTA-Komplexe in der Eu-HOAGLAND-Lösung ist in Tab. 8.1 dargestellt. Der größte Anteil ist gegeben durch die 1:1-Komplexe mit 0,37 % und nur wenige Verbindungen höherer EDTA-Stöchiometrie sind vorhanden.

Es wird deutlich, dass überwiegend negativ-geladene Komplexe in der thermodynamischen Datenbank vorhanden sind und das Verhalten von nur einer positiv-geladenen Verbindung $[\text{Eu}(\text{H}_3\text{EDTA})]^{2+}$ untersucht wurde. Die massenspektrometrischen Ergebnisse der Eu-HOAGLAND-Lösung zeigen die Anwesenheit von $[\text{Eu}(\text{H}_2\text{EDTA})]^+$, $[\text{Eu}(\text{H}_3\text{EDTA}) + \text{H}_2\text{O}]^+$ und $[\text{Eu}(\text{OH})(\text{H}_3\text{EDTA}) + 3 \text{H}_2\text{O}]^+$ für welche bisher keine thermodynamische Charakterisierung durchgeführt wurde. Für eine genaue theoretische Vorhersage der vorliegenden Spezies ist die Vollständigkeit der Datenbank notwendig und hebt die Relevanz der Grundlagenforschung zur thermodynamischen Charakterisierung hervor.

Als Zweites soll der Vergleich der Eu-HOAGLAND-Lösungen mit 200-2000 μM EDTA vor und nach Pflanzenkontakt betrachtet werden (Kap. 6.6). Die ESI-MS-

Tabelle 8.1: Theoretische Speziesanteile von Eu-EDTA-Verbindungen in der Eu-HOAGLAND-Lösung mit $[\text{Eu}] = 5 \text{ mM}$, $[\text{EDTA}] = 20 \text{ }\mu\text{M}$ und $\text{pH} = 4,16$ berechnet mit PHREEQC aus Tab. A.4.1.

Spezies	Anteil / %
$[\text{Eu}(\text{HEDTA})]$	0,205
$[\text{Eu}(\text{EDTA})]^-$	0,161
$[\text{Eu}(\text{H}_3\text{EDTA})]^{2+}$	$1,10 \cdot 10^{-6}$
$[\text{Eu}(\text{HEDTA})(\text{EDTA})]^{4-}$	$2,21 \cdot 10^{-10}$
$[\text{Eu}_2(\text{EDTA})_3]^{6-}$	$3,95 \cdot 10^{-15}$
$[\text{Eu}(\text{EDTA})_2]^{5-}$	$5,38 \cdot 10^{-16}$

Ergebnisse zeigen bei $200 \text{ }\mu\text{M}$ EDTA einen höheren relativen Speziesanteil von 9,7 für $[\text{Eu}(\text{H}_2\text{EDTA})]^+$ und 11 für $[\text{Eu}(\text{H}_2\text{EDTA}) + \text{H}_2\text{O}]^+$ nach der Inkubation. In diesem Zusammenhang bedeutet ein Wert über Eins einen erhöhten Anteil nach Pflanzenkontakt. Dies steht zunächst im Widerspruch mit den gemessenen, sinkenden Fluoreszenz-Lebensdauern in Lösung. Eine Eu-EDTA-Anteilerhöhung nach Pflanzenkontakt würde einen Anstieg der Lebensdauer bedeuten. Eine Erklärung hierfür ergibt sich durch eine vereinfachte Aufnahme des freien Eu^{3+} -Ions, durch z.B. passiven Transport in die Pflanze. Die identifizierten Spezies der ESI-MS-Messungen wurden auf das m/z -Signal der intensivsten Eu-Spezies, dem Komplex $[\text{Eu}(\text{OH})_2 + \text{H}_2\text{O}]^+$, normiert und beschreiben die relative Intensität zu dieser Spezies. Nach Berücksichtigung der Artefaktbildung während des ESI-Prozesses ist dieser Komplex auf das Eu^{3+} -Ion zurückzuführen. Durch eine schnellere Aufnahme des freien Ions in die Pflanze im Vergleich zu den Eu-EDTA-Spezies erhöht sich das Verhältnis der zuletzt genannten im Nährmedium. Der Anteil der Eu-EDTA-Komplexe nimmt somit nach der Inkubation rechnerisch zu, beschreibt jedoch keine absolut höhere Konzentration der Eu-EDTA-Spezies. Die entscheidende Veränderung liegt an der verringerten Konzentration des freien Eu^{3+} -Ions.

Die spektroskopischen Ergebnisse bestätigen diese Beobachtung, da die Emissionsspektren der Lösungen mit $200 \text{ }\mu\text{M}$ und $2000 \text{ }\mu\text{M}$ EDTA vor und nach Pflanzenkontakt keine Veränderung aufweisen. Die erhöhten ${}^7\text{F}_2/{}^7\text{F}_1$ -Emissionsbandenverhältnisse können in Lösung nur durch enthaltene Eu-EDTA-Spezies hervorgerufen werden, da EDTA als Chelatbildner mit dem Eu^{3+} -Ion stabile Komplexbindungen bildet. Die Verhältnisse liegen sowohl vor als auch nach Pflanzenkontakt bei 0,89 ($200 \text{ }\mu\text{M}$) und 1,84 ($2000 \text{ }\mu\text{M}$), weshalb ein ähnlicher, relativer Speziesanteil von Eu-EDTA vorher und nachher vermutet werden kann. Dass es sich um Eu-EDTA-Komplexe handelt, zeigt dabei die Verschiebung der ${}^7\text{F}_0$ -Banden im Emissionsspektrum. *Choppin et al.* zeigten für die Bildung von Eu-EDTA-

Komplexen eine Verschiebung der 7F_0 -Emissionsbande zu höheren Wellenlängen um $\Delta\lambda = 0,84 \text{ nm}$.¹⁶⁰ Dieser ist auch hier bei der Zugabe von EDTA zu erkennen und beträgt $\Delta\lambda = 1,01 \text{ nm}$ von 0-2000 μM EDTA. Nach Pflanzenkontakt wird eine Verschiebung der 7F_0 -Emissionsbande zu niedrigeren Wellenlängen der 0-200 μM EDTA-Lösungen beobachtet und weist auf eine Veränderung der vorliegenden Eu-EDTA-Spezies hin. Dieser Effekt kann bei der Aufnahme von Eu-EDTA-Komplexen in die Pflanze auftreten. Nicht ganz auszuschließen ist der Einfluss von Pflanzenexsudaten auf die Speziesverteilung von Eu-Verbindungen. Allerdings ist in den erhaltenen Emissionsspektren keine Veränderung der ${}^7F_2/{}^7F_1$ -Bandenverhältnisse nach Inkubation zu beobachten.

Zusammenfassend werden sowohl das freie Eu^{3+} -Ion als auch Europium gebunden an EDTA vom Winterroggen aufgenommen. Dabei ist eine vereinfachte oder schnellere Aufnahme von Eu^{3+} -Ionen im Vergleich zu den Eu-EDTA-Spezies, wie $[\text{Eu}(\text{H}_2\text{EDTA})]^+$, eine mögliche Erklärung für die erhöhte Signalintensität letzterer in den ESI-MS-Spektren bei 200 μM und 2000 μM EDTA in der Eu-HOAGLAND-Lösung.

Die dritte Erkenntnis resultiert aus den Ergebnissen der Speziesaufnahme in die Pflanze, welche in Kapitel 6.7 beschrieben sind. Im Winterroggen verändert sich die chemische Umgebung des Eu^{3+} -Ions durch die EDTA-Zugabe. Das ${}^7F_2/{}^7F_1$ -Verhältnis in den Emissionsspektren sinkt mit erhöhter EDTA-Konzentration sowohl in der Wurzel als auch im Blatt. Die Fluoreszenz-Lebensdauern der zweiten Eu-Spezies deuten auf die Ausbildung von Verbindungen mit gleicher Anzahl koordinierter Wassermoleküle hin, da alle Spezies im Mittel $n_2(\text{H}_2\text{O}) = 1,0 \pm 1,9$ besitzen. Weitergehend zeigen die orts aufgelösten Lumineszenz-Mikroskopie-Aufnahmen der Pflanze inkubiert mit 2000 μM EDTA aus Kapitel 6.7.2 vergleichbare Ergebnisse zu der Pflanze, inkubiert mit 20 μM EDTA. Letztere wurde bereits im vorangegangenen Kapitel diskutiert. Bei Pflanzenkontakt mit 2000 μM EDTA wurden sechs verschiedene Emissionsspektren im Winterroggen bestimmt, welche auf drei Eu-Spezies zurückzuführen sind (Abb. 6.18). Die beiden in Orange dargestellten Emissionsspektren weisen im Cortex große Ähnlichkeiten in Wurzelspitze sowie in der Wurzel auf und sind mit hoher Wahrscheinlichkeit auf die gleiche Eu-Verbindung zurückzuführen. Aufgrund der Form der 7F_2 - und 7F_4 -Bande ist eine Bindung mit organischem Phosphat möglich.^{6,123,146} Diese wurde in der Pflanze mit geringerer EDTA-Konzentration ebenfalls detektiert. Die grün markierten Spezies werden bis in das Blatt transportiert und weisen Analogien zu der anorganische Phosphat-Verbindung im Winterroggen mit geringerer EDTA-

Konzentration auf. Da das ${}^7\text{F}_2/{}^7\text{F}_1$ -Verhältnis hier um 0,4 größer ist, könnte ein weiterer Ligand am Eu^{3+} -Ion gebunden vorliegen. Anhand dieser Spezies wird eine chemische Veränderung der Verbindungen auf dem Weg von der Wurzel bis ins Blatt dargestellt. Die beiden Spezies in Blau, enthalten in Wurzelspitze und Leitungsbahn, sind aufgrund ihrer ähnlichen Erscheinung auf die gleiche Eu-Verbindung zurückzuführen. Diese wurde nicht in der Pflanze mit niedrigerer EDTA-Konzentration identifiziert und stellt somit eine neue Eu-Verbindung dar. Dabei deutet die Signalaufspaltung in der Wurzelspitze auf eine hohe Symmetrie oder die Bildung eines Feststoffes hin.⁹⁹ Das ${}^7\text{F}_2/{}^7\text{F}_1$ -Bandenverhältnis ist mit 2,0 geringer als die in der 20 μM EDTA-Pflanze identifizierte Protein-gebundene Eu-Spezies mit 3,7. *Moll et al.* untersuchten Eu-Spezies in Raps-Zellen (*Brassica napus*) und identifizierten mit TRLFS-Messungen im Cytosol der Zelle ein geringeres ${}^7\text{F}_2/{}^7\text{F}_1$ -Verhältnis von $2,3 \pm 0,02$ verglichen mit den restlichen Zellbestandteilen.¹⁵⁸ Referenzmessungen zeigten Übereinstimmungen dieses Verhältnisses mit dem einer Eu-EDTA-Verbindung (${}^7\text{F}_2/{}^7\text{F}_1 \approx 2,3$). Dabei wurden zwei Eu-Spezies mit Fluoreszenz-Lebensdauern von $144 \pm 4 \mu\text{s}$ und $424 \pm 26 \mu\text{s}$ identifiziert. Werden diese Ergebnisse mit denen des hier untersuchten Winterroggens verglichen, ist das Vorliegen eines Eu-EDTA-Komplexes in der Winterroggenwurzel eine Möglichkeit. Dies spiegelt sich auch in den Emissionsspektren der Pflanze wieder und erklärt die sinkende Komplexierung mit steigender EDTA-Konzentration. Das ${}^7\text{F}_2/{}^7\text{F}_1$ -Bandenverhältnis bei Eu-EDTA liegt mit etwa 2,0 deutlich unter denen der Komplexierung mit organischem Phosphat (3,4) oder Proteinen (3,7). Eine Verbindung mit Zellbestandteilen erhöht demnach das Verhältnis und deutet auf einen frei vorliegenden Eu-EDTA-Komplex in der Pflanze hin. Mögliche Areale sind dabei das bereits erwähnte Cytosol im Zellinneren oder das Xylem, dessen negativ geladene Oberfläche keine Bindung mit einem womöglich gleich geladenen Eu-EDTA-Komplex eingeht. In diesem Zusammenhang wären der bereits zuvor identifizierte $[\text{Eu}(\text{H}_2\text{EDTA})]^+$ -Komplex oder Verbindungen, wie $[\text{Eu}(\text{HEDTA})]$ und $[\text{Eu}(\text{HEDTA})_2]^{3-}$ aus den TRLFS-Ergebnissen, potentielle Bindungspartner.

Die beschriebenen Untersuchungsergebnisse und Interpretationen machen die Notwendigkeit der Speziesanalyse von Lanthaniden und Actiniden deutlich. Die Zugabe von Komplexbildnern kann sowohl die Spezies in der Nährlösung, die Aufnahmemechanismen, und nachfolgend die Spezies innerhalb der Pflanze verändern. Damit einher geht auch ein potentiell erhöhtes Gefährdungspotential für den Menschen nach Inkorporation. Das Auftreten von hohen EDTA-Konzentrationen im

Nährmedium führt zu einer erhöhten Eu-Aufnahme in den Winterroggen. In den Umweltkompartimenten Boden und Wasser ist das anthropogene EDTA mittlerweile ubiquitär vorhanden. Wird dieses Ergebnis auf Americium oder das radioaktive Europium übertragen, würde nach Ingestion kontaminierter Pflanzen die Inkorporationsdosis ansteigen. Allerdings wird Untersuchungen zufolge bei einem Lanthanid- oder Actinid-Komplex mit EDTA im menschlichen Körper die Aufenthaltszeit minimiert, weshalb Zn-EDTA auch zur Entgiftung nach potentieller Am-Inkorporation verwendet wird.¹⁶¹ Der gebildete Chelatkomplex ist so stabil, dass Americium und Europium kaum mit Bestandteilen des Organismus reagieren und schneller ausgeschieden werden. Weitere Analysen über den Anteil von Am- oder Eu-EDTA-Spezies in der Pflanze könnten Aufschluss über das sich ergebende Gefährdungspotential ergeben. Interessant wäre außerdem die Betrachtung weiterer Liganden, die die Aufenthaltszeit im menschlichen Körper erhöhen, wie z.B. Nitrate oder Oxide.¹⁶² Bei diesen wäre eine erhöhte Gefährdung durch die Bildung toxischer Verbindungen möglich.

8.3.2 Die *score*-Qualität der Speziesbestimmung mit *MARI*

Die ESI-MS ist mit einer Orbitrap™ als Massenanalysator ausgestattet, wodurch eine hohe Massenauflösung erreicht wird. Die Messungen für diese Arbeit wurden mit einer Auflösung von $m/\Delta m \approx 120.000$ durchgeführt, wodurch einzelne Spezies genau identifiziert werden konnten. Vor der Diskussion der erhaltenen Ergebnisse der Speziesanalyse von Europium und Americium in HOAGLAND-Lösungen mit verschiedenen Komplexbildnern, sollten die Grenzen der verwendeten Auswertesoftware *MARI* kurz erläutert werden. Die Untersuchungen erfolgten aus Strahlenschutzgründen an HOAGLAND-Lösungen mit Konzentrationen von jeweils 500 nM Americium und Europium. Die geringen Element-Gehalte können zu Fehlinterpretationen der Spezies führen. Um dies auszuschließen, wurde ein *score* für die Übereinstimmung der Spezies erstellt. Dabei entspricht ein Wert von 1,0 einer 100 %igen Zustimmung von der theoretisch bestimmten Strukturformel mit dem definierten m/z -Signal im MS-Spektrum.¹¹⁹ Das untere Limit wurde für die Identifikation in dieser Arbeit auf 0,75 gesetzt. Abb. 8.4 (a) zeigt ein Beispiel von $[\text{Am}(\text{H}_3\text{EDTA}) + \text{H}_2\text{O}]^{2+}$ mit einem *score* von 0,75 und (b) von $[\text{Eu}(\text{H}_2\text{EDTA})]^{2+}$ mit einem *score* von 0,85 der jeweiligen HOAGLAND-Lösungen. Dabei ist eine leichte Verschiebung zu höheren m/z -Signalen bei einem geringeren *score* zu erkennen, welche jedoch nicht systematisch in den Ergebnissen auftaucht. Generell entspricht der Mittelwert der *scores* von identifizierten Am-Verbindungen in allen ESI-MS-Spektren $0,86 \pm 0,013$, während dieser für Eu-Spezies bei $0,89 \pm 0,019$

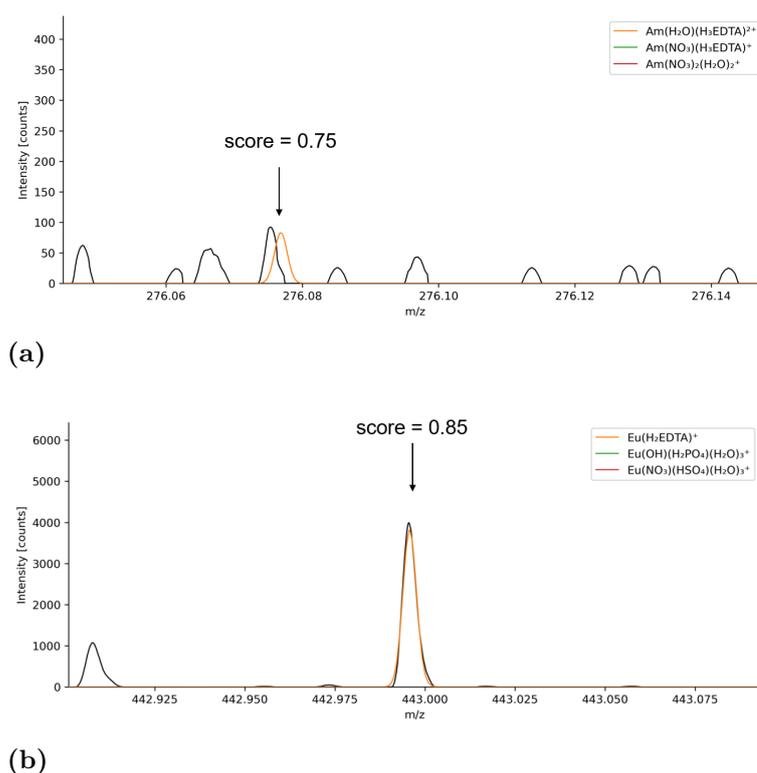


Abbildung 8.4: Beispiel der Auswertung zur Identifikation der Spezies in der Eu-HOAGLAND-Lösung (a) und Am-HOAGLAND-Lösung (b) mit der Software *MARI*. Der *score* beschreibt die Übereinstimmung des gemessenen und theoretisch berechneten ESI-MS-Spektrums von Eu- und Am-Spezies in Lösung.

liegt. Die ermittelten Werte weisen auf eine hohe Qualität der Auswertung und eine gute Übereinstimmungen der theoretischen Strukturformeln hin. Gleichzeitig ist die Qualität der Am-Auswertung etwas geringer als die der Eu-Verbindungen. Ein potentieller Grund sind die gewählten Massen der Am-Isotope, entnommen aus dem Modul *pyteomics* der verwendeten Programmiersprache *Python*.^{119,163} Diese sind definiert als 241,0568291 u sowie 243,0613811 u und liegen im Bereich der Unsicherheiten, gegeben von der *International Atomic Energy Agency* (IAEA) mit 241,0568273(12) u und 243,0613799(15) u.¹⁶⁴ Wegen der verwendeten Massen kann es zu geringen Abweichungen der realen Massen bei der Berechnung von Am-Spezies kommen. Eine weitere Möglichkeit für die geringeren Am-*scores* sind kleinere Abweichungen der in das Programm eingetragenen Isotopenverhältnisse von ²⁴¹Am zu ²⁴³Am. Für diese Arbeit wurde ein Isotopenverhältnis von 4:6 (²⁴¹Am:²⁴³Am) gewählt, um die Am-Spezies für die Identifikation ausreichend vom Untergrund im MS-Spektrum abzuheben. Gleichzeitig wird die Aktivität in Lösung minimiert, da die spezifische Aktivität von ²⁴¹Am größer ist als die von ²⁴³Am. Das in Lösung vorliegende Verhältnis wurden mit ICP-MS-Messungen bestimmt und die Ergebnisse für die Auswertesoftware verwendet. Unsicherheiten

der massenspektrometrischen Messsysteme können folglich auch zu Abweichungen der *scores* führen.

8.3.3 Americiumspezies im Nährmedium

Die Ergebnisse der ESI-MS-Analyse von Am- und Eu-Spezies im HOAGLAND-Nährmedium nach Zugabe der organischen Komplexbildner EDTA, Malonat, Citrat und Oxalat wurden in Kapitel 7.3 dargestellt. Die Messungen wurden aufgrund der spezifischen Geräteeigenschaften und der positiv geladenen Metall-Ionen im positiven Ionenmodus durchgeführt. In Tab. 8.2 ist eine Übersicht der in den thermodynamischen Datenbanken *Thermochimie* und *JESS* enthaltenen, positiv geladenen und organischen Am- sowie Eu-Spezies und der Vergleich mit den experimentell identifizierten Komplexen dargestellt. Die vollständige Tabelle der verwendeten Komplexbildungskonstanten ist dem Anhang zu entnehmen (Tab. A.8.2). Die Am- und Eu-Oxalat-Verbindungen wurden im ESI-MS-Spektrum nicht detektiert und sind somit nicht aufgelistet.

Der Vergleich der identifizierten Verbindungen weist einige Unterschiede in Hinsicht auf die Summenformel und Anzahl der Spezies auf. Die in dem ESI-Prozess auftretende Artefaktbildung und der Entstehungsprozess des ESI-Sprays kann zu Ligandenmischungen führen, welche in Komplexen wie $[\text{Am}(\text{NO}_2)(\text{H}_3\text{Cit}) + 3 \text{H}_2\text{O}]^+$ oder $[\text{Eu}(\text{NO}_3)(\text{H-Malo}) + 2 \text{H}_2\text{O}]^+$ zu erkennen

Tabelle 8.2: Vergleich von thermodynamisch charakterisierten (TDB) und experimentell bestimmten, positiv geladenen Eu- und Am-Spezies in Lösung mit den organischen Komplexbildnern EDTA, Malonat und Citrat gemessen mit ESI-MS und ausgewertet mit dem Programm *MARI*.

Positiv geladene Spezies der TDB	Komplexbildungskonstante ($\log \beta$)	Exp. bestimmte Spezies
-		$[\text{Am}(\text{H}_3\text{EDTA}) + \text{H}_2\text{O}]^{2+}$ $[\text{Am}(\text{H}_3\text{EDTA})(\text{NO}_3)]^+$ $[\text{Am}(\text{H}_2\text{EDTA})]^+$ $[\text{Eu}(\text{H}_2\text{EDTA})]^+$
$\text{Eu}(\text{H}_3\text{EDTA})^{2+}$	3,200 ¹⁶⁵	
$\text{Am}(\text{H}_2\text{Cit})^+$	6,500 ¹⁶⁶	$[\text{Am}(\text{NO}_2)(\text{H}_3\text{Cit}) + 3 \text{H}_2\text{O}]^+$ $[\text{Am}(\text{H}_3\text{Cit}) + 2 \text{H}_2\text{O}]^{2+}$ $[\text{Eu}(\text{H}_2\text{Cit}) + \text{H}_2\text{O}]^+$ $[\text{Eu}(\text{H}_3\text{Cit}) + \text{H}_2\text{O}]^{2+}$ $[\text{Eu}(\text{H}_3\text{Cit})_2]^+$
-		$[\text{Am}(\text{H-Malo}) + 2 \text{H}_2\text{O}]^{2+}$ $[\text{Am}(\text{H-Malo}) + \text{H}_2\text{O}]^{2+}$ $[\text{Eu}(\text{NO}_3)(\text{H-Malo}) + 2 \text{H}_2\text{O}]^+$ $[\text{Eu}(\text{NO}_2)(\text{H-Malo}) + \text{H}_2\text{O}]^+$
$\text{Eu}(\text{Malo})^+$	5,430 ¹⁶⁷	

sind. Dabei handelt es sich sehr wahrscheinlich nicht um ternäre Spezies, sondern um eine Ladungskompensation durch Anlagerung von Nitrat oder Nitrit. Zusätzlich ist die Anlagerung von Wassermolekülen bei der Speziesanalyse mit der ESI-OrbitrapTM möglich, welche unter realen Bedingungen in Lösung in verschiedenen Koordinationssphären des Metall-Ions vorliegen können. Durch die Ergebnisse der ESI-MS ergeben sich konkrete Verbindungen von Europium und Americium in den HOAGLAND-Lösungen mit organischen Liganden.

