

**Einfluss moderner Pflanzenschutzmittel
auf die Mobilität von POP-belasteten Agrarflächen
am Beispiel von DDT - ein Feldversuch**

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)

Fakultät Naturwissenschaften

Universität Hohenheim

Institut für Lebensmittelchemie

Institut für Instrumentelle Analytik

Hochschule Mannheim

vorgelegt von

Julia Simone Neitsch

aus Konstanz

2022

Dekan:	Prof. Dr. Uwe Beifuß
1. berichtende Person:	Prof. Dr. Walter Vetter
2. berichtende Person:	Prof. Dr. Philipp Weller
3. Prüfer:	Prof. Dr. Wolfgang Schwack

eingereicht am:	29.09.2022
-----------------	------------

mündliche Prüfung am:	24.02.2023
-----------------------	------------

Die vorliegende Arbeit wurde am 09.01.2023 von der Fakultät Naturwissenschaften der Universität Hohenheim als „Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Naturwissenschaften“ angenommen.

Danksagungen

Mein persönlicher Dank gilt zunächst Prof. Dr. Philipp Weller für die interessante und herausfordernde Aufgabenstellung, sowie das Ermöglichen der Promotion in seinem Arbeitskreis.

Gleichermaßen danke ich Herrn Prof. Dr. Walter Vetter für die Übernahme des Zweitgutachtens und die großartige Unterstützung und Motivierung in den letzten Monaten der Promotion. Herrn Prof Wolfgang Schwack möchte ich herzlich für die Unterstützung bei meinen zwei Veröffentlichungen danken und für die Übernahme des Drittprüfers.

Weiterhin danke ich meinem Kollegen Dr. Alexander Roth für das Korrekturlesen meiner Arbeit und den fachlichen Input, sowie dem gesamten Arbeitskreis für die angenehme Zeit.

Ein großer Dank geht auch an meinen Mann Michael, der mich den Weg durch meine Doktorarbeit mit aller Kraft unterstützt hat. Ich danke meinen zwei Kindern Pia und Jona – ihr seid meine große Motivation für diese Arbeit gewesen! Nicht zuletzt möchte ich meiner Mutter, meinem Vater und Schwester danken.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abbildungsverzeichnis	II
Tabellenverzeichnis	III
Abkürzungsverzeichnis	IV
Vorbemerkungen	V
Anteile der Autoren an den Veröffentlichungen und Beiträgen.....	VII
1 Einleitung.....	1
1.1 Organochlorpestizide.....	5
1.2 Abbau von DDT in Böden.....	7
1.3 PSM-Formulierungen.....	12
1.4 Bodensanierungsverfahren und Phytosanierung.....	14
Manuskript 1: How Do Modern Pesticide Treatments Influence the Mobility of Old Incurred DDT Contaminations in Agricultural Soils?	21
Manuskript 2: Modern Agrochemicals Influence Bioaccumulation of Incurred DDT Soil Residues in Pumpkins - Residue Risk or a Chance for Phytoremediation?	29
2 Ergebnisse und Diskussion.....	41
2.1 Untersuchungen zur DDX Mobilisierung.....	42
2.2 Der Effekt von Huminsäuren	44
2.2.1 Der Effekt von pflanzlichen Ölen (Tensid-Öl Verhältnis)	45
2.2.2 Der Effekt der meteorologischen Umweltbedingungen	46
2.3 Die DDX-Akkumulation in der Kulturpflanze	48
2.4 Folgen und Empfehlungen für die landwirtschaftliche Praxis.....	48
3 Conclusio.....	50
Zusammenfassung	51
Summary	53
Literaturverzeichnis	55
Eigene Publikationen	65
Eidesstattliche Versicherung	66
Tabellarischer Lebenslauf	67

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Strukturen von Organochlorpestiziden mit a) Hexachlorcyclohexan-Isomere, b) Lindan und c) das chlorierte Cyclodien Aldrin (links) und dessen Derivat Dieldrin (rechts)	6
Abbildung 2: Postulierter Abbau von DDT	9
Abbildung 3: Funktionen der Phytosanierung	17
Abbildung 4: Schematische Darstellung der Haupthypothese und Fragestellung der vorliegenden Dissertation	20
Abbildung 5: Zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse der beiden Veröffentlichungen (Manuskript 1 und 2).....	43
Abbildung 6: Akkumulation von DDX in Kürbispflanzen bei unterschiedlichen Gehalten an Tensiden	46
Abbildung 7: Wetterdaten der Jahre 2014 und 2015 am Untersuchungsstandort.....	47

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1	Formulierungen ausgewählter PSM.....	12
Tabelle 2:	Zusammensetzung konventioneller Wirkstoffe auf Tweenbasis	14
Tabelle 3:	Sanierungsmethoden für Böden.....	16
Tabelle 4:	Wasserbedarf (in Liter) von gängigen Kulturpflanzen in der ersten Wachstumsperiode	46

Abkürzungsverzeichnis

ANOVA	analysis of variance (Varianzanalyse)
ASE	accelerated solvent extraction (beschleunigte Lösungsmittlextraktion)
BCF	bioconcentration factor (Biokonzentrationsfaktor)
DDD	Dichlordiphenyldichlorethan
DDE	Dichlordiphenyldichlorethen
DDT	Dichlordiphenyltrichlorethan
DDX	Summenparameter DDT, DDD und DDE
DOC	dissolved organic carbon (gelöster organischer Kohlenstoff)
EC	Emulsionskonzentrat
EFSA	European Food Safety Authority (Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit)
HPLC	high performance liquid chromatography (Hochleistungsflüssigkeitschromatographie)
Kom	coefficient organic matter (Koeffizient organischer Anteil)
Kow	Verteilungskoeffizient Octanol/Wasser
NER	non-extractable residues (nichtextrahierbare Rückstände)
PEARL	Pesticide Emission Assessment at Regional and Local scales
SPE	solid phase extraction (Festphasenextraktion)

Vorbemerkungen

Die vorliegende Dissertation wurde im Rahmen einer kooperativen Promotion an der Hochschule Mannheim unter der Leitung von Prof. Dr. Philipp Weller und der universitären Betreuung von Herrn Prof. Dr. Wolfgang Schwack, Institut für Lebensmittelchemie, Universität Hohenheim und nach dessen Übergang in den Ruhestand, von Herrn Prof. Dr. Walter Vetter, ebenfalls vom Institut für Lebensmittelchemie, durchgeführt. Sämtliche Arbeiten wurden an der Hochschule Mannheim vorgenommen und über diese durch öffentliche Drittmittel finanziert sowie durch Unterstützung der Konanz Stiftung der Hochschule Mannheim.

Teile dieser Arbeit wurden bereits in internationalen Fachzeitschriften veröffentlicht oder auf internationalen/nationalen Konferenzen als mündliche oder Poster-Präsentationen präsentiert.

Publikationen, peer reviewed

Julia Neitsch, Wolfgang Schwack, Philipp Weller
How Do Modern Pesticide Treatments Influence the Mobility of Old Incurred DDT Contaminations in Agricultural Soils?
Journal of Agricultural and Food Chemistry 2016, 64 (40), 7445-7451(IF-3.4)
DOI: 10.1021/acs.jafc.6b03168

Julia Neitsch, Wolfgang Schwack, Philipp Weller
Modern Agrochemicals Influence Bioaccumulation of Incurred DDT Soil Residues in Pumpkins - Residue Risk or a Chance for Phytoremediation?
International Journal of Research in Environmental Science 2018, 4 (3), 13-23
DOI: <http://dx.doi.org/10.20431/2454-9444.0403002>

Vorträge auf Fachtagungen

Julia Neitsch, Wolfgang Schwack, Philipp Weller
Modified bioavailability of DDT residues in soil depends on agricultural practice
Poster spotlight presentation: Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC-GLB), Tübingen, 05.-08.09.2016

Julia Neitsch, Wolfgang Schwack, Philipp Weller
Titel: Mobilisierung von DDT-Altlasten in landwirtschaftlichen Nutzflächen durch die Anwendung moderner Pflanzenschutzmittel
2017 Vortrag auf dem deutschen Lebensmittelchemikertag, Würzburg

Poster-Präsentationen

Julia Neitsch, Wolfgang Schwack, Philipp Weller
Phytosanierung von POP-belasteten Agrarflächen am Beispiel von DDT – ein Feldversuch
Poster: 43. Deutscher Lebensmittelchemikertag, Gießen, 22.-24.09.2014

Julia Neitsch, Wolfgang Schwack, Philipp Weller
Difference in the bioavailability of DDX through varied agricultural practice
Poster: 48. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Massenspektrometrie (DGMS),
Wuppertal, 01.-04.03.2015

Julia Neitsch, Wolfgang Schwack, Philipp Weller
Kultivar-abhängige Aufnahme von DDT-Metaboliten am Beispiel von Cucurbitaceen –
eine Feldstudie
Poster: 44. Deutscher Lebensmittelchemikertag, Karlsruhe, 14.-16.09.2015

Julia Neitsch, Wolfgang Schwack, Philipp Weller
Does the bioavailability of DDT residues in soils depend on agricultural practice?
Poster: 49. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Massenspektrometrie (DGMS),
Hamburg, 28.02.-02.03.2016

Julia Neitsch, Wolfgang Schwack, Philipp Weller
Modified bioavailability of DDT residues in soil depends on agricultural practice
Poster: European Pesticide Residue Workshop (EPRW), Limassol, 24.-27.05.2016

Julia Neitsch, Wolfgang Schwack, Philipp Weller
Modified bioavailability of DDT residues in soil depends on agricultural practice
Poster: Poster: 45. Deutscher Lebensmittelchemikertag, Freising, 12.-14.09.2016

Weitere Veröffentlichungen

Julia Neitsch, Philipp Weller
DDT – Rückstände in Nutzflächen Umweltchemie und Ökotoxikologie, Gesellschaft
Deutscher Chemiker, Mitteilung der Fachgruppe, 23. Jahrgang, ISSN 1618-3258

Anteile der Autoren an den Veröffentlichungen und Beiträgen

J. Neitsch hat alle praktischen Laborarbeiten und analytischen Verfahren sowie die Planung und die experimentellen Arbeiten der Feldstudie durchgeführt. Sie entwickelte die Probenvorbereitung und Extraktion der Boden- und Pflanzenproben, sowie die Methode zur Quantifizierung von DDT und der Metabolite DDE und DDD mittels GC-MS. Sie schrieb alle aufgelisteten Manuskripte, mit der Unterstützung ihrer Betreuer.

Prof. Dr. P. Weller hat das Forschungsprojekt vorgeschlagen und den Projektantrag eingereicht. Er betreute die Dissertantin an der Hochschule Mannheim. Er war an der Vorbereitung und dem Korrekturlesen aller Manuskripte beteiligt und organisierte die Formalitäten der Veröffentlichungsprozesse mit den jeweiligen Journalen.

Prof Dr. W. Schwack und Prof. Dr. W. Vetter stellten die universitäre Betreuung der Dissertation seitens der Universität Hohenheim. Prof. Schwack begutachtete alle Manuskripte vor der Einreichung an das jeweilige Journal, während Prof. Vetter die Dissertation vor dem Einreichen an der Fakultät Naturwissenschaften an der Universität Hohenheim betreute.

31.8.22 

1 Einleitung

In der vorliegenden Arbeit sollte die Mobilität der Altlast DDT und deren Metabolite DDE und DDD (zusammenfassend DDX) sowie mögliche Einflussfaktoren im Ackerbau untersucht werden. Trotz des Anwendungsverbotes in der Landwirtschaft sind DDT und seine Metabolite als Nachbaurückstand ein immer noch aktuelles Thema. Die stark lipophilen persistenten Verbindungen sind nur schwer chemisch, biologisch und mikrobiell abbaubar. In der intensiven Landwirtschaft, sowohl konventionell als auch biologisch betrieben, werden Pflanzenschutzmittel (PSM) angewendet. Ein gängiger Bestandteil von Pflanzenschutzmitteln sind Tenside. Diese haben das Potential, lipophile Stoffe wie DDX zu mobilisieren. Die Zusammensetzung von konventionellen und biologischen PSM unterscheidet sich allerdings in der Konzentration und Art der enthaltenen Tenside.

Um festzustellen, ob die derzeit zugelassenen gängigen PSM die Altlast DDX beeinflussen, sollte über zwei Jahre hinweg eine Freilandstudie durchgeführt werden. Dazu wurde eine ein Hektar große Agrarfläche in drei Bereiche eingeteilt: eine biologisch, eine konventionell behandelte PSM-Agrarfläche und eine unbehandelte Kontrollfläche.

Im ersten Jahr wurden jeweils vor und nach einer PSM-Applikation Bodenproben entnommen. Im darauffolgenden Jahr wurde die in der Literatur als stark DDX akkumulierende Pflanze *Cucurbita pepo*. Howden auf den drei Flächen kultiviert. Es wurden vor und nach den PSM-Applikationen je nach Vegetationsstand Pflanzenproben von Wurzel, Pflanzengrün und Kürbisfrucht entnommen.

Die Ergebnisse beider Untersuchungen - der Boden und der Pflanzenstudie - zeigen in den Proben der mit biologischen PSM behandelten Fläche signifikant mehr DDX. Diese Arbeit zeigt zum ersten Mal, dass bereits geringe Konzentrationen an Tensiden, wie sie in PSM Anwendung finden, einen Einfluss auf die Mobilität von DDX haben.

Diese neuen Erkenntnisse sensibilisieren das Bewusstsein für Nachbaurückstände bei der Verwendung von PSM und können dazu beitragen Nachbaurückstände im Erntegut zu vermindern. Weiter können die Ergebnisse als Ansatz einer Phytosanierung genutzt werden, da bereits geringe Mengen an Tensiden ausreichend sind, um eine erhöhte Mobilisierung von Altlasten zu fördern.

Die Anwendung von Pflanzenschutzmitteln ist in der modernen und intensiven Landwirtschaft eine gängige und existenzielle Praxis zur Sicherung der Ernte und des Ertrages. Seit 1960 stieg die weltweite Anwendung von Pestiziden kontinuierlich an. So wurden 1961 im Schnitt 0,5 kg Pestizide pro Hektar Agrarland appliziert, während es im Jahr 2004 schon 2 kg pro Hektar waren (1). Es ist davon auszugehen, dass 2020 die weltweite Verwendung von Pestiziden auf 3,5 Mio. t steigen wird (2, 3). Durch diesen Aufwärtstrend wurden Böden, Gewässer sowie die Biosphäre seit ca. 1950 kontinuierlich einer Vielzahl von Pflanzenschutzmitteln (*plant protection products* – PPPs/PSM) und ihren Metaboliten ausgesetzt (1, 4, 5).

Zusätzlich enthalten moderne Pflanzenschutzmittel häufig nicht nur einen Wirkstoff (6). Vielmehr handelt es sich um komplexe Formulierungen, die zahlreiche Zusätze enthalten, um die Applikation zu vereinfachen (6–10). So erleichtern Tenside, Verdickungsmittel und Frostschutzmittel das Versprühen und die Dosierung, und steigern die allgemeine Effizienz des PSM (6–10). Neben dem Wirkstoff selbst sind oberflächenaktive Substanzen, meist nicht-ionische Tenside (z.B. Triton X oder Tweens), die Hauptbestandteile von PSM (11). Folglich gelangen neben den Wirkstoffen auch große Mengen an Tensiden in die Umwelt und vor allem in die Böden (12, 13).

Agrarböden unterliegen einer andauernden, sich aber ständig verändernden Exposition von PSM. Es werden laufend neue Substanzen entwickelt und angewendet, d.h. einerseits werden PSM ersetzt, deren Zulassungen aufgrund adverser Effekte auslaufen, andererseits werden marktbedingt neue Substanzen eingesetzt.

Bestimmte Organochlorpestizide (OCP) wie DDT erwiesen sich häufig als persistent und toxisch und sind daher heute nicht mehr zugelassen. Vor allem alte OCPs der ersten Generation (14) weisen eine hohe Persistenz auf, was dazu führt, dass die Wirkstoffe oder deren Metaboliten als Altlasten in Böden verbleiben und nur sehr langsam abgebaut werden (15).

Das Insektizid DDT ist ein Paradebeispiel für eine solche Altlast. Es wurde weltweit vor allem zwischen 1950 und 2004 intensiv eingesetzt (16–18). Die negativen Effekte von DDT wurden erstmals in den 1960er Jahren durch die Veröffentlichung von Rachel Carsons Buch „*Silent Spring*“ einer breiten Öffentlichkeit nähergebracht (19, 20). Trotzdem wurde der landwirtschaftliche Einsatz von DDT in den USA erst 1972 verboten, der Export von DDT

blieb aber weiterhin erlaubt. In Deutschland wurde DDT seit 1950 vor allem gegen den Kartoffelkäfer (*Leptinotarsa decemlineata*) eingesetzt (21) und ebenfalls 1972 verboten. Die Einstufung als *persistent organic pollutant* (POP) erfolgte 2004 durch die Stockholmer Konvention (22). In weiterer Folge wurde der Einsatz von DDT in der Landwirtschaft in Ländern, welche die Stockholmer Konvention unterzeichneten, verboten und führte praktisch zu einem weltweiten landwirtschaftlichen Anwendungsverbot (22). Dagegen ist DDT in tropischen Gebieten mit hoher Luftfeuchtigkeit, hohen Temperaturen und einer hohen mikrobiellen Boden-Aktivität nach wie vor zur Malariavektorkontrolle zugelassen (23).

Die Wirkung von DDT basiert auf der Inhibierung der spannungsabhängigen, sensitiven Natrium-Kanäle in den Neuronen, was zu einer durchgehenden Aktivierung des Aktionspotentials führt (24). OCP-Insektizide können irreversibel die Cholinesterase und ebenso die Acetylcholinesterase inhibieren, was wiederum zu einer Dauerstimulierung der Nerven durch die Muscarin- und Nicotinacetylcholin-Rezeptoren, führt (25).

Durch die jahrzehntelange Applikation und die hohe Persistenz ist DDT noch immer ein aktuelles Thema, denn noch 50 Jahren nach dem Zulassungs- und Anwendungsende in Deutschland können in Böden DDT und DDT-Metabolite nachgewiesen werden (26–28).

DDT wird durch Dehydrochlorierung und Hydrodechlorierung zu den zwei Hauptmetaboliten DDE und DDD abgebaut (29), die zusammen mit DDT summarisch als DDX bezeichnet werden. Die drei Verbindungen DDT, DDE und DDD gelten in der Rückstandshöchstmengenverordnung als Nachbaurückstände (30, 31), also Substanzen, die zwar früher zielgerichtet appliziert wurden, aber nicht mehr angewendet werden und deren Rückstände dennoch durch die hohe Persistenz in Pflanzenkulturen akkumulieren können (32–34).

Bisher existiert eine DDX-Rückstandsdefinition für den Expositionsweg Boden – Mensch, es wurde jedoch bislang keine Höchstmenge für den Expositionsweg Boden – Pflanze (30, 35) festgesetzt. Daher werden die teuren Bodensanierungen von landwirtschaftlichen Flächen in Deutschland trotz DDT-Werten von bis zu 200 µg/kg Boden nicht durchgeführt (35). Im internationalen Vergleich sind diese gemessenen DDT-Werte noch vergleichsweise gering, während beispielsweise in der Türkei Gehalte bis zu 2700 µg/kg Boden DDX festgestellt wurden (34).

Die Aufnahme der Kontaminanten in das Erntegut sowie die Form und Menge sind abhängig von der Art der kultivierten Pflanze und zahlreichen Umweltfaktoren. Dazu zählen die physikalischen (Temperatur, Feuchte), chemischen (mineralische Beschaffenheit, pH-Wert), biologischen (Zusammensetzung und Aktivität des Bodenmikrobioms) und meteorologischen/klimatischen Bedingungen sowie die Behandlung der Böden mit anderen Agrarchemikalien (36–38).

Bei bestimmten Bedingungen kann es daher zu einem Wiedereintrag von PSM Rückständen wie DDT in die Nahrungskette kommen. Zurzeit gibt es keine Richtlinien zur Erfassung der Umweltbedingungen von Anbaufeldern, um auch mögliche Risiken in Bezug auf Altlasten und PSM Rückstände zu erfassen. Die mögliche Rückstandsproblematik wurde bisher weder von Landwirten noch von den zuständigen Kontrollgremien umfassend genug wahrgenommen, um ein Monitoring auf einzelnen Anbaufeldern durchzuführen. Viele der landwirtschaftlichen Felder wurden jahrzehntelang intensiv und konventionell bewirtschaftet. Dadurch finden sich zum Teil noch erhebliche Rückstandsmengen von zugelassenen Wirkstoffen, Kontaminanten und Nachbaurückstände wie jene von DDT in Böden. Bislang hat die *European Food Safety Agency* (EFSA) eine Höchstmenge von 10 ppb für Nachbaurückstände festgelegt (39).

Die Belastungswerte in Deutschland sind zwar toxikologisch kaum relevant, Spurenkontaminationen führen allerdings immer häufiger zur Ablehnung der Ware durch Supermarktketten (40). Da die Verbraucherwahrnehmung mittlerweile stark auf ökologische, nachhaltige sowie gesunde Lebensmittel sensibilisiert ist, werden Produkte mit möglichen, wenn auch sehr geringen Rückständen von Supermärkten nicht akzeptiert (40). Deshalb haben zahlreiche Lebensmittelkonzerne aus Vermarktungsgründen sogenannte Sekundärstandards mit zum Teil deutlich strengeren spezifischen Höchstmengen eingeführt (31). Diese haben jedoch keinen Legalcharakter, sondern stellen lediglich Handelsspezifikationen dar. Beispielhaft seien hier die Spezifikationen des Lebensmitteldiscounters ALDI SÜD genannt: hier dürften je nach Obst- und Gemüsesorte drei bis fünf Wirkstoffe detektiert werden und die sogenannte Auslastung dieser Wirkstoffe darf 70 % der gesetzlichen Höchstmengen nicht überschreiten (31). Zusätzlich gibt ALDI SÜD noch eine sog. „Summenauslastung“ vor (d.h. alle Wirkstoffe in Summe), welche 80 % der gesetzlichen Höchstmengen nicht überschreiten dürfen (31).

Landwirte, die aufgrund des wirtschaftlichen Drucks der Effizienz- und Produktionssteigerung über Jahrzehnte PSM angewandt haben, werden nun durch die neuen Sekundärstandards der Lebensmittelkonzerne mit neuen Herausforderungen konfrontiert. Noch komplexer wird die Situation durch die Tatsache, dass die Bioakkumulation von Altlasten auch vom Kulturgut abhängig ist. So zeigten mehrere Studien, dass Pflanzen der Gattung *Cucurbitaceae* DDX besonders stark akkumulieren können (34, 41). Beim Anbau von Früchten dieser Gattung (z.B. Kürbis und Zucchini) kann es vermehrt zu Nachbaurückständen kommen, die oberhalb der Sekundärstandards liegen (42). Für Landwirte, die jahrzehntelang PSM mit einem erheblichen Anteil an Tensiden appliziert haben, kann dies zu einem unkalkulierbaren Risiko führen. Tenside sind Bestandteile der Formulierungen in Agrochemikalien und können zusätzlich Einfluss auf die Bioakkumulation von eingetragenen PSM haben (43).

In den Zulassungsverfahren wurde bisher allerdings der Einfluss von agrarchemischen Formulierungen auf die Akkumulation von Altlasten nicht näher berücksichtigt. Bei einer Erhöhung der Mobilität von Altlasten wie DDX ist jedoch auch eine erhöhte Aufnahme durch die kultivierten Pflanzen wahrscheinlich.

Das Ziel dieser vorgelegten Arbeit war es daher, den Einfluss von tensidreichen PSM auf die Mobilisierung von DDX-Altlasten und auf deren Akkumulation in Pflanzen der Gattung *Cucurbitaceae* zu evaluieren. Die möglichen Folgen der Mobilisierung und Akkumulation wurden in dieser Arbeit untersucht und diskutiert. Ebenso wurde auch die gezielte Tensidapplikation zusammen mit der Kultivierung der Gattung *Cucurbitaceae* als potentiell Werkzeug für eine Phytosanierung untersucht.

1.1 Organochlorpestizide

Organochlorpestizide (OCP) werden hauptsächlich als Insektizide, aber auch als Fungizide eingesetzt (22, 44, 45). OCPs bestehen aus chlorierten mono- oder polycyclischen Kohlenwasserstoffen (22, 46). Die Entwicklung dieser Wirkstoffe geht auf die erste Hälfte des letzten Jahrhunderts zurück und umfasst Substanzen wie DDT, Pentachlorphenol, Hexachlorcyclohexan, Lindan, Aldrin und Dieldrin (Abbildung 1).

