

1 Einleitung

Citronensäure wurde das erste Mal 1764 vom schwedischen Chemiker Karl Wilhelm Scheele aus Zitronen isoliert. Heute wird die Säure durch Fermentation von Zuckerlösungen durch Mikroorganismen in Reaktoren hergestellt. Sie ist ein farbloser, kristalliner Feststoff, der gut in Wasser löslich ist.

Die Citronensäure ist eine der am weitesten verbreitete Pflanzensäure. Sie kommt in geringen Konzentrationen in fast jeder lebenden Zelle vor. Größere Konzentrationen werden in Zitrusfrüchten, in Knochen, in anderen Biomineralien, in der Prostata und in Samenflüssigkeiten gefunden. In menschlichen Zellen wird die Citronensäure durch den zellularen Stoffwechsel (Citronensäure- bzw. Krebszyklus) produziert, in dem durch Umsetzung von Acetyl-Resten (Acetyl-CoA) Energie in Form von Adenosintriphosphat (ATP) oder Guanosintriphosphat (GTP) gewonnen wird (*Lehninger et al.*, 1994). Nucleosidtriphosphate liefern die chemische Energie für eine Vielzahl von biochemischen Reaktionen in Zellen. Als Nebenprodukt entsteht Kohlenstoffdioxid. In Zellen liegt die Citronensäure überwiegend als Trianion (CAH^{3-}) vor (*Srere*, 1992), das Magnesiumionen chelatisiert. Ein Überschuss an Metallionen lässt Pflanzen organische Hydroxycarbonsäuren produzieren, die mit ihnen Chelate bilden und sie maskieren. Somit wird eine Hydrolyse der Metallionen verhindert und ihr Transport z. B. im Xylemsaft erleichtert.

Durch die Vielfalt der Anwendungsmöglichkeiten von Citronensäure (Konservierungsmittel und Säuerungsmittel in der Lebensmittelindustrie und als Kalklöser in Reinigungsmitteln) wird sie durch den industriellen Abfall und Haushaltsmüll in den Boden eingetragen. Dort kann sie mit Schwermetallionen, die ebenfalls durch Industrieabfall und durch den Erzabbau in den Boden gelangen, Komplexe bilden, die die Mobilität dieser Metallionen erhöhen können. Einige Bakterien können solche Komplexe abbauen und somit die Schwermetallionen wieder freisetzen. Dabei ist der

Abbau dieser Komplexe unabhängig von der Toxizität der Metallionen. Er ist aber abhängig von der chemischen Struktur des Chelats, welches zusammen mit Citronensäure gebildet wird. Bidentale Citratkomplexe, die die Hydroxygruppe der Citronensäure nicht miteinbeziehen (Eisen(III)-, Nickel- und Zinkionen), werden von den Bakterien abgebaut (*Francis et al.*, 1992, *Joshi-Tope et al.*, 1995). Eisen(II)-, Cadmium- und Kupferionen bilden tridentale Komplexe und können nicht abgebaut werden.

Ebenso sind bei der Eisenaufnahme durch Pflanzenwurzeln Citratkomplexe involviert. Es wird angenommen, dass sie auch bei der Anreicherung von Nickelionen in einigen primitiven Angiospermen eine wichtige Rolle spielen (*Jaffré et al.*, 1979).

Unter den organischen Bodeninhaltsstoffen spielen die hochpolymeren Huminsäuren infolge ihrer Menge eine herausragende Rolle. Sie entstehen aus abgestorbenem Pflanzenmaterial im Zuge der Humusbildung (Humifizierung) und besitzen eine nicht-reproduzierbare chemische Struktur mit regional unterschiedlichen Eigenschaften (*Koß*, 1997). Aufgrund ihrer spezifischen Oberfläche und ihrer Struktur mit vielen funktionellen Gruppen haben sie eine wichtige Bedeutung beim Transport von Metallionen in der Lithosphäre. Huminsäuren werden chemisch als Polycarbonsäuren mit alkoholischen und phenolischen Gruppen beschrieben. Sie enthalten die Elemente Kohlenstoff, Sauerstoff, Wasserstoff und Stickstoff sowie in geringen Mengen auch Schwefel und Phosphor. Neben aromatischen Gruppen besitzt die Huminsäure unterschiedliche aliphatische Carboxylat- und Hydroxygruppen, die an der Komplexierung von Metallionen beteiligt sind. Aufgrund ihrer komplexen Struktur ist die Bestimmung von thermodynamischen und kinetischen Parametern sehr schwierig. Um den Mechanismus der Komplexierungsreaktionen von Metallionen mit Huminsäuren zu verstehen, werden Modellsubstanzen zum Vergleich herangezogen. Citronensäure ist mit ihren drei Carboxylat- und einer Hydroxygruppe eine gute Modellsubstanz für diesen Naturstoff (*Town et al.*, 1993).