Weitergehend wird deutlich, dass die Verbindungen aus den thermodynamischen Datenbanken wenig positive Spezies aufweisen. Trotz des meist geringen relativen Anteils der organischen Spezies in Lösung ist die Betrachtung relevant, da diese das chemische Verhalten des Metall-Ions beeinflussen. Der in dieser Arbeit bestimmte relative Anteil bezieht sich dabei auf die Analyse mittels ESI-MS und kann Hinweise auf die Realität liefern, sie aber nicht exakt widerspiegeln (Tab. 7.2). Für Malonat wurden bisher keine Am-Verbindungen untersucht und charakterisiert, weshalb der Vergleich mit bereits bestätigten experimentellen Daten fehlt. Die Speziesanalyse zeigt die Notwendigkeit der Grundlagenforschung zur thermodynamischen Charakterisierung, um reale vorliegende Umgebungen, wie Boden oder Gewässer detailliert zu charakterisieren.

8.3.4 Schlussfolgerung für die Aufnahme von Americium und die Gefährdungsbeurteilung des Menschen

Der Vergleich der Aufnahme beider Elemente aus dem flüssigen Nährmedium in den Winterroggen weist im Rahmen der Unsicherheiten keine signifikanten Unterschiede auf. Die dargestellten Ergebnisse nach Zugabe unterschiedlicher organischer Liganden zur HOAGLAND-Lösung zeigt die Komplexität der Pflanzenaufnahme. Dabei dienen die Erkenntnisse zur ersten Abschätzung des Elementverhaltens und sind im realen System Boden weitaus komplexer. Die Aufnahme und das Vorliegen von organischen Verbindungen in der Pflanze kann nach Ingestion in den menschlichen Körper Auswirkungen auf die Toxizität besitzen, welche nachfolgend hypothetisch diskutiert werden.

Das anthropogene EDTA ist mittlerweile ubiquitär in der Umwelt vorhanden, da es in vielen Bereichen der Industrie verwendet wird. Besonders die Verwendung der Säure als Detergens in Reinigungs- und Waschmitteln trägt zur Umweltbelastung bei.⁵⁰ Somit kann EDTA im Boden potentiell mit vorkommenden Lanthanid- und Actinid-Ionen stabile Komplexe bilden. Es wurden EDTA-Konzentrationen von 1120 µg/L in englischen Flüssen und 29,2 µg/L in Oberflächengewässern der Niederlande detektiert.⁵⁰ Über das Umweltverhalten von EDTA im Boden ist

bisher wenig bekannt. Da der Komplexbildner auch in der Agrarindustrie weit verbreitet ist, sollten mögliche Auswirkungen nicht außer Acht gelassen werden. *Bloem et al.* analysierten die Mobilität der Säure im Feldversuch unter Verwendung des Bodentyps Cambisol.¹⁶⁸ Die Forscher bestätigten die hohe Mobilität von EDTA, da dieses bereits nach drei Monaten in den 30 cm tiefen Bodenschichten detektiert wurde. Nach etwa einem Jahr befanden sich 0,6 % des aufgetragenen Komplexbildners (1050 kg/ha) in der Bodenschicht in 90 cm Tiefe. Weitere Untersuchungen ergaben eine höhere Akkumulation von Schwermetallen und Radionukliden in Pflanzen in Verbindung mit EDTA.^{49,52,57} In dieser Arbeit wurde für Europium eine erhöhte Akkumulation in den Winterroggen durch EDTA-Zugabe bestätigt und der Komplex $[\text{Eu}(\text{H}_3\text{EDTA})]^{2+}$ als mögliche Verbindung in der Pflanze identifiziert. Die Auswirkungen von EDTA könnte in Anbetracht der Speziesverteilung in Lösung für Americium noch stärker ausfallen, da aufgrund der größeren Komplexbildungskonstanten höhere Am-EDTA-Anteile zu erwarten sind. *Vyas und Mistry* untersuchten die Aufnahme von ²³⁹Pu und ²⁴¹Am in roten Kidney-Bohnen unter Anwesenheit der Chelatbildner EDTA und DTPA (Diethylentriaminpentaessigsäure) und zeigten eine Erhöhung der Konzentration beider Elemente in der Pflanze.¹⁶⁹ Für den Winterroggen als Nahrungsmittel wäre ein solcher Effekt von großem Nachteil, da es eine höhere Akkumulation der Radionuklide in der Pflanze und nach Ingestion im Menschen zur Folge hätte. Hingegen würde ein vergleichbarer Effekt für die Phytoremediation, genauer der Phytoextraktion, von Vorteil sein. Diese beschreibt die Entfernung von unerwünschten Metallen aus dem Boden durch Pflanzenakkumulation. Die Pflanzen der sogenannten *Hyperakkumulatoren* werden häufig für diesen Zweck eingesetzt.¹⁷⁰ Eine erhöhte Aufnahme hat den Vorteil einer schnelleren Reinigung des Bodens und einem geringeren Aufwand der Aussaat. Die Zugabe von EDTA während des Pflanzenwachstums bietet demnach ein sehr effektives Mittel für die Phytoextraktion von Europium und Americium.

Verglichen mit Europium weist Americiumcitrat, ähnlich wie bei EDTA, eine erhöhte Bildung im Nährmedium auf. Dies wurde anhand der höheren Komplexbildungskonstanten vermutet und mit ESI-MS-Messungen bestätigt. Dabei ergaben sich Speziesanteile von $[\text{Am}(\text{H}_3\text{Cit}) + 2 \text{H}_2\text{O}]^{2+}$ mit 9,0 % und drei Eu-Citrat-Komplexe mit insgesamt 1,6 %. Für die Aufnahme in die Pflanze werden keine negativen Auswirkungen vermutet. Zum einen wurde bei Europium keine steigende Element-Akkumulation mit erhöhter Citrat-Konzentration festgestellt und zum anderen wirkt Citrat als Exsudat komplexierend, wodurch das Metall-Ionen

maskiert in Lösung oder im Boden vorliegt. So reagiert es kaum mit Pflanzenbestandteilen oder essenziellen Metaboliten.^{61,62}

In dieser Arbeit wird Eu-Citrat anhand von Extraktionsexperimenten in der Wurzel vermutet. Eine Komplexierung von Americium mit Citrat wäre demnach ebenfalls möglich. In Bezug auf die Inkorporation von Am-Citrat in den menschlichen Organismus ist durch die Bildung dieser Spezies keine Änderung zu erwarten, da nach der *International Commission on Radiological Protection* (ICRP) alle Am-Verbindungen den gleichen Absorptionsfaktor f_A von $5 \cdot 10^{-4}$ aufweisen.¹⁷¹ Dieser beschreibt die Aufnahme des Elements von dem Verdauungstrakt in den Blutkreislauf. Weitergehend wurde die Bildung von Eu-Citrat in menschlichen Flüssigkeiten von *Heller et al.* untersucht. Dabei wurde im Urin eine pH-Abhängigkeit festgestellt und Eu-Citrat als dominierende Spezies im saurem Bereich identifiziert.^{172,173} Demnach kann auch die Bildung von Citrat-Komplexen im menschlichen Organismus stattfinden und die toxische Wirkung beeinflussen.

Am-Malonat bildet sich, wie Eu-Malonat, bei den vorgestellten ESI-MS-Ergebnisse im HOAGLAND-Medium ab einer höheren Konzentration des organischen Komplexbildners (200 μM). Die gebildeten Komplexe ergaben einen vergleichbaren Speziesanteil von insgesamt 1,1 % für Americium und 1,2 % für Europium. Da bisher keine Komplexbildungskonstanten von Americium mit Malonat existieren, kann an dieser Stelle kein Vergleich mit Europium erfolgen. Die experimentellen Daten weisen auf eine ähnliche Komplexbildung hin. Die Pflanzenexperimente zeigten keine Auswirkung von Malonat auf die Eu-Aufnahme im Winterroggen. Aufgrund der ähnlichen chemischen Eigenschaften der Am- und Eu-Ionen wird ein ähnliches Ergebnis für Americium vermutet. Die hier gezeigten Forschungsergebnisse geben daher erstmals Hinweise auf das Verhalten des Am-Malonats.

Parker et al. konnten anhand von identifiziertem Cu-Malonat eine verringerte Toxizität des Metall-Ions in Weizen (*Triticum aestivum* L.) nachweisen, welche nicht den Berechnungen des *free ion activity model* (FIAM) entspricht.¹⁷⁴ Demzufolge könnte Malonat generell die toxische Wirkung von Metall-Ionen herabsetzen. Dies wurde allerdings nicht für dreiwertige Kationen untersucht. Für die Anwesenheit von Aluminium als Stressfaktor wurde in Hortensien (*Hydrangea macrophylla*) eine erhöhte Malonat-Konzentration in der Pflanze und die Bildung eines Al-Malonat-Komplexes festgestellt.¹⁷⁵ Ein Einfluss von Malonat auf den Al-Transport innerhalb der Pflanze wird vermutet, jedoch konnte der genaue Mechanismus bisher nicht geklärt werden. Da in dieser Arbeit keine Auswirkungen durch Malonat auf die Eu-Aufnahme festgestellt wurde, wird kein Einfluss

auf die Toxizität aufgrund der Bildung von Malonat-Komplexen erwartet.

Die Komplexbildungskonstanten für Am- und Eu-Oxalat weisen nahezu die gleichen Wert auf, konnten allerdings nicht experimentell in der HOAGLAND-Lösung detektiert werden. Die Eu-Akkumulation nach Zugabe von Oxalat verbessert den Transport in die Blätter, was auf die Bildung einer mobileren Spezies hindeutet. Die vorangegangenen Liganden zeigen ein vergleichbares Verhalten für die Mobilität in Pflanzen und in menschlichen Flüssigkeiten. Demzufolge würde eine mobilere Spezies zu einer verbesserten Ausscheidung toxischer Metalle führen. Im Gegensatz zu den bereits genannten Liganden ist Oxalat dafür bekannt auch schwer lösliche Verbindungen mit Metall-Ionen zu bilden. Dies gilt auch für Americium und hängt von dem pH-Wert in Lösung ab.¹⁷⁶ Nach Inkorporation wäre die Bildung schwerlösliche Salze im Körper bei höheren Ligand-Konzentrationen möglich. Ca-Oxalat ist Hauptbestandteil von Nierensteinen, weshalb das Ausfällen mit Radionukliden eine Deposition in den Nieren und somit eine erhöhte Radiotoxizität zur Folge hätte.¹⁷⁷ Die Bildung von Nierensteinen hängt allerdings von weiteren Faktoren, wie der Übersättigung im Urin und dem Urinvolumen ab.¹⁷⁸

Vergleichsexperimente der Am-Aufnahme in Pflanzen mit anwesendem Oxalat in der Literatur sind sehr rar. Price zeigte 1973 eine Verringerung der ²⁴¹Am-Aufnahme um eine Größenordnung in Dach-Trespe (*Bromus tectorum*), eine Art der Süßgräser wie dem Winterroggen. Dabei wurde die gesamte Pflanze nach zwei Monaten Inkubationszeit im Boden geerntet.¹⁷⁹ Wird die hier ermittelte, aufgenommene Menge des verwendeten Europium verglichen, zeigt sich ohne Oxalat ein Eu-Gehalt von $35,7 \pm 12,2$ mg/g (Trockengewicht) in der gesamten Pflanze und nach Zugabe des organischen Liganden von $26,4 \pm 11,4$ mg/g. Demnach sinkt der Eu-Gehalt tendenziell in der Pflanze. Da die biologischen Proben eine höhere Standardabweichung aufweisen, liegen jedoch beide Ergebnisse im Bereich der Unsicherheiten und sind nicht signifikant verschieden.

Erstmals konnte Eu-Malat im Nährmedium nach Pflanzenkontakt identifiziert werden. Für diese Verbindung wurden Bildungskonstanten von Taube et al. mit $3,7 \pm 0,2$ bzw. $5,7 \pm 0,6$ für den 1:1 bzw. 1:2-Komplex mit TRLFS und PARAFAC bestimmt.¹³⁹ Für Am-Malat ergeben sich laut der Forscher aus UV/Vis-Messungen Konstanten von $4,7 \pm 0,7$ (1:1) und 7 ± 2 (1:2). Diese liegen etwas höher als für das Lanthanid-Ion und weisen auf eine vergleichsweise häufigere Bildung von Am-Malat-Komplexen hin. Als Pflanzenexsudat könnte es das Am³⁺-Ion effektiv in

Lösung oder im Boden binden und die Bioverfügbarkeit beeinflussen. Dabei sind der pH-Wert und die Redoxbedingungen entscheidend, da bei niedrigem pH und unter Sauerstoffzufuhr bevorzugt die freien, mobileren Ionen vorliegen.

Die im Winterroggen identifizierten Verbindungen können die Toxizität für den menschlichen Organismus nach Inkorporation beeinflussen. Potentielle organische oder anorganische Eu-Phosphat-Spezies weisen auf die Komplexierung von unter anderem DNA/RNA oder auch den Energielieferanten ATP/ADP hin und sind wichtige Bestandteile des Pflanzenmetabolismus. In der Natur kommt es überwiegend als Orthophosphat durch die Zersetzung von Gestein und Mineralen vor und kann die Lanthanide und Actinide stark binden.¹³⁰ Die Aufnahme von schwerlöslichem Eu- oder Am-Phosphat zeigt nach *Sachs et al.* eine erhöhte Zellaufnahme und Toxizität in Säugetierzellen untersucht in-vitro in einem flüssigen, Serum-Protein-freien Medium.¹⁸⁰ Mit einer 10-fach höheren Citrat-Konzentration wird neben anorganischen und schwerlöslichen EuPO_4 der Komplex $[\text{Eu}(\text{HCit})_2]^{3-}$ gebildet und kann so die Zellaufnahme von Europium etwas verringern. Unter Berücksichtigung der Resorptionsfaktoren von Americium im menschlichen Körper ist keine Auswirkung der Speziesumwandlung zu erwarten.

Die vermutete Eu-Protein-Spezies im Winterroggen könnte zu einer verminderten Toxizität führen, da eine starke Komplexierung im Blut mit Serum-Proteinen zu einer schnelleren Ausscheidung des Elements führt.¹⁸⁰ Somit gelangt nur eine geringere Menge in die empfindlichen Organe und die toxische Wirkung wird minimiert.⁴⁴

Auf eine Abschätzung der Inkorporationsdosis wurde an dieser Stelle verzichtet. Die Aufnahme von Radionukliden aus dem System Boden fällt im Vergleich zu dieser aus einem flüssigen Nährmedium deutlich geringer aus und hängt von der Menge der bioverfügbaren Fraktion ab.^{40,181} Eine mögliche Folgedosis würde somit überschätzt werden.

Des Weiteren wurden hohe Konzentrationen für die Analysetechniken benötigt, welche die Übertragbarkeit auf reale Umweltszenarien erschwert. Da die aufgenommenen Eu- und Am-Mengen in der Pflanze bei 100 nM vergleichbar skalieren, wird ein ähnliches Verhalten bei geringeren Konzentrationen angenommen. Die Entstehung von Eu- und Am-Komplexen hängt maßgeblich von der Konzentration der vorliegenden Liganden, dem pH-Wert und den Redox-Bedingungen im Boden ab.

Mit den Ergebnissen dieser Arbeit konnte die Komplexität der Aufnahme dreiwertiger Lanthanide und Actinide deutlich gemacht werden. Die vorliegenden Verbindungen in Lösung bzw. im System Boden beeinflussen die Aufnahme in Pflanzen und die Spezies im biologischen System. Es wurden mindestens drei verschiedene Eu-Verbindungen mit möglichen anorganischen und organischen Phosphat-Liganden sowie Proteinen im Winterroggen identifiziert. Dabei wird von einer veränderten Bioverfügbarkeit dieser Verbindungen nach einer potentiellen Inkorporation der Pflanzen ausgegangen. Die Vergleiche von Europium und Americium zeigen große Ähnlichkeiten in der Akkumulation im Winterroggen und in der Speziation im flüssigen Nährmedium der Pflanze, wodurch erste Hinweise auf die Radionuklidaufnahme gewonnen wurden. Es ist deutlich geworden, dass die Speziesanalyse große Relevanz für die Risikobewertung von Radionuklid-Inkorporation besitzt und der Einfluss von organischen Liganden auf die Bioverfügbarkeit nicht unterschätzt werden sollte.

9 | Ausblick

In dieser Arbeit wurde ein Überblick über die Bildung, die Bioverfügbarkeit und die Transporteigenschaften von Eu und Am mit organischen Liganden gegeben. Diese erstmalige Betrachtung der Speziesverteilung im Winterroggen soll als Ausgangspunkt für weitere Untersuchungen dienen. Aufgrund der hohen benötigten Konzentrationen konnten nicht alle verwendeten analytischen Techniken vom Eu auf Am übertragen werden. Ein weiteres Homolog, das Cm, wäre eine Möglichkeit für die Überprüfung der Ergebnisse mit TRLFS. Es weist gute Nachweisgrenzen auf und wurde bereits mehrfach als Am-Homolog eingesetzt.^{44,173} Auch die Lumineszenz-Mikroskopie kann für die Analyse dieses Elements und dessen Speziesverteilung in der Pflanze angewendet werden. Durch das Verwenden eines Raman-Mikroskops sind bisher nur eingeschränkte Möglichkeiten der Analyse vorhanden, wie die Anregungswellenlänge oder die Aufnahme der Emissionsspektren. Eine Weiterentwicklung dieser Technik würde die gleichzeitige Messung von Lebensdauern oder sogar Direktanregung ermöglichen. Hierzu wäre ein durchstimmbarer, gepulster Laser für die Anregung verschiedener Elemente und die Detektion der Fluoreszenzspektren, wie bei der TRLFS, notwendig.

Die zelluläre Verteilung von Eu im Winterroggen kann durch weitere Extraktionsmethoden, wie eine sequentielle Extraktion von Proteinen oder anderen Zellbestandteilen verfeinert werden. Mit einer nachfolgenden Analyse der Verbindungen könnte die Protein-gebundene Spezies näher bestimmt werden. Ein Verfahren nach *Zotina et al.* oder *Li et al.* wären denkbar.^{4,182} Letztere untersuchten die chemische Form von Cd^{2+} durch eine sequentielle Extraktion in *Myriophyllum aquaticum*. Ein solches Vorgehen müsste für dreiwertige Metall-Ionen angepasst und eine Speziesveränderung durch die Extraktion ausgeschlossen werden. Eine spezifische Extraktion potentiell vorliegender Verbindungen stellt eine weitere Option dar.

SIMS und rL-SNMS-Messungen können durch die Erstellung und Anwendung von Standard-Referenzmaterialien Aufschluss über die vorliegende Konzentration in den Pflanzenschnitten liefern. In dieser Arbeit wurden erste Abschätzung anhand von relativen Signalstärken durchgeführt. Für biologische Matrices sind solche Materialien bisher nicht erhältlich und aufgrund ihrer Komplexität schwer homogen herzustellen⁹¹.

Weitere Methoden sind EXAFS (*extended X-ray absorption fine structure*) und XANES (*near-edge x-ray absorption fine structure*) mit welchen die direkten ato-

maren Nachbarn in Verbindungen untersucht werden können. Dabei ergeben sich das benachbarte Element, dessen Anzahl, der Bindungsabstand und die Elektronenstruktur des Zentralatoms. Die Analysetechniken werden vermehrt für die Strukturaufklärung von Komplexen verwendet und können detaillierte Informationen über den Bindungszustand ermöglichen. Ein Nachteil ist dabei, dass die spektroskopische Methode Ergebnisse, gemittelt über alle vorhandenen Spezies, ergibt und eine direkte Bestimmung der Verbindung erschwert.^{183,184}

Für die Analyse von Am-Verbindungen wird häufig die UV/Vis-Spektroskopie angewandt, da die Absorption verschiedener Spezies Verschiebungen im Spektrum erzeugen. Durch Messungen von definierten Referenzlösungen können somit Verbindungen identifiziert werden.^{139,185} Da für diese Analysetechniken ebenfalls vergleichsweise hohe Konzentrationen und somit Aktivitäten benötigt werden, müssen entsprechende Untersuchungen in einem Kontrollbereich stattfinden.

Speziesanalysen in Bezug auf die Radionuklid-Aufnahme in Pflanzen sind sehr rar. Die hier gezeigten Untersuchungen der Auswirkung von Komplexbildnern weist auf Unterschiede in den aufgenommenen Spezies hin und sollte für eine geeignete Risikoabschätzung weiter untersucht werden. Dabei beziehen sich die Analysen ausschließlich auf die Biosphäre. Im Hinblick auf eine zukünftige Endlagerung von radioaktivem Abfall in einem geologischen Tiefenlager können weitere Informationen über die Bildung von Komplexverbindungen im Kompartiment Boden hilfreich sein. Besonders Untersuchungen zu thermodynamischen Konstanten sind dabei hervorzuheben. Es muss ausgeschlossen werden, dass bei einem potentiellen Austreten von Radionukliden in die Umwelt Verbindungen eintreten, welche im Boden mobiler und für Nutzpflanzen bioverfügbar vorliegen. Oxalat wird in der Wiederaufarbeitung von Brennstäben verwendet und kann in hohen Konzentrationen im hochradioaktiven Abfall vorliegen. Das Verhalten von Oxalat-Spezies im Boden kann nach dem hypothetischen Szenario eines Radionuklid-Austritts durchaus relevant sein.¹⁸⁶ Des Weiteren sind Informationen über den Einfluss von Komplexbildnern auf die Aufnahme in Pflanzen für die bereits genannte Phytoremediation von großer Bedeutung.

Literaturverzeichnis

- [1] International Atomic Energy Agency, „Environmental Consequences of the Chernobyl Accident and their Remediation: Twenty Years of Experience: Report of the Chernobyl Forum Expert Group 'Environment',“ 2006.
- [2] E. Ansoborlo, L. Bion, D. Doizi, C. Moulin, V. Lourenco, C. Madic, G. Cote, J. van der Lee und V. Moulin, „Current and Future Radionuclide Speciation Studies in Miological Media,“ *Radiation Protection Dosimetry*, Jg. 127, Nr. 1-4, S. 97–102, 2007. DOI: 10.1093/rpd/ncm258.
- [3] A. Sanz-Medel, „Trace element analytical speciation in biological systems: importance, challenges and trends,“ *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, Jg. 53, Nr. 2, S. 197–211, 1998. DOI: 10.1016/S0584-8547(97)00135-3.
- [4] T. A. Zotina, G. S. Kalacheva und A. Y. Bolsunovsky, „Biochemical fractionation and cellular distribution of americium and plutonium in the biomass of freshwater macrophytes,“ *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, Jg. 290, Nr. 2, S. 447–451, 2011. DOI: 10.1007/s10967-011-1228-2.
- [5] R. J. Fellows, Z. Wang und C. C. Ainsworth, „Europium uptake and partitioning in oat (*Avena sativa*) roots as studied by laser-induced fluorescence spectroscopy and confocal microscopy profiling technique,“ *Environmental Science & Technology*, Jg. 37, Nr. 22, S. 5247–5253, 2003. DOI: 10.1021/es0343609.
- [6] H. Moll, A. Barkleit, L. Frost und J. Raff, „Curium(III) speciation in the presence of microbial cell wall components,“ *Ecotoxicology and Environmental Safety*, Jg. 227, S. 112887, 2021. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2021.112887.
- [7] G. T. Seaborg, R. A. James, Morgan L.O. und A. Ghiorso, Hrsg., *Search for New Heavy Isotopes: Metallurgical Laboratory Report CS-2741*. 1945.
- [8] G. R. Choppin und E. N. Rizkalla, „Chapter 128: Solution chemistry of actinides and lanthanides,“ in *Handbook on the Physics*, Bd. 18, S. 559–590. DOI: 10.1016/S0168-1273(05)80051-0.