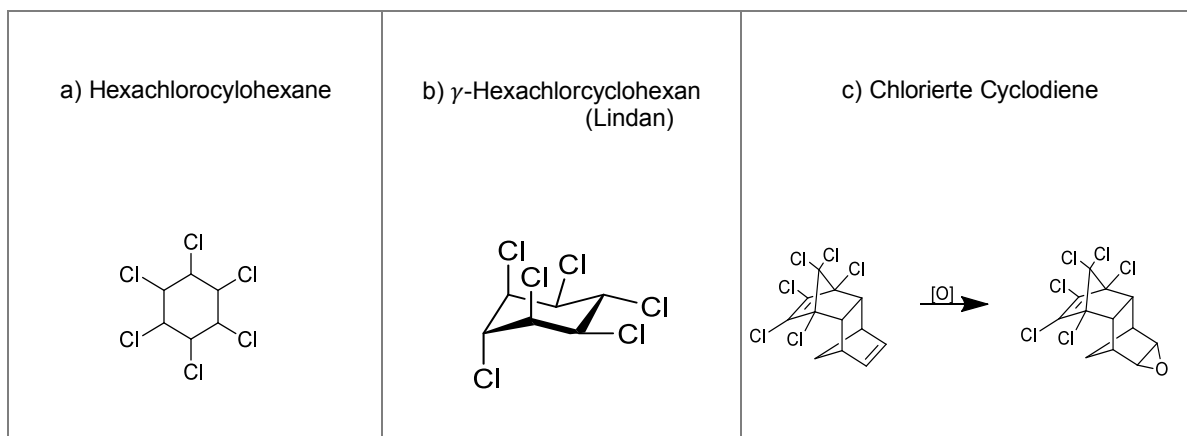


Abbildung 1: Strukturen von Organochlorpestiziden mit a) Hexachlorcyclohexan-Isomere, b) Lindan und c) das chlorierte Cyclodien Aldrin (links) und dessen Derivat Dieldrin (rechts)
(24)

DDT war das erste synthetische Pflanzenschutzmittel, das während des zweiten Weltkrieges zur Anwendung kam (22, 44, 47). Grundsätzlich können die Organochlorpestizide in drei Gruppen eingeteilt werden (48):

1. DDT und verwandte Verbindungen
2. die Gruppe der Hexachlorcyclohexane
3. chlorierte Cyclodiene und Derivate

Die heterogene Gruppe dieser Wirkstoffe unterscheidet sich deutlich in ihren Grundstrukturen. DDT und seine Derivate, wie z.B. Dicofol basieren auf einem Chlorphenol Grundgerüst mit unterschiedlichem Substitutionsgrad. Die Hexachlorcyclohexane (Abbildung 1a) tragen an jedem Kohlenstoffatom ein Chloratom, wobei neben Lindan mit γ -Konfiguration (Abbildung 1b) sieben weitere Isomere möglich sind (48). Gängige Vertreter der chlorierten Cyclodienpestizide sind Aldrin und die durch Oxidation einer Doppelbindung abgeleitete Epoxidverbindung Dieldrin (Abbildung 1c).

All diese Verbindungen sind in der Umwelt sehr persistent und weisen sehr hohe logarithmische *n*-Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten ($\log K_{ow}$ -Werte) von über 5 auf (46). Auch ihre primären Transformationsprodukte sind häufig persistent und im Fall von DDT zum Teil erheblich toxischer als dieses (44, 46). Die hohe Lipophilie begünstigt zudem die Bioakkumulation und die Biomagnifikation (46).

So können sich DDT und seine Metabolite von Zooplankton bis zum Fischadler mehr als das Hundertfache anreichern und sich im Fettgewebe einlagern (49). Ebenso sind diese DDX-Verbindungen in pflanzlichen und tierischen Nahrungsmitteln nachweisbar (50, 51).

Einige dieser Verbindungen haben endokrine, kanzerogene, erbgutschädigende und immunsupprimierende Eigenschaften (52–56). Dennoch sind viele Metabolite und Transformationsprodukte, die beim Abbau von OCPs entstehen, toxikologisch wenig charakterisiert, was die Bewertung zusätzlich erschwert (52, 57).

1.2 Abbau von DDT in Böden

Der Boden ist laut Bodenschutzgesetz die obere Schicht der Erdkruste, einschließlich der flüssigen (Bodenlösung) und der gasförmigen Bestandteile (Bodenluft) (58). Die Filter- und Pufferkapazität des Bodens dient zum Schutz des Grundwassers (58). Ist dieses Kompartiment durch Substanzen verunreinigt, kann das auf weitere Umweltkompartimente wie Wasser und Luft Auswirkungen haben (58). In zahlreichen Bodenschichten bauen Mikroorganismen DDX-Verbindungen aerob und anaerob ab (59). In Mesokosmos-Experimenten wurde gezeigt, dass Glycerol und Toluol den biotischen und abiotischen Abbau von DDX begünstigen, und dass vor allem die Bakterien *Rhodococcus ruber* und *Desulfosporosinus auripigmenti* daran beteiligt sind (60).

Der relativ hohe Chlor-Anteil von DDT erschwert jedoch die enzymatische Transformation durch CYP-basierte Enzyme und verzögert somit den schnellen biochemischen Abbau (61).

Zusätzlich verhindert die sehr hohe Lipophilie ($\log K_{ow} = 6,5$) einen enzymatischen Abbau in der wässrigen Phase (61). Weitere ungünstige Faktoren sind der geringe Dampfdruck von 0,035 mPa (20 °C) und die damit zusammenhängende langsame Abbaurate über die Gasphase.

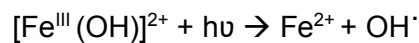
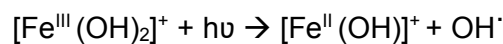
Für den Abbau im Boden sind vor allem Umweltbedingungen wie Temperatur, mikrobielle Aktivität und Bodenfeuchte ausschlaggebend. Aufgrund der komplexen Zusammenhänge und unterschiedlichen umweltchemischen Faktoren wird der Abbau von Pestiziden wie DDT im Boden in drei Kompartimente eingeteilt (48):

1. Bodenwasser
2. Bodenluft
3. feste Bestandteile (Mineralien, tote organische Substanz, Mikroorganismen)

Jedes einzelne Kompartiment beeinflusst den Abbau im Hinblick auf die dort lebenden Mikroorganismen, den vorhandenen Sauerstoff oder die im Bodenwasser gelösten Bestandteile (48). Neben Transformationsprozessen durch aerobe oder anaerobe

Mikroorganismen spielen auch chemische Reaktionen wie z.B. die beschleunigte Hydrolyse bei niedrigen pH-Werten in Anwesenheit von Huminsäuren und Tonmineralien eine Rolle (62).

Ein klassischer chemischer Abbauprozess bei chlororganischen Substanzen ist die Fenton-Reaktion unter Beteiligung reaktiver Hydroxylradikal-Spezies. Diese kann in abgewandelter Form auch im Boden bei niedrigen pH-Werten ablaufen und wird dann als „Fenton-ähnlich“ bezeichnet. Je nach Bodentyp dient die Tonfraktion als Eisenquelle. Aus Hydroxyleisenionen $[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{OH})_2]^+$ können im schwach sauren Milieu durch Einfluss von Licht bei einer photochemischen Reaktion Hydroxylradikale entstehen (63):



Die entstandenen Hydroxylradikale können mit den im Boden vorhandenen Pestiziden reagieren und reaktive Spezies bilden, die den Abbauprozess ermöglichen und vorantreiben (64). Fenton-ähnliche Reaktionen finden bevorzugt beim Abbau von Schadstoffen statt, welche am gelösten organischen Anteil im Bodenwasser oder Sediment adsorbiert werden (28, 65, 66). Voraussetzung dafür ist allerdings, dass die für die Induktion der photochemischen Reaktion notwendige UV-Strahlung eine ausreichende Eindringtiefe im Boden erreicht (28, 65, 66). Je nach den gegebenen Umweltbedingungen ist die Fenton-Reaktion eine der möglichen Abbauprozesse von DDT im Boden (28, 65, 66). Zwar kann diese Reaktion grundsätzlich auch in der Tröpfchenphase oder in der Luft stattfinden, allerdings ist dieser Weg vernachlässigbar, da die für die Reaktion erforderlichen Hydroxyleisenionen dort nur im Spurenbereich vorliegen (65).

In *Abbildung 2* ist der postulierte Abbau von DDT nach Haider und Schäffer (48) dargestellt. Zu den ersten Transformationsprodukten zählen das Dehydrochlorierungsprodukt DDE und das Hydrodechlorierungsprodukt DDD. Beide weisen geringfügig höhere Dampfdrücke und eine bessere Wasserlöslichkeit als DDT auf (67).

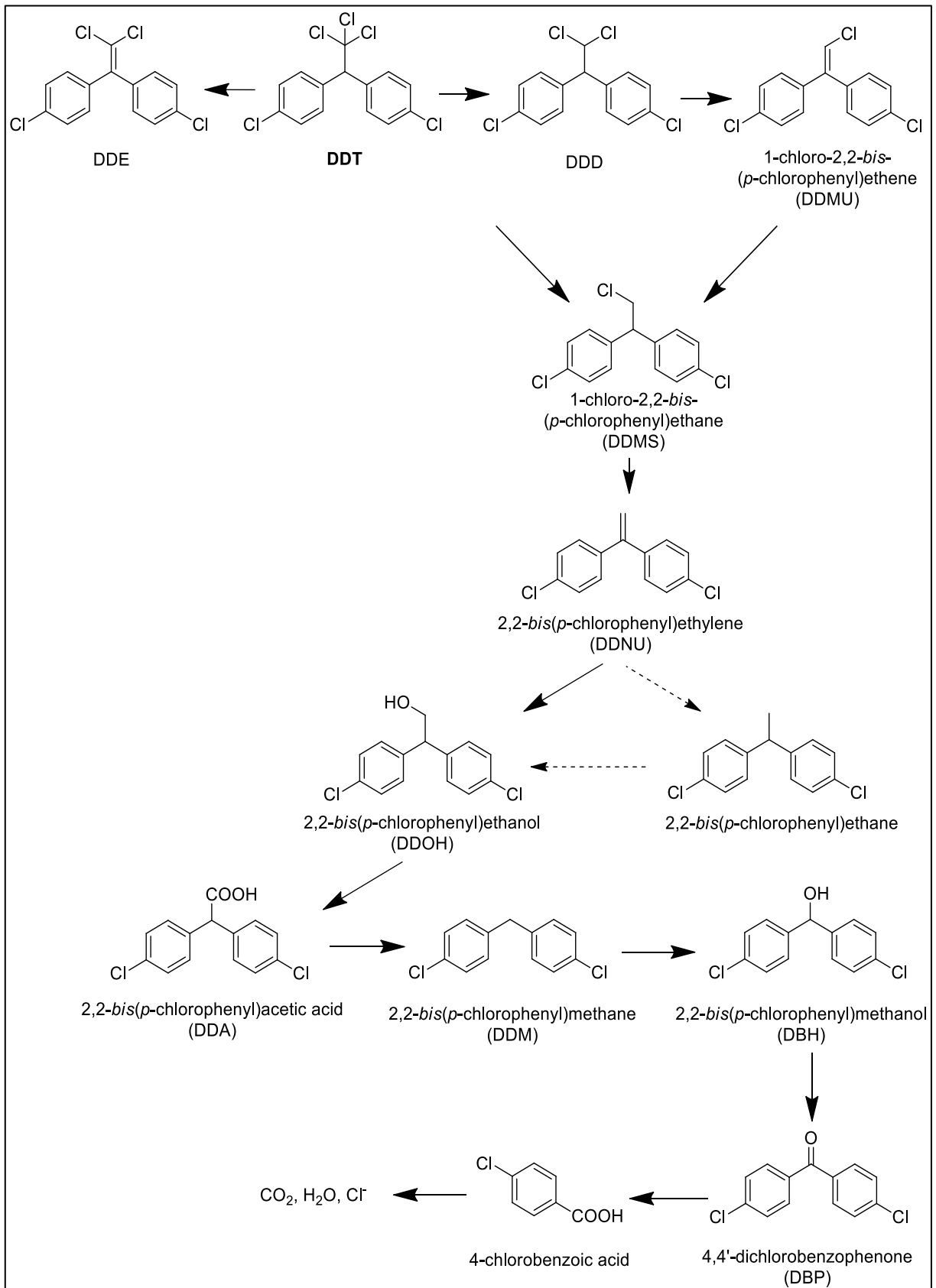


Abbildung 2: Postulierter Abbau von DDT
 (48) EMBED ChemDraw.Document.6.0.

Dass die Transformationsprodukte DDE und DDD ähnliche persistent sind wie DDT, erschwert die Modellierung im Hinblick auf das Verhalten und den Verbleib von DDX in der Umwelt (68). Im Umweltkompartiment „Boden“, in dem die höchsten DDX-Mengen vorliegen, kann es je nach Bodenbeschaffenheit zur Mobilisierung von hochpersistenten Verbindungen kommen (68). Zur Beschreibung des Umweltverhaltens ist es daher essenziell, einen Zusammenhang zwischen der Bodenzusammensetzung und den substanzspezifischen Eigenschaften herzustellen (68). Dabei ist eine Adsorption im Boden nur zwischen lipophilen Substanzen und dem organischen Anteil möglich (69). Bei sehr stark adsorbierten Rückständen spricht man von sogenannten nicht extrahierbaren Rückständen (NER). Diese NER – zu denen auch DDT zählt – können nach und nach in die Umwelt freigesetzt werden (70–72). Die starke Adsorption von DDT drückt sich in einem hohen organischen Kohlenstoffadsorptions-koeffizienten (K_{oc}) von 150.000 aus (47). Dieser hohe K_{oc} -Wert vermindert allerdings umgekehrt das Risiko einer Verlagerung von DDT in tiefere Bodenschichten (73).

In einer Studie von Martijn *et al.* wurde über einen Zeitraum von über 20 Jahren hinweg das Umweltverhalten von DDT untersucht (74). Dabei zeigte sich, dass die Kontamination hauptsächlich in den obersten 20 cm verbleibt (74). Die Verlagerung in tiefere Bodenschichten, das sogenannte „*Leaching*“, ist bei diesen hochpersistenten Verbindungen weniger relevant. Allerdings kann die Freisetzung von persistenten Substanzen beispielsweise durch eine erhöhte Menge an gelöstem organischen Kohlenstoff gesteigert werden (60). Die Adsorption findet hauptsächlich an die im organischen Anteil vorkommenden Huminsäuren statt (*dissolved organic carbon*, DOC). Dieser DOC-Anteil kann in die wässrige Phase übergehen und damit auch lipophile Substanzen mobilisieren – und sie somit auch für Pflanzen bioverfügbarer werden lassen (75, 76).

Pflanzen nehmen Nährstoffe über ihr Wurzelsystem auf (77). Dazu gehört auch das Mykorrhiza oder Ektomykorrhiza, d.h. die Region des Feinwurzelsystems einer Pflanze, in der es zur Symbiose zwischen den im Wurzelbereich angesiedelten Pilzen und der Pflanze kommt (77, 78). Zwischen den Wurzelenden und den Pilzhyphen findet ein Nährstoffaustausch statt (78). Bei einem Kultivierungsexperiment im Labor mit vier Pilzen (*Boletus edulis*, *Gomphidius viscidus*, *Laccaria bicolor* und *Leccinum scabrum*) kam es nach der Beimpfung mit einer DDT-Lösung innerhalb von 15 Tagen zu einem DDT-Abbau von bis zu 50 % (79). Diese Studie legt somit die Vermutung nahe, dass auch ein biologischer

Abbau durch Beimpfung des Bodens mit solchen Pilzen zu einer erhöhten Metabolisierungsrate führen könnte. Allerdings blieb ungeklärt, ob das im Boden stark adsorbierte DDX für diesen Abbau überhaupt zugänglich ist. In einer weiteren Laborstudie wurde der Abbau von DDT durch das Enzym *Laccase*, welches von Weißfäulepilzen (*white rot fungi*) produziert wird, untersucht (80). Dabei wurde die Sauerstoffkonzentration und der pH-Wert des Bodens variiert. Hier ergab sich eine positive Korrelation von Sauerstoffkonzentration und der Abbaurate von DDX (80). Auch mit Braunfäulepilzen (*brown rot fungi*) konnten bis zu 42 % des DDT abgebaut werden, wobei diese sich durch Inokulation mit *Bacillus subtilis* sogar auf über 86 % steigern ließ (81). Allerdings muss hierbei berücksichtigt werden, dass sämtliche Studien an Böden durchgeführt wurden, die mit DDT dotiert worden waren und es sich nicht um sogenannte „gewachsene“ Rückstände – und somit nicht um natürlich kontaminierte Böden – handelte. Diese Ergebnisse zeigten zwar auf, welche Parameter am DDT-Abbau beteiligt sind, sie konnten jedoch nicht unmittelbar auf den Abbau von Altlasten in Böden übertragen werden.

Dagegen ist die Studie von Purnomo *et al.*, bei der der Einfluss von im Kuhdung lebenden Mikroorganismen auf die DDX-Konzentration im Boden untersucht wurde, von direkter Bedeutung für landwirtschaftliche Flächen (28). Es zeigte sich nämlich, dass mit dem Wachstum der Mikroorganismen eine deutliche Abnahme der DDX-Konzentrationen verbunden war (28). Allerdings wurden die Laborversuche unter Modellbedingungen durchgeführt und bei einer Temperatur von 30-60 °C (28). Ein Transfer in einen Freilandversuch wäre somit nur im Hochsommer unter Verwendung von schwarzer Folie möglich und erscheint somit weniger praxistauglich.

In der Literatur wird außerdem seit längerem die Kombination von biologischen Abbau-Strategien in Verbindung mit der Anwendung von Tensiden diskutiert (6, 82–84). So konnte in einem mit DDX belasteten Boden durch Einsatz des Tensids Tween 80 und der natürlich vorkommenden Bodenfauna die DDX-Menge um 94,3 % reduziert werden (82).

Dabei erhöhte die Zugabe von oberflächenaktiven Substanzen wie Tensiden die Verfügbarkeit von lipophilen Kontaminanten wie DDX, so dass es zu einem deutlich gesteigerten Abbau durch die Bodenfauna kam (82). Diese Beobachtung ist relevant für die biologische Sanierung, da im modernen Pflanzenanbau erhebliche Mengen an Agrarchemikalien mit hohen Anteilen an Tensiden eingesetzt werden (6).

Es war somit zu erwarten, dass auch PSM-Formulierungen aufgrund hoher Tensidgehalte die Mobilisierung von Nachbaurückständen und Kontaminanten im Boden beeinflussen können. Dieser potenzielle Effekt war bisher jedoch noch nicht berücksichtigt worden und wurde mit der vorgelegten Arbeit (6) erstmals untersucht (Manuskript 1). Zusätzlich war denkbar, dass die Mobilisierung von Bodenkontaminanten zu einer erhöhten Verfügbarkeit in der Wasserphase und damit zu einer potenziell höheren Bioakkumulation der Kontaminanten durch die Nutzpflanze führen könnte (Manuskript 2) (6).

1.3 PSM-Formulierungen

Die Wirkstoffe in Pflanzenschutzmitteln liegen oft in kristalliner oder unlöslicher Form vor (85). Um den Wirkstoff zu lösen und in Lösung zu halten, werden zahlreiche Formulierungshilfsstoffe eingesetzt (85). Durch die Formulanten wird die Verteilung des Wirkstoffes und die Benetzung der Pflanze verbessert, so dass der Wirkstoff optimal zum Wirkort vordringen kann (85). Ebenso können Formulierungen Frostschutzmittel und Verdickungsmittel beinhalten (85). Chemische und physikalische Eigenschaften wie Toxizität, Löslichkeit und Dampfdruck eines PSM werden durch die Formulierung stark beeinflusst. Im Bereich der PSM existieren zahlreiche Formulierungstypen, wie z.B. Suspensionskonzentrate, dispergierende Granulate und Emulsionskonzentrate (78, 86) (Tabelle 1).

Tabelle 1 Formulierungen ausgewählter PSM

Beispiel	Abkürzung	Formulierung	Eigenschaften
Sencor®	SC	Suspensionskonzentrat	PSM in Wasser suspendiert
Inhaltstoffe: <i>Metribuzin 52 (17 %) Fettalkoholethoxylat ≥ 1->2 %, 1,2-Benzisothiazol-3(2H)-on $\geq 0,005$ - < 0,05 %, 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on $\geq 0,0015$ - < 0,1) (87)</i>			
Polyram®	WG	wasserdispersierbares Granulat	PSM in org. Lösungsmittel suspendiert
Inhaltsstoffe: <i>Metiram 70 %, Natriumdiisobutylnaphthalinsulfonat >5 % (88)</i>			
Pixxaro®	EC	Emulsionskonzentrat	PSM in org. Lösungsmittel emulgiert
Inhaltsstoffe: <i>Fluoroxypyr-meptyl 38,9 %, Halauxifen-methyl 1,21 %, Cloquintocet-Mexyl 1,12 %, Reaktionsmasse aus N,N-Dimethyldecan-1-amid und N,N-demethyldecanamid $\geq 40,0$ - > 50,0 %, 2-Ethylhexanol-1 $\geq 1,0$ - >3,0 %, Benzolsulfonsäure, C₁₀- bis C₁₃-Alkylderivate, Calciumsalze $\geq 1,0$ - >3,0 %, N-Methyl-2-pyrrolidon $\geq 0,1$ - >0,3 % (89)</i>			

In der biologischen Landwirtschaft bestehen die Wirkstoffe meist aus Pflanzenextrakten (90, 91). Viele dieser potenten Pflanzenextrakte werden aufgrund ihrer lipophilen Eigenschaft in Pflanzenöl gelöst oder liegen schon als natürliches ätherisches Öl vor (92–94).

Damit diese lipophilen Konzentrate für die Applikationen verdünnt werden können und damit die Wirkstoffe besser an der Pflanze anhaften, kommen auch hier oberflächenaktive Substanzen zum Einsatz (78, 95–97).

Formulierungen vom Typ Emulsionskonzentrat (EC, Tabelle 1) kommen daher häufiger bei biologischen als bei konventionellen PSM zum Einsatz, wie etwa bei dem Insektizid Pyrethrum, das aus den Blüten der *Chrysanthemen* gewonnen wird (98). Der Wirkstoff wird schon seit mehreren tausend Jahren als sogenanntes *persisches Insektenpulver* gegen den Befall von Läusen, Flöhen, Ameisen, Fliegen und Mücken eingesetzt (98). Es wirkt neurotoxisch auf Insekten, ist aber auch giftig für Fische und wird unter Einwirkung von UV-Licht rasch abgebaut (99, 100). Für Pyrethrum sind relativ geringe EC-Anteile von 1–10 % der gesamten Formulierung notwendig, während der Tweenanteil im Insektizid Azadirachtin bei über 70 % liegt (6, 43).

Die lipophilen Wirkstoffe biologischer PSM liegen nach Destillation, Extraktion oder Pressung als natürliche Pflanzenöle oder ätherische Öle vor. Die hinzugefügten Emulgatoren sind dennoch häufig synthetisch, wie etwa die Spans und Tweens (78, 97, 101, 102). Tween ist ein Handelsname für polysorbatbasierte Emulgatoren, weitere Marken sind Scattics, Alkest und Canarcel (103). Die Polysorbate unterscheiden sich im Wesentlichen in der Länge der Ethylenoxiddkette, typischerweise sind dies 20, 40, 60, 65 oder 80 Ethylenoxid-Einheiten (z.B. Tween 20 oder Tween 80) (78, 97, 101, 102). Allgemein handelt sich bei Tweens um nichtionische Tenside, die als universelle, nicht toxische Emulgatoren für Öle dienen (78, 97, 101, 102, 104).

Liegen bei einem Formulierungshilfsstoff keine umweltrelevanten Bedenken vor, so müssen die Art und Menge an zugesetzten Tensiden oder Formulierungshilfsstoffen vom Hersteller nicht deklariert werden (78, 97). Dem Endverbraucher sind somit meist nur die aktiven Substanzen eines PSM bekannt, obwohl die Produkte zusätzlich auch Formulierungswirkstoffe enthalten, welche die Wirkweise der aktiven Substanz beeinflussen können (78, 97).

Tenside und tweenbasierte Emulgatoren finden auch in der konventionellen Landwirtschaft Verwendung, allerdings sind die aktiven Substanzen in konventionellen Pflanzenschutzmitteln meist hydrophiler, und daher sind geringere Tensidmengen (5-20 %) nötig, um die Wirkstoffe in Lösung bzw. Suspension zu bringen (78, 97). Als Lösungsmittel werden Alkohole oder Säuren verwendet (78, 97). Konventionelle Wirkstoffe sind zum Beispiel Azoxystrobin, das als Suspensionskonzentrat angewandt wird. Zusammensetzungen der Formulierungen sind in Tabelle 2 dargestellt (7, 8).

Tabelle 2: Zusammensetzung konventioneller Wirkstoffe auf Tweenbasis

PSM	Zusammensetzung
Azoxystrobin	10-18 % Alkoholethoxylate, 1-5 % Naphtalinsulfonsäure
Thiacloprid	5-19 % Polyethylenglycol

1.4 Bodensanierungsverfahren und Phytosanierung

Sobald Böden z.B. durch Bebauung versiegelt sind, ist ein Abbau von Altlasten nicht mehr gewährleistet (58). Daher muss nach dem Bundesbodenschutzgesetz ausgewiesenes Bauland im Vorfeld – je nach Kontaminationsgrad - saniert werden (58). Dies gilt jedoch nicht für landwirtschaftliche Flächen, welche zum Teil hohe Kontaminationsgrade aufweisen können (58). Das Interesse an teuren Bodensanierungen landwirtschaftlicher Flächen ist daher gering (28). Besonders bei Agrarflächen, auf denen seit Jahrzehnten intensiv bewirtschaftet wurden, ist die Wahrscheinlichkeit von Pestizidaltlasten im Boden hoch (28).