Citronensäure und Huminsäure binden Schwermetalle, deren Mobilität in Böden dadurch erhöht werden kann. Durch verschiedene Umwelteinflüsse können die toxischen Metalle freigesetzt und von unterschiedlichen Organismen aufgenommen werden. Daher ist es von großem Interesse, das Protonierungs- und Komplexierungsverhalten beider Säuren zu untersuchen und zu verstehen. Als Metallionen werden

häufig Nickelionen verwendet; sie reagieren mit Liganden relativ langsam, so dass die Geschwindigkeit der Komplexbildungsreaktionen mit Relaxations- oder Strömungsmethoden beobachtet werden können. Damit kann neben der Thermodynamik auch die für die Mobilität wichtige Kinetik erfasst werden.

2 Experimenteller Teil

2.1 Chemikalien

Die in dieser Arbeit eingesetzten Chemikalien Citronensäure (CA) und Nickelnitrat werden von der Firma *J. Baker* bezogen. Sie entsprechen der Qualitätsstufe p. A.. Die Citronensäure wird in ihrer Säureform und als Monohydrat, das Nickelnitrat als Hexahydrat eingesetzt.

Tricarballylsäure (TCA), die zum Vergleich und zur Kalibrierung bei potentiometrischen Messungen der Citronensäure (im basischen pH-Bereich) verwendet wird, wird mit der Qualitätsstufe p. A. von der Firma *Aldrich* eingesetzt. Die Firma *Riedel de Haën* lieferte das zur Einstellung der Ionenstärke verwendete Natriumchlorid. Die Titrisollösungen zum Ansetzen verdünnter Säuren und Basen werden von der Firma *Merck* bezogen. Als pH-Indikatoren werden Bromphenolblau (3,3',5,5'-Tetrabromphenolsulphonphtalein) von der Firma *Riedel de Haën*, Bromkresolgrün (3,3',5,5'-Tetrabrom-*m*-kresolsulphonphtalein) und Bromthymolblau (3,3'-Dibromthymolsulphonphtalein) von der Firma *Merck*, alle mit dem Reinheitsgrad p. A., verwendet. Die zur Herstellung des Puffergemisches (*Altheide*, 1999) als Referenzsystem zur Messung von Protonenkonzentrationen im pH-Bereich pH = 2 bis pH = 12 sowie die zur Kalibrierung der pH-Elektroden nach *R. G. Bates* (1962) und als Puffer für Indikatorlösungen zur Messung der Absorption verwendeten Chemikalien mit dem Reinheitsgrad p. A., werden bezogen von der Firma *Aldrich* (L-Lysindihydrochlorid (99%) und Maleinsäure), von der Firma *J. Baker* (di-Natriumhydrogenphosphat) und von der Firma *Merck* (Imidazol, Kaliumdihydrogenphosphat, Kaliumhydrogenphtalat, Natriumacetat, Natriumformiat, und Tris(hydroxymethyl)aminomethan (Tris)).

Für Untersuchungen von Huminsäuren (HA) werden Proben, die aus Parabraunerde und Braunkohle isoliert wurden, verwendet. Die Huminsäure aus Parabraunerde wurde vom *Forschungszentrum Jülich* aufgereinigt und unserer Arbeitsgruppe zur Verfügung gestellt. Die Huminsäureprobe aus Braunkohle wurde von der Firma