- [9] A. F. Holleman, E. Wiberg und N. Wiberg, *Lehrbuch der Anorganischen Chemie*, 102. Aufl. Berlin, New York: Walter de Gruyter, 2007, ISBN: 978-3-11-017770-1.
- [10] W. H. Runde und B. J. Mincher, „Higher oxidation states of americium: preparation, characterization and use for separations,“ *Chemical Reviews*, Jg. 111, Nr. 9, S. 5723–5741, 2011. DOI: 10.1021/cr100181f.
- [11] E. N. Rizkalla und G. R. Choppin, „Chapter 127: Lanthanides and Actinides Hydration and Hydrolysis,“ *Handbook on The Physics and Chemistry of Rare Earths*, Jg. 18, S. 529–558, 1994. DOI: 10.1016/S0168-1273(05)80050-9.
- [12] European Atomic Energy Community, *Nucleonica*, <https://nucleonica.com/>, Zugriff am 22.11.2021.
- [13] International Commission on Radiological Protection, „Dose Coefficients for Intakes of Radionuclides by Workers,“ *Annals of ICRP: ICRP Publication 68*, Jg. Band 24, Nr. 4, 1994.
- [14] L. R. Morss, N. M. Edelstein, J. Fuger und J. J. Katz, *The Chemistry of the Actinide and Transactinide Elements*, 3. Aufl. Dordrecht: Springer, 2006, ISBN: 1-4020-3555-1.
- [15] H. Sicius, *Handbuch der chemischen Elemente*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2021, ISBN: 978-3-662-55938-3.
- [16] P. Jaracz, S. Mirowski, A. Trzcińska, K. Isajenko, J. Jagielak, T. Kempisty und E. T. Józefowicz, „Calculations and measurements of ^{154}Eu and ^{155}Eu in ‘fuel-like’ hot particles from Chernobyl fallout,“ *Journal of Environmental Radioactivity*, Jg. 26, Nr. 1, S. 83–97, 1995. DOI: 10.1016/0265-931X(95)91635-H.
- [17] K. M. Krupka und R. J. Serne, *Geochemical Factors Affecting the Behavior of Antimony, Cobalt, Europium, Technetium, and Uranium in Vadose Zone Sediments*, 2002. DOI: 10.2172/15004491.
- [18] V. A. Kashparov, D. H. Oughton, S. I. Zvarich, V. P. Protsak und S. E. Levchuk, „Kinetics of Fuel Particles Weathering and Sr-90 Mobility in the Chernobyl 30-km Exclusion Zone,“ *Health Physics*, Jg. 76, Nr. 3, S. 251–259, 1999. DOI: 10.1097/00004032-199903000-00006.
- [19] United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation, „Sources and Effects of Ionizing Radiation: UNSCEAR 2008 Report to the General Assembly, with Scientific Annexes,“ 2008.

- [20] A. V. Muravitsky, V. F. Razbudey, V. V. Tokarevsky und P. N. Vorona, „Time-dependent ^{241}Am activity in the environment from decay of ^{241}Pu released in the Chernobyl accident,“ *Applied Radiation and Isotopes*, Jg. 63, Nr. 4, S. 487–492, 2005. DOI: 10.1016/j.apradiso.2005.03.018.
- [21] V. Kashparov, S. Lundin, S. Zvarych, V. Yoshchenko, S. Levchuk, Y. Khomutinin, I. Maloshtan und V. Protsak, „Territory contamination with the radionuclides representing the fuel component of Chernobyl fallout,“ *Science of The Total Environment*, Jg. 317, Nr. 1-3, S. 105–119, 2003. DOI: 10.1016/S0048-9697(03)00336-X.
- [22] V. A. Kashparov, *Hot Particles at Chernobyl (INIS-UA-2100201)*, Ukraine, 2003.
- [23] V. A. Kashparov, N. Ahamdach, S. I. Zvarich, V. I. Yoschenko, I. M. Maloshtan und L. Dewiere, „Kinetics of dissolution of Chernobyl fuel particles in soil in natural conditions,“ *Journal of Environmental Radioactivity*, Jg. 72, Nr. 3, S. 335–353, 2004. DOI: 10.1016/j.jenvrad.2003.08.002.
- [24] V. Kashparov, B. Salbu, S. Levchuk, V. Protsak, I. Maloshtan, C. Simonucci, C. Courbet, H. L. Nguyen, N. Sanzharova und V. Zabrotsky, „Environmental behaviour of radioactive particles from chernobyl,“ *Journal of Environmental Radioactivity*, Jg. 208-209, S. 106 025, 2019. DOI: 10.1016/j.jenvrad.2019.106025.
- [25] G. Lujaniene, A. Plukis, E. Kimtys, V. Remeikis, D. Jankūnaite und B. I. Ogorodnikov, „Study of ^{137}Cs , ^{90}Sr , $^{239,240}\text{Pu}$, ^{238}Pu and ^{241}Am behavior in the Chernobyl soil,“ *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, Jg. 251, Nr. 1, S. 59–68, 2002. DOI: 10.1023/a:1015185011201.
- [26] J.-V. Kratz und K. H. Lieser, *Nuclear and radiochemistry: Fundamentals and applications*, 3. Aufl. Weinheim, Germany: Wiley-VCH, 2013, ISBN: 978-3-5273-2901-4.
- [27] P. Brozynski, „Migration von Radionukliden in Bodenproben aus der nördlichen Ukraine,“ Masterarbeit, Leibniz Universität Hannover, Hannover, 2016.
- [28] S. F. Boulyga, M. Zoriy, M. E. Ketterer und J. S. Becker, „Depth profiling of Pu, ^{241}Am and ^{137}Cs in soils from southern Belarus measured by ICP-MS and alpha and gamma spectrometry,“ *Journal of Environmental Monitoring*, Jg. 5, Nr. 4, S. 661–666, 2003. DOI: 10.1039/b303621a.

- [29] C. Walther, P. Brozynski und S. Dubchak, „Tschernobyl - 30 Jahre danach,“ *Physik Journal*, Jg. 15, Nr. 2, S. 31–37, 2016.
- [30] S. Ovsiannikova, M. Papenia, K. Voinikava, J. Brown, L. Skipperud, G. Sokolik und S. Svirschevsky, „Migration ability of plutonium and americium in the soils of Polessie State Radiation-Ecological Reserve,“ *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, Jg. 286, Nr. 2, S. 409–415, 2010. DOI: 10.1007/s10967-010-0740-0.
- [31] L. Taiz und E. Zeiger, *Plant Physiology*, 3. Aufl. Sunderland: Sinauer Associates, 2002, ISBN: 0878938230.
- [32] J. W. Kadereit, C. Körner, B. Kost und U. Sonnewald, *Strasburger – Lehrbuch der Pflanzenwissenschaften*, 37. Aufl. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2014, ISBN: 978-3-642-54434-7.
- [33] C. Maurel, J. Reizer, J. I. Schroeder und M. J. Chrispeels, „The vacuolar membrane protein gamma-TIP creates water specific channels in *Xenopus* oocytes,“ *The EMBO Journal*, Jg. 12, Nr. 6, S. 2241–2247, 1993. DOI: 10.1002/j.1460-2075.1993.tb05877.x.
- [34] W. Kammerloher, U. Fischer, G. P. Piechottka und A. R. Schäffner, „Water channels in the plant plasma membrane cloned by immunoselection from a mammalian expression system,“ *The Plant Journal*, Jg. 6, Nr. 2, S. 187–199, 1994. DOI: 10.1046/j.1365-313x.1994.6020187.x.
- [35] P. Campbell, Hrsg., *Interactions between trace metals and aquatic organisms : A critique of the Free-ion Activity Model*. Chichester und New York: J. Wiley, 1995, ISBN: 0-471-95830-1.
- [36] M. J. McLaughlin, S. J. Andrew, M. K. Smart und E. Smolders, „Effects of sulfate on cadmium uptake by Swiss chard: I. Effects of complexation and calcium competition in nutrient solutions,“ *Plant and Soil*, Jg. 202, Nr. 2, S. 211–216, 1998. DOI: 10.1023/A:1004333529886.
- [37] P. Brown, „Evaluation of the free ion activity model of metal-organism interaction: extension of the conceptual model,“ *Aquatic Toxicology*, Jg. 51, Nr. 2, S. 177–194, 2000. DOI: 10.1016/S0166-445X(00)00115-6.
- [38] G. Desmet, Hrsg., *Reliability of Radioactive Transfer Models*. London, New York: Elsevier Applied Science, 1988, ISBN: 978-94-010-7110-9.
- [39] International Atomic Energy Agency, „Quantification of Radionuclide Transfer in Terrestrial and Freshwater Environments for Radiological Assessments,“ 2009.

- [40] G. A. Sokolik, S. V. Ovsiannikova, T. G. Ivanova und S. L. Leinova, „Soil-plant transfer of plutonium and americium in contaminated regions of Belarus after the Chernobyl catastrophe,“ *Environment International*, Jg. 30, Nr. 7, S. 939–947, 2004. DOI: 10.1016/j.envint.2004.03.003.
- [41] M. Pimpl und W. Schmidt, *Uptake of Plutonium, Americium, Curium, And Neptunium in Plants Cultivated under Greenhouse Conditions* (3rd Report of the workgroup on soil-to-plant transfer factors). 1984.
- [42] D. S. Popplewell, G. J. Ham, T. E. Johnson, J. W. Stather und S. A. Summer, „The Uptake of Plutonium-238, 239, 240, Americium-241, Strontium-90 And Caesium-137 into Potatoes,“ *The Science of the Total Environment*, Jg. 38, S. 173–181, 1984. DOI: 10.1016/0048-9697(84)90215-8.
- [43] Simon Pottgießer, „Untersuchung der Speziation und des Transferverhaltens von Plutonium und Americium im System Boden-Pflanze zur Dosisabschätzung beim Anbau von Nutzpflanzen,“ Dissertation, Leibniz Universität Hannover, Hannover, 2021.
- [44] F. Ménétrier, D. M. Taylor und A. Comte, „The biokinetics and radiotoxicology of curium: a comparison with americium,“ *Applied Radiation and Isotopes*, Jg. 66, Nr. 5, S. 632–647, 2008. DOI: 10.1016/j.apradiso.2007.12.002.
- [45] Y. Gao, F. Zeng, A. Yi, S. Ping und L. Jing, „Research of the entry of rare earth elements Eu^{3+} and La^{3+} into plant cell,“ *Biological Trace Element Research*, Nr. 91, S. 253–265, 2001. DOI: 10.1385/BTER:91:3:253.
- [46] H. E. Tian, Y. S. Gao, F. M. Li und F. Zeng, „Effects of Europium Ions (Eu^{3+}) on the Distribution and Related Biological Activities of Elements in *Lathyrus sativus* L. Roots,“ *Biological Trace Element Research*, Jg. 93, Nr. 1-3, S. 257–270, 2003. DOI: 10.1385/BTER:93:1-3:257.
- [47] B. Drobot, M. Schmidt, Y. Mochizuki, T. Abe, K. Okuwaki, F. Brulfert, S. Falke, S. A. Samsonov, Y. Komeiji, C. Betzel, T. Stumpf, J. Raff und S. Tsushima, „ $\text{Cm}^{3+}/\text{Eu}^{3+}$ induced structural, mechanistic and functional implications for calmodulin,“ *Physical Chemistry Chemical Physics*, Jg. 21, Nr. 38, S. 21 213–21 222, 2019. DOI: 10.1039/c9cp03750k.
- [48] R. Adeleke, C. Nwangburuka und B. Oboirien, „Origins, roles and fate of organic acids in soils: A review,“ *South African Journal of Botany*, Jg. 108, S. 393–406, 2017. DOI: 10.1016/j.sajb.2016.09.002.

- [49] S. H. Laurie, N. P. Tancock, S. P. McGrath und J. R. Sanders, „Influence of EDTA complexation on plant uptake of manganese(II),“ *Plant Science*, Nr. 109, S. 231–235, 1995. DOI: 10.1016/0168-9452(95)04161-M.
- [50] C. Oviedo und J. Rodríguez, „EDTA: the chelating agent under environmental scrutiny,“ *Química Nova*, Jg. 26, Nr. 6, S. 901–905, 2003. DOI: 10.1590/S0100-40422003000600020.
- [51] J. W. Huang, J. Chen, W. R. Berti und S. D. Cunningham, „Phytoremediation of Lead-Contaminated Soils: Role of Synthetic Chelates in Lead Phytoextraction,“ *Environmental Science & Technology*, Jg. 31, Nr. 3, S. 800–805, 1997. DOI: 10.1021/es9604828.
- [52] F. Tawussi, D. K. Gupta, E. L. Mühr-Ebert, S. Schneider, S. Bister und C. Walther, „Uptake of Plutonium-238 into *Solanum tuberosum* L. (potato plants) in presence of complexing agent EDTA,“ *Journal of Environmental Radioactivity*, Jg. 178-179, S. 186–192, 2017. DOI: 10.1016/j.jenvrad.2017.08.007.
- [53] P. F. Bell, M. J. McLaughlin, G. Cozens, D. P. Stevens, G. Owens und H. South, „Plant uptake of ^{14}C -EDTA, ^{14}C -Citrate, and ^{14}C -Histidine from chelator-buffered and conventional hydroponic solutions,“ *Plant and Soil*, Jg. 253, S. 311–319, 2003. DOI: 10.1023/A:1024836032584.
- [54] T. W. Tanton und S. H. Crowdy, „The distribution of lead chelate in the transpiration stream of higher plants,“ *Pesticide Science*, Jg. 2, Nr. 5, S. 211–213, 1971. DOI: 10.1002/ps.2780020507.
- [55] M. Gaspar, „Cloning and characterization of ZmPIP1-5b, an aquaporin transporting water and urea,“ *Plant Science*, Jg. 165, Nr. 1, S. 21–31, 2003. DOI: 10.1016/S0168-9452(03)00117-1.
- [56] „Ethyldiamintetraessigsäure (EDTA) und ihre Alkalisalze [MAK Value Documentation in German language, 2009],“ in *The MAK-Collection for Occupational Health and Safety: Annual Thresholds and Classification for the Workplace*, S. 1–33. DOI: 10.1002/3527600418.mb6000d0046. Adresse: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/3527600418.mb6000d0046>.
- [57] L. A. Schaidler, D. R. Parker und D. L. Sedlak, „Uptake of EDTA-complexed Pb, Cd and Fe by solution- and sand-cultured *Brassica juncea*,“ *Plant and Soil*, Jg. 286, Nr. 1-2, S. 377–391, 2006. DOI: 10.1007/s11104-006-9049-8.

- [58] K. Korla und C. K. Mitra, „Modelling the Krebs cycle and oxidative phosphorylation,“ *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics*, Jg. 32, Nr. 2, S. 242–256, 2014. DOI: 10.1080/07391102.2012.762723.
- [59] P. Cardiano, R. M. Cigala, F. Crea, F. Giacobello, O. Giuffrè, A. Irto, G. Lando und S. Sammartano, „Sequestration of Aluminium(III) by different natural and synthetic organic and inorganic ligands in aqueous solution,“ *Chemosphere*, Jg. 186, S. 535–545, 2017. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2017.08.015.
- [60] P. Cardiano, C. Foti, F. Giacobello, O. Giuffrè und S. Sammartano, „Study of Al³⁺ interaction with AMP, ADP and ATP in aqueous solution,“ *Biophysical Chemistry*, Jg. 234, S. 42–50, 2018. DOI: 10.1016/j.bpc.2018.01.003.
- [61] J. F. Ma, S. Hiradate, K. Nomoto, T. Iwashita und H. Matsumoto, „Internal Detoxification Mechanism of Al in Hydrangea (Identification of Al Form in the Leaves),“ *Plant Physiology*, Jg. 113, Nr. 4, S. 1033–1039, 1997. DOI: 10.1104/pp.113.4.1033.
- [62] J. F. Ma, P. R. Ryan und E. Delhaize, „Aluminium tolerance in plants and the complexing role of organic acids,“ *Trends in plant science*, Jg. 6, Nr. 6, S. 273–278, 2001. DOI: 10.1016/S1360-1385(01)01961-6.
- [63] C. Beyer, *Quantitative anorganische Analyse: Ein Begleiter für Theorie und Praxis*. Braunschweig und Wiesbaden: Vieweg, 1996, ISBN: 3528067799.
- [64] J. F. Johnson, C. P. Vance und D. L. Allan, „Phosphorus deficiency in *Lupinus albus*. Altered lateral root development and enhanced expression of phosphoenolpyruvate carboxylase,“ *Plant Physiology*, Jg. 112, Nr. 1, S. 31–41, 1996. DOI: 10.1104/pp.112.1.31.
- [65] G. Neumann und V. Römheld, „Root excretion of carboxylic acids and protons in phosphorus-deficient plants,“ *Plant and Soil*, Jg. 211, S. 121–130, 1999. DOI: 10.1023/A:1004380832118.
- [66] E. Martinoia und D. Rentsch, „Malate Compartmentation-Responses to a Complex Metabolism,“ *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, Jg. 45, S. 447–467, 1994. DOI: 10.1146/annurev.pp.45.060194.002311.
- [67] N. Osmolovskaya, D. Viet Vu und L. Kuchaeva, „The role of organic acids in heavy metal tolerance in plants,“ *Biological Communications*, Jg. 63, Nr. 1, S. 9–16, 2018. DOI: 10.21638/spbu03.2018.103.

- [68] X. F. Li, J. F. Ma und H. Matsumoto, „Pattern of Aluminum-Induced Secretion of Organic Acids Differs between Rye and Wheat,“ *Plant Physiology*, Nr. 123, S. 1537–1543, 2000. DOI: 10.1104/pp.123.4.1537.
- [69] G. Sarret, P. Saumitou-Laprade, V. Bert, O. Proux, J.-L. Hazemann, A. Traverse, M. A. Marcus und A. Manceau, „Forms of zinc accumulated in the hyperaccumulator *Arabidopsis halleri*,“ *Plant Physiology*, Jg. 130, Nr. 4, S. 1815–1826, 2002. DOI: 10.1104/pp.007799.
- [70] R. M. C. Dawson, *Data for Biochemical Research*, 3. Aufl. Oxford: Clarendon Press, 1959, ISBN: 978-0198553588.
- [71] B. Libert und V. R. Franceschi, „Oxalate in Crop Plants,“ *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Jg. 35, S. 926–938, 1987. DOI: 10.1021/jf00078a019.
- [72] V. R. Franceschi und P. A. Nakata, „Calcium Oxalate in Plants: Formation and Function,“ *Annual Review of Plant Biology*, Jg. 56, S. 41–71, 2005. DOI: 10.1146/annurev.arplant.56.032604.144106.
- [73] E. A. Braude, *Determination of Organic Structures by Physical Methods*. Burlington: Elsevier Science, 1955, ISBN: 978-1-4832-3166-2.
- [74] Y. S. Kim, „Malonate Metabolism: Biochemistry, Molecular Biology, Physiology, and Industrial Application,“ *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, Jg. 35, Nr. 5, S. 443–451, 2002. DOI: 10.5483/bmbrep.2002.35.5.443.
- [75] A. U. Igamberdiev und A. T. Eprintsev, „Organic Acids: The Pools of Fixed Carbon Involved in Redox Regulation and Energy Balance in Higher Plants,“ *Frontiers in Plant Science*, Jg. 7, S. 1042, 2016. DOI: 10.3389/fpls.2016.01042.
- [76] A. Makarov, „Electrostatic axially harmonic orbital trapping: a high-performance technique of mass analysis,“ *Analytical Chemistry*, Jg. 72, Nr. 6, S. 1156–1162, 2000. DOI: 10.1021/ac991131p.
- [77] J. H. Gross, *Massenspektrometrie*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2013, ISBN: 978-3-8274-2980-3.
- [78] Lord Rayleigh, „On the equilibrium of liquid conducting masses charged with electricity,“ *Philosophical Magazine and Journal of Science*, Jg. 14, Nr. 87, S. 184–186, 1882. DOI: 10.1080/14786448208628425.

- [79] P. Kebarle und L. Tang, „From ions in solution to ions in the gas phase - the mechanism of electrospray mass spectrometry,“ *Analytical Chemistry*, Jg. 65, Nr. 22, 972A–986A, 1993. DOI: 10.1021/ac00070a001.
- [80] N. Felitsyn, M. Peschke und P. Kebarle, „Origin and number of charges observed on multiply-protonated native proteins produced by ESI,“ *International Journal of Mass Spectrometry*, Jg. 219, Nr. 1, S. 39–62, 2002. DOI: 10.1016/S1387-3806(02)00588-2.
- [81] L. Konermann, E. Ahadi, A. D. Rodriguez und S. Vahidi, „Unraveling the mechanism of electrospray ionization,“ *Analytical Chemistry*, Jg. 85, Nr. 1, S. 2–9, 2013. DOI: 10.1021/ac302789c.
- [82] D. Schröder, „Ion clustering in electrospray mass spectrometry of brine and other electrolyte solutions,“ *Physical Chemistry Chemical Physics*, Jg. 14, Nr. 18, S. 6382–6390, 2012. DOI: 10.1039/C2CP40586E.
- [83] M. Beyer, E. R. Williams und V. E. Bondybey, „Unimolecular Reactions of Dihydrated Alkaline Earth Metal Dications $M^{2+}(H_2O)_2$, $M = Be, Mg, Ca, Sr, \text{ and } Ba$: Salt-Bridge Mechanism in the Proton-Transfer Reaction $M^{2+}(H_2O)_2 \rightarrow MOH^+ + H_3O^+$,“ *Journal of American Chemical Society*, Nr. 121, S. 1565–1573, 1999. DOI: 10.1021/ja982653+.
- [84] M. F. Bush, R. J. Saykally und E. R. Williams, „Reactivity and infrared spectroscopy of gaseous hydrated trivalent metal ions,“ *Journal of the American Chemical Society*, Jg. 130, Nr. 28, S. 9122–9128, 2008. DOI: 10.1021/ja801894d.
- [85] T. H. Hester, R. M. Albury, C. J. M. Pruitt und D. J. Goebbert, „Fragmentation of $[Ni(NO_3)_3]^-$: A Study of Nickel-Oxygen Bonding and Oxidation States in Nickel Oxide Fragments,“ *Inorganic Chemistry*, Jg. 55, Nr. 13, S. 6634–6642, 2016. DOI: 10.1021/acs.inorgchem.6b00812.
- [86] J. Lightcap, T. H. Hester, K. Kamena, R. M. Albury, C. J. M. Pruitt und D. J. Goebbert, „Gas-Phase Fragmentation of Aluminum Oxide Nitrate Anions Driven by Reactive Oxygen Radical Ligands,“ *The journal of physical chemistry. A*, Jg. 120, Nr. 9, S. 1501–1507, 2016. DOI: 10.1021/acs.jpca.5b12417.
- [87] C. Moulin, N. Charron, G. Plancque und H. Virelizier, „Speciation of Uranium by Electrospray Ionization Mass Spectrometry: Comparison with Time-Resolved Laser-Induced Fluorescence,“ *Applied Spectroscopy*, Jg. 54, Nr. 6, S. 843–848, 2000. DOI: 10.1366/0003702001950201.