Für belastete Bodenflächen kommen mehrere Sanierungsverfahren in Betracht (Tabelle 3). Bei der **Bodenwäsche** und den thermischen Verfahren wird die oberste Bodenschicht abgetragen. Bei diesen Verfahren fallen große Mengen an Bodenmaterial im Tonnenmaßstab an, die wiederum sicher abgelagert und weiter saniert werden müssen (48). Darüber hinaus kommen zusätzlich noch große Mengen an Lösungsmitteln zum Einsatz, die durch Prozesswasseraufbereitung und Abwasseraufbereitung entsprechend aufbereitet oder entsorgt werden müssen (48). Die Schadstoffe werden in diesem Verfahren im Bodenaushub aufkonzentriert (48, 67, 105). Dabei soll das verbleibende Bodenmaterial am Ende so frei von Schadstoffen sein, dass es wieder aufgebracht werden kann (48).

Bei anorganischen Schadstoffen wird der Boden mit angesäuertem oder alkalisiertem Waschwasser gespült (48). Bei organischen Schadstoffen, wie chlorierten

Kohlenwasserstoffen, werden dem Waschwasser organische Lösungsmittel zugesetzt (48, 106). Sowohl anorganische als auch organische Schadstoffe reichern sich an Feinpartikeln des Bodens an (107). Die Abtrennung von größerem Material erfolgt über Siebe, Hydrozyklone, Sedimentations- oder Flotationsverfahren (48, 107). Die hochkonzentrierten Reststoffe müssen anschließend entsorgt werden (48). Die Bodenwäsche erfolgt in *off-site*- oder *on-site*-Reinigungsanlagen und besteht aus mehreren Verfahrensstufen: Bodenvorbereitung, Nassaufschluss, Klassieren, Waschen der Schluff-, Sand- und Kiesanteile sowie Prozesswasser- und Abwasseraufbereitung (48).

Eine weitere Methode ist die Mobilisierung von Schadstoffen durch die Zugabe hochkonzentrierter, oberflächenaktiver Tensidlösungen (6, 13, 108, 109). Dieses Verfahren wird in der Praxis oft von Mineralölraffinerien zur Sanierung von kontaminierten Flächen angewendet (109). Die Abwässer werden mittels tieferliegender Drainagen gesammelt und entsprechend gereinigt (109).

Bei der **Mikro-Emulsions-Sanierung** kommt zusätzlich zu den Tensiden ein 4 %iger Öl-Anteil zum Einsatz, um die Desorption zu beschleunigen (106, 108, 110). Die in diesen Methoden verwendeten Tensid/Öl-Mischungen werden in sehr hohen Konzentrationen auf den Boden appliziert (106, 108, 110). Hierbei muss sichergestellt werden, dass keine Schadstoffe in tiefere Bodenschichten oder gar ins Grundwasser gelangen, da dies die Belastungssituation verschlimmern würde (106, 108, 110).

Insgesamt sind all diese Verfahren aufwändig, es entsteht zusätzlich belastetes Material, das wieder saniert oder sicher endgelagert werden muss (110).

Tabelle 3: Sanierungsmethoden für Böden
(111)

	Bodenwäsche	Thermische Verfahren	Bodenluft-Absaugung	Biologische Verfahren	Mikro-Emulsions-Sanierung
Verfahrensprinzip	Extraktion, Mobilisierung, Spaltung	Verbrennung, Verdampfung	Unterdruck	mikrobiologischer Schadstoff-Abbau	Drainagierung, Mobilisierung, Desorption
Schadstoffe	organisch, anorganisch	organisch, anorganisch nur bedingt	leichtflüchtige organische Verbindungen	organisch	organisch anorganisch
Bodenarten	Kies, Sand, Ton und Schluff nur bedingt	alle Bodenarten	Kies, Sand, Ton und Schluff nur bedingt	alle Bodenarten (ggf. Vorbehandlung)	alle Bodenarten
Sanierungsort	on-site off-site	on-site off-site	on-site	on-site off-site in situ	on-site off-site in situ
Verwendbarkeit des Bodens	Wiederverfüllung, Rekultivierung	Wiederverfüllung, Rekultivierung	Verbleib im Boden	Wiederverfüllung, Rekultivierung, Verbleib im Boden	Materialanteil muss sicher endgelagert werden
Reststoffe	kontaminierte Schlämme (ca. 10 %)	Filterstäube, evtl. Schlämme	Rückstände aus der Abluftreinigung	keine	kontaminiertes Material zur Endlagerung

Mikroorganismen können Schadstoffe metabolisieren und im besten Fall in nicht-toxische Substanzen umwandeln (111). Diese *in-situ*-Verfahren können am Standort selbst durchgeführt werden, sind jedoch mit einer deutlich längeren Dekontaminierungszeit verbunden und hängen von der Bodenbeschaffenheit ab (111). Hierzu zählen die Korngrößenverteilung, die Wasserkapazität, der mikrobielle Belebungsgrad, der Lufthaushalt und die Durchlässigkeit für Flüssigkeiten und Luft (105). Um diese Methode effizient anwenden zu können, muss der Boden für Pilze und Mikroorganismen einen optimalen Lebensraum bieten (105). Bei einer intensiven landwirtschaftlichen Nutzung kann sich dieser optimale Lebensraum nur schwer einstellen, da durch das regelmäßige Umpflügen und die Anwendung von Agrarchemikalien, wie Dünger und Pestizide die Zeit für das Heranwachsen einer ausgewogenen Mikro- und Mesoflora im Boden meist zu kurz ist (105, 112). Das Ergebnis sind Defizite in der mikrobiellen Aktivität und in Folge ein verminderter Schadstoffabbau (105, 112).

Dabei hat das regelmäßige Umpflügen den größten Einfluss auf den Boden. Durch die stark invasive Bodenbearbeitung des Pflügens wird der mikrobielle Abbau von Altlasten im Boden verlangsamt (112). Das mikrobielle Milieu – sowie aerob als auch anaerob – benötigt

nach einer Umpflügung ein bis drei Jahre, um sich vollständig zu erholen (112). Aufgrund dieser langen Zeiträume ist eine rein bodenbasierte, biologische Sanierung von landwirtschaftlichen Nutzflächen weniger praxistauglich (112).

Eine Sanierungsmethode für Agrarflächen, die nicht ausschließlich von der mikrobiellen Aktivität abhängt, stellt die Phytosanierung dar (59, 77, 113). Hierbei übernehmen bestimmte Pflanzenarten die Extraktion der Kontaminanten aus den Böden. Dabei werden gezielt Pflanzen kultiviert, die eine besonders hohe Fähigkeit zur Extraktion von Schadstoffen aus dem Boden aufweisen und diese in ihrer eigenen Biomasse akkumulieren (114, 115). Ebenso kann die Pflanze dazu beitragen, Schadstoffe zu volatilisieren, zu stabilisieren oder zu transformieren (Abbildung 3).

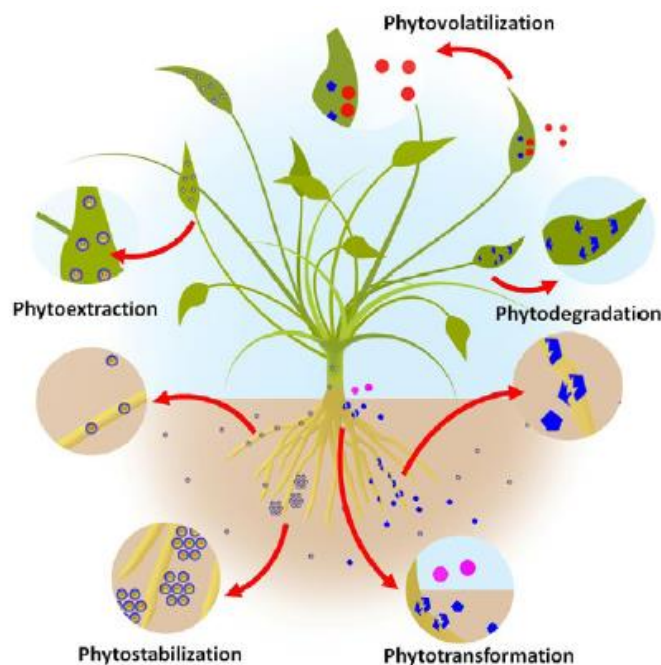


Abbildung 3: Funktionen der Phytosanierung
(113)

Nach Salt *et al.* unterscheidet man folgende Arten der Phytosanierung (74):

Phytodegradation/-transformation: durch Abbaumechanismen in der Pflanze werden Schadstoffe metabolisiert und in weniger persistente Metabolite umgewandelt, abgebaut (Phytodegradation) oder transformiert (Phytotransformation). Die Degradation/Transformation kann extern durch Wurzelexsudate oder durch die Interaktion von Pilzen, Bakterien und der Pflanze in der Rhizosphäre erfolgen. Beispielsweise kann

Aspergillus niger anorganische Metallverbindungen in organische Metalloxe umwandeln (113).

Phytostabilisation: hierbei werden Pflanzen verwendet, um die Bioverfügbarkeit von Schadstoffen in der Umwelt zu reduzieren (113). Kontaminanten werden dabei im feinen Wurzelsystem der Pflanze akkumuliert, am Wurzelsystem adsorbiert oder ausgefällt (113). So stabilisiert z.B. *Gentiana pennelliana* Blei, Kupfer und Zink in den Bodenschichten (113).

Phytovolatilisierung: hierbei extrahiert die Pflanze Schadstoffe aus dem Boden und setzt diese meist über die Stomata in den Blättern während des Gasaustausches in Form von flüchtigen Verbindungen in die Atmosphäre frei (113, 116). Phytovolatilisierung kann für die Reduzierung von organischen Verunreinigungen und Metallen verwendet werden (113, 116). Brassicaceae sind besonders effektiv in der Phytovolatilisierung. Zum Beispiel kann *Brassica juncea* effektiv bis zu 95 % Hg aus kontaminierten Böden durch Volatilisierung und Akkumulierung in Pflanzenmaterial entfernen (113, 117).

Phytoextraktion/-akkumulation: dabei werden schadstoffakkumulierende Pflanzen, vorwiegend für die Entfernung von organischen Stoffen oder Metallen wie Zink und Mangan, kultiviert (113). Die Pflanze akkumuliert die Schadstoffe in der eigenen Biomasse, wie Blätter, Frucht oder Samen, die dann weiterverarbeitet werden können (113).

Diese Mechanismen treten in Kombination und in unterschiedlich ausgeprägter Form bei Pflanzen auf (113, 114, 118, 119). Je höher das gesamte Akkumulations-, Transformations-, Degradations-, Stabilisations-, Extraktions- und Volatilisierungspotential einer Pflanze ist, desto effizienter kann sie zur Phytosanierung eingesetzt werden (113, 114, 118, 119).

Die Phytosanierung durch Phytoextraktion bietet den Vorteil, dass die Sanierung direkt am Standort durchgeführt werden kann und die Pflanzen meist eine selektive Akkumulation spezifischer Kontaminanten aufweisen (118, 120). Beispielsweise wurden gezielt Pflanzen kultiviert, die organische Chlorverbindungen akkumulieren (77, 120). In diesem Kontext eignen sich Pflanzen aus der Gattung *Cucurbitaceae* und dabei vorrangig Kürbispflanzen besonders gut für den Einsatz bei der Phytosanierung (43, 77).

Durch die tensidhaltigen Wurzelexsudate und Polysaccharide in der Rhizosphäre der Kürbispflanze *Cucurbita pepo* Howden kommt es im Vergleich mit anderen Pflanzen zu einer um den Faktor 2 höheren DDT-Aufnahme in die Pflanze (115, 119, 121–125). Bei der

Phytoextraktion kann die Kürbispflanze daher als Transportvehikel für die Aufnahme von DDX aus dem Boden dienen (43, 77). Es ist jedoch noch nicht vollständig geklärt, von welchen Faktoren die Akkumulation abhängt und inwiefern die Zusammensetzung der Wurzelexsudate ausschlaggebend ist (126, 127). Wurzelexsudate kommen natürlicherweise in Böden vor und sind ein Gemisch aus Polysacchariden, Aminosäuren, Alkaloiden und weiteren Stoffen, die von der Wurzelspitze ausgeschieden werden (128–130). Diese und zum Teil auch Huminsäuren (109, 131, 132) mobilisieren, ähnlich wie Tenside, Kontaminanten im Boden (12, 82). In zwei Publikationen wird auf die niedermolekularen Zucker in den Wurzelexsudaten der *Cucurbitaceae* verwiesen (126, 127), die deren hohe OCP-Akkumulation erklären könnte. Die Wurzelexsudate können aber auch als Mobilisierungshilfen dienen, indem sie auf die physikalisch-chemischen Eigenschaften des Bodens wirken und die Lösung von Kontaminanten im wässrigen Bodenanteil fördern (133). Die OCP-Aufnahme in *Cucurbitaceae*-Pflanzen wird durch die Sorption an organisches Bodenmaterial und durch die Polarität der PSM-Rückstände weiter beeinflusst (134).

Ungeklärt ist noch, wie eine sinnvolle Weiterverarbeitung bzw. Entsorgung des Pflanzenmaterials nach der Phytoextraktion mit seinen hohen Konzentrationen an Kontaminanten, vollzogen werden kann (43). Ähnlich wie bei der Bodensanierung mit Mikroorganismen ist auch die Phytosanierung in der Regel zu zeitaufwendig, um Rückstände aus Böden zu entfernen (43).

Durch die bisherigen chemischen Anwendungen zur Bodensanierung und anderen Untersuchungen wurde gezeigt, dass Tenside bzw. Formulierungen, Kontaminanten wie DDX mobilisieren können (12, 82, 84, 135). Allerdings lag der Fokus von Herstellern, Anwendern und Kontrollorganen bei Agrarchemikalien bisher ausschließlich auf den Wirkstoffen. Auch wurden Umweltwirkungen und Kontraindikationen, mögliche Effekte von Formulantien und im Hinblick auf eine Mobilisierung bisher nicht näher berücksichtigt.

Da PSM-Emulsionsformulierungen sehr häufig auch hohe Anteile an Tensiden enthalten, stellte sich die Frage, inwieweit es durch die Anwendung von PSM zur Mobilisierung der Kontaminante DDX kommen kann und inwieweit die ggf. mobilisierte Kontaminante DDX durch Phytoextraktion von *Cucurbita pepo*. aus Böden entfernt werden könnte.

Diese beiden Fragestellungen bildeten den Schwerpunkt der vorliegenden Dissertation. Dabei galt es, die Mobilisierung der Kontaminanten im Boden durch tensidhaltige PSM-

Formulanten (Abbildung 4) zu quantifizieren, sowie das Ausmaß der DDX Akkumulation in der Pflanze zu bestimmen. Letztlich sollte die Funktionalität und Anwendbarkeit der Phytoremediation evaluiert werden. Das Ausmaß der Mobilisierung von DDX durch tensidhaltige PSM und das Potential einer gezielten Phytoextraktion wurde in Feldversuchen untersucht.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen wurden in zwei *peer-reviewed* Artikeln veröffentlicht (Veröffentlichung 1 und 2). Die wesentlichen Ergebnisse werden im nun folgenden Kapitel 2 vorgestellt und diskutiert.

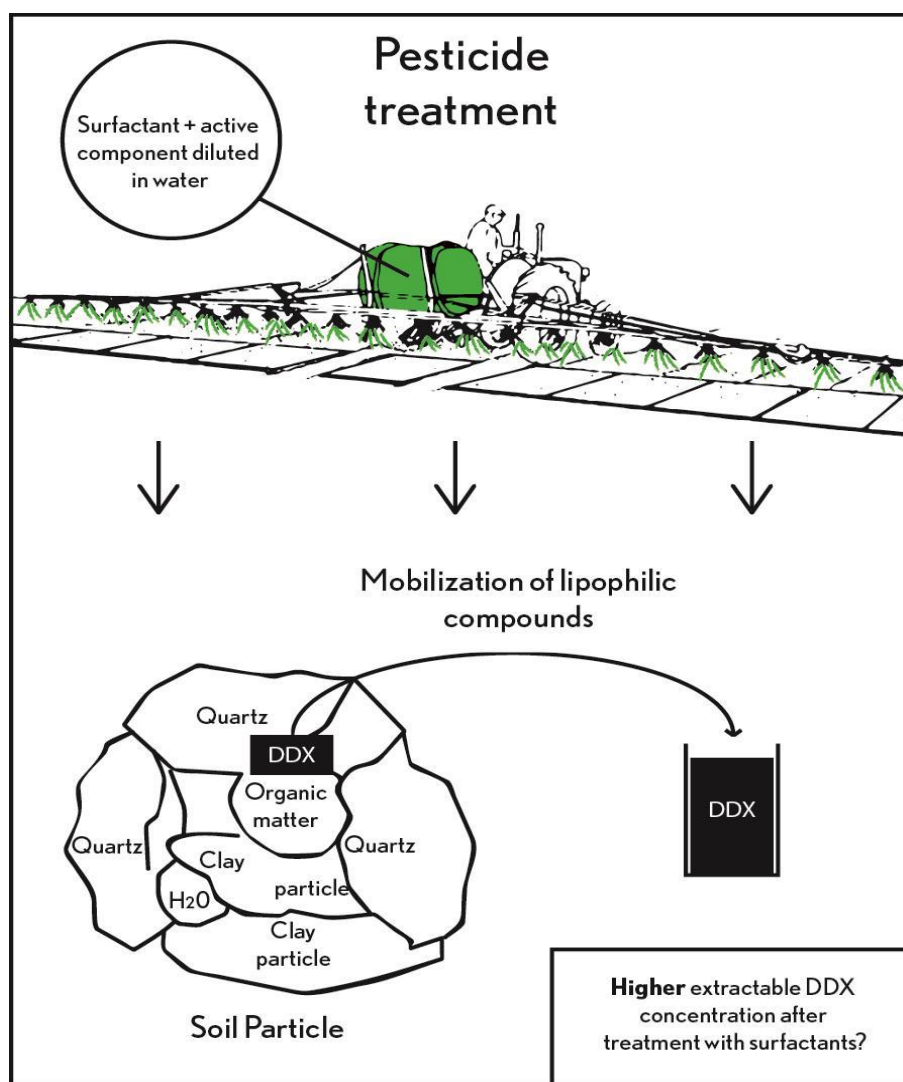


Abbildung 4: Schematische Darstellung der Haupthypothese und Fragestellung der vorliegenden Dissertation

Manuskript 1:
**How Do Modern Pesticide Treatments Influence the Mobility of Old
Incurred DDT Contaminations in Agricultural Soils?**

How Do Modern Pesticide Treatments Influence the Mobility of Old Incurred DDT Contaminations in Agricultural Soils?

Julia Neitsch,[†] Wolfgang Schwack,[‡] and Philipp Weller^{*,†}

[†]Institute for Instrumental Analytics and Bioanalysis, Mannheim University of Applied Sciences, Paul-Wittsack-Strasse 10, 68163 Mannheim, Germany

[‡]Institut für Lebensmittelchemie, Universität Hohenheim, 70599 Stuttgart, Germany

 Supporting Information

ABSTRACT: Even more than 50 years after the ban of DDT in Germany, farmers are still affected by its persistence in contaminated soils. Depending on the crop cultivated on such soils, this often leads to low-level residues of DDT and its metabolites DDE and DDD ("DDX"), which are perceived as a risk by the food value chain. Pesticide formulations used in modern agriculture commonly contain high levels of surfactants, but so far no open-field studies have evaluated the effects of these treatments on the mobility of lipophilic contaminants, such as DDX. In this field trial, a 1.03 ha section was cultivated with *Cucurbita maxima* under realistic conditions to monitor the mobility of DDX in low-level contaminated agricultural soils in dependence of common pesticide applications. A typical organic treatment was compared to a conventional protocol. Soil samples were taken before and after each application. Samples from the organic section featured significantly higher extractable DDX contents in soil and water compared to the conventional section. The results show that modern pesticide treatments can have an unforeseen, yet significant influence on the mobilization and, subsequently, on the plant bioavailability of incurred DDX residues depending on the formulation composition.

KEYWORDS: DDT, mobility, agricultural practice, surfactants

1. INTRODUCTION

Agrochemicals and especially pesticides have been an integral part of modern agriculture for the last several decades, and during this period, more and more of the once glorified active compounds have been banned due to serious issues with regard to toxicity and their environmental behavior. However, none of the compounds ever used has been so much in the focus of researchers as the insecticide DDT. The former "silver bullet" for virtually all insecticide pests was banned in most countries for agricultural use in 2004 by the Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants (POP), however, it is still in use as a Malaria vector control agent in some countries. Most western nations stopped agricultural use already in the 1970s and 1980s, which is also the case for Germany, where DDT was totally banned in 1972. Still, even more than 40 years after the use ban of DDT in agriculture in Germany, the most prominent member of the "dirty dozen" still haunts farmers with its persistence in contaminated soils, especially in the southwestern regions with their intensive agricultural use.

While DDX residue definitions exist for the exposure pathway soil–human (e.g., building land), there are no thresholds in the German Bundes-Bodenschutzgesetz¹ for the pathway soil–plant, which reduces the interest in laborious and expensive remediation procedures. As a result, DDX levels in agricultural soils in Germany still range up to 200 µg/kg². In comparison, contamination levels in southeastern countries, such as Turkey, where DDT was used for vector control of *Anopheles*, are reported to be values up to 2700 µg/kg³.

Today's agronomists employ an increasing number of agrochemicals, among of which the most important are pesticides, fertilizers, soil management chemicals, and plant

health products. A majority of these products are spray-applied, which also delivers those products to the soil, either intended or nonintended. Commonly, modern pesticides are applied as formulations of active compounds, surfactants, thickeners, and other adjuvants to simplify the application and dosage for the agronomist but also to improve efficacy. The most prominent class of substances apart from the active compounds are typically surfactants, most of which are nonionic (e.g., Triton X, Tween class surfactants). As a result, a mixture with high surfactant activity is released into the soil.

The adsorption of DDX is associated with the organic matter,^{3–5} where it is primarily bound to the soil organic matter (SOM).^{6,7} Under static conditions, DDX remains present in upper soil layers, however, it was shown that modern herbicides may lead to soil erosion and subsequently to an increased release behavior of incurred DDX.⁸ It is also known that lipophilic contaminants adsorbed to the dissolved organic carbon (DOC) fraction of the soil show an increased water solubility and, as such, mobility.⁹ Surfactants may increase the mobility of SOM-adsorbed lipophilic contaminants, which was already discussed for the direct application of surfactants to soils for remediation purposes or even to support biodegradation.¹⁰ In the field of remediation, DDX and other organic contaminants are mobilized from the soil organic matter which subsequently leads to a depletion.^{11–18} It was also shown that

Received: July 15, 2016

Revised: September 16, 2016

Accepted: September 23, 2016

the influence on the mobility of organic pollutants depends on the type of clay minerals in soil.^{19–21}

It is remarkable, however, that so far none of these studies have evaluated a potential influence of common pesticide treatment protocols on the soil mobility of DDX. It is almost certain that the application of either surfactant solutions or surfactant–pesticide solutions will result in comparable effects, which is highly relevant for agronomists. A number of crops, in particular the *Cucurbitaceae*, are known for their increased bioaccumulation of DDX and, therefore, are discussed as suitable for the phytoremediation of contaminated soils.^{3,22–25} A higher mobility of DDX induced by surfactant activity could result in a shift in the uptake behavior of DDX in plants with a higher tendency of bioaccumulation, depending on the agrochemical treatment of the crop. While this is an intended effect in phytoremediation, an increase or even the mere detectability of DDX residues in food crops are perceived as a risk by the food value chain.

Therefore, this study was designed and conducted primarily to evaluate the effects of typical crop treatments in conventional farming, compared to those in organic farming, on the mobility of DDX in intensively cultivated soils under real-life conditions. Special emphasis was placed on an open-field cultivation without foil covers or pot cultivation. The focus was set on agrochemical products with different surfactant classes and contents.

Soil mobility is a complex process to monitor, which usually requires the use of radiolabeled substances, which is not feasible on open fields. An indirect measure for an increased mobility however is the organic-extractable DDX content in the soil and leached soil water. The two compartments, nonpolar organic soil compounds that adsorb DDX, opposed to the polar water fraction with the dissolved organic carbon, should give an estimate of a change of DDX mobility upon treatment with surfactants.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Chemicals. All solvents were of HPLC or GC grade. Acetone, dichloromethane, methanol, and *n*-hexane were purchased from VWR (Bruchsal, Germany).

Pure standards of quintozone, DDT, DDE, and DDD were obtained from Sigma-Aldrich. PCB80 was purchased from Dr. Ehrenstorfer (Augsburg, Germany) and was used as an internal standard. Sea sand was purchased from PanReac AppliChem (Darmstadt, Germany). Florisil (mesh 100–200) was purchased from Alfa Aesar (Karlsruhe, Germany).

2.2. Calibration Standards. The solvent calibration standards were prepared at concentrations of 10, 4, 2, 1, 0.5, and 0.1 mg/L for each pesticide (*p,p'*-DDT, *p,p'*-DDD, *p,p'*-DDE) in *n*-hexane with 1 mg/L quintozone as an internal standard in each calibration point. Quintozone ($\log K_{ow}$ 4.61²⁶) was used as an internal quality control standard to monitor the status of the GC column. It is strongly inflicted by a matrix-induced degradation of the chromatographic phase and shows peak splitting, which was used as an indicator for column replacement. PCB80 ($\log K_{ow}$ 6.20²⁷) was used as a second quality control standard for the extraction recovery due to its comparable K_{ow} value ($\log K_{ow}$ DDT 6.91, $\log K_{ow}$ DDE 6.51, $\log K_{ow}$ DDD 6.02²⁸) and was used at a concentration of 1 mg/L in *n*-hexane. For both internal standards, symmetric peak shapes and recoveries in the range of 70–120% were considered acceptable according to SANCO/12571/2013.

2.3. Cultivation Area and Pumpkin Cultivation. The trial field was a section of 1.03 ha of conventionally farmed land in Rhineland-Palatinate in Germany. The soil type was classified as silty loam with 1.4% humus content; average DDX residual levels of the analyzed soil

in this section ranged between 20 and 60 $\mu\text{g/kg}$ in dry matter (in-house measurements).

The field was cultivated with approximately 10000 seedlings of the pumpkin cultivar *Cucurbita maxima* (Orange Summer F1, 1 plant/ m^2). The seedlings were obtained from a local breeder.

The trial field was divided into three subsections: a control area without the use of plant protection chemicals, a second area with conventional pesticide treatment, as approved for this culture in Germany, and a third section, which was treated with pesticides according to the European organic farming guideline²⁹ (Figure 1).

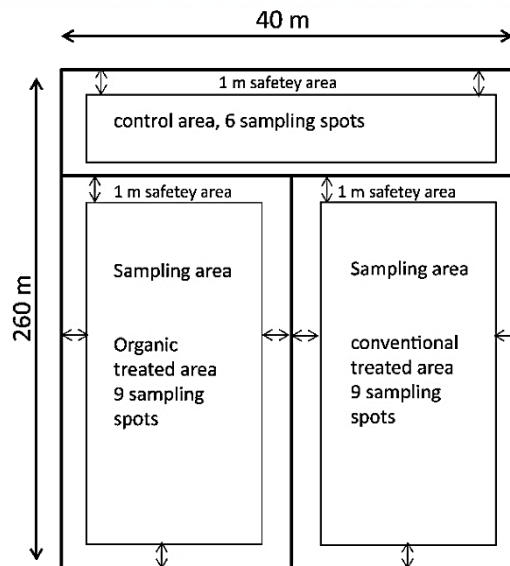


Figure 1. Setup of the trial field with three sections. On each sampling spot, a pooled sample from 0–10, 10–20, and 20–30 cm sampling depth was prepared to increase homogeneity.

This guideline prohibits the use of synthetic pesticides, as well as synthetic fertilizers as used in conventional practice, which limits the agronomists to a few active compounds, such as copper, neem, natural pyrethroids, or natural fertilizers, respectively. Between the control zone and the treated zones, a corridor of 1 m was kept untreated to avoid cross-contamination.

Conventional treatment was performed starting 4 weeks after planting until full bloom by spray application of 1 L/ha azoxystrobin (250 g/L) and 0.2 L/ha thiacloprid (480 g/L), diluted in 600 L of water. The area treated according to organic farming guidelines was treated with a 4% azadirachtin A formulation, which was also spray applied at an application rate of 3 L/ha in the same time frame. Furthermore, a treatment with a 0.5% mixture of natural pyrethroids (6 L/ha) was performed once during the cultivation period. The major components of the respective formulations are given in Table 2, together with the application rates.

All of the three sections were fertilized by conventional fertilizing product (Nitrophoska perfect 15 + 5 + 20, 800 kg/ha).

2.4. Sampling and Sample Preparation. Sampling points were 24 identically marked spots (nine spots in the organic treated area, nine spots in the conventionally treated area, and six spots in the control area). The sampling procedure was performed following the respective guidelines.³⁰

To avoid a pesticide drift from neighboring areas, samples were taken 1 m away from the nontreated area as well as from the treated areas.

Soil samples were taken before and after each pesticide application (1 week after each application and finally, 2 months after the last application).

B

DOI: 10.1021/acs.jafc.6b03168
J. Agric. Food Chem. XXXX, XXX, XXX–XXX

The samples were taken by a soil sampler (30 × 5 cm) in three sampling depths of 0–10, 10–20, and 20–30 cm. Samples from the individual depths were pooled into one sample to improve homogeneity. The soil was dried in a desiccator over P₂O₅ at 22 °C for 48 h and subsequently homogenized by a mortar and stored protected from light at room temperature until subjected to extraction and analysis.

2.5. Extraction and Analysis of Soil Samples. The extraction of the soil samples was performed by an accelerated solvent extraction system ASE 200 (Dionex, Idstein, Germany). For each extraction, 20 g of soil was mixed with 100 µL of PCB80 extraction standard solution (1 mg/L) and was subsequently transferred into 33 mL stainless steel extraction cells, which were prefilled with 5 g of sea sand to ensure a homogeneous packing and comparable filling volumes of the cells. A subsequent layer of sea sand was added.

The extraction program was performed according to Tao et al.:³¹ preheat 5 min, heat 5 min, static 10 min, temperature 100 °C, pressure 100 bar, flush 60% vol, purge 1 min with pressurized nitrogen, and extraction solvent acetone/dichloromethane 50:50 (v/v).

2.5.1. Sample Cleanup. The ASE extracts were evaporated to dryness by a rotary evaporator and redissolved in 40 mL of *n*-hexane containing 8% (v/v) acetone. Sample cleanup was performed on a column packed with 13 g of Florisil. Before use, Florisil was dried for 24 h at 100 °C and subsequently deactivated with deionized water (77 mL/kg). The soil extract was transferred onto the Florisil column and eluted with 30 mL of *n*-hexane containing 15% acetone (v/v). The purified extracts were evaporated to dryness, redissolved in 1 mL of an *n*-hexane solution of quitozene (1 mg/L) as an internal standard, and filtered through a 0.45 µm PTFE membrane filter (Sartorius, Göttingen, Germany).

2.6. Extraction and Analysis of Water Fraction. Twenty samples of 120 g of soil (pooled from 0 to 30 cm sampling depth) were collected from the untreated control area to form two sample subsets of 10 samples each. The soil samples were then split into aliquots of 10 g into 50 mL Falcon tubes. The first sample subset set was treated with the azadirachtin A formulation product in a concentration corresponding to three applications (0.3 mL/m² each), which is the usual application practice in agriculture, and the second subset was treated with 40 mL of demineralized water as a control.

All samples were kept in an overhead shaker for 24 h and subsequently centrifuged at 3000 rpm for 30 min. The supernatant was removed, spiked with the PCB80 solution as internal standard and then extracted by SPE on a CHROMABOND C8, 6 mL, 500 mg (Macherey-Nagel, Dueren, Germany). After drying, the SPE column was eluted with 1 mL of *n*-hexane, and the samples were subjected to GC-MS analysis.

2.7. Sample Analysis. DDT and its metabolites DDE and DDD were analyzed on an Agilent 5973 GC-MSD system (Waldbronn, Germany), operated in the SIM mode under EI ionization. The separation column was a Zebron DB5-MS (Agilent, Waldbronn, Germany), 30 m × 0.2 mm, 0.25 µm film thickness. The chromatographic parameters were as follows: initial temperature 50 °C, held for 4 min; 10 °C/min to 230 °C; 5 °C/min to 280 °C, hold 10 min. Total run time was 42 min. A sample volume of 1 µL was injected by pulsed splitless injection at 280 °C, using a Sky Inlet Liner (Restek, Bad Homburg, Germany). Helium was used as carrier gas with a flow of 1 mL/min. The ion source was kept at 230 °C. SIM ions and retention times of quitozene, *p,p'*-DDE, *p,p'*-DDD, *p,p'*-DDT, and PCB80 were *m/z* 237 (19.39 min), *m/z* 246 (22.38 min), 235 *m/z* (23.50 min), *m/z* 235 (24.42 min), and *m/z* 291 (25.34 min), respectively. All measurements were run in duplicates.

2.8. Statistical Analysis. For all calculations, mean values of DDX levels from replicate samples were used together with the respective standard deviations. For the graphical depiction, box-whisker plots were used. All data were analyzed for homogeneity of variance and normal distribution by a one-way analysis of variance (ANOVA) by a Tukey's comparison test. All statistical analysis was performed using GraphPad Prism (version 5.04, GraphPad Software, Inc., CA, USA). Level of significance in all cases was *P* < 0.05.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Contamination Background Level of DDX, Initial Field Situation. Even more than 40 years after the use ban, residues of organochlorine pesticides and, specifically, DDX, are still found in agricultural soils of intensive farming areas of southwestern Germany. The trial field residual levels ranged 20–60 µg/kg DDX in dry matter, which is typical for this region. While these contamination levels are obviously far away from typical “hot zones”, as found in the USA³³ or Asia,³⁴ it is important to underline that even such low levels may pose an issue for agronomists cultivating these areas.

Depending on the residual level and the crop cultivated on these soils, this can lead to significant residues in the crop. In particular, this is observed in *Cucurbitaceae*, such as pumpkin or squash. The DDX biomagnification tendency of the latter is distinct, therefore a number of publications have evaluated the potential for phytoremediation purposes.^{3,22–25}

To estimate whether the application of pesticide formulations in common agricultural practice could lead to differences in the mobility of DDX residues in soils, soil samples were extracted by organic solvents as well as with demineralized water to simulate irrigation water. The organic extraction should reflect a change in the adsorption status of DDX to the soil particles. In contrast, the content in the water fraction will correlate with the dissolved organic carbon to which DDX are bound and, as such, made available to plant uptake.

As a prerequisite, it was necessary to ensure a comparable residue distribution over the field. Therefore, the three different sections (conventional, organic, and control area) were sampled 1 day before starting the study. Soil samples were taken in all three areas as described in section 2.4 and analyzed by GC-MS. The data were normal distributed, and the residue situation showed no significant differences all over the trial field (*P* > 0.05).

3.2. Calibration Curves, Limit of Quantification, and Recovery. Solvent calibration curves were generated from the following DDX solutions: 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, and 4.0 mg/L for the soil samples and 1, 10, 100, 500, and 1000 ng/L for the water sample analysis. Each calibration solution also contained 1 mg/L quitozene as internal standard. Calculated correlation coefficients were better than *R* = 0.99. Limits of quantification (LOQ) were calculated via an S/N ratio of >10 and were as follows: DDT (5 ng/L), DDE (0.5 ng/L), and DDD (0.5 ng/L). The mean recovery rates for all samples of the internal standard PCB80 were 95.6 ± 9.6% for all samples and as such in the commonly accepted range of 70–120%.³² Recovery rates within the three sample groups (control, conventional, and organic) showed no significant differences (*P* > 0.05).

3.3. Extractable DDX from Soil after Application of Pesticide Formulations. The application of the pesticides to the plants was carried out by a boom sprayer. One day before the pesticide application, 1 week after each application, and finally, 2 months after the last application, the soil was analyzed for DDX by the same extraction procedure. Table 1 shows the DDX contents in soil before and after the application in the separate sections.

The control area, as well as the conventionally treated area, showed no significant changes in the DDX levels, however, the organic trial section featured a significant increase (*P* < 0.05) of the measurable DDX before and after application (Figure 2). The standard deviations of the three sections showed a noticeable variation (Table 1 and Figure 2) over the study time,

C

DOI: 10.1021/acs.jafc.6b03168
J. Agric. Food Chem. XXXX, XXX, XXX–XXX

Table 1. DDX Levels in Soil Samples^a

DDX in soil [μg/kg]	control (n = 18)	conventional (n = 27)	organic (n = 27)
Before Treatment			
DDT	8.2 ± 2.9	6.8 ± 2.3	5.7 ± 2.5
DDE	34.4 ± 9.4	29.4 ± 8.5	31.4 ± 11.2
DDD	0.4 ± 0.2	1.3 ± 0.4	0.7 ± 0.4
ΣDDX	42.8 ± 10.6	37.9 ± 12.9	37.8 ± 13.9
1 Week after Treatment			
DDT	5.6 ± 2.4	6.9 ± 1.9	11.4 ± 4.2
DDE	34.2 ± 5.7	34.2 ± 10.4	44.9 ± 2.7
DDD	1.6 ± 0.6	0.9 ± 0.5	1.3 ± 0.7
ΣDDX	41.1 ± 5.2	41.5 ± 9.9	57.8 ± 6.5
2 Months after Treatment			
DDT	7.4 ± 2.5	6.4 ± 1.2	10.8 ± 2.4
DDE	31.8 ± 6.4	35.1 ± 8.7	53.7 ± 9.1
DDD	1.9 ± 0.8	1.9 ± 0.6	0.6 ± 0.3
ΣDDX	40.8 ± 5.9	42.6 ± 9.4	64.0 ± 8.4

^aData are given as mean values ± standard deviation. The values are the average from the sampling depths 0–10, 10–20, and 20–30 cm.

which is due to relatively small sample sizes and the inherent inhomogeneity of this soil type, however, the differences discussed before are still significantly higher than the variations within the samples. DDX in the soil is considered to be static, therefore, this indicates an increased mobility or extractability as a result of the specific treatment. As soil sampling was performed always before and after each application, it was possible to narrow down the effect to one single type of product, which is a 4% (m/m) azadirachtin A formulation. The remaining 96% are mainly nonionic polysorbate surfactants of the Tween type together with plant oil (Table 2). This is in line with already published studies, which covered the potential of surfactants in general as a potential remediation tool for contaminated soils.^{14,15,35,36} The pyrethroid formulation used 1 week before the azadirachtin A product did not show any measurable effects, most probably due to its relatively low surfactant content of <5% Tween.

Recent trials demonstrating particularly the effects of Tween polysorbates were carried out on highly contaminated soils and used comparably high doses of surfactants (6.5 mg/kg soil³⁷) or directly extracted soil samples with surfactant solutions (corresponding to 20–25 g/kg soil^{35,38}). Nonionic surfactants, and in particular those of the Tween type, showed a higher

potential to enhance the solubility of DDT, even below the critical micelle concentration. This is in line with the effects observed in the organic section of the field trial, in which the pesticide formulation with the high content of Tween was used. With a maximum dosage of 0.3 mL formulated product/m² per application, the surfactant dosages in typical agricultural practice as applied in this trial however fall far below the dosages of the studies mentioned before.^{35,37,38} As this study is based on typical application rates given per m², it is not possible to calculate the exact mass ratio of surfactant to soil, however, based on the fact that the effect of the formulation was measurable up to a soil depth of 30 cm (and this is the typical zone used for cultivation), the following estimation was made: with a soil density of approximately 1.8 t/m³, a square meter corresponds to 540 kg of affected soil. A dosage of 0.3 mL formulation with 70% of Tween (1.08 g/cm³) corresponds to 227 mg, resulting in an effective dosage of 0.42 mg/kg of soil. This is a “worst-case” assumption based on a direct introduction of the entire formulation into the soil, which is not the case in agricultural practice where the product is spray-applied onto the plants. This approximation was also the basis for the desorption test described in section 2.6. Therefore, it is remarkable that an effect even in low-level contaminated soils was still observable. A possible explanation for this effect is that the surfactant amount is still high enough to mobilize or displace sequestered DDX from the soil organic fraction (SOM).

The reduced effect in the conventional trial section could be the result of the lower surfactant concentration in the products used (between 15 and 25% of formulation) along with the fact that none of the applied products contained polysorbates (see Table 2).

Previous studies investigated different soils with respect to the sorption behavior of pharmaceuticals³⁹ and clarified that the sorption behavior can strongly vary with the soil type. The composition of soil, especially different clay minerals, can also have an effect on the sorption behavior of surfactants.²⁰ Direct sorption effects of surfactants to clay minerals may also occur,¹¹ however, this is an effect observed for ionic surfactants, which are typically not used in agrochemical products.

To observe the long-term influence on the mobility of DDX in soil, further soil samples were taken 2 months after the final application (Figure 2). Even then, the DDX levels measured in the organic section were still significantly higher than before

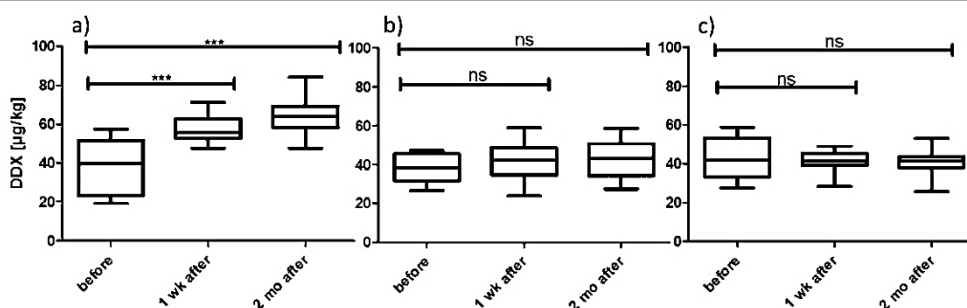


Figure 2. Box-Whisker plots of the distribution of the extractable DDX levels before and after pesticide applications, the band inside the box represents the median, and the box indicates the upper (75%) and lower quartile (25%). The whiskers are the maximum and the minimum levels. Indicated values are the average of sampling depths 0–10, 10–20, and 20–30 cm. (a) Organically treated area (n = 27), (b) conventionally treated area (n = 27), and (c) control area (n = 18). Significance level $P < 0.05$ indicated by *** (a), ns = not significant, $P > 0.05$ (b,c), calculated by ANOVA.

Table 2. Active Compounds, Main Components, and Application Rates of Pesticide Formulations

active substance	formulation type ^a	other main components	application rate
azoxystrobin (280 g/L) ^b	SC	fatty alcohol ethoxylates (10–18%) ^b naphthalene sulfonic acid based (1–5%) ^b	1X, week 1, 3L/ha
thiacloprid (480 g/L) ^b	SC	polyethylene glycol based (5–10%) ^c	1X, week 2, 3L/ha
pyrethrum (18 g/L) ^b	EC	Tween type (1–3%) ^c polyethylene glycol based (5–10%) ^c rapeseed oil (83%) ^b	1X, week 1, 6L/ha
azadirachtin A (4% m/m) ^b	EC	Tween type (>70%) ^c plant oil (15–20%) ^c	1X, week 2, 3L/ha

^aSC = suspension concentrate; EC = emulsifiable concentrate. ^bData obtained from manufacturer's material safety data sheet^{42–45} ^cData obtained by in-house measurements by LC-MS and ¹H NMR (cf. Supporting Information)

application. This observation tentatively confirms the assumption of a displacement effect of the surfactant in the SOM, facilitating the release of the adsorbed contaminants. The conventionally treated section also showed an increase in the median concentration, however, concentration shifts are still not significant.

3.4. Effect of Treatment on DDX Levels in Soil Water.

As the agrochemical treatment had a significant impact on the extractability of DDX from soil by organic solvents, the next step was the analysis of the water fraction. Considering the lipophilic character of DDX and the relatively low amount of DOC in the water fraction, which acts as a “carrier” for DDX, the expected concentrations in water should be orders of magnitude below the organic extractions. In general, increasing DDX concentrations in the water fraction may facilitate a higher uptake of DDX by microorganisms and plants.

To assess this question, soil samples were treated with the azadirachtin A formulation in typical dosages as they would have been used in the field by spraying the diluted product directly on the homogenized soil as described in section 2.6. The pyrethroid formulation from the organic section, as well as the formulations used in the conventional section, were not used for this test as there was no significant effect observable in the field trial. Treated samples versus nontreated control samples were then extracted with water for 24 h according to OECD guideline no. 106.⁴⁰ To reach the necessary limits of quantification, a concentration step by solid phase extraction was performed. The results are shown in Figure 3. The detected DDX ranged in the ng/L level and as assumed, a 3-fold increase of the DDE concentration in the water fraction, was clearly

detectable, while DDT and DDD were not detectable (Table 3). This effect can be explained by the fact that DDE

Table 3. DDX Levels in Water Fraction^a

		untreated (n = 10)	treated (n = 10)
water fraction [ng/L]	DDE	6.7 ± 2.1	26.8 ± 5.9
	DDT	nd	nd
	DDD	nd	nd

^aData are given as mean values ± standard deviation.

commonly is the most abundant metabolite of DDT in soil. Even though the concentrations in the water phase (6–27 ng/L) are 3 orders of magnitude below the organic extraction (20–60 µg/kg soil), it shows that at least DDE is more bioavailable when soil is treated with pesticide formulations based on high polysorbate surfactant contents. This could lead to higher bioaccumulation in specific crops, such as the *Cucurbitacea*, cultivated on contaminated soils upon treatment with surfactants. These plants are capable of producing root exudates, which have been shown to facilitate the desorption of DDT from soil and the subsequent uptake and translocation, resulting in comparably high bioaccumulation factors,²⁵ both on high- and low-level contaminated soils.

The results of this open-field trial demonstrate that the use of pesticide formulations in common agricultural practice can have a significant influence on the mobility of DDX contaminations in the soil, even when the agrochemicals are spray-applied onto the plants. In contrast to studies published so far, the introduction of the surfactant into the soil occurs unintentionally by draining or dripping from the plants.

It is clear that agrochemical formulations with high surfactant contents and, in particular, Tween polysorbates, will have a stronger effect as compared to products with low concentrations and other surfactant classes. However, it was surprising that the effective dosages of surfactants were much lower than discussed so far in the literature.^{35,37,38} This is an observation of high relevance, as it bears a potential risk for farmers in the first line: depending on the cultivation protocol, the analysis of soil samples for pesticide residues will deliver different results before and after application. As a consequence, soil residual levels have to be monitored over a longer period of time to avoid misinterpretation. Furthermore, as Tween surfactants also influence the soil water content of DDX due to an increased moisture absorption,⁴¹ treatments with Tween-based agrochemical products may result in a higher uptake behavior in

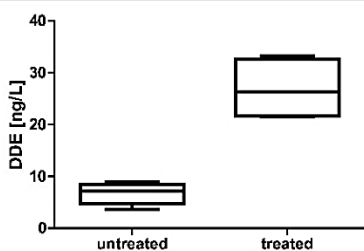


Figure 3. Box-Whisker plot of the DDE concentrations in the supernatant, control and treated soil with azadirachtin A formulation diluted to spray application dosage (n = 10). Significance level $P < 0.05$, calculated by ANOVA.

E

DOI: 10.1021/acs.jafc.6b03168
J. Agric. Food Chem. XXXX, XXX, XXX–XXX

crops which already show tendencies to accumulate DDX, such as *Cucurbitaceae*. It has to be underlined, however, that this is not an effect to be associated with organic farming in general but rather dependent on the formulation type. Whether this effect is typical for DDX in particular or is generally observable for other organochlorine pesticides or polycyclic aromatic carbons, should be evaluated in further studies. Furthermore, it is necessary to assess whether the higher DDX levels in the water fraction actually lead to a higher plant uptake behavior.

■ ASSOCIATED CONTENT

● Supporting Information

The Supporting Information is available free of charge on the ACS Publications website at DOI: 10.1021/acs.jafc.6b03168.

¹H NMR data and ESI mass spectra data for all used pesticide formulations and Tween surfactants (PDF)

■ AUTHOR INFORMATION

Corresponding Author

*Phone: +49 (0)621-292-6484. Fax: +49 (0)621-292-664841. E-mail: p.weller@hs-mannheim.de.

Funding

We thank the Karl-Voelker-Stiftung of Mannheim University of Applied Sciences for funding the project.

Notes

The authors declare no competing financial interest.