- [88] M. Steppert, C. Walther, M. Fuss und S. Büchner, „On the polymerization of hexavalent uranium. An electrospray mass spectrometry study,“ *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, Jg. 26, Nr. 6, S. 583–591, 2012. DOI: 10.1002/rcm.6128.
- [89] W. E. Stephens, „A Pulsed Mass Spectrometer With Time Dispersion,“ *Physical Review*, Jg. 69, S. 691, 1946. DOI: 10.1063/1.1770801.
- [90] Samuel Ayer San Andrés, „Developments for Multiple-Reflection Time-of-Flight Mass Spectrometers and their Application to High-Resolution Accurate Mass Measurements of Short-Lived Exotic Nuclei,“ Dissertation, Justus-Liebig-Universität Gießen, Gießen, 2018.
- [91] S. Fearn, *An Introduction to Time-of-Flight Secondary Ion Mass Spectrometry (ToF-SIMS) and its Application to Materials Science*. Bristol: Morgan & Claypool Publishers, 2015, ISBN: 978-1-6817-4088-1.
- [92] M. Franzmann, H. Bosco, C. Walther und K. Wendt, „A new resonant Laser-SNMS system for environmental ultra-trace analysis: Installation and optimization,“ *International Journal of Mass Spectrometry*, Jg. 423, S. 27–32, 2017. DOI: 10.1016/j.ijms.2017.10.003.
- [93] H. Bosco, L. Hamann, N. Kneip, M. Raiwa, M. Weiss, K. Wendt und C. Walther, „New horizons in microparticle forensics: Actinide imaging and detection of ^{238}Pu and $^{242\text{m}}\text{Am}$ in hot particles,“ *Science Advances*, Jg. 7, 2021. DOI: 10.1126/sciadv.abj1175.
- [94] M. Raiwa, S. Büchner, N. Kneip, M. Weiß, P. Hanemann, P. Fraatz, M. Heller, H. Bosco, F. Weber, K. Wendt und C. Walther, „Actinide imaging in environmental hot particles from Chernobyl by rapid spatially resolved resonant laser secondary neutral mass spectrometry,“ *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, Jg. 190, S. 106–117, 2022. DOI: 10.1016/j.sab.2022.106377.
- [95] C. Walther und K. Wendt, „Chapter 8 - Radioisotope mass spectrometry,“ in *Handbook of Radioactivity Analysis*, S. 861–898. DOI: 10.1016/B978-0-12-814397-1.00008-X. Adresse: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B978012814397100008X>.
- [96] M. Mandel, L. Holtmann, M. Raiwa, A. Wunnenberg-Gust, B. Riebe und C. Walther, „Imaging of I, Re and Tc plant uptake on the single-cell scale using SIMS and rL-SNMS,“ *Journal of Hazardous Materials*, Jg. 423, Nr. Pt B, S. 127–143, 2022. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2021.127143.

- [97] M. Iijima, T. Yoshida, T. Kato, M. Kawasaki, T. Watanabe und S. Somasundaram, „Visualization of lateral water transport pathways in soybean by a time of flight-secondary ion mass spectrometry cryo-system,“ *Journal of Experimental Botany*, Jg. 62, Nr. 6, S. 2179–2188, 2011. DOI: 10.1093/jxb/erq418.
- [98] J. Saatz, H. Stryhanyuk, D. Vetterlein, N. Musat, M. Otto, T. Reemtsma, H. H. Richnow und B. Daus, „Location and speciation of gadolinium and yttrium in roots of *Zea mays* by LA-ICP-MS and ToF-SIMS,“ *Environmental Pollution*, Jg. 216, S. 245–252, 2016. DOI: 10.1016/j.envpol.2016.05.069.
- [99] K. Binnemans, „Interpretation of Europium(III) Spectra,“ *Coordination Chemistry Reviews*, Jg. 295, S. 1–45, 2015. DOI: 10.1016/j.ccr.2015.02.015.
- [100] B. M. Walsh, „Judd-Ofelt Theory: Principles and Practices,“ in *Advances in Spectroscopy for Lasers and Sensing*, Bd. 231, S. 403–433.
- [101] J. R. Lakowicz, Hrsg., *Principles of Florescence Spectroscopy*, 3. Aufl. Springer New York, 2006, ISBN: 978-0-387-31278-1.
- [102] Horrocks, William D., Jr. und D. R. Sudnick, „Lanthanide ion probes of structure in biology. Laser-induced luminescence decay constants provide a direct measure of the number of metal-coordinated water molecules,“ *Journal of the American Chemical Society*, Jg. 101, Nr. 2, S. 334–340, 1979. DOI: 10.1021/ja00496a010.
- [103] P. Sipos, „Application of the Specific Ion Interaction Theory (SIT) for the ionic products of aqueous electrolyte solutions of very high concentrations,“ *Journal of Molecular Liquids*, Jg. 143, Nr. 1, S. 13–16, 2008. DOI: 10.1016/j.molliq.2008.04.003.
- [104] J. Temoltzi-Avila, G. A. Iglesias-Silva und M. Ramos-Estrada, „Comparison Among Pitzer Model and Solvation Models. Calculation of Osmotic and Activity Coefficients and Dilution Enthalpy for Single-Electrolyte Aqueous Solutions,“ *Industrial & Engineering Chemistry Research*, Jg. 57, Nr. 31, S. 10 684–10 700, 2018. DOI: 10.1021/acs.iecr.8b00699.
- [105] B. J. Merkel und B. Planer-Friedrich, *Grundwasserchemie*, 2. Auflage. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2008, ISBN: 978-3-540-87468-3.
- [106] D. L. Parkhurst und Apello C.A.J., *Description of Input for PHREEQC Version 3: A Computer Program for Speciation, Batch-Reaction, One-Dimensional Transport, and Inverse Geochemical Calculations. U.S. Geo-*

- logical Survey Techniques and Methods*, U.S. Geological Survey, Hrsg., Reston, VA, 2013. DOI: 10.3133/tm6A43.
- [107] D. K. Hoagland und W. C. Snyder, „Nutrition of strawberry plant under controlled conditions,“ *Proceedings of the American Society for Horticultural Science*, Jg. 30, S. 288–294, 1933.
- [108] L. Jacobson, „Maintenance of Iron Supply in Nutrient Solutions by a Single Addition of Ferric Potassium Ethylenediamine Tetra-Acetate,“ *Plant Physiology*, Jg. 26, Nr. 2, S. 411–413, 1951. DOI: 10.1104/pp.26.2.411.
- [109] M. J. Carena, Hrsg., *Cereals* (Handbook of plant breeding). New York, NY: Springer, 2009, Bd. 3, ISBN: 978-0-387-72297-9.
- [110] S. Silva, G. Pinto, B. Correia, O. Pinto-Carnide und C. Santos, „Rye oxidative stress under long term Al exposure,“ *Journal of Plant Physiology*, Jg. 170, Nr. 10, S. 879–889, 2013. DOI: 10.1016/j.jplph.2013.01.015.
- [111] T. Damböck, „Einfluss von Komplexbildnern und Pflanzenexsudate auf die Europium-Spezies und Elementkonzentration in *Secale Cereale* L. unter Verwendung von zeitaufgelöster Laserfluoreszenz Spektroskopie,“ Bachelorarbeit, Leibniz Universität Hannover, Hannover, 2021.
- [112] Deutsches Institut für Normung e.V., *Deutsche Einheitsverfahren zur Wasser-, Abwasser- und Schlammuntersuchung - Allgemeine Angaben (Gruppe A) - Teil 51: Kalibrierung von Analyseverfahren - Lineare Kalibrierfunktion (A 51)*, Berlin, 5.2017.
- [113] Deutsches Institut für Normung e.V., *Chemische Analytik - Nachweis-, Erfassungs- und Bestimmungsgrenze unter Wiederholbedingungen - Begriffe, Verfahren, Auswertung*, Berlin, 11.2008.
- [114] P. Gentner, „Die Aufnahme von Radionukliden in Pflanzen: Entwicklung von chromatographischen und massenspektrometrischen Methoden zur Analyse des Homologs Europium und dessen Wechselwirkung in *Secale cereale* L.,“ Bachelorarbeit, Leibniz Universität Hannover, Hannover, 2021.
- [115] H. J. Weigel und H. J. Jäger, „Subcellular Distribution and Chemical Form of Cd in Bean Plants,“ *Plant Physiology*, Nr. 65, S. 480–482, 1980. DOI: 10.1104/pp.65.3.480.
- [116] D. G. Kinniburgh und D. M. Cooper, „PhreePlot: Creating graphical output with PHREEQC,“ Available at <http://www.phreeplot.org/>, 2011, Last updated January 17, 2022.

- [117] E. Giffaut, M. Grivé, P. Blanc, P. Vieillard, E. Colàs, H. Gailhanou, S. Gaboreau, N. Marty, B. Madé und L. Duro, „Andra thermodynamic database for performance assessment: ThermoChimie,“ *Applied Geochemistry*, Jg. 49, S. 225–236, 2014. DOI: 10.1016/j.apgeochem.2014.05.007.
- [118] P. M. May und K. Murray, „JESS, A joint expert speciation system—I. Raison d’être,“ *Talanta*, Jg. 38, Nr. 12, S. 1409–1417, 1991. DOI: 10.1016/0039-9140(91)80289-C.
- [119] A. L. Kogiomtzidis, „Entwicklung einer Python-Anwendung zur Isotopenmustererkennung und Ligandenanalyse von Massenspektren vermessen mit einem Orbitrap-Massenanalysator,“ Masterarbeit, Leibniz Universität Hannover, Hannover, 2021.
- [120] A. L. Kogiomtzidis, „Identifikation von Europiumspezies mittels Zeitaufgelöster Laser-induzierter Fluoreszenz Spektroskopie (TRLFS),“ Bachelorarbeit, Leibniz Universität Hannover, Hannover, 2019.
- [121] R. Bro, „PARAFAC. Tutorial and applications,“ *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, Jg. 38, Nr. 2, S. 149–171, 1997. DOI: 10.1016/S0169-7439(97)00032-4.
- [122] C. A. Andersson und R. Bro, „The N-Way Toolbox for MATLAB,“ *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, Jg. 52, S. 1–4, 2000. DOI: 10.1016/S0169-7439(00)00071-X.
- [123] M. Vogel, R. Steudtner, T. Fankhänel, J. Raff und B. Drobot, „Spatially resolved Eu(III) environments by chemical microscopy,“ *The Analyst*, Jg. 146, Nr. 22, S. 6741–6745, 2021. DOI: 10.1039/d1an01449h.
- [124] J. Stadler, M. Vogel, R. Steudtner, B. Drobot, A. L. Kogiomtzidis, M. Weiss und C. Walther, „The chemical journey of Europium(III) through winter rye (*Secale cereale* L.) – Understanding through mass spectrometry and chemical microscopy,“ *Chemosphere*, Jg. 313, S. 137 252, 2023. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2022.137252.
- [125] S. Clemens, E. J. Kim, D. Neumann und J. I. Schroeder, „Tolerance to toxic metals by a gene family of phytochelatin synthases from plants and yeast,“ *The EMBO Journal*, Jg. 18, Nr. 12, S. 3325–3333, 1999. DOI: 10.1093/emboj/18.12.3325.

- [126] P. Thakur, J. L. Conca, L. J. van de Burgt und G. R. Choppin, „Complexation and the laser luminescence studies of Eu(III), Am(III), and Cm(III) with EDTA, CDTA, and PDTA and their ternary complexation with dicarboxylates,“ *Journal of Coordination Chemistry*, Jg. 62, Nr. 23, S. 3719–3737, 2009. DOI: 10.1080/00958970903183909.
- [127] P. Thakur, J. L. Conca und G. R. Choppin, „Mixed Ligand Complexes of Am^{3+} , Cm^{3+} and Eu^{3+} with HEDTA and HEDTA + NTA—Complexation Thermodynamics and Structural Aspects,“ *Journal of Solution Chemistry*, Jg. 41, Nr. 4, S. 599–615, 2012. DOI: 10.1007/s10953-012-9826-3.
- [128] M. Latva, J. Kankare und K. Haapakka, „Solution Structures of Europium(III) Complexes of Ethylenediaminetetraacetic Acid,“ *Journal of Coordination Chemistry*, Jg. 38, Nr. 1-2, S. 85–99, 1996. DOI: 10.1080/00958979608022693.
- [129] F. Tanaka und S. Yamashita, „Luminescence Lifetimes of Aqueous Europium Chloride, Nitrate, Sulfate, and Perchlorate Solutions. Studies on the Nature of the Inner Coordination Sphere of Europium(III) Ion,“ *Inorganic Chemistry*, Jg. 23, S. 2044–2046, 1984. DOI: 10.1021/ic00182a013.
- [130] N. Jordan, M. Demnitz, H. Lösch, S. Starke, V. Brendler und N. Huittinen, „Complexation of Trivalent Lanthanides (Eu) and Actinides (Cm) with Aqueous Phosphates at Elevated Temperatures,“ *Inorganic Chemistry*, Jg. 57, Nr. 12, S. 7015–7024, 2018. DOI: 10.1021/acs.inorgchem.8b00647.
- [131] K. Maxwell und G. N. Johnson, „Chlorophyll fluorescence—a practical guide,“ *Journal of Experimental Botany*, Jg. 51, Nr. 345, S. 659–668, 2000. DOI: 10.1093/jexbot/51.345.659.
- [132] I. Shtangeeva, „Europium and Cerium Accumulation in Wheat and Rye Seedlings,“ *Water, Air, & Soil Pollution*, Jg. 225, Nr. 6, 2014. DOI: 10.1007/s11270-014-1964-3.
- [133] I. Shtangeeva und S. Ayrault, „Effects of Eu and Ca on yield and mineral nutrition of wheat (*Triticum aestivum*) seedlings,“ *Environmental and Experimental Botany*, Jg. 59, Nr. 1, S. 49–58, 2007. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2005.10.011.
- [134] W. Runde, „Spectroscopies for environmental studies of actinide species,“ *Los Alamos Science*, Jg. 26, S. 412–415, 2000.

- [135] B. Drobot, R. Steudtner, J. Raff, G. Geipel, V. Brendler und S. Tsushima, „Combining luminescence spectroscopy, parallel factor analysis and quantum chemistry to reveal metal speciation - a case study of uranyl(vi) hydrolysis,“ *Chemical science*, Jg. 6, Nr. 2, S. 964–972, 2015. DOI: 10.1039/c4sc02022g.
- [136] T. Saito, H. Sao, K. Ishida, N. Aoyagi, T. Kimura, S. Nagasaki und S. Tanaka, „Application of parallel factor analysis for time-resolved laser fluorescence spectroscopy: implication for metal speciation study,“ *Environmental Science & Technology*, Jg. 44, Nr. 13, S. 5055–5060, 2010. DOI: 10.1021/es9036995.
- [137] G. Biermans, N. Horemans, N. Vanhoudt, H. Vandenhove, E. Saenen, M. van Hees, J. Wannijn, J. Vangronsveld und A. Cuypers, „Biological effects of α -radiation exposure by ^{241}Am in *Arabidopsis thaliana* seedlings are determined both by dose rate and ^{241}Am distribution,“ *Journal of Environmental Radioactivity*, Jg. 149, S. 51–63, 2015. DOI: 10.1016/j.jenvrad.2015.07.007.
- [138] P. Thouvenot, S. Hubert, C. Moulin, P. Decambox und P. Mauchien, „Americium Trace Determination in Aqueous and Solid Matrices by Time-Resolved Laser-Induced Fluorescence,“ *ract*, Jg. 61, Nr. 1, S. 15–22, 1993. DOI: 10.1524/ract.1993.61.1.15.
- [139] F. Taube, B. Drobot, A. Rossberg, H. Foerstendorf, M. Acker, M. Patzschke, M. Trumm, S. Taut und T. Stumpf, „Thermodynamic and Structural Studies on the Ln(III)/An(III) Malate Complexation,“ *Inorganic Chemistry*, Jg. 58, Nr. 1, S. 368–381, 2019. DOI: 10.1021/acs.inorgchem.8b02474.
- [140] S. Kuke, B. Marmodée, S. Eidner, U. Schilde und M. U. Kumke, „Intramolecular deactivation processes in complexes of salicylic acid or glycolic acid with Eu(III),“ *Spectrochimica acta. Part A, Molecular and biomolecular spectroscopy*, Jg. 75, Nr. 4, S. 1333–1340, 2010. DOI: 10.1016/j.saa.2009.12.080.
- [141] J. Jessat, S. Sachs, H. Moll, W. John, R. Steudtner, R. Hübner, F. Bok und T. Stumpf, „Bioassociation of U(VI) and Eu(III) by Plant (Brassica napus) Suspension Cell Cultures-A Spectroscopic Investigation,“ *Environmental Science & Technology*, Jg. 55, Nr. 10, S. 6718–6728, 2021. DOI: 10.1021/acs.est.0c05881.

- [142] A. Álvarez-Fernández, P. Díaz-Benito, A. Abadía, A.-F. López-Millán und J. Abadía, „Metal species involved in long distance metal transport in plants,“ *Frontiers in Plant Science*, Jg. 5, S. 105, 2014. DOI: 10.3389/fpls.2014.00105.
- [143] J. M. Berg, J. L. Tymoczko, G. J. Gatto jr. und L. Stryer, *Stryer Biochemie*, 8. Aufl. Berlin, Heidelberg: Springer Spektrum, 2018, ISBN: 978-3-662-54619-2.
- [144] R. M. Smith, *Critical Stability Constants: Second Supplement*. Boston, MA: Springer, 1989, Bd. 6, ISBN: 978-1-461-56764-6.
- [145] J. Li, M. Hong, X. Yin und J. Liu, „Effects of the accumulation of the rare earth elements on soil macrofauna community,“ *Journal of Rare Earths*, Jg. 28, Nr. 6, S. 957–964, 2010. DOI: 10.1016/S1002-0721(09)60233-7.
- [146] L. Opherden, J. Oertel, A. Barkleit, K. Fahmy und A. Keller, „Paramagnetic decoration of DNA origami nanostructures by Eu^{3+} coordination,“ *Langmuir*, Jg. 30, Nr. 27, S. 8152–8159, 2014. DOI: 10.1021/la501112a.
- [147] P. J. Hocking, „The Composition of Phloem Exudate and Xylem Sap from Tree Tobacco (*Nicotiana glauca* Grah.),“ *Annals of Botany*, Jg. 45, Nr. 6, S. 633–643, 1980.
- [148] U. Schurr und E.-D. Schulze, „The concentration of xylem sap constituents in root exudate, and in sap from intact, transpiring castor bean plants (*Ricinus communis* L.),“ *Plant, Cell and Environment*, Jg. 18, Nr. 4, S. 409–420, 1995. DOI: 10.1111/j.1365-3040.1995.tb00375.x.
- [149] S.-i. Nakamura, C. Akiyama, T. Sasaki, H. Hattori und M. Chino, „Effect of cadmium on the chemical composition of xylem exudate from oilseed rape plants (*Brassica napus* L.),“ *Soil Science and Plant Nutrition*, Jg. 54, Nr. 1, S. 118–127, 2008. DOI: 10.1111/j.1747-0765.2007.00214.x.
- [150] M. C. White, F. D. Baker, R. L. Chaney und Decker A. Morris, „Metal Complexation in Xylem Fluid : II. Theoretical Equilibrium Model and Computational Computer Program,“ *Plant Physiology*, Jg. 67, Nr. 2, S. 301–310, 1981. DOI: 10.1104/pp.67.2.301.
- [151] M. C. White, Decker A. Morris und R. L. Chaney, „Metal Complexation in Xylem Fluids,“ *Plant Physiology*, Jg. 67, S. 292–300, 1981. DOI: 10.1104/pp.67.2.311.

- [152] R. Turgeon und S. Wolf, „Phloem transport: cellular pathways and molecular trafficking,“ *Annual Review of Plant Biology*, Jg. 60, S. 207–221, 2009. DOI: 10.1146/annurev.arplant.043008.092045.
- [153] F. Wen, G. J. White, H. D. VanEtten, Z. Xiong und M. C. Hawes, „Extracellular DNA is required for root tip resistance to fungal infection,“ *Plant Physiology*, Jg. 151, Nr. 2, S. 820–829, 2009. DOI: 10.1104/pp.109.142067.
- [154] X. Shao, K. DiMarco, T. L. Richard und L. R. Lynd, „Winter rye as a bioenergy feedstock: impact of crop maturity on composition, biological solubilization and potential revenue,“ *Biotechnology for biofuels*, Jg. 8, S. 35, 2015. DOI: 10.1186/s13068-015-0225-z.
- [155] D. Chin und A. R. Means, „Calmodulin: a prototypical calcium sensor,“ *Trends in Cell Biology*, Jg. 10, Nr. 8, S. 322–328, 2000. DOI: 10.1016/S0962-8924(00)01800-6.
- [156] A. Barkleit, A. Heller, A. Ikeda-Ohno und G. Bernhard, „Interaction of europium and curium with alpha-amylase,“ *Dalton Transactions*, Jg. 45, Nr. 21, S. 8724–8733, 2016. DOI: 10.1039/c5dt04790k.
- [157] P. Masojć und M. D. Gale, „ α -Amylase structural genes in rye,“ *TAG. Theoretical and applied genetics. Theoretische und angewandte Genetik*, Jg. 82, Nr. 6, S. 771–776, 1991. DOI: 10.1007/BF00227324.
- [158] H. Moll, S. Sachs und G. Geipel, „Plant cell (*Brassica napus*) response to europium(III) and uranium(VI) exposure,“ *Environmental science and pollution research international*, Jg. 27, Nr. 25, S. 32 048–32 061, 2020. DOI: 10.1007/s11356-020-09525-2.
- [159] S. Dietz, K. Herz, K. Gorzolka, U. Jandt, H. Bruelheide und D. Scheel, „Root exudate composition of grass and forb species in natural grasslands,“ *Scientific reports*, Jg. 10, Nr. 1, S. 10 691, 2020. DOI: 10.1038/s41598-019-54309-5.
- [160] G. R. Choppin und Z. M. Wang, „Correlation between Ligand Coordination Number and the Shift of the ${}^7F_0 - {}^5D_0$ Transition Frequency in Europium(III) Complexes,“ *Inorganic Chemistry*, Jg. 36, Nr. 2, S. 249–252, 1997. DOI: 10.1021/ic9500220.
- [161] M. R. Winberg und R. S. Garcia, *National Low-Level Waste Management Program Radionuclide Report Series, Volume 14: Americium-241*. Idaho, 1995.