■ REFERENCES

- (1) Bundes-Bodenschutzgesetz (BBodSchG), 1998.
- (2) Geuß, U.; Hangen, E.; Schilling, B.; Spörlein, P. *Hintergrundwerte von Anorganischen und Organischen Schadstoffen in Böden Bayerns*; Bayerisches Landesamt für Umwelt (LfU): Augsburg, Germany, 2011; https://www.lfu.bayern.de/boden/hintergrundwerte/doc/hintergrundwert_umweltspezial.pdf (accessed June 20, 2016).
- (3) Isleyen, M.; Sevim, P.; White, J. C. Accumulation of weathered p,p'-DDTs in hybridized Cucurbita pepo cultivars. *Environ. Toxicol. Chem.* **2012**, *31* (8), 1699–1704.
- (4) Zhang, A.; Chen, Z.; Ahrens, L.; Liu, W.; Li, Y.-F. Concentrations of DDTs and enantiomeric fractions of chiral DDTs in agricultural soils from Zhejiang Province. *J. Agric. Food Chem.* **2012**, *60* (34), 8294–8301.
- (5) Bollag, J.-M.; Myers, C. J.; Minard, R. D. Biological and chemical interactions of pesticides with soil organic matter. *Sci. Total Environ.* **1992**, *123-124*, 205–217.
- (6) Alexander, M. Aging, Bioavailability, and Overestimation of Risk from Environmental Pollutants. *Environ. Sci. Technol.* **2000**, *34* (20), 4259–4265.
- (7) Carter, C. W.; Suffet, I. H. Binding of DDT to dissolved humic materials. *Environ. Sci. Technol.* **1982**, *16* (11), 735–740.
- (8) Sabatier, P.; Poulenard, J.; Fanget, B.; Reyss, J.-L.; Develle, A.-L.; Wilhelm, B.; Ployon, E.; Pignol, C.; Naffrechoux, E.; Dorioz, J.-M.; Montuelle, B.; Arnaud, F. Long-term relationships among pesticide applications, mobility, and soil erosion in a vineyard watershed. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **2014**, *111* (44), 15647–15652.
- (9) Chabauty, F.; Pot, V.; Bourdat-Deschamps, M.; Bernet, N.; Labat, C.; Benoit, P. Transport of organic contaminants in subsoil horizons and effects of dissolved organic matter related to organic waste recycling practices. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2016**, *23* (7), 6907–6918.
- (10) Mata-Sandoval, J. C.; Karns, J.; Torrents, A. Influence of Rhamnolipids and Triton X-100 on the Biodegradation of Three Pesticides in Aqueous Phase and Soil Slurries. *J. Agric. Food Chem.* **2001**, *49* (7), 3296–3303.
- (11) Haigh, S. D. A review of the interaction of surfactants with organic contaminants in soil. *Sci. Total Environ.* **1996**, *185* (1–3), 161–170.
- (12) Parfitt, R. L.; Whitton, S. J.; Susarla, S. Removal of DDT residues from soil by leaching with surfactants. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* **1995**, *26* (13–14), 2231–2241.
- (13) Volkerling, F.; Breure, A. M.; Rulkens, W. H. Microbiological aspects of surfactant use for biological soil remediation. *Biodegradation* **1997**, *8* (6), 401–417.
- (14) Wang, X.; Chen, J.; Lv, C. Evaluation of foam surfactant for foam-flushing technique in remediation of DDT-contaminated soil using data envelopment analysis method. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2015**, *22* (4), 2994–3003.
- (15) Yu, Z.; Yediler, A.; Yang, M.; Schulte-Hostede, S. Leaching behavior of enrofloxacin in three different soils and the influence of a surfactant on its mobility. *J. J. Environ. Sci.* **2012**, *24* (3), 435–439.
- (16) Adrion, A. C.; Nakamura, J.; Shea, D.; Aitken, M. D. Screening Nonionic Surfactants for Enhanced Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Remaining in Soil After Conventional Biological Treatment. *Environ. Sci. Technol.* **2016**, *50* (7), 3838–3845.
- (17) Karagunduz, A.; Gezer, A.; Karasuloglu, G. Surfactant enhanced electrokinetic remediation of DDT from soils. *Sci. Total Environ.* **2007**, *385* (1–3), 1–11.
- (18) Walters, G. W.; Aitken, M. D. Surfactant-enhanced solubilization and anaerobic biodegradation of 1,1,1-trichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)-ethane (DDT) in contaminated soil. *Water Environ. Res.* **2001**, *73* (1), 15–23.
- (19) Uslu, M. O.; Yediler, A.; Balcioglu, I. A.; Schulte-Hostede, S. Analysis and Sorption Behavior of Fluoroquinolones in Solid Matrices. *Water, Air, Soil Pollut.* **2008**, *190* (1–4), 55–63.
- (20) del Hoyo, C.; Dorado, C.; Rodríguez-Cruz, M. S.; Sánchez-Martin, M. J. Physico-chemical study of selected surfactant-clay mineral systems. *J. Therm. Anal. Calorim.* **2008**, *94* (1), 227–234.
- (21) Sanchez-Camazano, M.; Sanchez-Martin, M. J.; Delgado-Pascual, R. Adsorption and mobility of linuron in soils as influenced by soil properties, organic amendments, and surfactants. *J. Agric. Food Chem.* **2000**, *48* (7), 3018–3026.
- (22) Paul, S.; Rutter, A.; Zeeb, B. A. Phytoextraction of DDT-Contaminated Soil at Point Pelee National Park, Leamington, ON, Using Cultivar Howden and Native Grass Species. *J. Environ. Qual.* **2015**, *44* (4), 1201–1209.
- (23) White, J. C. Differential bioavailability of field-weathered p,p'-DDE to plants of the Cucurbita and Cucumis genera. *Chemosphere* **2002**, *49* (2), 143–152.
- (24) White, J. C.; Parrish, Z. D.; Gent, M. P. N.; Iannucci-Berger, W.; Eitzer, B. D.; Isleyen, M.; Incorvia Mattina, M. J. Soil amendments, plant age, and intercropping impact p,p'-DDE bioavailability to Cucurbita pepo. *J. Environ. Qual.* **2006**, *35* (4), 992–1000.
- (25) Lunney, A. I.; Zeeb, B. A.; Reimer, K. J. Uptake of weathered DDT in vascular plants: potential for phytoremediation. *Environ. Sci. Technol.* **2004**, *38* (22), 6147–6154.
- (26) Sangster, J. *Ocanol-Water Partition Coefficients: Fundamentals and Physical Chemistry*; Wiley: New York, 1997; 178 pp.
- (27) Ware, G. W. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology: Continuation of Residue Reviews*; Springer: New York, 2001; Vol. 169.
- (28) Howard, P. H.; Meylan, W. M. *Handbook of Physical Properties of Organic Chemicals*; CRC Press: Boca Raton, FL, 1997.
- (29) EG-Öko-Basisverordnung (EG) Nr. 834/2007; Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft, 2014.
- (30) DIN-ISO 10381-1:2002. *Bodenbeschaffenheit-Probenahme-Teil 2: DIN-ISO Anleitung für Probenahmeverfahren*; Beuth, 2002.
- (31) Tao, S.; Guo, L. Q.; Wang, X. J.; Liu, W. X.; Ju, T. Z.; Dawson, R.; Cao, J.; Xu, F. L.; Li, B. G. Use of sequential ASE extraction to evaluate the bioavailability of DDT and its metabolites to wheat roots in soils with various organic carbon contents. *Sci. Total Environ.* **2004**, *320* (1), 1–9.
- (32) SANCO/12571/2013 *Guidance Document on Analytical Quality Control and Validation Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed*; European Commission Health & Consumer Protection Directorate, 2013.

F

DOI: 10.1021/acs.jafc.6b03168
J. Agric. Food Chem. XXXX, XXX, XXX–XXX

- (33) White, J. C.; Parrish, Z. D.; Isleyen, M.; Gent, M. P. N.; Iannucci-Berger, W.; Eitzer, B. D.; Incorvia Mattina, M. J. Uptake of weathered p,p'-DDE by plant species effective at accumulating soil elements. *Microchem. J.* **2005**, *81* (1), 148–155.
- (34) Isleyen, M.; Sevim, P.; White, J. C. Accumulation of Weathered p,p'-DDTs in Grafted Watermelon. *J. Agric. Food Chem.* **2012**, *60* (4), 1113–1121.
- (35) Ahn, C.; Kim, Y.; Woo, S.; Park, J. Soil washing using various nonionic surfactants and their recovery by selective adsorption with activated carbon. *J. Hazard. Mater.* **2008**, *154* (1–3), 153–160.
- (36) Badr, T.; Hanna, K.; de Brauer, C. Enhanced solubilization and removal of naphthalene and phenanthrene by cyclodextrins from two contaminated soils. *J. Hazard. Mater.* **2004**, *112* (3), 215–223.
- (37) Betancur-Corredor, B.; Pino, N. J.; Cardona, S.; Peñuela, G. A. Evaluation of biostimulation and Tween 80 addition for the bioremediation of long-term DDT-contaminated soil. *J. Environ. Sci.* **2015**, *28*, 101–109.
- (38) Guo, P.; Chen, W.; Li, Y.; Chen, T.; Li, L.; Wang, G. Selection of surfactant in remediation of DDT-contaminated soil by comparison of surfactant effectiveness. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2014**, *21* (2), 1370–1379.
- (39) Tolls, J. Sorption of Veterinary Pharmaceuticals in Soils: A Review. *Environ. Sci. Technol.* **2001**, *35* (17), 3397–3406.
- (40) OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 1. Test No. 106: Adsorption–Desorption Using a Batch Equilibrium Method; OECD, 21 Jan 2000.
- (41) Asmus, E.; Popp, C.; Friedmann, A. A.; Arand, K.; Riederer, M. Water Sorption Isotherms of Surfactants: A Tool To Evaluate Humectancy. *J. Agric. Food Chem.* **2016**, *64* (26), 5310–5316.
- (42) Ortiva; Material Safety Data Sheet, Registration Number: 024560-00; Syngenta AG: Basel, Switzerland.
- (43) Calypso; Material Safety Data Sheet, Registration Number: 006411-00/00; Bayer CropScience AG: Monheim, Germany.
- (44) Spruzit; Material Safety Data Sheet, Registration Number: 006423-00/00; Neudorff GmbH: Emmerthal, Germany.
- (45) Neem-Azal; Material Safety Data Sheet, Registration Number: 024436-00/00; Trifolio-M GmbH: Lahnau, Germany.

Manuskript 2:

Modern Agrochemicals Influence Bioaccumulation of Incurred DDT Soil Residues in Pumpkins - Residue Risk or a Chance for Phytoremediation?



Modern Agrochemicals Influence Bioaccumulation of Incurred DDT Soil Residues in Pumpkins – Residue Risk or a Chance for Phytoremediation?

Julia Neitsch¹, Wolfgang Schwack², Philipp Weller¹

¹Institute for Instrumental Analytics and Bioanalysis, Mannheim University of Applied Science, Paul Wittsack-Strasse 10, 68163 Mannheim, Germany

²Institute of Food Chemistry, University of Hohenheim, Garbenstrasse 28, 70593 Stuttgart

***Corresponding Author: Philipp Weller**, Institute for Instrumental Analytics and Bioanalysis, Mannheim University of Applied Science, Paul-Wittsack-Strasse 10, 68163 Mannheim, Germany

Abstract: Although banned more than 50 years ago, residues of first generation organochlorine pesticide residues, such as DDT are still found in agricultural soils all over the world. Phytoremediation is a potential remediation strategy, using plants to remove these residues from the soils. One limiting factor is the low mobility and bioavailability of lipophilic compounds for plants. Soil mobility can be significantly increased by the application of surfactants to the soils. Agrochemicals, in particular crop protection formulations commonly contain major amounts of surfactants as adjuvants, a fact which so far has not been considered an influencing factor for the mobilization of organochlorine contaminants such as DDT. This study evaluated the influence of commonly applied agrochemical products on the bioavailability of DDT and its metabolites in pumpkins in an open-field trial. To compare different typically used products, organic farming pesticides were compared against conventional formulations.

Keywords: DDT, Persistent organic pollutants, Phytoremediation, Pesticide treatment, Agricultural practice, Modern pesticide treatment, Pumpkins.

1. INTRODUCTION

The extensive use of the so called “first generation” organochlorine pesticides, such as DDT (*1, 1, 1-trichlor-2,2-bis (4-chlorophenyl)ethan*), Lindane, Toxaphene or Mirex during the mid of the last century shaped a delicate heritage of contaminants for modern agronomists. While today, these substances are mostly banned for agricultural use by the 2004 Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants (POPs), some few are still used in developing countries, mainly due to their favorable costs and a still distinct efficacy. This is in particular the case for DDT, the main Malaria vector control agent in third world countries [1]. While western nations withdrew registrations for agricultural use already in the 1970s and 1980s, still even after almost half a century’s time after the use ban of DDT, the trailblazer of the “dirty dozen” still haunts agronomists with its longevity in contaminated soils.

Due to the high persistence of DDT and its metabolites DDE (*1-chlor-4-(2, 2-dichlorophenyl-1(4-chlorophenyl) ethenyl) benzene*) and DDD (*1-chlor-4-(2,2-dichlor-1-(4-chlorophenyl) ethyl) benzol*) (“DDX”) against microbial and chemical degradation, still distinct quantities of DDX are found in many soils all over the world [2–5]. The main hot spots are found in Asia [2,3], America [4,5] and southern Africa, while levels in Western Europe [6,7] are comparably low. In combination with the highly lipophilic character ($\log K_{ow}$ DDT = 6,91 [8]), DDX remain adsorbed mainly to soil organic matter and therefore, relatively static in upper soil layers. It is however known that lipophilic contaminants adsorbed to the dissolved organic carbon (DOC) fraction of the soil show an increased water solubility and therefore, mobility. This mobility may be significantly influenced by the application of surfactants, which was demonstrated in a number of studies [9–15], where surfactant/water mixtures were directly applied to soil samples or used to extract soils. Such mixtures are commercially used for the removal of non-aqueous phase liquids (NAPLs) [16] from highly-contaminated soils, e.g. resulting from oil leakages. This process is commonly performed by the

injection of a hot and pressurized surfactant/water mixture into the main site of contamination, emulsifying the NAPLs and subsequently, the removal of the emulsion by pumps [9–13]. While this is applicable for (expensive) building land as an alternative to removal and extraction, this is not feasible for agricultural soils. Costs are high and the treatments impair the soil microstructure. In the context of remediation, a mobilization of organic contaminants, such as DDX from soil organic matter is discussed as a first step towards depletion [17,9,18–21,12,13,22].

Interestingly, not all of the evaluated surfactants featured the same efficacy in terms of mobilization. In particular, non-ionic surfactants of the polysorbate type (Tweens) were shown [23,13] to be most effective in increasing mobility of DDX.

A potential alternative is the phytoremediation which refers to the cultivation of specific plants with a high bioaccumulation tendency for substance groups such as lipophilic contaminants [24,25] or heavy metals [26]. These plants are used as a vehicle to deplete contaminated soils by continuous extraction over a period of several years. A number of studies [6,27,28,5], especially on the phytoremediation of DDX contaminated soils have been published over the last years, which demonstrated that plants from the genus *Cucurbita* and *Cucumis* generally show a high tendency to accumulate DDX and other POPs from the soil. It was found that *Cucurbitaceae* secrete root exudates with emulsifying properties, which led to higher accumulation rates [29,30]. Most of these studies focused either on the identification of the most efficient cultivar [27,31,32] or on how to influence accumulation rates by adding organic matter, such as peat, potting soil or activated carbon [27,33]. In particular, *Cucurbita pepo* has been described as a high accumulation cultivar for DDX in numerous studies [32,28,6,34,35,31,36,36–38,27].

A drawback of phytoremediation strategies is the low bioaccumulation rate [39,30], due to the fact that the passive uptake of lipophilic compounds is limited by the bioavailability of the contaminants in the soil or soil water. DDX feature a water solubility in the lower $\mu\text{g/L}$ level (DDT: $1.2 \mu\text{g/L}$), which limits bioavailability in general. Wu *et al.* evaluated the efficacy of alfalfa, inoculated with arbuscular mycorrhiza to biodegrade DDX and other organochlorine pesticides (OCPs) in the soil after mobilization with Triton X-100 [40]. It could be demonstrated that the degradation efficacy was significantly increased when non-ionic surfactants were used.

So far, published studies have not evaluated a potential benefit of an application with modern pesticides with a high amount of surfactant in combination with crops of a high DDX accumulation tendency, such as pumpkins or squash. It is at least probable that the high amount of surfactant, in particular with Tween type surfactants and vegetable oil, may lead to higher accumulation rates into plants, even without biotechnological enhancement.

Remediating surfactant treatments are no common practice in modern agriculture and would be subject to regulatory restrictions in most countries. However, surfactants are already widely used in modern agriculture as part of pesticide formulations. Most of these formulations contain non-ionic surfactants, such as polysorbates or polyethylene glycol based types.

In a previously published study, conducted in 2015, [41], we were able to demonstrate that a typical modern pesticide protocol may lead to a significantly higher extractability of DDX in the soil and to increased levels in the soil water fraction. This was in particular the case for pesticide formulations with a high polysorbate (Tween) content and resulted in a threefold increase of the DDX concentrations in the water fraction, which could lead to a higher bioavailability in the cultivated crops.

While the bioaccumulation of DDX in food crops is naturally considered an adverse effect and could lead to residual levels [42] above typical acceptance specifications, it could be a most useful effect in terms of remediation of contaminated agricultural soils.

The aim of this study was to evaluate the influence of a typical pesticide regime as generally used in cultivation of crops on the bioaccumulation behavior of *Cucurbita pepo* under real-life conditions in a field trial. In order to assess the influence of surfactants commonly used in pesticide formulations, a conventional treatment was compared to an organic approach, as these concepts significantly differ in the type of agrochemicals used. The trial described here was conducted in 2015 on the same trial section one year after the original study [41], specifically focusing on the observation of potential effects in the harvested crops.

2. EXPERIMENT

2.1. Chemicals and Reagents

All solvents were HPLC grade. Acetone, dichloromethane, methanol and n-hexane were purchased from VWR (Bruchsal, Germany). Pure standards of quintozone, DDT, DDD and DDE were obtained from Sigma-Aldrich (Munich, Germany), PBC80 from Dr. Ehrenstorfer (Augsburg, Germany). Sea sand was purchased from PanReac AppliChem (Darmstadt, Germany), Florisil (mesh 100-200) from Thermo Fisher Scientific (Karlsruhe, Germany).

2.2. Trial Site, Agrochemical Treatments and Pumpkin Cultivation

The trial field was located in Rhineland-Palatinate in southwestern Germany and measured 0.96 ha. The soil was classified as silty loam with 1.4 % humus content, pH 7.6, average residual DDX levels of the section ranged between 40 – 50 µg/kg dry matter. For cultivation, the soil was plowed 30 cm deep before planting. All sections were irrigated with comparable amounts of water. The cultivation area was divided into three sections: a control area without pesticide treatment, a second area with a conventional pesticide treatment as approved for pumpkins in Germany, and a third section treated with plant protection products according to organic farming guidelines (Fig 1). To avoid cross-contamination between the control zone and the treated zones, an untreated corridor of 2 m (1+1 m) width was established. Sampling was carried out in W-shape in each of the respective sections. A technical replicate was generated from each sampling point.

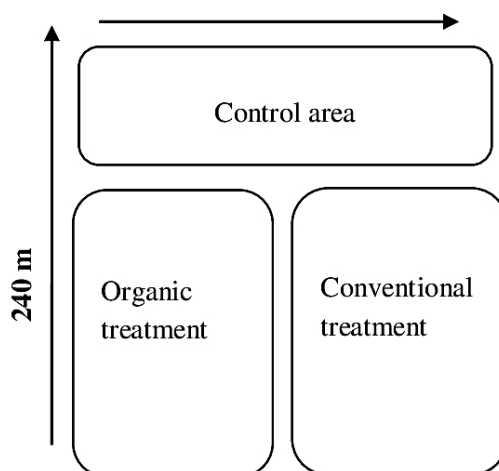


Figure 1. Trial field setup

All sections were fertilized by a conventional fertilizer (Nitrophoska perfect 15+5+20, 800 kg/ha). The application protocol of agrochemicals is summarized in table 1. The application of agrochemicals were performed according to official guidelines and in compliance with good agricultural practice.

Approx. 10,000 seedlings of the pumpkin cultivar Cucurbita pepo (Sorcerer F1, 1 plant/square meters) were cultivated on the trial field. Seeds were obtained commercially (bobby-seeds.com), the seedlings were cultivated by a local breeder. During the cultivation period, plant samples (shoot, leaves and root) were taken one week after each pesticide treatment and after harvest.

Table 1. Application protocol and product properties

Application type	Active substances and log _{KOW} **	Other main components*	Application rate
Conventional	thiacloprid(480 g/L) log 1.6** Kow	polyethylene glycol based (5-10%)	week 6; 0.5 L/ha
Conventional	azoxystrobin (250 g/L) log 2.5** Kow	fatty alcohol ethoxylates (10-18%) naphthalene sulfonic acid based (1-5%)	week 6; 1L/ha
Conventional	difenconazol (125 g/L), azoxystrobin (200 g/L) log 4.4** Kow	fatty alcohol ethoxylates , (C16-18, 15-25%)	week 8; 1 L/ha
Conventional	trifloxystrobin (500 g/L) log 4.5** Kow	sodium dibutyl naphthalene sulphonate (1-25%)	week 8; 0.5 L/ha

Conventional	thiacloprid (480 g/L) log 1.6** Kow	polyethylene glycol based (5-10%)	week 8; 0.2 L/ha
Organic	azadirachtin A (10 g/L) log 1.09** Kow	tween type (>70%) plant oil (15-20%)	week 5, 7, 9; 2.5 L/ha
Organic	KHCO ₃ (850 g/kg)	-	week 11; 3 kg/ha
Organic	sulfur (800 g/kg)	-	week 11; 3 kg/ha

*Composition data was obtained either via MSDS or by in-house measurements

** Source: PubChem

2.3. Preparation and Extraction of Plant Samples

Prior to analysis, soil particles were removed from the samples by cleansing with water. For extraction, 10 g of fresh plant sample were homogenized using liquid nitrogen, transferred into a falcon tube and was filled up to 50 mL with methanol. PCB80 was added as internal standard, and the samples were shaken in an overhead shaker for 15 minutes. After centrifugation (3000 rpm/10 min), the supernatant was diluted with 40 mL deionized water. Prior to sample clean-up, SPE cartridges (C18ec, Machery-Nagel, Dueren Germany) were preconditioned with 5 mL methanol and subsequently with 5 mL deionized water. Subsequently, sample solutions were loaded onto the cartridges, the columns were washed with one column volume of deionized water and dried under vacuum for 10 min. The elution was performed with 1 mL n-hexane containing 1 mg/L quitozene as a quality indicator for the chromatographic system. Quitozene is highly susceptible to column degradation effects and shows peak splitting, which was used as cut-off criterion.

2.4. Preparation and Extraction of Soil Samples

The extraction of the dried soil samples was performed by an accelerated solvent extraction (ASE) system (Dionex ASE 200, Idstein, Germany). 20 g of soil was mixed with 100 µL of PCB80 extraction standard solution (1 mg/L) and transferred into 33 mL stainless steel extraction cells, which were prefilled with 5 g of sea sand to avoid compression of the cell contents. The extraction program was performed according to Tao et al. [2].

The ASE extracts were evaporated to dryness in a rotary evaporator and redissolved in 40 mL of n-hexane containing 8 % (v/v) acetone. Sample cleanup was performed on a column packed with 13 g of dried Florisil. The soil extract was loaded onto the column and eluted with 30 mL of n-hexane, containing 15 % acetone (v/v). The purified extracts were evaporated to dryness, redissolved in 1 mL of an n-hexane solution of quitozene (1 mg/L) as an internal standard and filtered through a 0.45 µm PTFE membrane filter.

2.5. Sample Analysis

DDT and its metabolites DDE and DDD were determined by gas chromatography coupled to a mass spectrometer (Agilent 6890/5973, Waldbronn, Germany), operated in EI ionization mode. The chromatographic parameters were as follows: initial temperature 50 °C, hold for 4 min.; 10 °C/min to 230 °C; 5 °C/min to 280 °C hold 10 min, a sample volume of 1 µL was injected by pulsed splitless injection at 280 °C. The carrier gas was helium with a flow of 5 mL/min. The temperature of the ion source and the quadrupole were 230 °C and 150 °C, respectively. The retention times of quitozene, p,p'-DDE, PCB80, p,p'-DDD and p,p'-DDT were 19.39, 22.38, 23.50, 24.24 and 25.34 min.

2.6. Calibration Curves, Limit of Quantification and Recovery

The generation of a calibration curve was performed by diluting a DDX stock solution of 10 mg/L with n-hexane containing quitozene (1 mg/L) to the following concentrations: 0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 mg/L. The calculated correlation coefficients generally were higher than 0.99. The limits of quantification (LOQ) for DDT (5 ng/L), DDE (0.5 ng/L) and DDD (0.5 ng/L) were calculated from a signal to noise ratio of > 10. Extraction recovery rates were calculated based on the PCB80 internal standard and were accepted between 70 – 120 % according to SANCO guidelines [43].

2.7. Statistical Analysis

For all calculations, mean values of DDX levels from replicate samples were used together with the respective standard deviations. The analytical data are depicted in form of box-whisker plots. All data

were analyzed for homogeneity of variance and normal distribution by a one-way analysis of variance (ANOVA) by a Tukey's comparison test. All statistical analysis was performed using GraphPad Prism (Version 5.04, GraphPad Software, Inc, CA, USA). Level of significance in all cases was $P < 0.05$.

3. RESULTS AND DISCUSSION

The DDX residual level of the trial field ranged between 40 and 50 $\mu\text{g/kg}$ in dry matter which was comparable to the levels detected in a previously published study [27]. The three sections, control, conventional and organic, were not statistically differentiable ($P > 0.05$).

Studies [35,34] demonstrated that cultivation density has a direct impact on the accumulation tendency. Therefore, the number of plants per square meters was kept comparable on all of the three sections.

To assess the DDX uptake behavior over the cultivation period in dependence of the agrochemical treatment, plants were sampled from all three sections in June, July and shortly before harvest in September, followed by GC-MS analysis. Roots were sampled in June and July only, as the root system of pumpkins rots during the ripening process of the fruits. Parallel to the plant samples, soil samples were taken before and after each pesticide application. Figure 2 shows the level of accumulated DDX in the roots. It is clearly visible that within these four weeks, the DDX level increased significantly in the roots of the plants grown on the organic section ($P < 0.05$). The DDX level in samples from the conventionally treated, as well as from the untreated control area were statistically not differentiable ($P > 0.05$), but a tendency to an increase is visible in all cases. In comparison, the DDX level in the roots of plants from the organic section was nearly twice as high compared to the conventional and more than two fold higher than levels of root samples from the control section.

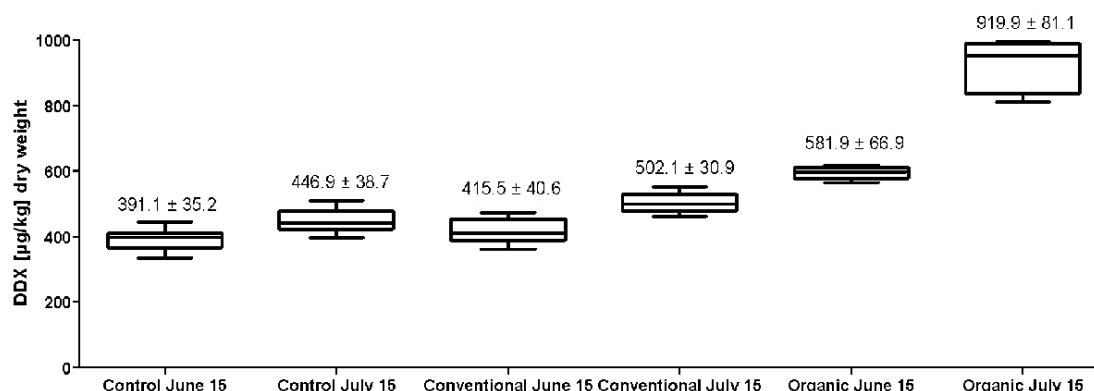


Figure 2. DDX levels in roots, band inside the box represents the median. DDX level of control and conventional section are not differentiable ($P > 0.05$). The organically grown plants show a significant difference in the two sampling points ($n = 8$, each). All data showed normal distribution.