- [162] J. W. Stather, J. D. Harrison, P. Rodwell und A. J. David, „The gastrointestinal absorption of plutonium and americium in the hamster,“ *Physics in medicine and biology*, Jg. 24, Nr. 2, S. 396–407, 1979. DOI: 10.1088/0031-9155/24/2/015.
- [163] L. I. Levitsky, J. A. Klein, M. V. Ivanov und M. V. Gorshkov, „Pyteomics 4.0: Five Years of Development of a Python Proteomics Framework,“ *Journal of proteome research*, Jg. 18, Nr. 2, S. 709–714, 2019. DOI: 10.1021/acs.jproteome.8b00717.
- [164] International Atomic Energy Agency, *Live Chart of Nuclides*, IAEA - Nuclear Data Section, Hrsg. Adresse: <https://www-nds.iaea.org/relnsd/vcharthtml/VChartHTML.html>(Zugriffam16.11.2022).
- [165] G. Sillén, *Stability constants of metal-ion complexes*. (Special Publication). London: Chemical Society, 1971, Bd. 17.
- [166] W. Hummel, G. Anderegg, L. Rao, I. Puigdomènech und O. Tochiyama, *Chemical Thermodynamics of Compounds and Complexes of U, Np, Pu, Am, Tc, Se, Ni and Zr with Selected Organic Ligands* (Chemical Thermodynamics). Issy-les-Moulineaux, France, 2005, Bd. 9, ISBN: 978-0-080-45752-9.
- [167] J. Schijf und R. H. Byrne, „Stability constants for mono- and dioxalato-complexes of Y and the REE, potentially important species in groundwaters and surface freshwaters,“ *Geochimica et Cosmochimica Acta*, Jg. 65, Nr. 7, S. 1037–1046, 2001. DOI: 10.1016/S0016-7037(00)00591-3.
- [168] E. Bloem, S. Haneklaus, R. Haensch und E. Schnug, „EDTA application on agricultural soils affects microelement uptake of plants,“ *The Science of the Total Environment*, Jg. 577, S. 166–173, 2017. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2016.10.153.
- [169] B. N. Vyas und K. B. Mistry, „Influence of chelating agents on the uptake of ^{239}Pu and ^{241}Am by plants,“ *Plant and Soil*, Jg. 73, Nr. 3, S. 345–353, 1983. DOI: 10.1007/BF02184311.
- [170] J. H. Lee, „An overview of phytoremediation as a potentially promising technology for environmental pollution control,“ *Biotechnology and Bio-process Engineering*, Jg. 18, Nr. 3, S. 431–439, 2013. DOI: 10.1007/s12257-013-0193-8.

- [171] International Commission on Radiological Protection, „Occupational Intakes of Radionuclides: Part 4,“ *Annals of the ICRP: ICRP Publication 141*, Jg. 48, Nr. 2-3, 2019.
- [172] A. Heller, A. Barkleit und G. Bernhard, „Chemical speciation of trivalent actinides and lanthanides in biological fluids: the dominant in vitro binding form of curium(III) and europium(III) in human urine,“ *Chemical Research in Toxicology*, Jg. 24, Nr. 2, S. 193–203, 2011. DOI: 10.1021/tx100273g.
- [173] A. Heller, A. Barkleit, H. Foerstendorf, S. Tsushima, K. Heim und G. Bernhard, „Curium(III) citrate speciation in biological systems: a europium(III) assisted spectroscopic and quantum chemical study,“ *Dalton Transactions*, Jg. 41, Nr. 45, S. 13 969–13 983, 2012. DOI: 10.1039/c2dt31480k.
- [174] D. R. Parker, J. F. Pedler, Z. A. S. Ahnstrom und M. Resketo, „Reevaluating the free-ion activity model of trace metal toxicity toward higher plants: Experimental evidence with copper and zinc,“ *Environmental Toxicology and Chemistry*, Jg. 20, Nr. 4, S. 899–906, 2001. DOI: 10.1002/etc.5620200426.
- [175] A. Naumann und W. J. Horst, „Effect of aluminium supply on aluminium uptake, translocation and blueing of *Hydrangea macrophylla* (Thunb.) Ser. cultivars in a peatclay substrate,“ *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, Jg. 78, Nr. 4, S. 463–469, 2003. DOI: 10.1080/14620316.2003.11511651.
- [176] G. A. Burney und J. A. Porter, „Solubilities of Pu(III), Am(III), and Cm(III) oxalates,“ *Inorganic and Nuclear Chemistry Letters*, Jg. 3, Nr. 3, S. 79–85, 1967. DOI: 10.1016/0020-1650(67)80128-4.
- [177] S. Sandersius und P. Rez, „Morphology of crystals in calcium oxalate monohydrate kidney stones,“ *Urological research*, Jg. 35, Nr. 6, S. 287–293, 2007. DOI: 10.1007/s00240-007-0115-3.
- [178] A. P. Evan, „Physiopathology and etiology of stone formation in the kidney and the urinary tract,“ *Pediatric Nephrology*, Jg. 25, Nr. 5, S. 831–841, 2010. DOI: 10.1007/s00467-009-1116-y.
- [179] K. Price, „Tumbleweed and cheatgrass uptake of transuranium elements applied to soil as organic acid complexes,“ *Technical Report, Batelle, Pacific Northwest Laboratories, Richland, Washington*, 1973.

- [180] S. Sachs, A. Heller, S. Weiss, F. Bok und G. Bernhard, „Interaction of Eu(III) with mammalian cells: Cytotoxicity, uptake, and speciation as a function of Eu(III) concentration and nutrient composition,“ *Toxicology in Vitro*, Jg. 29, Nr. 7, S. 1555–1568, 2015. DOI: 10.1016/j.tiv.2015.06.006.
- [181] M. Salvatore, „Evaluation of Heavy Metal Toxicity on Radish: Comparison between Soil and Floating Hydroponics Systems,“ *American Journal of Experimental Agriculture*, Jg. 2, Nr. 2, S. 174–185, 2012. DOI: 10.9734/AJEA/2012/862.
- [182] G. Li, Q. Li, L. Wang und D. Zhang, „Cadmium tolerance and detoxification in *Myriophyllum aquaticum*: physiological responses, chemical forms, and subcellular distribution,“ *Environmental science and pollution research international*, Jg. 27, Nr. 30, S. 37 733–37 744, 2020. DOI: 10.1007/s11356-020-09872-0.
- [183] J.-M. Monsallier, R. Artinger, M. A. Denecke, F. J. Scherbaum, G. Buckau und J.-I. Kim, „Spectroscopic study (TRLFS and EXAFS) of the kinetics of An(III)/Ln(III) humate interaction,“ *Radiochimica Acta*, Jg. 91, Nr. 10, S. 567–574, 2003. DOI: 10.1524/ract.91.10.567.22471.
- [184] T. Stumpf, M. Marques Fernandes, C. Walther, K. Dardenne und T. Fanghänel, „Structural characterization of Am incorporated into calcite: a TRLFS and EXAFS study,“ *Journal of colloid and interface science*, Jg. 302, Nr. 1, S. 240–245, 2006. DOI: 10.1016/j.jcis.2006.06.010.
- [185] A. Barkleit, J. Kretzschmar, S. Tsushima und M. Acker, „Americium(III) and europium(III) complex formation with lactate at elevated temperatures studied by spectroscopy and quantum chemical calculations,“ *Dalton Transactions*, Jg. 43, Nr. 29, S. 11 221–11 232, 2014. DOI: 10.1039/c4dt00440j.
- [186] A. Skerencak-Frech, M. Maiwald, M. Trumm, D. R. Froehlich und P. J. Panak, „The complexation of Cm(III) with oxalate in aqueous solution at T = 20-90 °C: a combined TRLFS and quantum chemical study,“ *Inorganic Chemistry*, Jg. 54, Nr. 4, S. 1860–1868, 2015. DOI: 10.1021/ic502749x.
- [187] J. Kragten, *Atlas of metal-ligand equilibria in aqueous solution*, Ellis Horwood Series in Analytical Chemistry. Chichester: Horwood, 1978, ISBN: 047099309X.
- [188] G. Anderegg, Hrsg., *Critical Survey of Stability Constants of EDTA Complexes*. Pergamon, 1977, ISBN: 978-0-080-22009-3.

- [189] D. D. Perrin und L. G. Sillén, *Stability constants of metal-ion complexes. Part B: Organic ligands* (IUPAC Chemical Data Series). Oxford, New York: Pergamon Press, 1979, Bd. 22, ISBN: 9780080209586.
- [190] A. V. Stepanov, „Comparative Stability of Complex Compounds of Yttrium, Some Rare Earth Elements with Anions of Oxalic, Citric, Ethylenediaminetetraacetic, and 1,2-Diaminocyclohexanetetetraacetic acids (in English),“ *Russian Journal of Inorganic Chemistry*, Jg. 16, S. 1583–1586, 1971.

Abbildungsverzeichnis

2.1	Hydrolyse des Am & Entstehung im Kernreaktor.	4
2.2	pH-Eh-Diagramm der Hydrolyse von Eu & Entstehung von ^{154}Eu und ^{155}Eu im Kernreaktor.	6
2.3	Transport von Radionukliden in der Umwelt.	7
3.1	Aufbau und Querschnitt der Samenpflanze.	12
3.2	Struktur der EDTA.	16
3.3	Struktur der Zitronensäure.	17
3.4	TCA-Zyklus.	18
3.5	Struktur der Äpfelsäure.	19
3.6	Struktur der Oxalsäure.	19
3.7	Struktur der Malonsäure.	20
4.1	Orbitrap TM Analysator.	22
4.2	Elektrospray-Ionisation.	23
4.3	Aufbau einer ToF-SIMS.	27
4.4	Schema zur resonanten Ionisation.	28
4.5	Anregungsschema Eu^{3+} & Emissionsspektrum des Eu^{3+} -Aquo-Ions.	31
4.6	JABLONSKI-Diagramm der Wechselwirkung von Lichtabsorption und Lebensdauerspektrum des Eu^{3+} -Aquo-Ions.	33
5.1	Pflanzenaufzucht und Kontamination.	38
5.2	Beispiel einer Lebensdauerauswertung.	45
6.1	Eu-Konzentration in <i>Secale cereale</i> L.	47
6.2	REM-EDX Spektren vom Wurzelhals der <i>Secale cereale</i> L.	48
6.3	ToF-SIMS Ergebnisse und Eu-Verteilung in der Wurzelzelle.	49
6.4	Eu-Konzentration in verschiedenen Zellkompartimenten.	50
6.5	Theoretische Berechnungen der Speziesverteilung der Eu-HOAGLAND-Lösung.	51
6.6	Veränderung der Eu-Spezies im HOAGLAND-Medium.	53
6.7	Emissionsspektren von Eu-HOAGLAND-Lösungen vor und nach Pflanzenkontakt.	54
6.8	PARAFAC-Ergebnisse der Eu-HOAGLAND-Lösung nach Pflanzenkontamination.	56

6.9	ESI-MS Spektrum des Wurzelextrakts nach Pflanzenkontakt. . . .	57
6.10	Lumineszenz-Ergebnisse von zwölf Pflanzensegmenten.	58
6.11	Lumineszenz-Mikroskopie-Ergebnisse der <i>Secale cereale</i> L. mit Eu.	60
6.12	Darstellung der pH-Werte der Eu-HOAGLAND-Lösungen mit organischen Liganden.	61
6.13	Eu-Gehalte in der Pflanze kontaminiert mit EDTA, Citrat, Malonat und Oxalat.	62
6.14	Speziesverteilung in Eu-EDTA-HOAGLAND-Lösungen.	63
6.15	Relative Intensitätsverhältnisse mit verschiedenen EDTA-Konzentrationen.	65
6.16	Emissionsspektren der Eu-EDTA-HOAGLAND-Lösungen vor und nach Pflanzeninkubation.	66
6.17	Emissionsspektren der Eu-EDTA-Pflanzen vor und nach der Kontamination.	68
6.18	Lumineszenz-Mikroskopie der Pflanze mit 2000 μ M EDTA.	69
7.1	Theoretische Berechnungen einer Am-HOAGLAND-Lösung.	71
7.2	Am- und Eu-Konzentration in <i>Secale cereale</i> L.	73
7.3	SIMS und rL-SNMS Aufnahmen von Eu und Am.	74
8.1	Hochauflösendes ESI-MS-Spektrum.	81
8.2	Darstellung des <i>Aspartat-Malat-Shuttles</i>	86
8.3	Darstellung der Aspartat-Struktur.	90
8.4	<i>Scores</i> der ESI-MS-Auswertung von Am- & Eu-EDTA-Spezies mit dem Programm <i>MARI</i>	97

Tabellenverzeichnis

2.1	Oxidationsstufen von Am.	3
2.2	Eigenschaften von Eu und Am.	5
3.1	Ausgewählte Transferfaktoren von Am.	15
5.1	Zusammensetzung der HOAGLAND-Lösung.	37
6.1	Speziesanteile von theoretischen Berechnungen und des ESI-MS Spektrums der Eu-HOAGLAND-Lösung im Vergleich.	52
6.2	Lebensdauern der Eu-HOAGLAND-Lösung vor und nach Pflanzen- kontakt.	55
6.3	Lebensdauern der Eu-HOAGLAND-Lösung mit verschiedenen EDTA- Konzentrationen.	67
6.4	Lebensdauern im Winterroggen mit verschiedenen EDTA-Konzen- trationen.	68
7.1	Speziesanteile einer Am-HOAGLAND-Lösung aus ESI-MS-Messungen.	72
7.2	Speziesanteile von Am- und Eu-HOAGLAND-Lösungen mit verschie- denen organischen Liganden (ESI-MS).	76
8.1	Theoretische Speziesanteile von Eu-EDTA-Verbindungen in der Eu-HOAGLAND-Lösung	93
8.2	Vergleich von thermodynamisch charakterisierten und experimen- telle bestimmten, positiv geladenen Eu- und Am-Spezies in Lösung mit organischen Komplexbildnern.	98

A | Anhang

A.1 Chemikalienliste

$\text{Eu}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$:	Sigma Aldrich, <i>trace metal basis, 99,9 %</i>
^{241}Am :	Eckert & Ziegler Nuclitec GmbH, AmNO_3 in 1M HNO_3
^{243}Am :	Eckert & Ziegler Nuclitec GmbH, AmCl_3 in 1M HCl , $\geq 99 \%$
$(\text{NH}_4)_2\text{C}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$:	Merck KGaA, <i>for analysis</i>
Na_2EDTA :	VWR Chemicals, AnalaR NORMAPUR
$\text{C}_3\text{H}_4\text{O}_4$:	Alfa Aesar, <i>Reagent Grade, 99,5+ %</i>
$\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$:	Merck KGaA, EMPROVE®exp
HNO_3 :	Merck KGaA, p.a.
CH_3OH :	VWR Chemicals, <i>HPLC Grade</i>
TRIS-HCl:	amresco, <i>proteomics grade</i>
Saccharose:	Sigma Aldrich, <i>puriss.</i>
Dithioerythritol:	Sigma Aldrich/, $\geq 99,0 \%$
Glycerin:	VWR, AnalaR Normapur, bidest. 99,5 %

Hoagland-Medium

KNO_3 :	Merck KGaA, p.a.
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$:	Merck KGaA, p.a.
$\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$:	Merck KGaA, p.a.
$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$:	Sigma Aldrich, ACS reagent $\geq 98 \%$
H_3BO_3 :	Fluka, p.a., $> 99,0 \%$
$\text{FeSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$:	Fluka, p.a., $> 99,0 \%$
Na_2EDTA :	VWR Chemicals, AnalaR NORMAPUR
$\text{MnCl}_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$:	Fluka, p.a., $> 99,0 \%$
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$:	Sigma Aldrich, <i>Bioreagenz</i>
H_2MoO_4 :	Alfa Aesar, min. 85 %
$\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$:	Sigma Aldrich, $\geq 98 \%$

A.2 Experimentelle Daten und Parameter

```

SPECIATION
  jobTitle           "Speciation vs pH using 'species' plot type"
  calculationType    species
  calculationMethod  1
  database           ThermoChimie_Phreeqc_SIT_electron_v10a_JESS.dat
  mainSpecies       "Eu"           # species vs pH for Eu
  xmin              3.0           # pH min
  xmax              8.0           # pH max
  resolution        100          # number of points per curve
  numericTags       <pCO2> = "-3.5" \ # used below
                   <pO2> = "-0.7"

PLOT
  plotTitle          "Eu speciation vs pH <br>(PHREEQC_Thermochimie_EuEDTA_JESS.dat)"
  pxmin              3.0         # plot limits
  pxmajor            1.0         # major ticks and numbering
  pxminor            0.2         # minor ticks
  pymin              100
  pymax             100
  useLineColorDictionary 1      # force to take colours from dictionary
  labelSize          1.5        # curve labels inside plot
  minimumYValueForPlotting 0.2  # omit any curve with max(concn)<1%

CHEMISTRY

include 'speciesvsph.inc'      # PHREEQC code to generate species-conc pairs

PHASES
Fix_H+
  H+ = H+
  log_k 0.0

SELECTED_OUTPUT
  -high_precision  true
  -reset           false

SOLUTION 1                    # first simulation - initial solution
  pH      2.5
  pe      7.56
  temp    20
  units   mol/kgw
  Eu      5E-3
  K       1.0089E-03
  N(+5)   1.1588E-03
  Ca      0.2998E-03
  Mg      0.1988E-03
  S       0.2E-03
  N(-3)   0.0871E-03
  Cl      0.4572E-06
  P       0.022E-03
  Edta    20E-06
  B       4.626E-06
  Mn      0.915E-06
  Zn      0.0765E-06
  Cu      0.032E-06
  Na      0.403E-06
  Mo      0.056E-06

  -water   1 # kg
  CO2(g)   -3.5

END

USE SOLUTION 1
EQUILIBRIUM_PHASES
  O2(g) <pO2>
  Fix_H+ -<x_axis> NaOH
  -force_equality true
  CO2(g) <pCO2>
END

```

Abbildung A.2.1: Beispieldatei für die Berechnung der theoretischen Speziesverteilung in einer Eu-HOAGLAND-Lösung ($[EDTA] = 20\mu\text{M}$, $[Eu] = 5\text{ mM}$) mit PhreePlot unter Verwendung der Datenbanken *Thermochimie* und *JESS*.

Tabelle A.2.1: Verwendete Komponenten und Messparameter der zwei Messsysteme A und B für die Aufnahme von Emissions- und Lebensdauerspektren.

Messsystem	A			B	
Laser	Powerlite Precision II 9020			Ekspla NT230	
Spektrograph	Kymera 328i-C			Andor SR-303i-A	
Kamera	Andor iStar DH320T-18U-63			Andor iStar DH-320T-18U-63	
Auswertung	<i>physica</i>			PARAFAC	
Probe	Lösung	Wurzel	Blatt	Lösung	Pflanze
Grating / 1/mm	300	600	300 (600)*	300	300
Input slit / μm	10 (30)*	150	100 (200)*	50	300
Gate Width / ms	10	10	10	0,2	0,2
Gain level	3000	4000	4000	1000	2000

*Parametereinstellung für die Lebensdauermessung

A.3 Verteilung von Europium in der Pflanze

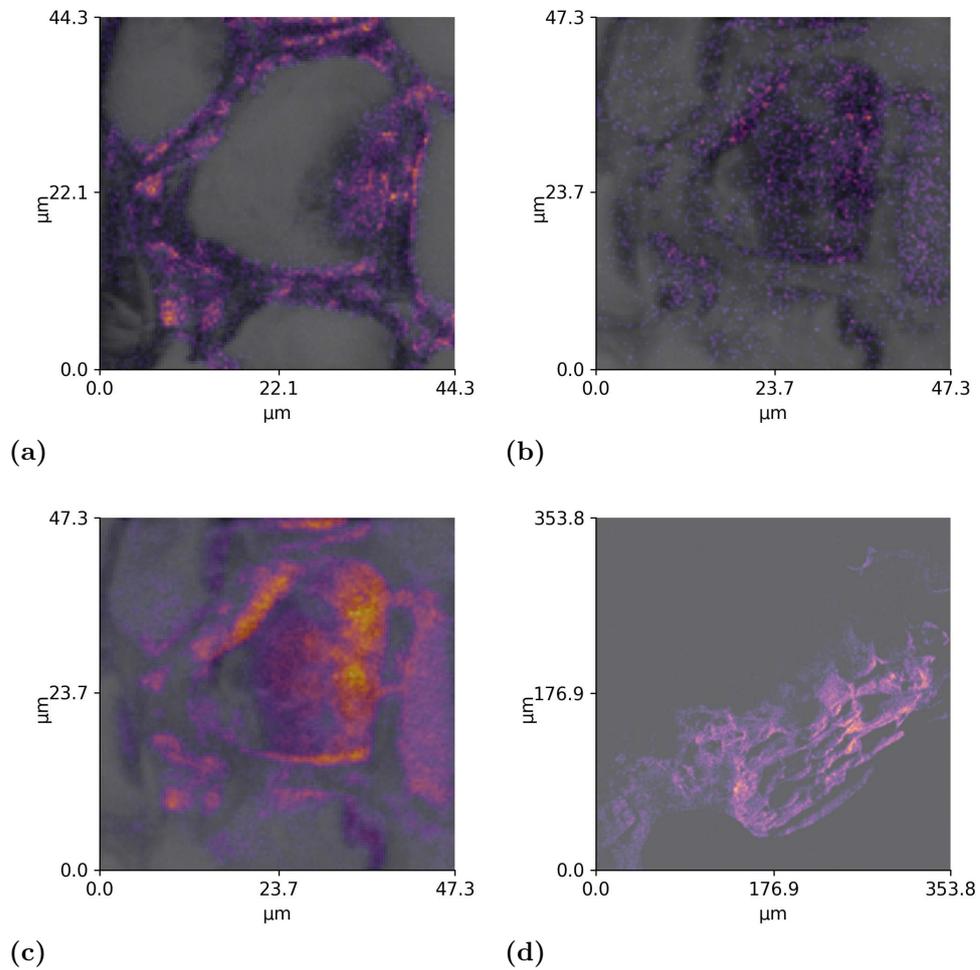


Abbildung A.3.1: Ergebnisse der SIMS Messungen an einer Winterroggen-Pflanzenzelle mit 5 mM Europium. Overlay mit (a) Eu (^{151}Eu und ^{153}Eu), (b) NO und (c) PH und (d) Eu in einem Wurzelquerschnitt.

A.4 Europiumspezies in der Nährlösung

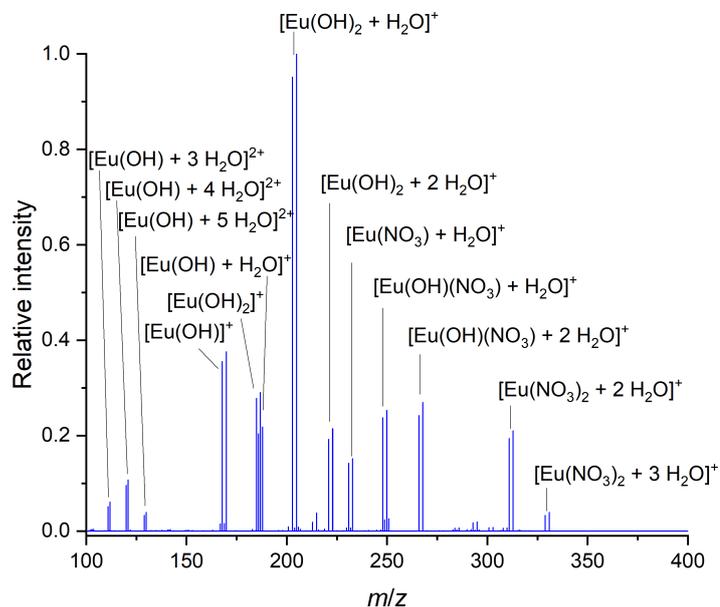


Abbildung A.4.1: Massenspektrum einer Eu-HOAGLAND-Lösung ($[Eu] = 5 \text{ mM}$) gemessen mit ESI-MS im positiven Ionenmodus. Die zugeordneten Eu-Spezies sind in Tab. A.4.2 aufgeführt.

Tabelle A.4.1: Ergebnisse der theoretischen Berechnung von Eu(III)-Spezies in Eu-HOAGLAND ([Eu] = 5 mM) mit PHREEQC und den berechneten Speziesverhältnissen bei pH = 4,16. Mol. = Molalität, A. = Aktivität.

Spezies	Mol.	A.	Log Mol.	Log A.	Spezies-anteil / %
Eu ³⁺	4,79E-03	1,27E-03	-2,32	-2,896	95,8
Eu(SO ₄) ⁺	1,42E-04	1,22E-04	-3,848	-3,912	2,83
Eu(NO ₃) ₂ ²⁺	3,61E-05	2,00E-05	-4,443	-4,699	0,721
Eu(HEDTA)	1,03E-05	1,03E-05	-4,989	-4,989	0,205
Eu(EDTA) ⁻	8,04E-06	6,94E-06	-5,095	-5,159	0,161
Eu(HPO ₄) ⁺	6,44E-06	5,56E-06	-5,191	-5,255	0,129
Eu(H ₂ PO ₄) ₂ ²⁺	5,64E-06	3,13E-06	-5,249	-5,505	0,113
Eu(OH) ₂ ²⁺	3,03E-07	1,68E-07	-6,518	-6,775	6,06E-3
Eu(SO ₄) ₂ ⁻	2,29E-07	1,97E-07	-6,641	-6,705	4,58E-3
Eu(PO ₄)	1,14E-07	1,14E-07	-6,945	-6,945	2,27E-3
EuCl ₂ ²⁺	4,92E-09	2,73E-09	-8,308	-8,564	9,85E-5
Eu(HPO ₄) ₂ ⁻	4,47E-10	3,85E-10	-9,35	-9,414	8,93E-6
Eu(H ₃ EDTA) ₂ ²⁺	5,51E-11	3,05E-11	-10,259	-10,515	1,10E-06
Eu(OH) ₂ ⁺	2,27E-11	1,96E-11	-10,644	-10,708	4,54E-07
Eu(HEDTA)(EDTA) ₄ ⁻	1,10E-14	1,04E-15	-13,958	-14,982	2,21E-10
Eu(PO ₄) ₂ ³⁻	6,96E-15	1,85E-15	-14,158	-14,734	1,39E-10
EuCl ₂ ⁺	1,94E-16	1,67E-16	-15,712	-15,776	3,88E-12
Eu(OH) ₃	5,08E-18	5,08E-18	-17,294	-17,294	1,02E-13
Eu ₂ (EDTA) ₃ ⁶⁻	1,98E-19	9,77E-22	-18,704	-21,01	3,95E-15
Eu(EDTA) ₂ ⁵⁻	2,69E-20	6,74E-22	-19,57	-21,171	5,38E-16
Ca(Eu(OH) ₃) ₂ ²⁺	5,69E-21	3,16E-21	-20,245	-20,501	1,14E-16
Eu(OH) ₄ ⁻	1,66E-28	1,44E-28	-27,779	-27,843	3,33E-24
Ca ₂ (Eu(OH) ₄) ₃ ³⁺	3,56E-31	9,43E-32	-30,449	-31,025	7,11E-27
Ca ₃ (Eu(OH) ₆) ₃ ³⁺	0,00E+00	0,00E+00	-49,414	-49,99	0

Tabelle A.4.2: Charakteristische m/z -Signale des Massenspektrums gemessen mit der ESI-MS von Europium im HOAGLAND-Medium ($[\text{Eu}] = 5 \text{ mM}$).

m/z -Signal		Rel. Intensität / %		Ionen-Summenformel
^{151}Eu	^{153}Eu	^{151}Eu	^{153}Eu	
101,97	102,97	0,123	0,153	$[\text{Eu}(\text{OH}) + 2 \text{H}_2\text{O}]^{2+}$
102,48	103,48	0,350	0,457	$[\text{Eu} + 3 \text{H}_2\text{O}]^{2+}$
110,98	111,98	5,16	6,12	$[\text{Eu}(\text{OH}) + 3 \text{H}_2\text{O}]^{2+}$
119,98	120,98	10,88	9,43	$[\text{Eu}(\text{OH}) + 4 \text{H}_2\text{O}]^{2+}$
128,99	129,99	3,32	3,95	$[\text{Eu}(\text{OH}) + 5 \text{H}_2\text{O}]^{2+}$
150,92	152,92	0,138	0,149	$[\text{Eu}]^+$
166,91	168,92	1,50	1,61	$[\text{EuO}]^+$
167,92	169,92	35,6	37,3	$[\text{Eu}(\text{OH})]^+$
182,91	184,91	0,408	0,210	$[\text{EuO}_2]^+$
184,92	186,93	27,4	28,7	$[\text{Eu}(\text{OH})_2]^+$
185,93	187,93	20,1	21,5	$[\text{Eu}(\text{OH}) + \text{H}_2\text{O}]^+$
202,94	204,94	94,3	100	$[\text{Eu}(\text{OH})_2 + \text{H}_2\text{O}]^+$
203,94	205,94	0,686	0,837	$[\text{Eu}(\text{OH}) + 2 \text{H}_2\text{O}]^+$
209,93	211,93	0,0872	0,0883	$[\text{Eu}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)]^+$
212,92	214,92	1,84	3,74	$[\text{Eu}(\text{NO}_3)]^+$
220,95	222,95	19,2	21,4	$[\text{Eu}(\text{OH})_2 + 2 \text{H}_2\text{O}]^+$
227,94	229,94	0,0944	0,0962	$[\text{Eu}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2) + \text{H}_2\text{O}]^+$
229,91	231,91	0,643	0,684	$[\text{Eu}(\text{OH})(\text{NO}_3)]^+$
230,92	232,92	14,1	15,6	$[\text{Eu}(\text{NO}_3) + \text{H}_2\text{O}]^+$
238,96	240,96	0,127	0,147	$[\text{Eu}(\text{OH})_2 + 3 \text{H}_2\text{O}]^+$
244,95	246,95	0,184	0,208	$[\text{Eu}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)(\text{OH}) + \text{H}_2\text{O}]^+$
247,92	249,92	23,4	25,4	$[\text{Eu}(\text{OH})(\text{NO}_3) + \text{H}_2\text{O}]^+$
248,93	250,93	2,40	2,65	$[\text{Eu}(\text{NO}_3) + 2 \text{H}_2\text{O}]^+$
265,93	267,93	24,3	27,2	$[\text{Eu}(\text{OH})(\text{NO}_3) + 2 \text{H}_2\text{O}]^+$
282,89	284,89	0,271	0,285	$[\text{Eu}(\text{HPO}_4) + 2 \text{H}_2\text{O}]^+$
283,94	285,94	0,586	0,648	$[\text{Eu}(\text{SO}_4) + 2 \text{H}_2\text{O}]^+$
292,91	294,91	1,74	1,95	$[\text{Eu}(\text{NO}_3)_2 + \text{H}_2\text{O}]^+$
300,90	302,90	0,730	0,809	$[\text{Eu}(\text{SO}_4) + 3 \text{H}_2\text{O}]^+$
310,92	312,92	19,2	21,2	$[\text{Eu}(\text{NO}_3)_2 + 2 \text{H}_2\text{O}]^+$
328,92	330,92	3,27	3,90	$[\text{Eu}(\text{NO}_3)_2 + 3 \text{H}_2\text{O}]^+$
441,00	443,00	1,33E-3	1,54E-3	$[\text{Eu}(\text{H}_2\text{EDTA})^+]$

Tabelle A.4.3: Ausreißer der relative Intensitätsverhältnisse von ^{153}Eu im HOAGLAND-Medium vor und nach der Pflanzenkontamination ($[\text{Eu}] = 5 \text{ mM}$). Die Berechnung erfolgte mit dem GRUBBS-Test.

m/z -Signal ^{153}Eu	Rel. Intensitäts- verhältnis	Spezies
211,93	1,9	$[\text{Eu}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)]^+$
214,92	1,3	$[\text{Eu}(\text{NO}_3)]^+$
222,95	$4,7 \cdot 10^{-4}$	$[\text{Eu}(\text{OH})_2 + 2 \text{H}_2\text{O}]^+$
232,92	$4,2 \cdot 10^{-2}$	$[\text{Eu}(\text{NO}_3) + \text{H}_2\text{O}]^+$
443,00	$6,9 \cdot 10^{-2}$	$[\text{Eu}(\text{H}_2\text{EDTA})]^+$

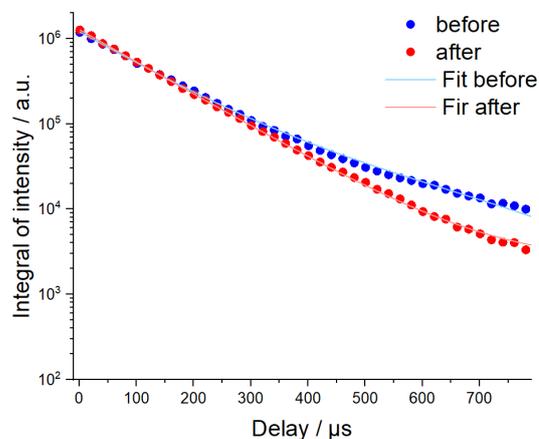


Abbildung A.4.2: Lebensdauerplots für die Eu-HOAGLAND-Lösung vor und nach der Pflanzenkontamination gemessen mit Messsystem A.

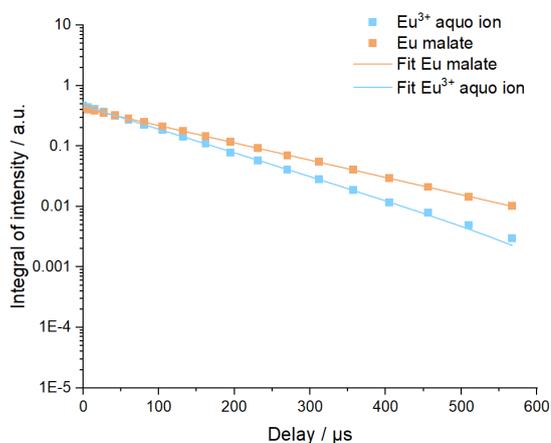


Abbildung A.4.3: Lebensdauerplots für die Eu-HOAGLAND-Lösung (Eu-Malat) nach der Pflanzenkontamination gemessen mit Messsystem B.¹²⁴

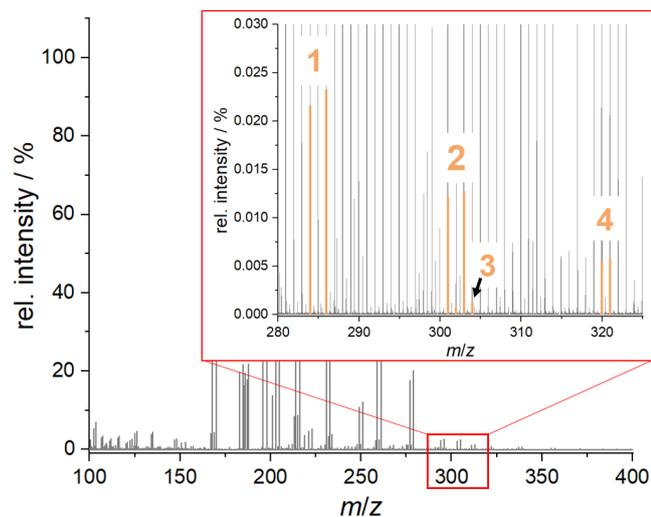


Abbildung A.4.4: Identifikation von Eu-Malat (orange) in der HOAGLAND-Lösung mit ESI-MS. Spezies 1: $[\text{Eu}(\text{C}_4\text{H}_5\text{O}_5)]^+$, 2: $[\text{Eu}(\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_5) + \text{H}_2\text{O}]^+$, 3: $[\text{Eu}(\text{C}_4\text{H}_5\text{O}_5) + \text{H}_2\text{O}]^+$ und 4: $[\text{Eu}(\text{C}_4\text{H}_5\text{O}_5) + 2 \text{H}_2\text{O}]^+$.¹²⁴

A.5 Speziesanalyse von Europium im Winterroggen

Tabelle A.5.1: Ergebnisse der Eu-Speziesanalyse mit *MARI* ($\delta m < 5$ ppm und $\delta I < 0,1$) nach Extraktion aus der Winterroggenwurzel. Kursiv gezeigte Spezies wurden von *FreeStyle* identifiziert.¹²⁴

m/z (¹⁵¹ Eu)	Intensität (¹⁵¹ Eu)	m/z (¹⁵³ Eu)	Intensität (¹⁵³ Eu)	Eu-Spezies
167,9224	574835,8307	169,9237	624935,4989	[Eu(OH)] ⁺
202,9354	143512,4936	204,9367	160431,1853	[Eu(OH) ₂ + H ₂ O] ⁺
185,9327	81593,26818	187,9340	89586,07782	[Eu(OH) + H ₂ O] ⁺
184,9248	50948,1947	186,9261	54461,29592	[Eu(OH) ₂] ⁺
182,9092	48735,30069	184,9106	50991,13841	[EuO ₂] ⁺
300,9355	37148,95085	302,9368	39478,28622	[EuC ₄ H ₄ O ₅ + H ₂ O] ⁺
200,9197	32207,47596	202,9211	35233,90547	[EuO ₂ + H ₂ O] ⁺
318,9459	31143,02863	320,9472	34553,68038	[Eu(C ₄ H ₄ O ₅) + 2 H ₂ O] ⁺
283,9327	28973,28968	285,9342	32327,35948	[EuC ₄ H ₅ O ₅] ⁺
220,9458	23870,66666	222,9471	26546,50884	[Eu(OH) ₂ + 2 H ₂ O] ⁺
230,9176	22473,55817	232,9190	24610,49197	[Eu(NO ₃) + H ₂ O] ⁺
209,9326	22225,47222	211,9339	26367,82488	[Eu(C ₂ H ₃ O ₂)] ⁺
166,9144	17491,44548	168,9158	18248,69668	[EuO] ⁺
221,9326	12971,84721	223,9340	14751,83133	[Eu(OH) + 2 H ₂ O] ⁺
416,9462	12711,20825	418,9475	13934,73292	[EuC ₈ H ₁₀ O ₁₀] ⁺
462,9879	12177,84102	464,9891	13461,69609	[EuC ₈ H ₁₄ O ₁₀ N ₃] ⁺
463,9958	9310,811697	465,9973	10572,64996	[EuC ₁₀ H ₁₇ O ₁₁] ⁺
301,9434	9062,926951	303,9448	9408,182384	[Eu(C ₄ H ₅ O ₄) + H ₂ O] ⁺
218,9304	8556,479619	220,9316	9796,577112	[EuO + 2 H ₂ O] ⁺
376,9516	7199,180867	378,9530	8369,255876	[Eu(C ₆ H ₆ O ₇) + 2 H ₂ O] ⁺
239,9432	4463,096987	241,9446	5308,285855	[EuC ₃ H ₅ O ₃] ⁺
150,9195	4316,46971	152,9208	4341,775435	[Eu] ⁺
212,9071	3542,963162	214,9087	3557,866064	[Eu(NO ₃) + H ₂ O] ⁺
248,9284	2964,963129	250,9297	3252,497423	[Eu(NO ₃) + 2 H ₂ O] ⁺
195,9170	2944,794163	197,9184	3433,209261	[EuCHO ₂] ⁺
150,9167	2800,619074	152,9179	3097,096992	[Eu] ⁺

Tabelle A.5.2: ^{153}Eu -Spezies identifiziert in dem Extrakt der Winterroggenwurzel (E) mit ESI-MS verglichen mit den Messungen der Eu-HOAGLAND-Lösung (HL) nach Pflanzenkontakt und den Referenzlösungen (Ref.) mit Eu-Malat, -Citrat und -Aspartat ([Eu]:[Ligand] 1:1, 1 mM). Abweichungen in den m/z -Werten resultieren aus der OrbitrapTM-Kalibrierung.¹²⁴

Spezies	m/z	Rel.	m/z	Rel.	m/z	Rel.
	Ex	I / %	HL	I / %	Ref.	I / %
[Eu(H-Mal)] ⁺	285,93	$1,3 \cdot 10^{-1}$	285,94	$2,0 \cdot 10^{-2}$	285,93	$2,1 \cdot 10^{-1}$
[Eu(Mal)+H ₂ O] ⁺	302,94	$2,1 \cdot 10^{-1}$	302,94	$9,8 \cdot 10^{-3}$	302,94	34
[Eu(H-Mal) + H ₂ O] ⁺	303,95	$5,0 \cdot 10^{-2}$	303,95	$3,4 \cdot 10^{-4}$	303,95	$1,2 \cdot 10^{-3}$
[Eu(H-Mal)+2H ₂ O] ⁺	320,95	$1,8 \cdot 10^{-1}$	320,95	$5,8 \cdot 10^{-3}$	320,95	8,9
[Eu(H-Mal) ₂] ⁺	418,95	$6,9 \cdot 10^{-2}$	-	-	418,95	5,0
[Eu(H ₂ Cit+H ₂ O)] ⁺	360,94	$2,2 \cdot 10^{-2}$	-	-	360,94	1,2
[Eu(H ₂ Cit+2H ₂ O)] ⁺	378,95	$4,5 \cdot 10^{-2}$	-	-	378,95	$8,3 \cdot 10^{-1}$
[Eu(H ₃ Cit)] ⁺	343,94	$8,5 \cdot 10^{-3}$	-	-	343,94	$8,3 \cdot 10^{-2}$
[Eu(H ₃ Cit)(H-Mal)] ⁺	476,95	$4,6 \cdot 10^{-3}$	-	-	476,95	12
[Eu(Asp)] ⁺	284,95	$2,6 \cdot 10^{-3}$	-	-	284,95	$2,5 \cdot 10^{-1}$

A.6 Auswirkungen von EDTA auf die Europium-Aufnahme

Tabelle A.6.1: Speziesverteilung der Eu-Verbindungen (>0,01 %) in der HOAGLAND-Lösung ohne EDTA-Zugabe ([Eu] = 5 mM) berechnet mit PHREEQC bei pH 4,27.

Spezies	Molalität	Aktivität	Log Molalität	Log Aktivität	Speziesanteil / %
Eu ³⁺	4,81E-03	1,29E-03	-2,318	-2,891	96,24
Eu(SO ₄) ⁺	1,39E-04	1,20E-04	-3,858	-3,921	2,78
Eu(NO ₃) ²⁺	3,64E-05	2,02E-05	-4,439	-4,694	0,73
Eu(HPO ₄) ⁺	7,16E-06	6,19E-06	-5,145	-5,209	0,14
Eu(H ₂ PO ₄) ²⁺	4,85E-06	2,70E-06	-5,314	-5,569	0,10
Eu(OH) ²⁺	3,94E-07	2,19E-07	-6,404	-6,659	0,01

Tabelle A.6.2: Speziesverteilung der Eu-Verbindungen (>0,01 %) in der HOAGLAND-Lösung mit 20 µM EDTA ([Eu] = 5 mM) berechnet mit PHREEQC bei pH 4,16.

Spezies	Molalität	Aktivität	Log Molalität	Log Aktivität	Speziesanteil / %
Eu ³⁺	4,79E-03	1,28E-03	-2,319	-2,892	95,86
Eu(SO ₄) ⁺	1,39E-04	1,20E-04	-3,858	-3,922	2,77
Eu(NO ₃) ²⁺	3,63E-05	2,02E-05	-4,441	-4,695	0,73
Eu(HEDTA)	1,12E-05	1,12E-05	-4,95	-4,95	0,22
Eu(EDTA) ⁻	8,78E-06	7,59E-06	-5,056	-5,12	0,18
Eu(HPO ₄) ⁺	6,01E-06	5,19E-06	-5,221	-5,285	0,12
Eu(H ₂ PO ₄) ²⁺	5,24E-06	2,92E-06	-5,281	-5,535	0,10
Eu(OH) ²⁺	3,05E-07	1,70E-07	-6,516	-6,77	0,01

Tabelle A.6.3: Speziesverteilung der Eu-Verbindungen (>0,01 %) in der HOAGLAND-Lösung mit 200 µM EDTA ([Eu] = 5 mM) berechnet mit PHREEQC bei pH 3,31.

Spezies	Molalität	Aktivität	Log Molalität	Log Aktivität	Spezies-anteil / %
Eu ³⁺	4,62E-03	1,25E-03	-2,335	-2,902	92,40
Eu(HEDTA)	1,80E-04	1,80E-04	-3,745	-3,745	3,60
Eu(SO ₄) ⁺	1,37E-04	1,18E-04	-3,864	-3,927	2,74
Eu(NO ₃) ²⁺	3,53E-05	1,97E-05	-4,453	-4,705	0,71
Eu(EDTA) ⁻	1,99E-05	1,72E-05	-4,702	-4,765	0,40
Eu(H ₂ PO ₄) ²⁺	6,57E-06	3,68E-06	-5,183	-5,435	0,13
Eu(HPO ₄) ⁺	1,07E-06	9,23E-07	-5,972	-6,035	0,02

Tabelle A.6.4: Speziesverteilung der Eu-Verbindungen (>0,01 %) in der HOAGLAND-Lösung mit 2000 µM EDTA ([Eu] = 5 mM) berechnet mit PHREEQC bei pH 2,43.

Spezies	Molalität	Aktivität	Log Molalität	Log Aktivität	Spezies-anteil / %
Eu ³⁺	2,88E-03	9,05E-04	-2,541	-3,044	57,58
Eu(HEDTA)	1,92E-03	1,92E-03	-2,717	-2,717	38,40
Eu(SO ₄) ⁺	1,17E-04	1,03E-04	-3,933	-3,989	2,33
Eu(H ₃ EDTA) ²⁺	2,76E-05	1,65E-05	-4,56	-4,783	0,55
Eu(EDTA) ⁻	2,75E-05	2,42E-05	-4,561	-4,617	0,55
Eu(NO ₃) ²⁺	2,45E-05	1,46E-05	-4,611	-4,834	0,49
Eu(H ₂ PO ₄) ²⁺	4,14E-06	2,48E-06	-5,383	-5,606	0,08

Tabelle A.6.5: Ergebnisse der Speziesidentifikation der ESI-MS-Messung von der Eu-HOAGLAND-Lösung ohne EDTA-Zugabe ausgewertet mit dem Programm *MARI* ($\delta m < 5$ ppm und $\delta I < 0,1$).

Spezies	Score	m/z_0	$\sum I$	Anteil / %
$[\text{Eu}(\text{OH})_2 + \text{H}_2\text{O}]^+$	0,995	204,9366	142098132,6	32,8
$[\text{Eu}(\text{OH})]^+$	0,988	169,9233	53094714,73	12,2
$[\text{Eu}(\text{OH})_2]^+$	0,988	186,9261	41341312,78	9,53
$[\text{Eu}(\text{OH})(\text{NO}_3) + 2 \text{H}_2\text{O}]^+$	0,986	267,9323	35108215,51	8,10
$[\text{Eu}(\text{OH})(\text{NO}_3) + \text{H}_2\text{O}]^+$	0,995	249,9218	33473038,31	7,72
$[\text{Eu}(\text{OH}) + \text{H}_2\text{O}]^+$	0,997	187,9339	29889998,47	6,89
$[\text{Eu}(\text{OH})_2 + 2 \text{H}_2\text{O}]^+$	0,985	222,9472	29720963,33	6,85
$[\text{Eu}(\text{NO}_3)_2 + 2 \text{H}_2\text{O}]^+$	0,981	312,9173	26154867,5	6,03
$[\text{Eu}(\text{NO}_3) + \text{H}_2\text{O}]^+$	0,996	232,9190	20778261,38	4,79
$[\text{Eu}(\text{OH}) + 3 \text{H}_2\text{O}]^{2+}$	0,963	111,9773	7958303,144	1,84
$[\text{Eu}(\text{NO}_3)_2 + 3 \text{H}_2\text{O}]^+$	0,959	330,9280	4327656,172	0,998
$[\text{Eu}(\text{NO}_3) + 2 \text{H}_2\text{O}]^+$	0,987	250,9295	3448539,843	0,795
$[\text{Eu}(\text{NO}_3)_2 + \text{H}_2\text{O}]^+$	0,989	294,9069	2307609,288	0,532
$[\text{Eu}(\text{OH}) + 2 \text{H}_2\text{O}]^+$	0,932	205,9444	1096619,446	0,253
$[\text{Eu}(\text{OH})(\text{NO}_3)]^+$	0,972	231,9112	905348,6772	0,209
$[\text{Eu}(\text{OH})(\text{NO}_3) + 3 \text{H}_2\text{O}]^+$	0,977	285,9430	833172,4613	0,192
$[\text{Eu} + 3 \text{H}_2\text{O}]^{2+}$	0,912	103,4759	614036,9741	0,142
$[\text{Eu}(\text{OH}) + 2 \text{H}_2\text{O}]^{2+}$	0,967	102,9720	204372,7276	0,0471
$[\text{Eu}(\text{OH})_2 + 3 \text{H}_2\text{O}]^+$	0,949	240,9578	191376,9659	0,0441
$[\text{Eu}(\text{NO}_3)_2]^+$	0,970	276,8962	55749,93007	0,0129
$[\text{Eu}(\text{NO}_3) + 3 \text{H}_2\text{O}]^+$	0,865	268,9401	26892,65862	0,00620

Tabelle A.6.6: Ergebnisse der Speziesidentifikation der ESI-MS-Messung von der Eu-HOAGLAND-Lösung mit 20 μM EDTA ausgewertet mit dem Programm *MARI* ($\delta m < 5$ ppm und $\delta I < 0,1$).