Samples taken from the shoots analyzed between 15th of June and 20th of July showed a comparable situation, however, the overall DDX level was clearly lower as compared to the roots (Fig. 2). This gradient effect is presumably the result from the increasing distance between roots and green plant parts while growing, which can also be seen in the contents of the fruits, which were even lower than roots and shoots (Fig. 3). This effect was already described in the literature [27]. Between June and July (Fig. 3), a decrease in the DDX levels was observable in all sections, while in the time between July and September, a significant increase of the levels was observed in all plants. The decreasing effect is most likely a result from the fast plant growth and mass gain during the time between June and July. Transportation within the plant is water based, therefore, lipophilic compounds as DDX move slowly within the plant, which reduces the transportation efficacy to the upper plant segments, in particular when the plant is in the growth state. Accordingly, the results of September show that the DDX levels rise again, as plant growth stops during fruit ripening.

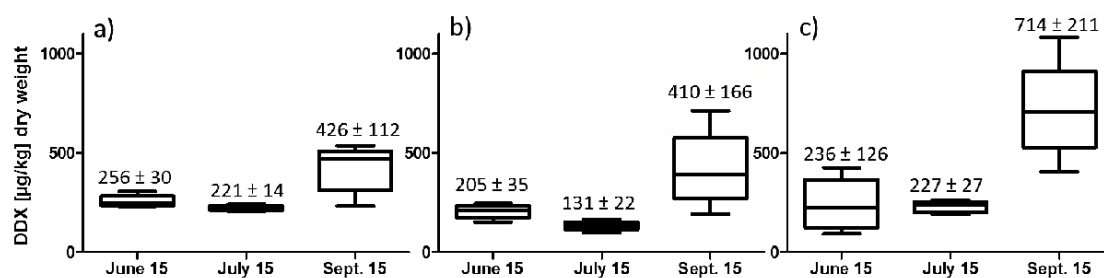


Figure 3. DDX levels in shoots, band inside the box represents the median. The DDX amounts of the control, conventionally and organically grown plants show no significant differences in the first two sampling points. A significant difference is determined in the last sampling point in all three sections (a) control $n = 10$, b) conventional $n = 25$, c) organic $n = 25$). All data showed normal distribution.

The ripened pumpkins were harvested in September and showed a comparable behavior as the shoots and roots. Fruits from the organic section accumulated more than twice as much DDX as the control and conventionally treated pumpkins (Fig 4).

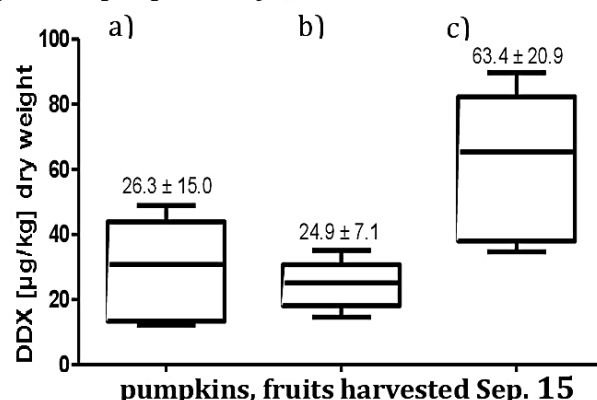


Figure 4. Distribution of the DDX amount in pumpkin fruits, band inside the box represents the median. The DDX amount of the control and the conventionally grown pumpkin fruits show no significant differences. The organically grown pumpkin fruits show a significant difference compared to the control and conventionally grown cultivars (a) control $n = 8$, b) conventional $n = 12$, c) organic $n = 12$)

The soil samples from the three sections featured nearly the same behavior as previously described [41]: after the first treatment with the formulation of high Tween content, the extractability of DDX from the soil samples significantly ($P < 0.05$) increased by a factor of 1.5 (Fig 4), while the conventionally treated section and the control section showed no significant differences ($P > 0.05$). It is clearly visible, that the mobilization effect in the soil led to a higher DDX level in the plant, which can be interpreted as a direct connection between a higher mobility in soil and the bioavailability for susceptible plants, such as Cucurbitacea. This observation demonstrates that a regular pesticide treatment with particular formulations or formulation types indeed has a direct impact on the bioaccumulation of old incurred DDX residues, at least in the pumpkin cultivar used in this study. This observation is in line with the observations of a study conducted on the same trial site one year before, where the main focus was set on the analysis of the soil [41].

A measure for the bioaccumulation behavior is the bioaccumulation factor (BCF), which is obtained as the ratio of the DDX level in roots, shoots or fruits and the DDX level in the soil. The BCFs for all compartments were calculated on this basis and are given in table 3. The BCFs for the organic section have increased by a factor of 1.9 – 2.4 compared to the control section, while the conventional section only showed a BCF increase up to 1.2. These results indicate that the agrochemical treatment in the organic section had a major influence on the accumulated amount of DDX, because the initial situation of the three areas was comparable. This is in line with a former study [41], which demonstrated that the application of formulations based on polysorbates of the Tween type in combination with plant oils may lead to significant increases in the mobility of DDX in agricultural soils, as well as in the soil water phase.

This observation can be interpreted in such that the key driver for bioaccumulation into plants is not only the accumulation tendency of the plant itself, but is significantly influenced by an increased

mobility or availability in the soil or the soil water, respectively. This is generally in line with studies published by Paul et al. [5], who observed the highest bioaccumulation factors in pumpkins grown on mid-level contaminated soils (up to 5083 ng/g), while the BCF values did not increase linearly with even higher contaminations (soils with up to 10,192 ng/g). In table 2, the individual contents of the metabolites in the analyzed compartments are given, which clearly show that DDE was predominantly accumulated into the plant and also transported into the compartments farther away from the soil, while DDD was only found in roots and shoots, but not in the pumpkin fruits.

Table 2. DDX Levels in different plant compartments^a and soil samples.

		Control	Conventional	Organic
Shoot dry weight [µg/kg]	June	n = 10	n = 25	n = 25
	DDT	-	-	-
	DDE	208.9 ± 20.1	190.7 ± 36.1	209.1 ± 121.8
	DDD	12.9 ± 6.6	13.9 ± 6.0	27.2 ± 18.6
	ΣDDX	221.8 ± 22.9	204.6 ± 35.3	236.3 ± 125.5
	July	n = 10	n = 25	n = 25
	DDT	-	-	-
	DDE	290.9 ± 61.1	121.1 ± 20.3	200.7 ± 25.9
	DDD	11.9 ± 0.9	9.9 ± 3.2	26.8 ± 4.2
	ΣDDX	302.9 ± 61.2	130.9 ± 20.3	227.5 ± 27.0
	September	n = 10	n = 25	n = 25
	DDT	-	-	-
	DDE	424.6 ± 67.5	406.3 ± 165.1	699.3 ± 231.6
	DDD	4.9 ± 1.1	3.9 ± 2.6	5.2 ± 3.9
	ΣDDX	429.5 ± 67.3	410.3 ± 166.0	704.5 ± 234.5
Root dry weight [µg/kg]	June	n = 8	n = 8	n = 8
	DDT	-	-	-
	DDE	378.9 ± 36.2	404.9 ± 38.4	572.2 ± 67.0
	DDD	12.2 ± 3.9	10.6 ± 2.7	9.7 ± 1.2
	ΣDDX	391.1 ± 35.2	415.5 ± 40.6	581.9 ± 66.9
	July	n = 8	n = 8	n = 8
	DDT	-	-	-
	DDE	430.2 ± 36.6	483.6 ± 30.9	895.1 ± 78.9
	DDD	16.7 ± 5.9	18.5 ± 4.4	24.9 ± 3.4
	ΣDDX	446.9 ± 38.7	502.1 ± 30.9	919.9 ± 81.1
Fruit dry weight [µg/kg]	September	n = 8	n = 12	n = 12
	DDT	-	-	-
	DDE	26.3 ± 15.0	24.9 ± 7.1	63.4 ± 20.9
	DDD	-	-	-
	ΣDDX	26.3 ± 15.0	24.9 ± 7.1	63.4 ± 20.9
Soil dry weight [µg/kg]		Control	Conventional	Organic
	Before treatment	n = 3	n = 3	n = 3
	DDT	8.7 ± 0.7	10.8 ± 2.8	11.9 ± 0.9
	DDE	32.3 ± 2.9	32.2 ± 1.9	30.9 ± 4.4
	DDD	1.6 ± 0.5	1.3 ± 0.3	2.1 ± 0.2
	ΣDDX	42.6 ± 1.9	44.3 ± 0.9	44.9 ± 3.3
	June	n = 3	n = 3	n = 3
	DDT	10.7 ± 1.9	11.8 ± 0.8	14.5 ± 2.2
	DDE	31.3 ± 1.9	30.2 ± 4.0	47.3 ± 6.2
	DDD	1.8 ± 0.3	1.6 ± 0.2	1.7 ± 0.3
	ΣDDX	43.8 ± 3.6	43.5 ± 4.5	63.6 ± 4.9
	July	n = 3	n = 3	n = 3
	DDT	10.1 ± 3.7	10.4 ± 1.5	11.9 ± 1.4
	DDE	31.4 ± 1.6	29.7 ± 1.3	44.4 ± 3.1
	DDD	1.6 ± 0.1	1.5 ± 0.2	1.7 ± 0.3
	ΣDDX	43.1 ± 5.6	41.5 ± 2.9	58.1 ± 2.6
	August	n = 3	n = 3	n = 3
	DDT	11.5 ± 2.5	11.0 ± 1.2	13.1 ± 1.5

	DDE	33.8 ± 6.1	33.7 ± 1.1	47.8 ± 1.1
	DDD	1.6 ± 0.2	1.7 ± 0.4	2.2 ± 0.2
	ΣDDX	46.9 ± 4.3	46.5 ± 1.8	63.1 ± 0.9
	Harvest	n = 3	n = 3	n = 3
	DDT	10.9 ± 2.6	11.0 ± 1.3	11.4 ± 2.4
	DDE	31.4 ± 5.8	30.3 ± 6.6	49.6 ± 2.2
	DDD	1.9 ± 0.4	1.8 ± 0.2	2.0 ± 0.2
	ΣDDX	44.3 ± 6.9	43.1 ± 5.8	63.0 ± 2.5

^aData are given as mean values ± standard deviation.

A direct comparison of the results in table 3 with literature data is complex, as most of the studies were carried out with higher contaminated soils in the range of 150 - 10,192 µg/kg [44,31,45,5]. The DDX levels of the trial field ranged between 40-50 µg/kg which is even below the lower end of the published data. Furthermore, in comparison to surfactant studies published so far, the amounts of Tween applied to the soil was significantly lower (approx. 0.4 %) [41] and is an indirect effect resulting from drip-off from the sprayed plants.

Table 3. Bioaccumulation factor (BCF) of the analyzed *Cucurbita pepo*

	Control area	Conventional area	Organic area
DDX in soil [µg/kg] dry weight	42.6 ± 1.9	44.3 ± 0.9	44.9 ± 3.3
DDX in shoots [µg/kg] dry weight	429.5 ± 67.3	410.3 ± 166.0	704.5 ± 234.5
DDX in roots [µg/kg] dry weight	446.9 ± 38.7	502.1 ± 30.9	919.9 ± 81.1
DDX in pumpkin fruit [µg/kg] dry weight	26.3 ± 15.0	24.9 ± 7.1	63.4 ± 20.9
BCF shoots	10.1	9.3	15.7
BCF root	10.5	11.3	20.5
BCF fruit	0.6	0.6	1.4

^aData are given as mean values ± standard deviation. BCF are based on mean values.

This is confirmed by Guo et al. [46], who concluded that Tween 80 could be suitable for remediation of DDT contaminated soil due to its stability against immediate degradation, but on the other hand due to a full biodegradability. Agnello et al. [23] and Mitton et al. [47] observed an increased degradability of lipophilic contaminants by microorganisms in the rhizosphere of alfalfa and willow plants after a soil treatment with Tween 80 in combination with citric acid, which could be interpreted as an effect of an increased mobility in the water phase.

Whitfield Aslund et al. [27] assumed that there is no direct correlation between the level of DDX in soil and the accumulated level of DDX in roots, but rather that the content of organic carbon in soil is a key driver. This is confirmed by Paul et al. [5], who demonstrated that the highest accumulation rates were observed on the soil with the lowest contamination levels, while there was no increase in the uptake from higher contaminated soil.

DDX and other lipophilic compounds are bound to soil organic matter, which can also be partially found in the water phase as dissolved organic carbon (DOC). It can be assumed that the boosting effect of particular surfactants on the mobility of DDX is the result of an increased release of DOC into the water. In particular, surfactants of the Tween class have a stronger water sorption tendency compared to other surfactants. Additionally, the higher accumulation in the organic section could be fostered by a partition-like interaction with the dissolved hydrophobic part of the surfactant and the dissolved humic materials [48–50].

Cucurbitaceae have a high demand for water, therefore the cultivation area was irrigated. A study by Kelesy et al. [45] demonstrated a direct link between soil moisture and DDX accumulation. While this study also measured a dependence of the use of fertilizers, this cannot be of relevance here, as all of the sections were fertilized in comparable levels.

Guo et al. [46] evaluated the effect of the surfactant concentration of Tween 80 in hydroponic plant cultures on the resorption of PAHs and observed a direct correlation of the Tween level in solution and the BCF. The highest BCF values were monitored for ranges of approx. 6.6 mg/L surfactant in the water phase, which is comparable to the applied amounts in this study (approx. 11.3 mg/L). This seems to be an optimal range, since significantly higher surfactant levels showed an inhibition of the uptake into the plants [51,52]. At this point, it has to be underlined that it is still not fully clear whether the mobilization effect is solely a result from the formulants Tween and vegetable oil or

whether the active azadirachtin has an impact as well. Therefore, a potential influence of the actives on the mobilization of DDX with log Kow of > 6 seems to be more likely for the less polar actives - which was not observable. Furthermore, it is also still not clear which ratio of Tween, oil and water is the most efficient combination for mobilization. These open questions are subject to future research.

4. CONCLUSION

It has to be underlined that the effects observed in this study may pose a serious issue in regular agricultural use. Agronomists usually have a solid knowledge on the active compounds used in the formulations, but most commonly not on the formulation compounds. This is complicated by the fact that only substances with irritant or harmful properties are listed, while e.g. the toxicologically uncritical Tweens are commonly not named. As an effect, agronomists using such formulations on contaminated soils with high-accumulating crops may face an incalculable risk of boosting residual levels in their products by applying tested and approved agrochemicals.

For future evaluation and (re-)admission of agrochemicals, the impact of formulation adjuvants on the mobilization of incurred residues should move much more into the focus of systematic studies as before. It is more than likely that such effects will not be limited to DDX residues, but rather could be representative for other lipophilic contaminants.

Yet, this effect could also be considered as a potential chance: such Tween/oil treatments could be integrated into a regular crop protection regime using the respective agrochemical formulations. While a specific treatment with new surfactant/oil formulations, targeting to phytoremediation would most likely require additional regulatory efforts, the application of registered products such as the ones used in this study is already admitted.

For agronomists cultivating in areas with high DDX contaminations, this could be a sustainable approach to boost the efficacy of phytoremediation strategies without any additional treatments.

ACKNOWLEDGEMENT

The authors wish to thank the Konanz Stiftung Mannheim for their financial support.

REFERENCES

- [1] Metcalf RL (1973) Century of DDT. *J. Agric. Food Chem.* 21 (4): 511–519.
- [2] Isleyen M, Sevim P, White JC (2012) Accumulation of weathered p,p'-DDTs in grafted watermelon. *J. Agric. Food Chem.* 60 (4): 1113–1121.
- [3] Tao S, Xu FL, Wang XJ, Liu WX, Gong ZM et al. (2005) Organochlorine Pesticides in Agricultural Soil and Vegetables from Tianjin, China. *Environ. Sci. Technol.* 39 (8): 2494–2499.
- [4] White JC, Parrish ZD, Isleyen M, Gent MP, Iannucci-Berger W et al. (2005) Uptake of weathered p,p'-DDE by plant species effective at accumulating soil elements. *Microchemical Journal* 81 (1): 148–155.
- [5] Paul S, Rutter A, Zeeb BA (2015) Phytoextraction of DDT-Contaminated Soil at Point Pelee National Park, Leamington, ON, Using Cultivar Howden and Native Grass Species. *J. Environ. Qual.* 44 (4): 1201.
- [6] Isleyen M, Sevim P, White JC (2012) Accumulation of weathered p,p'-DDTs in hybridized Cucurbita pepo cultivars. *Environ. Toxicol. Chem.* 31 (8): 1699–1704.
- [7] Geuß U., Hangen E., Schilling B., Spörlein P. Hintergrundwerte von anorganischen und organischen Schadstoffen in Böden Bayerns. Bayerisches Landesamt für Umwelt (LfU). 2011.
- [8] Howard P. H., Meylan W. M. (1997) Handbook of Physical Properties of Organic Chemicals.
- [9] Parfitt RL, Whitton JS, Susarla S (1995) Removal of DDT residues from soil by leaching with surfactants. *Commun. Soil. Sci. Plan.* 26 (13-14): 2231–2241.
- [10] Yu Z, Yediler A, Yang M, Schulte-Hostede S (2012) Leaching behavior of enrofloxacin in three different soils and the influence of a surfactant on its mobility. *J. Environ. Sci.* 24 (3): 435–439.
- [11] Mata-Sandoval JC, Karns J, Torrents A (2002) Influence of rhamnolipids and triton X-100 on the desorption of pesticides from soils. *Environ. Sci. Technol.* 36 (21): 4669–4675.
- [12] Walters GW, Aitken MD (2001) Surfactant-enhanced solubilization and anaerobic biodegradation of 1,1,1-trichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)-ethane (DDT) in contaminated soil. *Water Environ. Res.* 73 (1): 15–23.
- [13] Karagunduz A, Gezer A, Karasuloglu G (2007) Surfactant enhanced electrokinetic remediation of DDT from soils. *Sci. Total. Environ.* 385 (1-3): 1–11.

- [14] Sánchez-Camazano M, Sánchez-Martín MJ, Delgado-Pascual R (2000) Adsorption and Mobility of Linuron in Soils As Influenced by Soil Properties, Organic Amendments, and Surfactants. *J. Agric. Food Chem.* 48 (7): 3018–3026.
- [15] Asmus E, Popp C, Friedmann AA, Arand K, Riederer M (2016) Water Sorption Isotherms of Surfactants: A Tool To Evaluate Humectancy. *J. Agric. Food Chem.* 64 (26): 5310–5316.
- [16] Mulligan C, Yong R, Gibbs B (2001) Surfactant-enhanced remediation of contaminated soil: a review. *J. Geotech. Geoenviron.* 60 (1–4): 371–380.
- [17] Haigh SD (1996) A review of the interaction of surfactants with organic contaminants in soil. *Sci. Total. Environ.* 185 (1–3): 161–170.
- [18] Volkerling F, Breure A, Rulkens W (1997) Microbiological aspects of surfactant use for biological soil remediation. *Biodegradation* 8 (6): 401–417.
- [19] Wang X, Chen J, Lv C (2015) Evaluation of foam surfactant for foam-flushing technique in remediation of DDT-contaminated soil using data envelopment analysis method. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22 (4): 2994–3003.
- [20] Yu Z, Yediler A, Yang M, Schulte-Hostede S (2012) Leaching behavior of enrofloxacin in three different soils and the influence of a surfactant on its mobility. *J. Environ. Sci.* 24 (3): 435–439.
- [21] Alden A, Jun N, Damian S, Aitken MD, Adrion AC et al. (2016) Screening Nonionic Surfactants for Enhanced Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Remaining in Soil After Conventional Biological Treatment. *Environ. Sci. Technol.* 50 (7): 3838–3845.
- [22] Zhang A, Chen Z, Ahrens L, Liu W, Li Y-F (2012) Concentrations of DDTs and Enantiomeric Fractions of Chiral DDTs in Agricultural Soils from Zhejiang Province, China, and Correlations with Total Organic Carbon and pH. *J. Agric. Food Chem.* 60 (34): 8294–8301.
- [23] Agnello AC, Huguenot D, van Hullebusch ED, Esposito G (2015) Phytotoxicity of citric acid and Tween(R) 80 for potential use as soil amendments in enhanced phytoremediation. *Int. J. Phytoremediation* 17 (7): 669–677.
- [24] Zhu Z-q, Yang X-e, Wang K, Huang H-g, Zhang X et al. (2012) Bioremediation of Cd-DDT co-contaminated soil using the Cd-hyperaccumulator *Sedum alfredii* and DDT-degrading microbes. *J. Hazard. Mater.* 235-236: 144–151.
- [25] Passatore L, Rossetti S, Juwarkar AA, Massacci A (2014) Phytoremediation and bioremediation of polychlorinated biphenyls (PCBs): State of knowledge and research perspectives. *J. Hazard. Mater.* 278: 189–202.
- [26] Sun Y, Zhou Q, Xu Y, Wang L, Liang X (2011) Phytoremediation for co-contaminated soils of benzo(a)pyrene (BaP) and heavy metals using ornamental plant *Tagetes patula*. *J. Hazard. Mater.* 186 (2-3): 2075–2082.
- [27] Whitfield Åslund ML, Lunney AI, Rutter A, Zeeb BA (2010) Effects of amendments on the uptake and distribution of DDT in *Cucurbita pepo* ssp *pepo* plants. *Environ. Pollut.* 158 (2): 508–513.
- [28] Mattina, Isleyen M, Eitzer BD, Iannucci-Berger W, White JC (2006) Uptake by Cucurbitaceae of Soil-Borne Contaminants Depends upon Plant Genotype and Pollutant Properties. *Environ. Sci. Technol.* 40 (6): 1814–1821.
- [29] Huelster A, Mueller JF, Marschner H (1994) Soil-Plant Transfer of Polychlorinated Dibenzo-p-dioxins and Dibenzofurans to Vegetables of the Cucumber Family (Cucurbitaceae). *Environ. Sci. Technol.* 28 (6): 1110–1115.
- [30] Ye Q, Puri RK, Kapila S, Yanders AF (1992) Studies on the transport and transformation of PCBs in plants. *Chemosphere* 25 (7): 1475–1479.
- [31] Lunney AI, Zeeb BA, Reimer KJ (2004) Uptake of Weathered DDT in Vascular Plants: Potential for Phytoremediation. *Environ. Sci. Technol.* 38 (22): 6147–6154.
- [32] Lunney AI, Rutter A, Zeeb BA (2010) Effect of organic matter additions on uptake of weathered DDT by *Cucurbita pepo* ssp. *pepo* cv. Howden. *Int. J. Phytoremediation* 12 (4): 404–417.
- [33] La Torre-Roche R de, Hawthorne J, Deng Y, Xing B, Cai W et al. (2012) Fullerene-enhanced accumulation of p,p'-DDE in agricultural crop species. *Environ. Sci. Technol.* 46 (17): 9315–9323.
- [34] Whitfield Åslund ML, Zeeb BA, Rutter A, Reimer KJ (2007) In situ phytoextraction of polychlorinated biphenyl — (PCB)contaminated soil. *Sci. Total. Environ.* 374 (1): 1–12.
- [35] Wang X, White JC, Gent MPN, Iannucci-Berger W, Eitzer BD et al. (2004) Phytoextraction of Weathered p,p'-DDE by Zucchini (*Cucurbita pepo*) and Cucumber (*Cucumis sativus*) Under Different Cultivation Conditions. *International Journal of Phytoremediation* 6 (4): 363–385.