Spezies	Score	m/z_0	$\sum I$	Anteil / %
$[\text{Eu}(\text{OH})_2 + \text{H}_2\text{O}]^+$	0,992	204,9365871	79130197,54	31,9
$[\text{Eu}(\text{OH})]^+$	0,988	169,9233339	29485596,17	11,9
$[\text{Eu}(\text{OH})_2]^+$	0,985	186,9260648	22629890,94	9,13
$[\text{Eu}(\text{OH})(\text{NO}_3) + 2\text{H}_2\text{O}]^+$	0,983	267,9323111	21283722,02	8,59
$[\text{Eu}(\text{OH})(\text{NO}_3) + \text{H}_2\text{O}]^+$	0,995	249,9217578	20053161,47	8,09
$[\text{Eu}(\text{OH}) + \text{H}_2\text{O}]^+$	1,000	187,9338897	16786214,17	6,77
$[\text{Eu}(\text{OH})_2 + 2\text{H}_2\text{O}]^+$	0,981	222,9472208	16598460,31	6,70
$[\text{Eu}(\text{NO}_3)_2 + 2\text{H}_2\text{O}]^+$	0,989	312,9173405	16480136,97	6,65
$[\text{Eu}(\text{NO}_3) + \text{H}_2\text{O}]^+$	0,992	232,9189898	12064136,97	4,87
$[\text{Eu}(\text{OH}) + 3\text{H}_2\text{O}]^{2+}$	0,961	111,9772583	4522973,512	1,83
$[\text{Eu}(\text{NO}_3)_2 + 3\text{H}_2\text{O}]^+$	0,948	330,9279795	2930026,763	1,18
$[\text{Eu}(\text{NO}_3) + 2\text{H}_2\text{O}]^+$	0,985	250,9295619	2055083,118	0,829
$[\text{Eu}(\text{NO}_3)_2 + \text{H}_2\text{O}]^+$	0,983	294,9069025	1497741,059	0,604
$[\text{Eu}(\text{OH}) + 2\text{H}_2\text{O}]^+$	0,938	205,9443887	617500,3139	0,249
$[\text{Eu}(\text{OH})(\text{NO}_3)]^+$	0,989	231,9111651	537022,3196	0,217
$[\text{Eu}(\text{OH})(\text{NO}_3) + 3\text{H}_2\text{O}]^+$	0,991	285,9430251	502199,9818	0,203
$[\text{Eu} + 3\text{H}_2\text{O}]^{2+}$	0,904	103,4758766	326870,3923	0,132
$[\text{Eu}(\text{OH}) + 2\text{H}_2\text{O}]^{2+}$	0,924	102,9719645	110272,4841	0,0445
$[\text{Eu}(\text{OH})_2 + 3\text{H}_2\text{O}]^+$	0,976	240,9577765	110264,448	0,0445
$[\text{Eu}(\text{NO}_3)_2]^+$	0,987	276,8962189	34943,66036	0,0141
$[\text{Eu}(\text{NO}_3) + 3\text{H}_2\text{O}]^+$	0,997	268,9401173	14437,48934	0,00583
$[\text{Eu}(\text{H}_2\text{EDTA})]^+$	0,878	442,9957741	1185,795336	0,000479
$[\text{Eu}(\text{H}_3\text{EDTA}) + \text{H}_2\text{O}]^+$	0,881	462,0138436	76,39506556	$3,08 \cdot 10^{-5}$
$[\text{Eu}(\text{OH})(\text{H}_3\text{EDTA}) + 3\text{H}_2\text{O}]^+$	0,780	515,0376693	72,20595088	$2,91 \cdot 10^{-5}$

Tabelle A.6.7: Ergebnisse der Speziesidentifikation der ESI-MS-Messung von der Eu-HOAGLAND-Lösung mit 200 μM EDTA ausgewertet mit dem Programm *MARI* ($\delta m < 5$ ppm und $\delta I < 0,1$).

Spezies	Score	m/z_0	$\sum I$	Anteil / %
$[\text{Eu}(\text{OH})_2 + \text{H}_2\text{O}]^+$	0,989	63599539,14	124087198,8	36,0
$[\text{Eu}(\text{OH})]^+$	0,989	22455252,15	43878011,95	12,7
$[\text{Eu}(\text{OH})_2]^+$	0,987	19062986,16	37314018,58	10,8
$[\text{Eu}(\text{OH})(\text{NO}_3)^+ 2 \text{H}_2\text{O}]^+$	0,990	13303691,41	25372413,65	7,37
$[\text{Eu}(\text{OH})_2 + 2 \text{H}_2\text{O}]^+$	0,983	13345311,1	25276104,46	7,34
$[\text{Eu}(\text{OH})(\text{NO}_3) + \text{H}_2\text{O}]^+$	0,988	12880435,71	24529791,76	7,12
$[\text{Eu}(\text{OH}) + \text{H}_2\text{O}]^+$	1,000	12367136,26	23898112,36	6,94
$[\text{Eu}(\text{NO}_3)_2 + 2 \text{H}_2\text{O}]^+$	0,976	6992421,59	13201013,3	3,83
$[\text{Eu}(\text{NO}_3) + \text{H}_2\text{O}]^+$	0,994	6005492,313	11501158,03	3,34
$[\text{Eu}(\text{OH}) + 3 \text{H}_2\text{O}]^{2+}$	0,958	3892667,554	7207783,762	2,09
$[\text{Eu}(\text{NO}_3)_2 + 3 \text{H}_2\text{O}]^+$	0,970	1268565,835	2381038,667	0,691
$[\text{Eu}(\text{NO}_3) + 2 \text{H}_2\text{O}]^+$	0,990	841304,4767	1604490,668	0,466
$[\text{Eu}(\text{NO}_3)_2 + \text{H}_2\text{O}]^+$	0,987	719601,9243	1370530,611	0,398
$[\text{Eu}(\text{OH}) + 2 \text{H}_2\text{O}]^+$	0,910	454072,7635	806339,8777	0,234
$[\text{Eu}(\text{OH})(\text{NO}_3)]^+$	0,986	324628,0074	636088,14	0,185
$[\text{Eu}(\text{OH})(\text{NO}_3) + 3 \text{H}_2\text{O}]^+$	0,978	295825,9905	557742,0982	0,162
$[\text{Eu} + 3 \text{H}_2\text{O}]^{2+}$	0,883	267025,676	462816,8739	0,134
$[\text{Eu}(\text{OH}) + 2 \text{H}_2\text{O}]^{2+}$	0,964	98791,79208	184313,2366	0,0535
$[\text{Eu}(\text{OH})_2 + 3 \text{H}_2\text{O}]^+$	0,982	77960,42879	147405,136	0,0428
$[\text{Eu}(\text{NO}_3)_2]^+$	0,961	13311,9361	26563,44015	0,00771
$[\text{Eu}(\text{H}_2\text{EDTA})]^+$	0,928	5468,58529	10377,3797	0,00301
$[\text{Eu}(\text{NO}_3) + 3 \text{H}_2\text{O}]^+$	0,957	5551,555501	10267,30143	0,00298
$[\text{Eu}(\text{H}_2\text{EDTA}) + \text{H}_2\text{O}]^+$	0,819	3302,120142	6048,608069	0,00176
$[\text{Eu}(\text{OH}) + 3 \text{H}_2\text{O}]^+$	0,901	150,4247382	262,9363276	$7,63 \cdot 10^{-5}$
$[\text{Eu}(\text{NO}_3) + 2 \text{H}_2\text{O}]^{2+}$	0,924	49,51956368	95,09591498	$2,76 \cdot 10^{-5}$

Tabelle A.6.8: Ergebnisse der Speziesidentifikation der ESI-MS-Messung von der Eu-HOAGLAND-Lösung mit 2000 μM EDTA ausgewertet mit dem Programm *MARI* ($\delta m < 5$ ppm und $\delta I < 0,1$).

Spezies	Score	m/z_0	$\sum I$	Anteil / %
$[\text{Eu}(\text{OH})_2 + \text{H}_2\text{O}]^+$	0,998	204,9366166	38753518,06	31,8
$[\text{Eu}(\text{OH})]^+$	0,988	169,9233345	21172009,54	17,4
$[\text{Eu}(\text{OH}) + \text{H}_2\text{O}]^+$	0,998	187,9338908	11138011,45	9,15
$[\text{Eu}(\text{OH})_2]^+$	0,992	186,9260663	10588313,01	8,69
$[\text{Eu}(\text{OH})_2 + 2 \text{H}_2\text{O}]^+$	0,983	222,9472196	8040605,671	6,60
$[\text{Eu}(\text{OH})(\text{NO}_3) + 2 \text{H}_2\text{O}]^+$	0,987	267,9322726	7540757,987	6,19
$[\text{Eu}(\text{OH})(\text{NO}_3) + \text{H}_2\text{O}]^+$	0,993	249,9217203	6846630,455	5,62
$[\text{Eu}(\text{NO}_3) + \text{H}_2\text{O}]^+$	0,996	232,9189893	6390111,744	5,25
$[\text{Eu}(\text{NO}_3)_2 + 2 \text{H}_2\text{O}]^+$	0,972	312,9173349	4571675,455	3,75
$[\text{Eu}(\text{OH}) + 3 \text{H}_2\text{O}]^{2+}$	0,958	111,9772584	1697828,822	1,39
$[\text{Eu}(\text{NO}_3) + 2 \text{H}_2\text{O}]^+$	0,977	250,9295446	971994,1097	0,798
$[\text{Eu}(\text{NO}_3)]^+$	0,806	214,908433	930463,8287	0,764
$[\text{Eu}(\text{NO}_3)_2 + 3 \text{H}_2\text{O}]^+$	0,983	330,9278846	736711,4946	0,605
$[\text{Eu} + 3 \text{H}_2\text{O}]^{2+}$	0,888	103,4758769	583015,5113	0,479
$[\text{Eu}(\text{OH}) + 2 \text{H}_2\text{O}]^+$	1,000	205,9444432	430984,3925	0,354
$[\text{Eu}(\text{NO}_3)_2 + \text{H}_2\text{O}]^+$	0,987	294,9067802	360658,6207	0,296
$[\text{Eu}(\text{H}_2\text{EDTA})]^+$	0,976	442,9954898	289340,8884	0,238
$[\text{Eu}(\text{H}_2\text{EDTA}) + \text{H}_2\text{O}]^+$	0,962	461,0063273	231827,2918	0,190
$[\text{Eu}(\text{OH})(\text{NO}_3) + 3 \text{H}_2\text{O}]^+$	0,986	285,942979	219802,0437	0,180
$[\text{Eu}(\text{OH})(\text{NO}_3)]^+$	0,987	231,9111647	168834,9854	0,139
$[\text{Eu}(\text{OH})_2 + 3 \text{H}_2\text{O}]^+$	0,956	240,9577752	51333,45722	0,0422
$[\text{Eu}(\text{OH}) + 2 \text{H}_2\text{O}]^{2+}$	0,947	102,9719647	41825,03538	0,0343
$[\text{Eu}(\text{NO}_3) + 3 \text{H}_2\text{O}]^+$	0,965	268,9400968	10238,8698	0,00841
$[\text{Eu}(\text{NO}_3)_2]^+$	0,891	276,8962173	8061,77627	0,00662
$[\text{Eu}(\text{OH}) + 3 \text{H}_2\text{O}]^+$	0,960	223,9550439	261,1607524	0,000215

Tabelle A.6.9: Ausreißer der relativen Intensitätsverhältnisse nach und vor der Kontamination mit verschiedenen EDTA-Konzentrationen in einer Eu-HOAGLAND-Lösung ($[Eu] = 5 \text{ mM}$) berechnet nach dem GRUBBS-Test.

[EDTA] / μM	m/z ^{153}Eu	Rel. Intensitätsverhältnis	Spezies
0	152,92	$3,3 \cdot 10^{-1}$	$[\text{Eu}]^+$
	204,93	$1,1 \cdot 10^{-1}$	$[\text{Eu}(\text{OH})_2 + \text{H}_2\text{O}]^+$
	284,89	2,2	$[\text{Eu}(\text{HPO}_4) + 2 \text{H}_2\text{O}]^+$
	302,90	2,2	$[\text{Eu}(\text{SO}_4) + 3 \text{H}_2\text{O}]^+$
	330,93	$4,0 \cdot 10^{-1}$	$[\text{Eu}(\text{NO}_3)_2 + 3 \text{H}_2\text{O}]^+$
20	211,93	1,9	$[\text{Eu}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)]^+$
	214,92	1,3	$[\text{Eu}(\text{NO}_3)]^+$
	222,95	$4,7 \cdot 10^{-4}$	$[\text{Eu}(\text{OH})_2 + 2 \text{H}_2\text{O}]^+$
	232,92	$4,2 \cdot 10^{-2}$	$[\text{Eu}(\text{NO}_3) + \text{H}_2\text{O}]^+$
	443,00	$6,9 \cdot 10^{-2}$	$[\text{Eu}(\text{H}_2\text{EDTA})]^+$
200	232,92	1,4	$[\text{Eu}(\text{NO}_3) + \text{H}_2\text{O}]^+$
	250,93	1,3	$[\text{Eu}(\text{NO}_3) + 2 \text{H}_2\text{O}]^+$
	294,91	1,5	$[\text{Eu}(\text{NO}_3)_2 + \text{H}_2\text{O}]^+$
	312,92	1,7	$[\text{Eu}(\text{NO}_3)_2 + 2 \text{H}_2\text{O}]^+$
	330,93	1,5	$[\text{Eu}(\text{NO}_3)_2 + 3 \text{H}_2\text{O}]^+$
	443,00	9,7	$[\text{Eu}(\text{H}_2\text{EDTA})]^+$
	461,10	11	$[\text{Eu}(\text{H}_2\text{EDTA}) + \text{H}_2\text{O}]^+$
2000	-	-	-

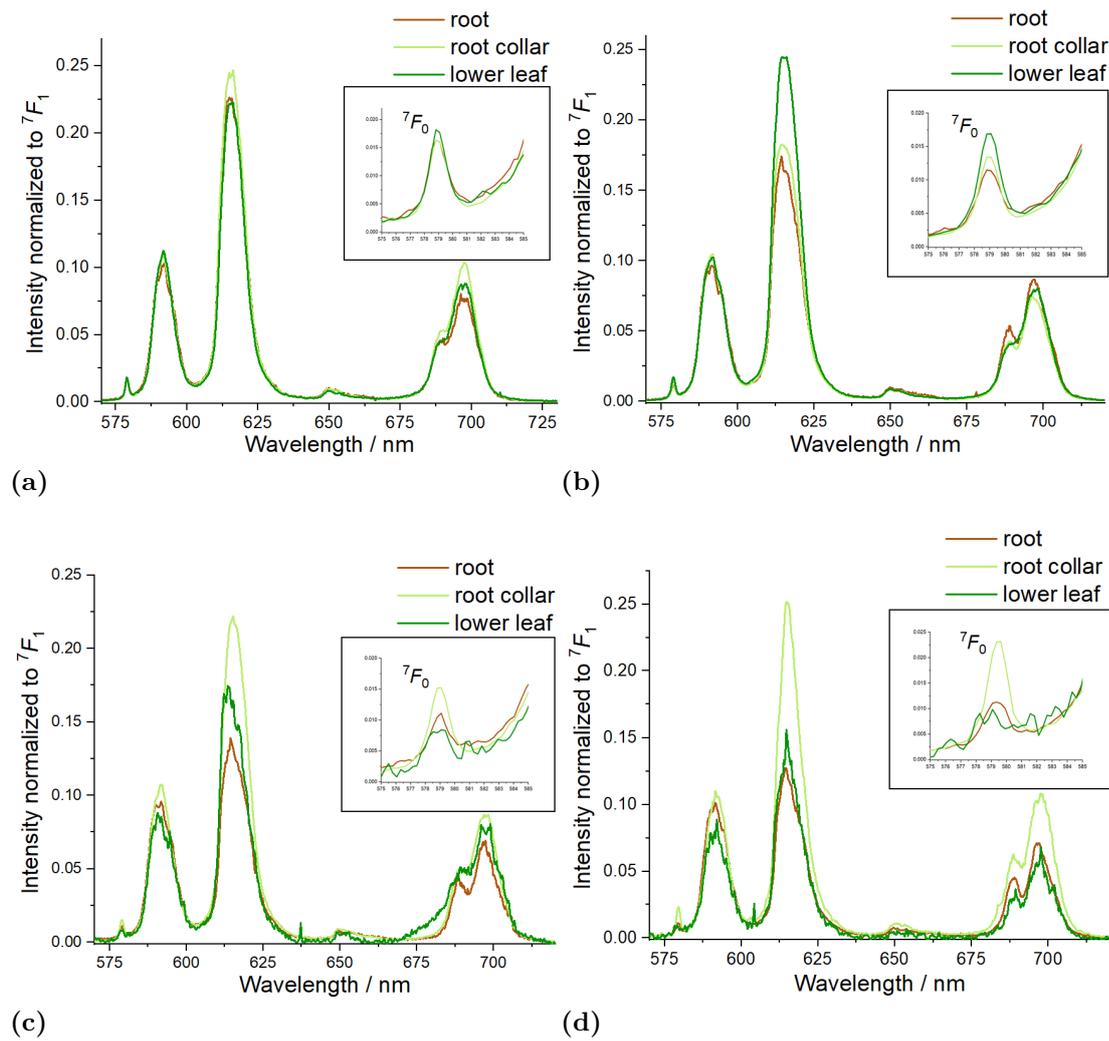


Abbildung A.6.1: Emissionsspektren von Wurzel, Wurzelhals und unterem Teil des Blattes der Pflanzen kontaminiert mit Eu-HOAGLAND-Lösung ($[\text{Eu}] = 5 \text{ mM}$) unter Zugabe von (a) 0 μM EDTA, (b) 20 μM EDTA (c) 200 μM EDTA und (d) 2000 μM EDTA gemessen mit Messsystem A.

A.7 Americium im Nährmedium und in der Pflanze

Tabelle A.7.1: Speziesverteilung der Am-Verbindungen ($[Am] = 500 \text{ nM}$) berechnet mit PHREEQC bei pH 4,2.

Spezies	Molalität	Aktivität	Log Molalität	Log Aktivität	Speziesanteil / %
$Am(EDTA)^-$	4,96E-07	4,68E-07	-6,305	-6,33	99,2
$Am(HEDTA)$	4,06E-09	4,06E-09	-8,392	-8,392	0,811
Am^{3+}	8,42E-12	4,95E-12	-11,075	-11,305	1,68E-03
$Am(SO_4)^+$	2,04E-12	1,92E-12	-11,691	-11,717	4,07E-04
$Am(NO_3)^{2+}$	1,45E-13	1,14E-13	-12,839	-12,942	2,90E-05
$Am(H_2PO_4)^{2+}$	3,97E-14	3,14E-14	-13,401	-13,504	7,94E-06
$Am(HPO_4)^+$	3,33E-14	3,14E-14	-13,478	-13,504	6,65E-06
$Am(SO_4)_2^-$	3,95E-15	3,73E-15	-14,403	-14,429	7,91E-07
$Am(OH)^{2+}$	3,66E-15	2,89E-15	-14,437	-14,54	7,31E-07
$AmPO_4$	4,75E-16	4,75E-16	-15,324	-15,324	9,49E-08
$Am(NO_3)_2^+$	4,43E-17	4,17E-17	-16,354	-16,38	8,85E-09
$AmCl_2^+$	4,38E-18	3,46E-18	-17,359	-17,461	8,76E-10
$Am(HPO_4)_2^-$	3,12E-18	2,94E-18	-17,506	-17,532	6,23E-10
$Am(OH)_2^+$	3,90E-19	3,68E-19	-18,409	-18,435	7,80E-11
$Am(PO_4)_2^{3-}$	9,52E-24	5,60E-24	-23,021	-23,252	1,90E-15
$AmCl_2^+$	1,65E-25	1,56E-25	-24,783	-24,808	3,30E-17
$Am(OH)_3$	2,55E-26	2,55E-26	-25,593	-25,593	5,11E-18
$Ca(Am(OH)_3)^{2+}$	2,83E-29	2,24E-29	-28,548	-28,65	5,67E-21
$Am(OH)_4^-$	6,61E-36	6,23E-36	-35,18	-35,205	1,32E-27
$Ca_2(Am(OH)_4)^{3+}$	1,72E-39	1,01E-39	-38,765	-38,995	3,44E-31
$Ca_3(Am(OH)_6)^{3+}$	0,00E+00	0,00E+00	-57,51	-57,74	0,00E+00

Tabelle A.7.2: Ergebnisse der ESI-MS-Messung der Am-HOAGLAND-Lösung ($[Am] = 500 \text{ nM}$) ausgewertet mit *MARI* und berechneten Speziesanteilen (Spez.) in Lösung.

Spezies	Score	m/z	$\sum I$	rel. I (Summe)	Spez. / %
$[Am(H_3EDTA) + H_2O]^{2+}$	0,753	276,0767	128	0,189	19
$[Am(NO_3)(H_3EDTA)]^+$	0,795	596,1311	103	0,152	15
$[Am(NO_3)_2 + 2 H_2O]^+$	0,787	403,0574	103	0,151	15
restliche Spezies mit $\sum I < 100$					
$[Am(OH) + 3 H_2O]^{2+}$	0,827	157,0473	55,5	0,0817	8
$[Am(OH)(NO_3) + 2 H_2O]^+$	0,880	358,0723	48,3	0,0711	7
$[Am(HOx) + 2 H_2O]^+$	0,994	368,0692	74,4	0,110	11
$[Am(NO_2)(H-Malo) + 2 H_2O]^+$	0,843	428,0777	54,5	0,0803	8
$[Am(HSO_4) + 2 H_2O]^+$	0,891	376,0413	60,5	0,0890	9
$[Am(SO_4) + 3 H_2O]^+$	0,853	393,0441	51,4	0,0758	8

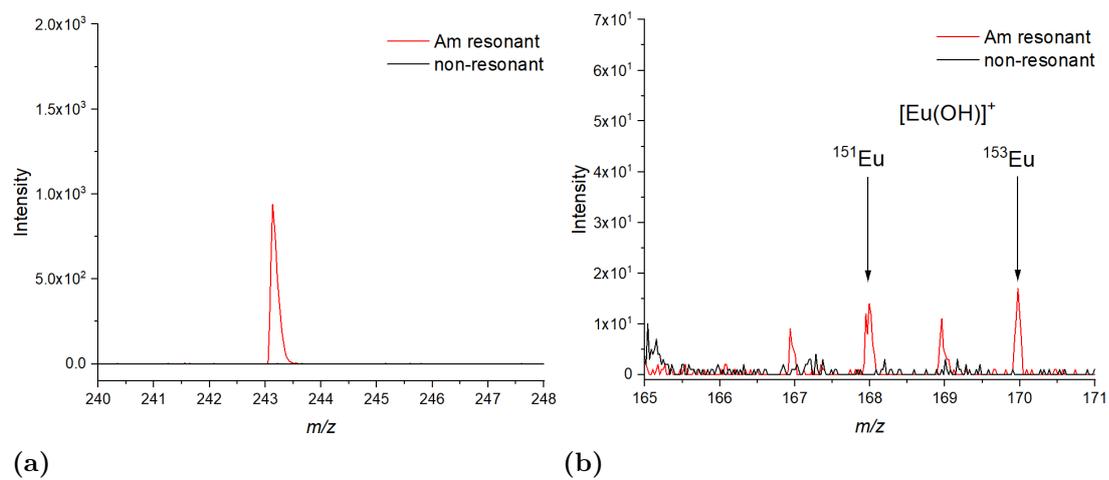


Abbildung A.7.1: (a) Resonantes Am-Signal in der rL-SNMS Messung im Vergleich zum nicht-resonanten Signal. (b) Identifizierte $[\text{Eu}(\text{OH})]^+$ -Spezies im Am-Signal.

A.8 Verteilung von Americium-Komplexen mit organischen Liganden und der Vergleich mit Europium

Tabelle A.8.1: Speziesanteile (A.) der Am-HOAGLAND-Lösung mit verschiedenen organischen Liganden und 500 nM Am gemessen mit ESI-MS und ausgewertet mit dem Programm *MARI*. Die Grenze für die minimale, absolute Intensität (Abs. *I*) für die eindeutige Identifizierung wurde auf 100 gesetzt und alle darunter liegenden Spezies zusammengefasst.

Ligand	<i>c</i> / μM	Spezies	<i>m/z</i> (²⁴³ Am)	Abs. <i>I</i>	A. / %
EDTA	20	[Am(H ₃ EDTA) + H ₂ O] ²⁺	276,08	130	19
		[Am(H ₃ EDTA)(NO ₃)] ⁺	596,13	100	15
		[Am(NO ₃) ₂ + 2 H ₂ O] ⁺	403,06	100	15
		restliche Spezies		<100	51
EDTA	200	[Am(H ₂ EDTA)] ⁺	533,14	460	41
		[Am(NO ₂)] ⁺	289,05	110	10
		restliche Spezies		<100	49
Cit	20	[Am(NO ₃) ₂ + 2 H ₂ O] ⁺	403,06	1700	62
		[Am(OH)(NO ₃) ₂ + H ₂ O] ⁺	340,06	340	13
		[Am(NO ₃) ₂ + H ₂ O] ⁺	385,05	140	5,2
		[Am(OH) + 2 H ₂ O] ²⁺	148,04	130	4,7
		[Am(NO ₂)(H ₂ PO ₄)] ⁺	386,02	110	4,3
		[Am(NO ₂)(H ₃ Cit) + 3 H ₂ O] ⁺	534,10	100	4,2
		restliche Spezies		<100	7,4
Cit	200	[Am(OH) ₂ + H ₂ O] ⁺	295,08	6000	54
		[Am(OH) + H ₂ O] ²⁺	139,04	1700	15
		[Am(H ₃ Cit) + 2 H ₂ O] ²⁺	235,05	1000	9,0
		[Am(NO ₃) ₂ + 2 H ₂ O] ⁺	403,06	850	7,6
		[Am(NO ₂)(H ₂ PO ₄) + 2 H ₂ O] ⁺	422,04	180	1,7
		[Am(NO ₂)(H ₂ PO ₄) + H ₂ O] ⁺	404,03	170	1,6
		[Am(HPO ₄) + 2 H ₂ O] ⁺	375,04	160	1,5
		[Am(NO ₃) + 2 H ₂ O] ²⁺	170,53	150	1,3
restliche Spezies		<100	8,0		
Malo	200	[Am(OH) ₂ + H ₂ O] ⁺	295,08	20000	83
		[Am(OH) + 3 H ₂ O] ²⁺	157,05	2500	10
		[Am(NO ₃) ₂ + 2 H ₂ O] ⁺	403,06	460	1,9
		[Am(OH)(NO ₃) + H ₂ O] ⁺	340,06	200	0,83
		[Am(H-Malo) + 2 H ₂ O] ²⁺	191,04	150	0,63
		[Am(SO ₄) + 2 H ₂ O] ⁺	375,03	130	0,56
		[Am(H-Malo) + H ₂ O] ²⁺	182,04	110	0,45
		restliche Spezies		<100	1,7
Ox	20	[Am(OH) ₂ + H ₂ O] ⁺	295,08	1200	66
		[Am(NO ₃) ₂ + 2 H ₂ O] ⁺	403,06	300	17
		[Am(HPO ₄) + H ₂ O] ⁺	357,03	160	9,2
		[Am(OH)(NO ₃) + H ₂ O] ⁺	340,06	160	8,7

Tabelle A.8.2: Verwendete Komplexbildungskonstanten von Am- und Eu-Spezies mit EDTA, Citrat, Malonat und Oxalat aus *Thermochimie*- und *JESS*-Datenbanken.

Am-Spezies	log K	Eu-Spezies	log K
$\text{Am}(\text{EDTA})^-$	$19,67^{166}$	$\text{Eu}(\text{EDTA})^-$	$17,35^{187}$
$\text{Am}(\text{HEDTA})$	$2,170^{166}$	$\text{Eu}(\text{HEDTA})$	$1,700^{188}$
		$\text{Eu}(\text{EDTA})_2^{5-}$	$19,60^{145}$
		$\text{Eu}(\text{H}_3\text{EDTA})^{2+}$	$3,200^{165}$
		$\text{Eu}(\text{HEDTA})(\text{EDTA})^{4-}$	$20,00^{189}$
		$\text{Eu}_2(\text{EDTA})_3^{6-}$	$43,62^{145}$
$\text{Am}(\text{HCit})$	$8,550^{166}$	$\text{Eu}(\text{HCit})$	$7,900^{145}$
$\text{Am}(\text{HCit})_2^{3-}$	$13,90^{166}$	$\text{Eu}(\text{HCit})_2^{3-}$	$10,95^{190}$
$\text{Am}(\text{H}_2\text{Cit})^+$	$6,500^{166}$		
$\text{Am}(\text{H}_2\text{Cit})_2^-$	$10,80^{166}$	$\text{Eu}(\text{H}_2\text{Cit})_2^-$	$9,500^{189}$
		$\text{Eu}(\text{H}_2\text{Cit})(\text{HCit})^{2-}$	$2,500^{190}$
		$\text{Eu}(\text{OH})_2(\text{H}_2\text{Cit})^-$	$20,90^{189}$
		$\text{Eu}(\text{Malo})^+$	$5,430^{167}$
		$\text{Eu}(\text{Malo})_2^-$	$7,780^{167}$
$\text{Am}(\text{Ox})^+$	$6,510^{166}$	$\text{Eu}(\text{Ox})^+$	$6,550^{167}$
$\text{Am}(\text{Ox})_2^-$	$10,71^{166}$	$\text{Eu}(\text{Ox})_2^-$	$10,93^{167}$
$\text{Am}(\text{Ox})_3^{3-}$	$13,00^{166}$	$\text{Eu}(\text{Ox})_2^{3-}$	$12,48^{167}$

Tabelle A.8.3: Speziesanteile (A.) der Eu-HOAGLAND ohne organische Liganden, mit EDTA, Citrat, Malonat und Oxalat und 500 nM Eu gemessen mit ESI-MS und ausgewertet mit *MARI*. Die Grenze für die minimale, absolute Intensität für die eindeutige Identifizierung wurde auf 100 gesetzt und alle darunter liegenden Spezies zusammengefasst. Die Lösung mit 200 μM EDTA ergab keine Eu-Spezies über einer absoluten Intensität von 100.

Ligand	$c / \mu\text{M}$	Spezies	m/z (^{153}Eu)	Abs. I	A. / %
ohne		$[\text{Eu}(\text{OH})_2 + \text{H}_2\text{O}]^+$	204,94	20 000	42
		$[\text{Eu}(\text{NO}_3)_2 + 2 \text{H}_2\text{O}]^+$	312,92	7500	16
		$[\text{Eu}(\text{OH})]^+$	169,92	6800	15
		$[\text{Eu}(\text{OH})_2]^+$	186,93	4600	10
		$[\text{Eu}(\text{OH}) + 3 \text{H}_2\text{O}]^{2+}$	111,98	2400	9,2
		$[\text{Eu}(\text{NO}_3) + \text{H}_2\text{O}]^+$	232,92	1100	4,4
		$[\text{EuO}]^+$	168,92	340	1,3
		$[\text{Eu}(\text{OH}) + \text{H}_2\text{O}]^+$	187,93	100	0,44
		$[\text{Eu}(\text{NO}_3)]^+$	214,92	100	0,41
		restliche Spezies		<100	0,81
EDTA	20	$[\text{Eu}(\text{H}_2\text{EDTA})]^+$	443,00	7400	92
		$[\text{Eu}(\text{OH})(\text{H}_2\text{PO}_4 + 3 \text{H}_2\text{O})]^+$	320,92	170	2,2
		$[\text{Eu}(\text{NO}_3)(\text{HSO}_4 + 3 \text{H}_2\text{O})]^+$	365,90	170	2,1
		restliche Spezies			3,7
Cit	20	$[\text{Eu}(\text{OH})_2 + \text{H}_2\text{O}]^+$	204,94	19 000	47
		$[\text{Eu}(\text{OH})]^+$	169,92	6500	17
		$[\text{Eu}(\text{OH})_2]^+$	186,93	4800	12
		$[\text{Eu}(\text{NO}_3)_2 + 2 \text{H}_2\text{O}]^+$	312,92	4800	12
		$[\text{Eu}(\text{OH}) + 3 \text{H}_2\text{O}]^{2+}$	111,98	1800	4,6
		$[\text{Eu}(\text{NO}_3) + \text{H}_2\text{O}]^+$	232,92	170	0,44
		$[\text{Eu}(\text{NO}_3)(\text{HSO}_4) + 3 \text{H}_2\text{O}]^+$	365,90	130	0,38
		$[\text{Eu}(\text{NO}_3)(\text{NO}_2) + 3 \text{H}_2\text{O}]^+$	314,93	110	0,32
		restliche Spezies		<100	6,3
Cit	200	$[\text{Eu}(\text{OH})_2 + \text{H}_2\text{O}]^+$	204,94	14 000	45
		$[\text{Eu}(\text{OH})]^+$	169,92	8200	26
		$[\text{Eu}(\text{OH})_2]^+$	186,93	2900	9,0
		$[\text{Eu}(\text{NO}_3)_2 + 2 \text{H}_2\text{O}]^+$	312,92	1400	4,5
		$[\text{Eu}(\text{OH}) + 3 \text{H}_2\text{O}]^{2+}$	111,98	1200	3,7
		$[\text{Eu}(\text{OH})(\text{NO}_3) + \text{H}_2\text{O}]^+$	249,92	720	2,3
		$[\text{Eu}(\text{NO}_3)(\text{H}_3\text{Cit}) + \text{H}_2\text{O}]^+$	314,93	710	2,2
		$[\text{Eu}(\text{NO}_3)(\text{NO}_2) + 3 \text{H}_2\text{O}]^+$	314,93	340	1,1

Tabelle A.8.3: Fortsetzung Speziesanteile Eu-HOAGLAND mit EDTA, Citrat, Malonat und Oxalat.

Ligand	<i>c</i> / μM	Spezies	<i>m/z</i> (¹⁵³ Eu)	Abs. I	A. / %
		[Eu(H ₂ Cit) + H ₂ O] ⁺	360,94	190	0,59
		[Eu(H ₃ Cit) + H ₂ O] ²⁺	180,97	190	0,59
		[Eu(H ₃ Cit) ₂] ⁺	534,96	140	0,43
		[Eu(NO ₂)(H ₂ PO ₄) + H ₂ O] ⁺	313,89	130	0,41
		[Eu(NO ₃) + 2H ₂ O] ⁺	250,93	100	0,32
		restliche Spezies		<100	3,9
Malo	20	[Eu(OH) ₂ + H ₂ O] ⁺	204,94	20 000	42
		[Eu(OH)] ⁺	169,92	8200	17
		[Eu(NO ₃) ₂ + 2 H ₂ O] ⁺	312,92	6300	13
		[Eu(OH) ₂] ⁺	186,93	5000	11
		[Eu(OH) + 3 H ₂ O] ²⁺	111,98	2700	5,8
		[Eu(OH)(NO ₃) + H ₂ O] ⁺	249,92	1800	3,9
		[Eu(OH)(NO ₃) + 2 H ₂ O] ⁺	267,93	1500	3,2
		[Eu(OH) ₂ + 2 H ₂ O] ⁺	222,95	450	0,95
		[Eu(H ₂ PO ₄)(HSO ₄) + H ₂ O] ⁺	400,88	340	0,72
		[Eu(NO ₃)(HSO ₄) + H ₂ O] ⁺	329,88	220	0,46
		[Eu(OH) + 2 H ₂ O] ⁺	205,94	190	0,39
		[Eu(NO ₃)] ⁺	214,92	180	0,39
		[Eu(NO ₂)(H ₂ PO ₄) + H ₂ O] ⁺	313,89	120	0,25
		restliche Spezies		<100	1
Malo	200	[Eu(OH) ₂ + H ₂ O] ⁺	204,94	14 000	43
		[Eu(OH)] ⁺	169,92	12 000	38
		[Eu(OH) + 3 H ₂ O] ²⁺	111,98	1800	5,8
		[Eu(OH)(H ₂ PO ₄ + 3 H ₂ O)] ⁺	320,92	1100	3,5
		[Eu(H ₂ PO ₄) ₂ + 2 H ₂ O] ⁺	382,88	530	1,7
		[Eu(H ₂ PO ₄)(HSO ₄) + H ₂ O] ⁺	364,86	450	1,4
		[Eu(NO ₃)(HSO ₄) + 3 H ₂ O] ⁺	365,90	290	0,90
		[Eu(NO ₂)(H ₂ PO ₄)] ⁺	295,88	280	0,87
		[Eu(OH)(NO ₃) + 3 H ₃ O] ⁺	285,94	260	0,82
		[Eu(NO ₃)(H-Malo) + 2 H ₂ O] ⁺	353,93	250	0,80
		[Eu(NO ₂)(H-Malo) + H ₂ O] ⁺	337,94	120	0,39
		[Eu(NO ₃)] ⁺	214,92	120	0,39
		[Eu(H ₂ PO ₄) ₂] ⁺	346,86	120	0,38

Tabelle A.8.3: Fortsetzung Speziesanteile Eu-HOAGLAND mit EDTA, Citrat, Malonat und Oxalat.

Ligand	$c / \mu\text{M}$	Spezies	m/z (^{153}Eu)	Abs. I	A. / %
		restliche Spezies		<100	1,6
Ox	20	$[\text{Eu}(\text{OH})]^+$	169,92	4400	14
		$[\text{Eu}(\text{OH})_2 + \text{H}_2\text{O}]^+$	204,94	3800	12
		$[\text{Eu}(\text{OH}) + 3 \text{H}_2\text{O}]^{2+}$	111,98	220	0,71
		$[\text{Eu}(\text{NO}_2)(\text{H}_2\text{PO}_4)]^+$	295,88	210	0,67
		$[\text{Eu}(\text{OH}) + 2 \text{H}_2\text{O}]^+$	205,94	140	0,44
		$[\text{Eu}(\text{OH}) + \text{H}_2\text{O}]^+$	187,93	130	0,31
		restliche Spezies		<100	72

Tabelle A.8.4: pH-Werte der HOAGLAND-Lösungen mit $500 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Am bzw. Eu und verschiedenen organischen Liganden.

Ligand	$c / \mu\text{M}$	pH	
		Am-Lösung	Eu-Lösung
ohne	0	4,2	4,2
EDTA	20	4,5	4,2
	200	4,2	3,6
Cit	20	4,2	4,2
	200	3,9	3,9
Malo	20	4,2	3,9
	200	3,9	3,6
Ox	20	4,5	4,2

B | Danksagung

An dieser Stelle möchte ich den Personen danken, ohne welche diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre. Zunächst gilt mein Dank dem Prüfungskomitee, Prof. Dr. Clemens Walther, Prof. Dr. Thorsten Stumpf, Prof. Dr. Petra Panak und dem Prüfungsvorsitz.

Des Weiteren möchte ich Prof. Dr. Clemens Walther zusätzlich für die Möglichkeit der Promotion am IRS und für die Unterstützung während dieser Zeit herzlich danken. Die Möglichkeit der Teilnahme an vielen nationalen und internationalen Konferenzen war mir eine große Ehre!

Dr. Michael Steppert danke ich sehr für Rat und Tat und für die ursprüngliche Idee des Themengebiets in meiner Masterarbeit.

Bei meinen Kolleginnen und Kollegen vom IRS, insbesondere Dr. Stefan Bister, Sebastian Büchner, Sandra Reinhard und Dr. Beate Riebe, möchte ich mich bedanken für die Unterstützung im Labor und bei Fragen über biologische Systeme, wie Boden und Pflanzen. Zudem haben Laura Leifermann und Dr. Martin Weiß die REM-EDX-Messungen der Pflanzen ermöglicht, auch dafür herzlichen Dank! Besonders am Ende meiner Promotion erhielt ich außerdem große Hilfe von Linus Holtmann, Paul Hanemann und Darcy van Eerten, den SIMS- und rL-SNMS-Experten. Ohne euch alle wäre mein Laboralltag nicht schaffbar gewesen!

Einige Messungen wurden am IRE des HZDR durchgeführt. Daher richtet sich mein Dank an Prof. Dr. Thorsten Stumpf für die Möglichkeit dieser Messungen an Ihrem Institut. Außerdem danke ich Dr. Moritz Schmidt und Dr. Nina Huitinen ganz besonders für die Unterstützung und die tolle Zeit in Dresden. Des Weiteren bin ich Dr. Manja Vogel, Dr. Robin Steudtner und Dr. Björn Drobot unendlich dankbar für die Raman- und TRLFS-Messungen sowie die Hilfe bei der Auswertung und Interpretation der Daten!

Meinen Bachelorand:innen und Masterand:innen Anna L. Kogiomtzidis, Timon Damböck, Philip Gentner, Steven Mijatcz und Jonah Böttger danke ich sehr für die tolle Zusammenarbeit. Anna, ohne dich hätte diese Arbeit noch Jahre gedauert.

Weitergehend gibt es einige ehemalige Mitarbeiter:innen des IRS, die immer ein Ohr und Auge offen hatten für Fragen oder Diskussionen: Dr. Fabian Köhler,

Dr. Rebecca Querfeld, Dr. Dorian Zok, Dr. Anica Weller und Dr. Martin Weiß - Danke! Vivien Schulte und Annika Wunnenberg möchte ich herzlichst für die tollen Gespräche und den Mittagspausen in der Sonne danken! Der Villa-Gang sage ich Danke für die schöne Zeit im neuen Büro und für jedes offene Ohr!

Für das Korrekturlesen bedanke ich mich bei Dr. Fabian Köhler, Dr. Dorian Zok und Dr. Michael Steppert. Auch wenn ihr schon vorher genannt wurdet, ihr habt mir sehr geholfen!

Last but not least bedanke ich mich herzlich bei meinem Freund, meiner Familie und meinen Freunden für die Unterstützung in guten und in schwierigen Zeiten!

C | Lebenslauf

Name	Julia Stadler
Geburtsdatum	08.06.1993
Geburtsort	Gehrden

Akademische Ausbildung

03/2018 - 2023	Promotion der Physik Institut für Radioökologie und Strahlenschutz Leibniz Universität Hannover <i>Thema:</i> „Analyse des Transferverhaltens von Americium und Europium in Pflanzen mittels Spektroskopie und Massenspektrometrie“
10/2015 - 11/2017	Master Analytik Leibniz Universität Hannover <i>Masterarbeit:</i> „Auf dem Weg zur massenspektrometrischen Bildgebung von Pflanzenteilen: Erste Messungen mit einer Desorptions Elektrospray Ionisationsquelle (DESI) an einem Orbitrap-Massenspektrometer“
10/2012 - 09/2015	Bachelor Chemie Leibniz Universität Hannover <i>Bachelorarbeit:</i> „Synthese und Modifikation nanoporöser Titandioxidbeschichtungen für dentale Anwendungen“

Publikationsliste

Publikationen

- 2023 Stadler, J.; Vogel, M.; Steudtner, R.; Drobot, B.; Kogiomtzidis, A.L.; Weiss, M.; Walther, C.: „The Chemical Journey of Europium(III) through Winter Rye (*Secale cereale* L.) – Understanding through Mass Spectrometry and Chemical Microscopy“, *Chemosphere*, 113, 2023, doi: <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.137252>.

Vorträge

- 2022 **MARC XII Conference:** Stadler, J.; Vogel, M.; Steudtner, R.; Kogiomtzidis A.L.; Drobot, B.; Walther, C.: „Direct Speciation of Radionuclides in Plant Parts: The Journey of Europium in *Secale cereale* L. Analyzed with Mass Spectrometric, Spectroscopic, and Microscopic Techniques“
- 2020 **DGMS Jahrestagung:** Stadler, J.; Kogiomtzidis, A.L.; Steppert, M.; Schmidt, M., Walter, C.: „Advanced Application of Desorption Electrospray Ionization Mass Spectrometry (DESI MS): Radionuclide Speciation in Plants“
- 2019 **GDCh Nuklearchemie Tagung:** Stadler, J.; Kogiomtzidis, A.L.; Steppert, M.; Weiss, M.; Köhler, F.; Schmidt, M.; Stumpf, T.; Walther, C.: „Direct Speciation of Radionuclides Uptake in Plant Parts by DESI MS and TRLFS“
- 2019 **ENVIRA Conference:** Stadler, J.; Kogiomtzidis, A.L.; Steppert M.; Schmidt, M.; Huittinen, N.; Weiss, M.; Köhler, F.; Stumpf, T.; Walther, C.: „Direct Speciation of Radionuclides in Plant Parts by TRLFS and DESI MS“
- 2019 **JRNC-RANC Conference:** Stadler, J.; Kogiomtzidis, A.L.; Steppert, M.; Schmidt, M.; Huittinen, N.; Weiss, M.; Köhler, F.; Stumpf, T.; Walther, C.: „Direct Speciation of Radionuclide Uptake into Plant Parts by DESI MS and TRLFS“
- 2018 **ATAS Conference:** Stadler, J.; Steppert, M.; Walther, C.: „Direct Speciation of Radionuclide Uptake into Plant Parts by Desorption Electrospray Ionization Mass Spectrometry“

Poster

- 2022 **Fachverband für Strahlenschutz e.V. Jahrestagung:** Stadler, J.; Damböck, T.; Vogel, M.; Steudtner, R.; Drobot, B.; Kogiomtzidis, A.L.; Walther, C.: „How Organic Ligands can Influence the Plant Uptake of Radionuclides - Investigation of Europium and Americium“
- 2018 **CORES Symposium on Radiation Environment:** Stadler, J.; Steppert, M.; Walther, C.: „En route towards mass spectrometric imaging on plant parts: First DESI MS measurements“