- [36] White JC, Parrish ZD, Gent MPN, Iannucci-Berger W, Eitzer BD et al. (2006) Soil amendments, plant age, and intercropping impact p,p'-DDE bioavailability to Cucurbita pepo. J. Environ. Qual. 35 (4): 992–1000.
- [37] White JC (2001) Plant-facilitated mobilization and translocation of weathered 2,2-bis(p-chlorophenyl)-1,1-dichloroethylene (p,p'-DDE) from an agricultural soil. Environ. Toxicol. Chem. 20 (9): 2047–2052.
- [38] White JC, Mattina MI, Lee WY, Eitzer BD, Iannucci-Berger W (2003) Role of organic acids in enhancing the desorption and uptake of weathered p,p'-DDE by Cucurbita pepo. Environmental pollution (Barking, Essex : 1987) 124 (1): 71–80.
- [39] Suzuki M, Aizawa N, Okano G, Takahashi T (1977) Translocation of polychlorobiphenyls in soil into plants: A study by a method of culture of soybean sprouts. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 5 (1): 343–352.
- [40] Wu N, Zhang S, Huang H, Shan X, Christie P et al. (2008) DDT uptake by arbuscular mycorrhizal alfalfa and depletion in soil as influenced by soil application of a non-ionic surfactant. Environ. Pollut. 151 (3): 569–575.
- [41] Neitsch J, Schwack W, Weller P (2016) How Do Modern Pesticide Treatments Influence the Mobility of Old Incurred DDT Contaminations in Agricultural Soils. J. Agric. Food Chem.
- [42] (1993) VO (EWG) 315/93 Verordnung zur Festlegung von gemeinschaftlichen Verfahren zur Kontrolle von Kontaminanten in Lebensmitteln.
- [43] SANCO/12571/2013 (2013) Guidance Document on Analytical Quality Control and Validation Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed. European Commission Health & Consumer Protection Directorate.
- [44] White JC (2002) Differential bioavailability of field-weathered p,p'-DDE to plants of the Cucurbita and Cucumis genera. Chemosphere 49 (2): 143–152.
- [45] Kelsey JW, Colino A, Koberle M, White JC (2006) Growth conditions impact 2,2-bis(p-chlorophenyl)-1,1-dichloroethylene (p,p'-DDE) accumulation by Cucurbita pepo. Int. J. Phytoremediation 8 (3): 261–271.
- [46] Guo P, Chen W, Li Y, Chen T, Li L et al. (2014) Selection of surfactant in remediation of DDT-contaminated soil by comparison of surfactant effectiveness. Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 21 (2): 1370–1379.
- [47] Mitton FM, Gonzalez M, Pena A, Miglioranza KSB (2012) Effects of amendments on soil availability and phytoremediation potential of aged p,p'-DDT, p,p'-DDE and p,p'-DDD residues by willow plants (Salix sp.). J. Hazard. Mater. 203-204: 62–68.
- [48] Kile DE, Chiou CT (1989) Water solubility enhancements of DDT and trichlorobenzene by some surfactants below and above the critical micelle concentration. Environ. Sci. Technol. 23 (7): 832–838.
- [49] Chiou CT, Malcolm RL, Brinton TI, Kile DE (1986) Water solubility enhancement of some organic pollutants and pesticides by dissolved humic and fulvic acids. Environ. Sci. Technol. 20 (5): 502–508.
- [50] Chiou CT, Kile DE, Brinton TI, Malcolm RL, Leenheer JA et al. (1987) A comparison of water solubility enhancements of organic solutes by aquatic humic materials and commercial humic acids. Environ. Sci. Technol. 21 (12): 1231–1234.
- [51] Gao Y, Shen Q, Ling W, Ren L (2008) Uptake of polycyclic aromatic hydrocarbons by Trifolium pretense L. from water in the presence of a nonionic surfactant. Chemosphere 72 (4): 636–643.
- [52] White JC, Peters R, Kelsey JW (2007) Surfactants differentially impact p,p'-DDE accumulation by plant and earthworm species. Environ. Sci. Technol. 41 (8): 2922–2929.

Citation: Julia Neitsch, Wolfgang Schwack, Philipp Weller, "Modern Agrochemicals Influence Bioaccumulation of Incurred DDT Soil Residues in Pumpkins – Residue Risk or a Chance for Phytoremediation?" *International Journal of Research in Environmental Science*, vol. 4, no. 3, p. 13-23, 2018. <http://dx.doi.org/10.20431/2454-9444.0403002>

Copyright: © 2018 Authors. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

2 Ergebnisse und Diskussion

Den Schwerpunkt der vorgelegten kumulativen Dissertation bilden die beiden Publikationen, in denen der Einfluss von Pflanzenschutzmitteln auf die Mobilisierung von DDX im Boden (1. Veröffentlichung (6)) und die Akkumulierung von DDX in *Cucurbita pepo* in Abhängigkeit des Öl-Tensid Verhältnisses der verwendeten PSM-Formulantien (Kapitel 1.3, 2. Veröffentlichung (43)) untersucht wurde.

Umweltchemikalien, die eine hohe Resistenz gegenüber Abbauprozessen aufweisen, sind aufgrund ihrer chemischen und physikalischen Eigenschaften immer noch ein aktuelles Problem in der Landwirtschaft. Kontaminierte Agrarflächen sind vor allem in der intensiven Landwirtschaft vorzufinden. Für den Versuchsstandort wurde eine Agrarfläche in Mutterstadt/Rheinland-Pfalz gewählt, ein Gebiet, in dem seit mehreren Jahrzehnten intensiver Landbau betrieben wird. Kulturpflanzen, die auf solchen Böden angebaut werden, können zum Teil hohe Mengen an Nachbaurückständen, wie z.B. DDT und dessen Metabolite aufnehmen. Durch die Kooperation mit einem dort ansässigen Landwirt war es möglich, einen Freilandversuch unter Realbedingungen durchzuführen: auf einer Fläche, die gewöhnlich für die intensive Landwirtschaft genutzt wird. Die Freilandstudie erfolgte über einen Zeitraum von zwei Jahren auf einer ein Hektar großen Agrarfläche. Die Agrarfläche wurde in drei Bereiche eingeteilt: Ein Versuchsbereich wurde nach biologischen Anbaukriterien behandelt. Dabei wurden ausschließlich Behandlungen nach den Richtlinien des Ökoanbaus durchgeführt. Der zweite Bereich wurde mit konventionellen Pestiziden behandelt und der dritte Bereich diente als unbehandelte Kontrollfläche.

Die applizierten Pflanzenschutzmittel (biologisch/konventionell) unterschieden sich neben dem aktiven Wirkstoff (natürlich vorkommend/chemisch hergestellt) grundsätzlich auch in deren Formulierung (Kapitel 2, PSM-Formulierung). Einen deutlich höheren Tensidgehalt wiesen jene Pflanzenschutzmittel auf, die im biologischen Anbau verwendet werden. Durch die lipophilen Eigenschaften von DDX wurde die Hypothese aufgestellt, dass durch die Verwendung von Pflanzenschutzmitteln mit hohem Tensidanteil, der DDX-Anteil in Böden stärker mobilisiert und somit zugänglicher für Pflanzenkulturen wird.

Im ersten Jahr des Freilandversuchs lag der Fokus auf den extrahierbaren DDX-Anteilen vor und nach einer Behandlung mit Pflanzenschutzmitteln. Die vergleichende Auswertung (Kapitel 2, Veröffentlichung 1 (6)) belegte einen erheblich höheren extrahierten DDX-Anteil

im biologisch behandelten Feld als im Feld der konventionellen Behandlung und dem der Kontrollfläche.

Aufbauend auf die in der 1. Veröffentlichung gewonnenen Erkenntnisse einer erhöhter Freisetzung von DDX im Boden durch die Applikation von tensidhaltigen PSM, wurde der mögliche Transport in die Wasserphase und die Akkumulation von DDX in der Pflanze untersucht (Kapitel 2.3, Veröffentlichung 2. (43)). Für diese weiterführende Studie wurde die Kürbissorte *Cucurbita pepo* cv. *Howden* ausgewählt, da diese Sorte einen hohem Wasserkonsum aufweist und bereits in vergleichbaren Versuchen in der Literatur beschrieben wurde. Die Ergebnisse der 2. Veröffentlichung bestätigten die eingangs postulierte erhöhte Akkumulation von DDX in der Pflanze in der biologisch behandelten Fläche (43).

2.1 Untersuchungen zur DDX Mobilisierung

Der Freilandversuch von 2014 (6) und der Laborversuch zur Extraktion und Analyse der Wasserfraktion in der Veröffentlichung 1 belegten, dass die mobilisierte DDX Menge aus dem Boden und der wässrigen Bodenphase durch die Applikation biologischer PSM stark zunimmt (6).

Zudem belegte der Freilandversuch von 2014, dass die Formulierungen der PSM und hierbei insbesondere das Verhältnis von Tensid zu Öl, das Ausmaß der DDX Mobilisierung maßgeblich beeinflussten. Die Ausgangswerte an DDX, die vor der Behandlung auf den Versuchsflächen des Freilandversuches in der Veröffentlichung 1 (6) gemessen wurden, betrugen zwischen 40-60 µg/kg Boden.

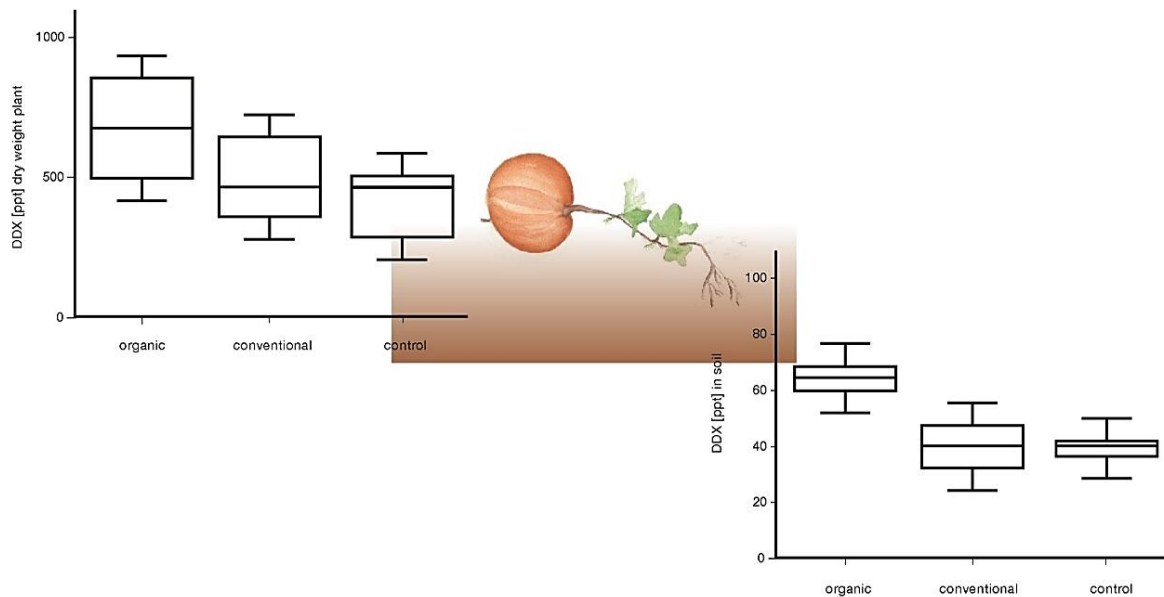


Abbildung 5: Zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse der beiden Veröffentlichungen (6, 43)

Bei Einsatz eines gängigen Produktes für den biologischen Landbau (Azadirachtin A (4 %), 96 % Polysorbatanteil), wurde eine erhöhte DDX-Mobilisierung beobachtet (6). Auf der konventionell bewirtschafteten Fläche wurde eine Kombination von Produkten mit deutlich geringeren Tween-Anteilen (1-3 %) und höheren Öl-Anteilen (83 %) eingesetzt (6), wodurch die DDX-Werte unbeeinflusst blieben.

Die Effekte der Formulantien im Freilandversuch 2014 und im Laborversuch unterschieden sich bzgl. der unterschiedlichen Verhältnisse der Öl-Tensid Mischung (6).

Ein direkter Vergleich der Ergebnisse mit anderen Studien (13, 123) war jedoch nicht möglich. Dies lag zum einen daran, dass der Fokus dieser Studien auf der Mobilisierung von DDT im Boden lag und dabei ausschließlich die Bodenphase mit einer bestimmten Konzentration an DDT geimpft und nach der Tensidbehandlung untersucht wurde (13, 85, 107, 111, 139, 140). Darüber hinaus lagen die applizierten Tensidkonzentrationen im zweistelligen mg/L Bereich (84) und somit deutlich höher als in gängigen Pflanzenschutzmitteln. Auch wurden in den Literaturstudien höhere Mengen an Tween als in der eigenen Arbeit (6) eingesetzt und diese wurde nicht wie im vorliegenden Fall auf den Boden sondern mit dem PSM auf die Pflanzen appliziert (77, 84, 124). Zudem wurde der Einfluss eines PSM auf die Akkumulation oder Mobilisierung von DDT bzw. POPs in einer Pflanze bzw. Boden in keiner vergleichbaren Studie in Betracht gezogen.

Die Mobilisierung lipophiler und persistenter Schadstoffe in Böden ist aufgrund der vielen Umwelteinflüsse äußerst komplex und schwer vorherzusagen. Zusätzlich zu den Umweltfaktoren, die im Boden auch Veränderungen unterliegen, ändert die Zugabe von Tensiden auch die Löslichkeit der Kontaminanten.

Um weitere Einblicke zu gewinnen, wurde in der 1. Veröffentlichung (6) zusätzlich die DDX-Konzentration im Wasseranteil untersucht. Dabei waren DDT und DDD nicht nachweisbar bzw. unterhalb der Nachweisgrenze (6), während die DDE-Konzentrationen im Wasseranteil der Proben des biologisch behandelten Feldes im Vergleich zum unbehandelten Feld um ca. den Faktor 3 erhöht waren (Veröffentlichung 1, *Table 3*). DDE ist der dominierende Metabolit von DDT und die Ergebnisse zeigten, dass DDE eher bioverfügbar ist als DDD und DDT (6). Durch den stärkeren Übergang von DDX (hier: DDE) in die Wasserphase, verbesserte sich der mikrobielle Abbau, da der Übergang in die Wasserphase hierfür die Voraussetzung ist. So belegten mehrere Literaturstudien, dass der mikrobielle Abbau von DDX im Boden in Gegenwart von Tensiden zunahm (82, 136).

In Literaturstudien zur Mobilisierung lipophiler Schadstoffe erwiesen sich insbesondere nicht-ionische Tenside vom Typ Tween als vorteilhaft, wobei sich mit Tween 80 die stärkste Mobilisierung von DDX ergab (84). Das Ausmaß der Mobilisierung hing allerdings stark von den Eigenschaften des Bodens ab (84). So spielte die chemische und mikrobiologische Zusammensetzung des Bodens bei diesem komplexen Vorgang eine wichtige Rolle (84). Weiteren Einfluss auf die DDX Mobilisierung könnten Tenside in den Huminsäuren (Kapitel 2.2), pflanzliche Öle (Kapitel 2.2.1) und die meteorologischen Gegebenheiten (Kapitel 2.2.2) nehmen.

2.2 Der Effekt von Huminsäuren

Durch einen hohen Gehalt an organischem Material im Boden, wie in Form von Huminsäuren, verringert sich die desorbierende Wirkung von Tensiden stark (137). Umgekehrt begünstigt der Einsatz von hohen Mengen an Tensiden die Freisetzung von Huminstoffen und diese wiederum die Schadstoffmobilisierung (138). Auch hier hängt der Effekt stark vom Verhältnis Tensid zu Huminsäuren und dem Wassergehalt im Boden ab (68, 107). Die Erhöhung des gelösten organischen Kohlenstoffes (DOC) in der Wasserphase, zu dem auch die Huminstoffe zählen, beeinflusst dementsprechend die Freisetzung von lipophilen Kontaminanten (139). Somit besteht eine positive Korrelation der Adsorption

zwischen lipophilen Schadstoffen und dem organischen Anteil im Boden (107). So zeigte eine Adsorptions-Desorptionsstudie, dass nur ca. 7 % des im Boden gebundenen DDX desorbiert werden können (140). Wenn sich der organische Anteil aus Huminsäuren und Huminstoffen durch die lösungsvermittelnde Wirkung von Tensiden in der Wasserphase erhöht, wird die Bioverfügbarkeit von Schadstoffen gegenüber Pflanzen erleichtert (141). Zwar wurden weder in den Freilandversuchen noch in den Laborversuchen pH-Werte, DOC und Huminsäuregehalte bestimmt, doch weisen die in den Freilandversuchen von 2014 (6) und 2015 (43) gewonnenen Erkenntnisse auf einen diesbezüglichen Zusammenhang hin (6, 43). So wurde bei den Feldversuchen sowohl eine erhöhte Mobilisierung von DDX (6) als auch eine erhöhte Akkumulation von DDX in den Pflanzen beobachtet (43).

2.2.1 Der Effekt von pflanzlichen Ölen (Tensid-Öl Verhältnis)

Der Einsatz von pflanzlichen Ölen ohne weitere Additive, welche unter anderem Bestandteile von biologischen Pflanzenschutzmitteln sind, wurde in weiteren Studien im Rahmen eines Sanierungsansatzes untersucht (142, 143). Aufgrund ihrer hohen $\log K_{OW}$ -Werte lösen sich unpolare Komponenten ausgezeichnet in Ölen.

Bei der Applikation in Böden, können Öle daher zu einer effektiveren Desorption von lipophilen Schadstoffen wie PAHs und Atrazinen aus dem Boden beitragen.

Tenside und pflanzliche Öle sind gängige Bestandteile von PSM-Formulierungen. Dabei zeigten die Ergebnisse der vorliegenden Dissertation, dass nur der hohe Gehalte an Tensid zu einem zusätzlichen Effekt führen kann (6, 43).

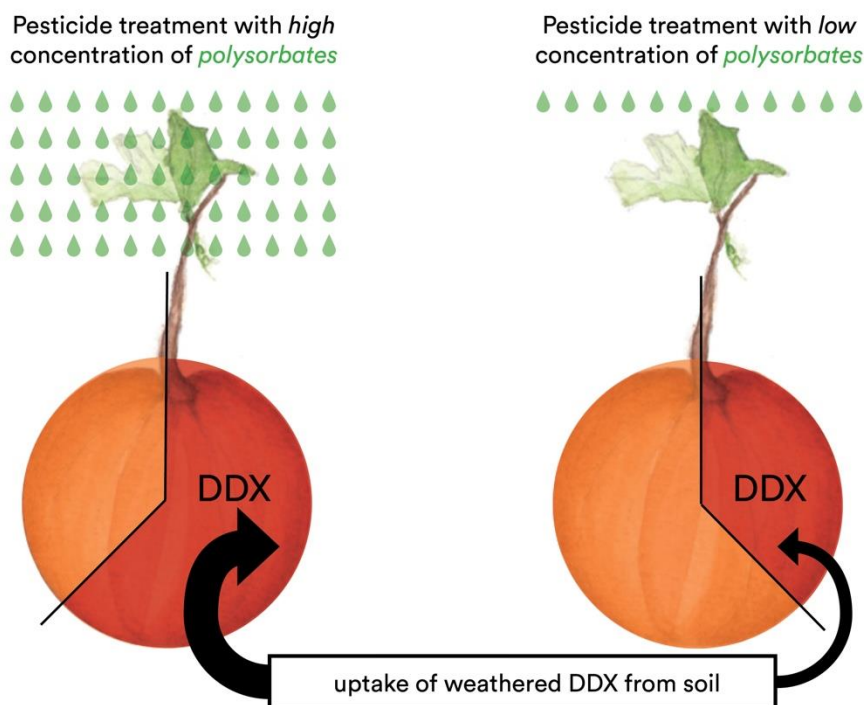


Abbildung 6: Akkumulation von DDX in Kürbispflanzen bei unterschiedlichen Gehalten an Tensiden
(eigene Grafik, Basierend auf den Ergebnissen der zweiten Veröffentlichung (43))

2.2.2 Der Effekt der meteorologischen Umweltbedingungen

Kürbispflanzen haben im Vergleich zur Kulturpflanze Gurke einen hohen Wasserbedarf, sie können allerdings auch länger ohne Bewässerung auskommen (144). Umweltbedingungen, insbesondere Temperatur und Niederschlag, wirken sich stark auf das Wachstum bzw. den Ertrag von Kulturpflanzen aus (144).

Tabelle 4: Wasserbedarf (in Liter) von gängigen Kulturpflanzen in der ersten Wachstumsperiode
(145, 146)

Kulturpflanze	Wasserbedarf [L] (min. – max.)
Brokkoli	203 – 327
Blumenkohl	229 – 373
Bundmöhren	247 – 363
Waschmöhren	389 – 597
Radieschen	114 – 187
Kohlrabi	104 – 178
Sellerie	424 – 580
Zucchini	339 – 495
Gurke	600

Der Feldversuch zur erhöhten Extrahierbarkeit von DDX im Boden wurde 2014 durchgeführt (1. Veröffentlichung, (6)). In diesem Jahr war die Niederschlagsmenge höher und die Anzahl an Sonnenstunden geringer als im Jahr 2015, in dem der zweite Feldversuch durchgeführt wurde (2. Veröffentlichung, (43)). Zwar unterschied sich die Gesamtniederschlagsmenge in den betrachteten Monaten (Mai-September) nicht stark (je ca. 230 mm), doch war der Juni 2015 deutlich regenreicher als im Vorjahr (Abbildung 7).

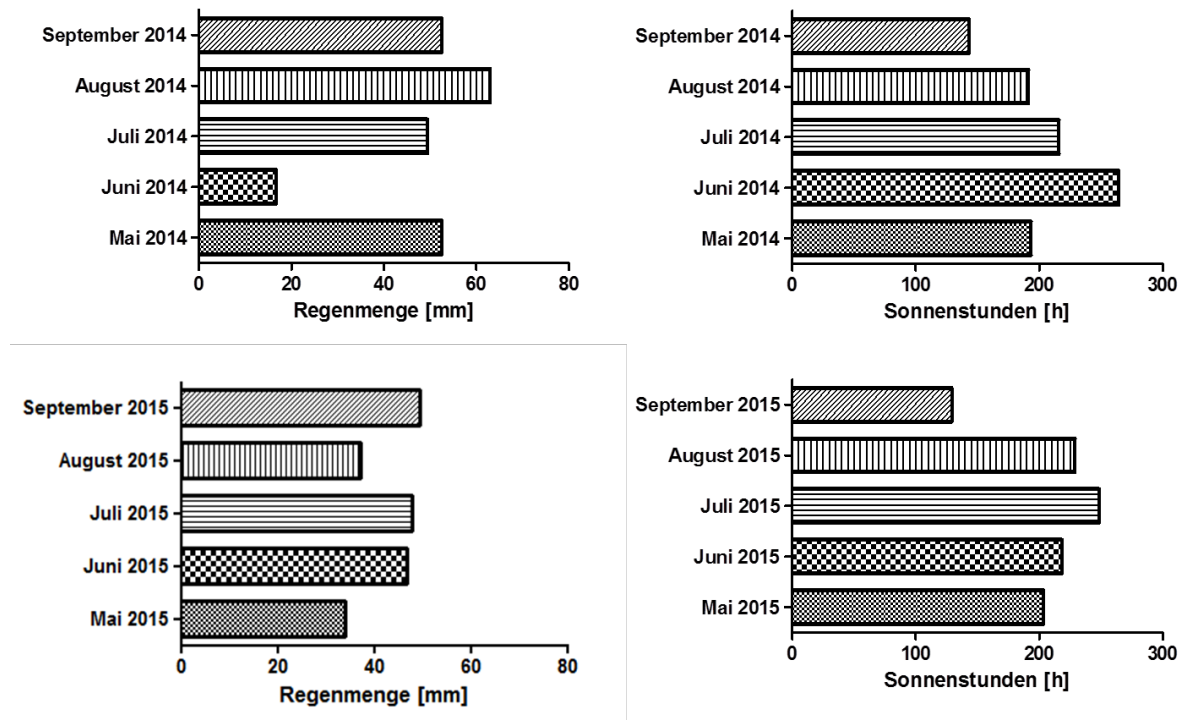


Abbildung 7: Wetterdaten der Jahre 2014 und 2015 am Untersuchungsstandort (113)

Die mittlere Zahl der Sonnenstunden (~200/Monat) war in beiden Jahren ähnlich, doch auch hier stach der Juni 2014 mit knapp 260 Sonnenstunden heraus und lag über dem Wert des Folgejahres (Abbildung 7). In dieser Periode produziert die Pflanze Pflanzengrün und gewinnt an Volumen. Die Wetterdaten legen nahe, dass der stärkere Niederschlag in diesem Zeitraum und somit die im Boden zur Verfügung stehende Wassermenge, zu einer erhöhten DDX-Aufnahme im Jahr 2015 führte. Somit dürften einige der beobachteten Unterschiede in den Freilandversuchen von 2014 (1. Veröffentlichung, (6)) und 2015 (2. Veröffentlichung, (43)) in den unterschiedlichen Wetterverhältnissen begründet sein. Zur Absicherung dieser Hypothese sollten zukünftig weitere Forschungsarbeiten zu den Umwelteinflüssen und Interaktionen mit der Bodenchemie durchgeführt werden.

2.3 Die DDX-Akkumulation in der Kulturpflanze

Die Akkumulation von DDT in der Pflanze wurde mit zwei unterschiedlichen Versuchsanordnungen und Studiendesigns untersucht. Die Studienpflanzen wurden einerseits in Topfversuchen unter konstanten Bedingungen (123) oder in Freilandstudien, während dessen keine Tenside appliziert wurden (77), kultiviert.

Die erhöhte Verfügbarkeit von DDX kann wiederum zu einer erhöhten Akkumulation in den Pflanzen führen (43). So zeigten die Ergebnisse der Freilandstudie von 2015 (2. Veröffentlichung, (43)), dass DDX auch in die Pflanze übergehen kann und dabei überwiegend in den Wurzeln akkumuliert wird. Hierbei nahmen die akkumulierten Konzentrationen mit der Entfernung vom Boden, d.h. von der Wurzel, über die grünen Pflanzenteile bis hin zur Frucht ab (Kapitel 2.1 und Kapitel 2.3, Abbildung 6). Ganz besonders zeigte sich dies bei biologischen PSM Formulierung mit hohem Tween-Anteil, denn dort waren die DDX-Gehalte in Kürbissen deutlich höher als in der Kontrolle und den konventionell behandelten Pflanzen (2. Veröffentlichung, (43)).

Bei der Nahrungskettenanreicherung lipophiler Verbindungen wie DDX spielt der Übergang vom Boden zur Pflanze eine wichtige Rolle und somit die Bodenchemie, der pH-Wert, die Pufferung sowie die lipophilen und hydrophoben Anteile. Wurzel- und Knollengemüse können wegen des direkten Kontaktes zum Boden vermehrt DDX akkumulieren (33, 123).

2.4 Folgen und Empfehlungen für die landwirtschaftliche Praxis

In der Vergangenheit wurden nur die Wirkstoffe (PSM) toxikologisch sowie hinsichtlich ihrer Mobilität untersucht, während die Mobilität von PSM-Formulierungen nicht berücksichtigt wurde. Somit werden auf den Verpackungen der Produkte lediglich die Eigenschaften der Wirkstoffe und ggf. jene von anderen giftigen Substanzen (z.B. reizende oder hautirritierende Eigenschaften) aufgeführt. Dagegen müssen nicht-ionische Tenside, die keine zulassungsrelevanten toxikologischen Effekte ausüben, nicht deklariert werden. Die Ergebnisse der vorliegenden Dissertation legen nahe, dass es nach Applikation dieser neuen Produkte auf den belasteten Böden zu einer Freisetzung von DDX kommt und dieses verstärkt in Agrarprodukte übergeht, obwohl die Landwirte zugelassene und getestete Agrarchemikalien verwenden. Dies kann wiederum zur Folge haben, dass das Erntegut aufgrund der DDX-Gehalte nicht verkehrsfähig ist und von Supermarktketten zurückgewiesen wird. Für zukünftige Zulassungsverfahren und Wiedenzulassungen von

PSM Formulierungen wäre es daher sinnvoll, auch Daten zur Mobilisierung von Altlasten, einzubeziehen. Zulassungsstudien und Regularien sollten daher systematischer und holistischer ausgelegt werden, denn es ist sehr wahrscheinlich, dass die beobachtete Mobilisierung nicht nur auf DDX beschränkt ist, sondern auch auf andere lipophile Schadstoffe zutrifft.

Umgekehrt könnten die Nachteile der DDX Mobilisierung bei der landwirtschaftlichen Produktion im Zuge einer gezielten Phytosanierung von belasteten Böden nützlich sein. Um die im Rahmen dieser Dissertation gewonnenen Erkenntnisse bei der Phytosanierung optimal nutzen zu können, sollten die Einflussfaktoren zukünftig genauer untersucht und die dabei gewonnenen Erkenntnisse Berücksichtigung finden. Da die Anwendung von rein auf Tween und Öl basierten Formulierungen ohne weitere Prüfung oder Zulassung erlaubt ist, könnte dieser Ansatz ohne weitere Zulassungen und Regularien sofort in die Bodensanierung integriert werden (2. Veröffentlichung, (43)).

3 Conclusio

Bei der Bewirtschaftung landwirtschaftlicher Nutzflächen werden regelmäßig und über längere Zeiträume hinweg Gemische von Wirkstoffen mit Formulantiem appliziert, die verschiedene Tensidmischungen beinhalten. Diese Tenside führen je nach ihrer chemischen Zusammensetzung zu einer beträchtlichen Mobilisierung von DDX und damit vermutlich auch von anderen lipophilen Kontaminanten im Boden. Die Mobilisierung erhöht die Bioverfügbarkeit von DDX für Pflanzen, was bei einigen Arten zu einer erhöhten Bioakkumulation führt. Insbesondere Tenside aus der Familie der Polysorbate begünstigten die Mobilisierung von DDX aus den untersuchten Böden. Dabei scheint sich die Gegenwart von Ölen, die sehr häufig in den Formulierungen verwendet werden, positiv auf die Mobilisierung von DDX auszuwirken.

Allerdings ist auf Grund des nichtlinearen Zusammenhangs noch nicht klar, bei welchem Tensid-zu-Öl-Verhältnis der Effekt der Mobilisierung am stärksten ist. Ebenso ist noch nicht ausreichend geklärt, wie die erhöhte Mobilität genutzt werden kann, um die DDX-Aufnahme in geeigneten Pflanzen im Zuge einer effizienten Phytosanierung eingesetzt werden kann. Bei weiteren Untersuchungen und Modellberechnungen zur Phytoakkumulation von DDX sollte daher auch der Einfluss von Tensiden Berücksichtigung finden.

Neben der experimentellen Klärung des Einflusses der Mischungsverhältnisse von Tensiden und Öl könnte mit den gewonnenen Daten in einem zweiten Schritt eine Modellierungssoftware für Umweltverhalten von Pestiziden, wie beispielsweise PEARL eingesetzt werden, um Veränderungen im Mobilisierungsverhalten bei Tensid/Öl-Gabe vorherzusagen.

Die Ergebnisse der Modellierung zur Mobilisierung von DDX unter verschiedenen Tensid-zu-Öl-Mischungsverhältnissen könnten unter Einbeziehung der Felddaten in einen Versuch münden, mit dem die vom Modell vorgeschlagenen optimalen Parameter zur DDX-Mobilisierung im Feld überprüft und im Idealfall bestätigt werden.

Zusammenfassung

Das Chlorpestizid und seine strukturell verwandten Verbindungen (DDX) weisen eine hohe Persistenz gegenüber Abbauprozessen auf. Dies hat zur Folge, dass Landwirte auf ihren Anbauflächen z. T. heute noch mit DDX-Altlasten aus den 1960er Jahren konfrontiert sind. Dies gilt besonders für belastete Böden, auf denen Pflanzen der Gattung *Cucurbitaceae* angebaut werden sollen. Diese setzen sog. Wurzelexsudate frei, die als natürliche Tenside fungieren und damit im Boden vorhandenes DDX mobilisieren können. Darüber hinaus kann die DDX-Mobilisierung auch durch Tenside, die Bestandteil der Formulierungen von gegenwärtig eingesetzten Pflanzenschutzmitteln (PSM) sind, erfolgen. Eine durch diese Tenside erhöhte DDX-Mobilität kann zur Aufnahme und Akkumulation des Chlorpestizids in die Pflanze führen. Derartige Nebeneffekte tensidhaltiger PSM-Formulierungen wurden bisher noch nicht im Rahmen gängiger Spritzprotokolle untersucht.

Um die Mobilisierung von DDX im Boden und dessen Akkumulation in *Cucurbita pepo* durch Tenside im Zuge der Applikation gängiger PSM-Formulierungen zu untersuchen, wurden zwei Freilandversuche durchgeführt. Hierzu wurde je eine konventionell und eine biologisch behandelte Kürbis-Anbaufläche sowie eine unbehandelte, kultivierte Kontrollfläche mit den dafür zugelassenen PSM behandelt. Bodenproben wurden vor und nach der PSM-Applikation entnommen. Anschließend wurden die DDX-Gehalte in der extrahierten Bodenphase und der Bodenwasserfraktion der Bodenproben bestimmt.

Die Hintergrundbelastung des Bodens mit DDX war auf allen drei Versuchsfeldern vergleichbar. Die vergleichende Auswertung ergab, dass die biologische PSM-Formulierung die Mobilität von DDX im Vergleich zur unbehandelten und konventionellen Anbaufläche im Boden erheblich steigerte (1. Veröffentlichung). So lag in der analysierten Wasserfraktion ein höherer DDX-Gehalt als in der Kontrollbehandlung vor. Diese Zunahme wies auf Erhöhung der Bioverfügbarkeit hin, die auf das Vorliegen von Tensid und Öl in den PSM-Formulierungen zurückgeführt werden konnte (1. Veröffentlichung). Auf Grund der erhöhten Bioverfügbarkeit kann es auch zu einer erhöhten DDX-Aufnahme in der Pflanze kommen. Es zeigte sich ebenfalls, dass nur die Behandlung mit bestimmten Formulierungen aus emulgierbaren Konzentraten (*emulsifiable concentrate*, EC) die DDX-Mobilisierung begünstigte. Dieser Mobilisierungseffekt ging sehr wahrscheinlich auf die unterschiedliche Zusammensetzung der Anteile an Tensiden und Ölen in den PSM zurück.

Im zweiten Freilandversuch stand die DDX-Akkumulation in der Pflanze *Cucurbita pepo* cv. *Howden* in Abhängigkeit der applizierten PSM im Vordergrund. Die PSM-Behandlung der Felder entsprach den offiziellen Spritzplänen und Verordnungen des Bundesministeriums für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL). Während der Kultivierungszeit wurden Wurzelproben und Triebe, sowie Proben der Kürbisfrucht entnommen. Die Auswertung ergab, dass die DDX-Gehalte der Wurzeln in der Kontrollfläche und in der konventionellen Fläche nach der PSM-Behandlung nahezu unverändert blieben, während die Wurzeln in der biologischen Fläche höhere DDX-Gehalte aufwiesen (2. Veröffentlichung). Die Triebe aller Versuchsfelder zeigten keinen DDX-Anstieg in der Wachstumsphase. Dagegen wurde kurz vor der Ernte in den Trieben von allen Versuchsfeldern ein Anstieg des DDX-Gehaltes registriert. Am Ende der Wachstumsperiode wiesen die Früchte der biologisch behandelten Fläche höhere DDX-Gehalte als die Früchte der Kontrollfläche und der konventionell behandelten Fläche auf. Der wichtigste DDT-Metabolit DDE wurde auch in weiter entfernte Pflanzenteile transportiert, während DDD nur in den Wurzeln und Trieben nachweisbar war, nicht aber in den Kürbisfrüchten (2. Veröffentlichung).

Die Auswertung beider Versuche bestätigten einen direkten Zusammenhang zwischen einer Mobilisierung von DDX im Boden und der Aufnahme in die Pflanze. Dabei waren die Bioakkumulationsfaktoren der biologisch behandelten Flächen deutlich höher als die in der konventionell behandelten Fläche und in der Kontrollfläche.

Die Ergebnisse der Freilandversuche verdeutlichen, dass die Mobilisierung von DDT und höchstwahrscheinlich auch anderer lipophiler Altlasten bei Einsatz von tensidhaltigen EC-Formulierungen problematisch für Landwirte werden kann. Aus dieser Beobachtung heraus ergeben sich durch Einsatz von EC-Formulierungen mit einem hohen Mobilisierungspotential jedoch auch Chancen für eine verbesserte Phytosanierung.

Die Freilandversuche weisen zudem darauf hin, dass der Mobilisierungseffekt von DDT durch EC-Gemische neben dem Gehalt an Tensid in den verwendeten Formulierungen auch von den Umweltbedingungen wie Bodenbeschaffenheit, Bodenwasseranteil und Niederschlag abhängt. Die Ermittlung des optimalen Gehaltes an tensidreichen Formulierungen und den gegebenen Umweltbedingungen könnte somit zu einer vielversprechenden Strategie für eine Phytosanierung von Böden führen.

Summary

Due to their recalcitrance, the chloropesticide DDT and its structurally related compounds (DDX) are difficult to degrade. Consequently, farmers are still frequently confronted with DDX contamination in their fields that was left over from the 1960s. This problem is particularly prevalent in contaminated soils that are intended to cultivate plants of the *Cucurbitaceae* family. These plants release so-called root exudates, which function as natural surfactants that mobilize the DDX present in the soils. Furthermore, surfactants are a common constituent of modern plant protection product (PPP) formulations, which can likewise cause DDX mobilization. The higher mobility of DDX caused by these surfactants can result in the absorption and accumulation of chlorinated pesticides in plants. The side effects of such surfactant-containing PPP formulations have historically been overlooked in the context of standard spraying protocols.

The potential mobilization of DDX in soils and its accumulation in *Cucurbita pepo* due to the surfactants present in standard PPPs formulations was investigated using two field trials. One field was treated with a conventional PPP, while the other was treated with a biological PPP; a control field was left untreated, within which pumpkins were cultivated. Soil samples were taken before and after the application of PPP. The DDX content was subsequently determined in extracts from the soil phase samples and soil water fractions.

The background DDX contamination of the soils was comparable in all three test fields. The comparative evaluation showed that the field treated with the biological PPP formulation exhibited a considerable increase in DDX mobility compared to the untreated and conventionally cultivated areas (Paper 1). An analysis of its respective water fraction revealed that it was more contaminated with DDX than the control treatments. This increase suggests a higher bioavailability that can be traced back to the presence of surfactants and oils in the PPP formulations (Paper 1). This higher bioavailability may have been accompanied by an increase in the DDX uptake of the cultivated plants. Furthermore, it was found that treatment with specific formulations of emulsifiable concentrates (EC) promoted DDX mobilization. This mobilizing effect was most likely due to the differing composition of the surfactant and proportions of oils in the PPPs.

The second field test focused on differential DDX accumulation in *Cucurbita pepo* cv. *Howden* by different PPPs. Fields were treated with PPP in accordance with the official

spraying plans and regulations set out by the Federal Ministry of Food and Agriculture (BMEL). Samples from the pumpkin plants' roots, shoots, as well as the pumpkins themselves were taken during the cultivation period. The DDX content in the roots from the control fields and the fields with conventional PPP treatments remained virtually unchanged; however, the DDX content increased in the biologically treated area (Paper 2). The pumpkin shoots did not exhibit any increases in DDX concentration during the growing phase regardless of the field sampled. However, an increased DDX content was detected in the shoots of the plants in all test fields shortly before harvesting. At the end of the growing phase, fruits from the biologically treated area showed a higher DDX content than those from the control and conventionally treated areas. In addition, the most critical DDT metabolite, DDE, was found to have been transported to distant parts of the plant, while DDD was detectable in the roots and shoots but not in the fruits of the pumpkins (Paper 2).

An assessment of the results of both experiments confirmed a direct correlation between DDX mobilization in the soil and plant uptake. In addition, the bioaccumulation factors of the biologically treated areas were markedly higher than those seen in the conventionally treated and control areas.

The results of the field trials show that the mobilization of DDT, as well as the likely mobilization of other lipophilic contaminants, can become problematic for farmers using surfactant-containing EC formulations. However, this observation also provides opportunities for improved phytoremediation by applying EC formulations with high mobilization potentials.

The field trials indicate that the mobilizing effects of DDT prompted by EC mixtures depend on the surfactant content in the PPP formulations as well as environmental conditions such as soil conditions, soil water content, and precipitation. Unravelling the optimal range of surfactant-rich formulations and environmental conditions could lead to a promising strategy for soil phytoremediation.

Literaturverzeichnis

1. W. Mnif, A. I. H. Hassine, A. Bouaziz, A. Bartegi, O. Thomas, B. Roig, Effect of Endocrine Disruptor Pesticides: A Review. *Int. J. Environ. Health Res.* **8**, 2265–2303 (2011).
2. W. Zhang, Global pesticide use: Profile, trend, cost / benefit and more. *IAEES*. **8**, 1–27 (2018).
3. A. Sharma, V. Kumar, B. Shahzad, M. Tanveer, G. P. S. Sidhu, N. Handa, S. K. Kohli, P. Yadav, A. S. Bali, R. D. Parihar, O. I. Dar, K. Singh, S. Jasrotia, P. Bakshi, M. Ramakrishnan, S. Kumar, R. Bhardwaj, A. K. Thukral, Worldwide pesticide usage and its impacts on ecosystem. *SN Appl. Sci.* **1**, 1446 (2019).
4. C. M. Benbrook, Trends in glyphosate herbicide use in the United States and globally. *Environ. Sci. Eur.* **28**, 3 (2016).
5. S. P. Egendorf, A. D. Gailey, A. E. Schachter, H. W. Mielke, Soil toxicants that potentially affect children's health. *Curr. Probl. in Pediatr. Adolesc. Health Care.* **50**, 100741 (2020).
6. J. Neitsch, W. Schwack, P. Weller, How do modern pesticide treatments influence the mobility of old incurred DDT contaminations in agricultural soils? *J. Agric. Food Chem.* **64**, 7445–7451 (2016).
7. Bayer Crop Science, Safety Data Sheets - Calypso. *Bayer Crop Science Ireland*, (available at <https://www.bayercropscience.ie/safety-data-sheets/>).
8. Syngenta, Material Safety Data Sheet: Ortiva - Syngenta. *Syngenta* (2021), (available at <https://www.syngenta.co.uk/product/crop-protection/ortiva>).
9. W. Neudorf GmbH KG, Sicherheitsdatenblätter und CLP-Kennzeichnungsetiketten, (available at https://www.neudorff-handel.de/sicherheitsdaten/sicherheitsdatenblaetter-und-clp-kennzeichnungsetiketten.html?tx_ffndfmedia_controller%5Bletter%5D=S).
10. Trifolio-M, NeemAzal®-T/S (ecological insecticide). <https://www.trifolio-m.de/en/>, (available at <https://www.trifolio-m.de/en/produkt/neemazal-t-s/>).
11. E. Asmus, C. Popp, A. A. Friedmann, K. Arand, M. Riederer, Water sorption isotherms of surfactants: a tool to evaluate humectancy. *J. Agric. Food Chem.* **64**, 5310–5316 (2016).
12. A. C. Agnello, D. Huguenot, E. D. van Hullebusch, G. Esposito, Phytotoxicity of citric acid and Tween® 80 for potential use as soil amendments in enhanced phytoremediation. *Int. J. Phytoremediation.* **17**, 669–677 (2015).
13. A. Karagunduz, A. Gezer, G. Karasuloglu, Surfactant enhanced electrokinetic remediation of DDT from soils. *Sci. Total Environ.* **385**, 1–11 (2007).
14. P. Whyllie, J. Albaiges, R. Barra, H. Bouwman, D. Dyke, F. Wania, M. Wong, Global Report 2003. Regionally Based Assessment of Persistent Toxic Substances. *United Nations Environment Programme (UNEP), Geneva, Switzerland*, 207 (2003).
15. J. Foght, T. April, K. Biggar, J. Aislabie, Bioremediation of DDT-contaminated soils: a review. *Bioremediat. J.* **5**, 225–246 (2001).

16. P. Abhilash, N. Singh, Pesticide use and application: an Indian scenario. *J. Hazard. Mater.* (2009), doi:10.1016/j.jhazmat.2008.10.061.
17. H.-R. Köhler, R. Triebskorn, Wildlife ecotoxicology of pesticides: can we Track effects to the population level and beyond? *Science* (2013), doi:10.1126/science.1237591.
18. V. Tripathi, Ecological characterization of a pesticide contaminated soil site and studying the plant-microbe-pollutant interactions under field and warming climatic conditions. *PhD Synopsis*. Banaras Hindu University, Varanasi (2014).
19. Lorus, M. Milne, There's poison all around us now; The Dangers in the Use of Pesticides Are Vividly Pictured by Rachel Carson Poison All Around Us. *The New York Times* (1962), (available at <https://www.nytimes.com/1962/09/23/archives/theres-poison-all-around-us-now-the-dangers-in-the-use-of.html>).
20. R. Carson, L. Darling, L. Darling, *Silent spring* (Houghton Mifflin Company, Riverside Press, Boston: Cambridge (Massachusetts), 1962).
21. Gesellschaft Deutscher Chemiker, Ed., DDT und Derivate: Modellstoffe zur Beschreibung endokriner Wirkungen mit Relevanz für die Reproduktion (S. Hirzel, Stuttgart, 1999).
22. S. Richter, K.-G. Steinhäuser, H. Fiedler, Globaler Vertrag zur Regelung von POPs: Die Stockholm Konvention. *UWSF - Z Umweltchem Ökotox.* **13**, 39–44 (2001).
23. C. Rehwagen, WHO recommends DDT to control malaria. *BMJ.* **333**, 622 (2006).
24. X. Xiao, J. M. Clark, Y. Park, Potential contribution of insecticide exposure and development of obesity and type 2 diabetes. *Food Chem. Toxicol.* **105**, 456–474 (2017).
25. M. B. Abou-Donia, Organophosphorus ester-induced chronic neurotoxicity. *Arch. Environ. Health.* **58**, 484–497 (2003).
26. S. H. Chen, F. L. Xu, R. Dawson, X. C. Jiao, S. Tao, Adsorption and absorption of dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) and metabolites (DDD and DDE) by rice roots. *Environ. Pollut.* **147**, 256–261 (2007).
27. F. X. Yao, G. F. Yu, F. Wang, X. L. Yang, X. Jiang, Aging activity of DDE in dissimilar rice soils in a greenhouse experiment. *Chemosphere* (2008) (available at <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.09.059>).
28. A. S. Purnomo, F. Koyama, T. Mori, R. Kondo, DDT degradation potential of cattle manure compost. *Chemosphere.* **80**, 619–624 (2010).
29. J. Gao, L. B. M. Ellis, L. P. Wackett, The University of Minnesota Biocatalysis/Biodegradation Database: improving public access. *Nucleic Acids Res.* **38** (2010), doi:10.1093/nar/gkp771.
30. Bundesrepublik Deutschland, Gesetz über den Verkehr mit DDT (DDT-Gesetz). *Bundesgesetzblatt Teil I*, 1385 (1972).
31. D. H. Mempel, Studie zur Auswertung der Rückstandsdaten für ALDI SÜD - Aktualisierung, 45 (2018).

32. J. Gao, A. W. Garrison, C. Hoehamer, C. S. Mazur, N. L. Wolfe, Uptake and phytotransformation of o,p'-DDT and p,p'-DDT by axenically cultivated aquatic plants. *J. Agric. Food Chem.* **48**, 6121–6127 (2000).
33. A. I. Lunney, B. A. Zeeb, K. J. Reimer, Uptake of weathered DDT in vascular plants: potential for phytoremediation. *Environ. Sci. Technol.* **38**, 6147–6154 (2004).
34. M. Isleyen, P. Sevim, J. C. White, Accumulation of weathered p,p'-DDTs in hybridized Cucurbita pepo cultivars. *Environ. Toxicol. Chem.* **31**, 1699–1704 (2012).
35. R. 108 LfU, U. Geuß, E. Hangen, P. Schilling, "Hintergrundwerte von anorganischen und organischen Schadstoffen in Böden Bayerns" (2011), (available at <https://www.lfu.bayern.de/boden/hintergrundwerte/index.htm>).
36. F. M. Mitton, M. Gonzalez, A. Peña, K. S. B. Miglioranza, Effects of amendments on soil availability and phytoremediation potential of aged p,p'-DDT, p,p'-DDE and p,p'-DDD residues by willow plants (*Salix* sp.). *J. Hazard. Mater.* **203–204**, 62–68 (2012).
37. S. Trapp, C. Mcfarlane, "Plant contamination: modeling and simulation of organic chemical processes" in (CRC Press, 1994), p. 272.
38. J. L. Schnoor, L. A. Licht, S. C. McCutcheon, N. L. Wolfe, L. H. Carreira, Phytoremediation of organic and nutrient contaminants. *Environ. Sci. Technol.* **29**, 318A–323A (1995).
39. European Food Safety Authority, Opinion of the scientific panel on contaminants in the food chain [CONTAM] related to DDT as an undesirable substance in animal feed. *EFSA Journal.* **4**, 433 (2006).
40. Landwirt Renner, Persönliche Mitteilung an Julia Neitsch. Thema: Ablehnung von Ware durch Spurenkontamination (2016).
41. M. I. Mattina, M. Isleyen, B. D. Eitzer, W. Iannucci-Berger, J. C. White, Uptake by cucurbitaceae of soil-borne contaminants depends upon plant genotype and pollutant properties. *Environ. Sci. Technol.* (2006), doi:10.1021/es051572s.
42. F. für biologischen L. FiBL, "Rückstände in Kürbisgewächsen" (1478, Schweiz, 2012), (available at <https://www.fibl.org/de/infothek/meldung/neu-merkblatt-rueckstaende-in-kuerbisgewaechsen>).
43. J. Neitsch, W. Schwack, P. Weller, Modern Agrochemicals Influence Bioaccumulation of incurred DDT soil residues in pumpkins - residue risk or a chance for phytoremediation? *Int. J. Environ. Sci.* **4**, 13–23 (2018).
44. WHO/UNEP, *State of the science of endocrine disrupting chemicals - 2012* (2013; <http://www.who.int/ceh/publications/endocrine/en/>).
45. O. US EPA, Persistent organic pollutants: a global issue, A Global Response (2014), (available at <https://www.epa.gov/international-cooperation/persistent-organic-pollutants-global-issue-global-response>).
46. E. J. Mrema, F. M. Rubino, G. Brambilla, A. Moretto, A. M. Tsatsakis, C. Colosio, Persistent organochlorinated pesticides and mechanisms of their toxicity. *Toxicology.* **307**, 74–88 (2013).

47. Stockholm Convention, Listing of POPs in the Stockholm Convention (2020), (available at <http://chm.pops.int/TheConvention/ThePOPs/ListingofPOPs/tabid/2509/Default.aspx>).
48. K. Haider, A. Schäffer, *Umwandlung und Abbau von Pflanzenschutzmitteln in Böden. Auswirkungen auf die Umwelt* (Springer, 2001; <https://www.zvab.com/9783131254412/Umwandlung-Abbau-Pflanzenschutzmitteln-B%C3%B6den-Auswirkungen-3131254416/plp>).
49. B. Streit, Bioaccumulation processes in ecosystems. *Experientia*. **48**, 955–970 (1992).
50. L. A. Thompson, W. S. Darwish, Y. Ikenaka, S. M. M. Nakayama, H. Mizukawa, M. Ishizuka, Organochlorine pesticide contamination of foods in Africa: incidence and public health significance. *J. Vet. Med. Sci.* **79**, 751–764 (2017).
51. K. S. Schafer, S. E. Kegley, Persistent toxic chemicals in the US food supply*. *J. Epidemio. Community Health*. **56**, 813–817 (2002).
52. M. P. Longnecker, W. J. Rogan, G. Lucier, The human health effects of DDT (dichlorodiphenyltrichloroethane) and PCBS (polychlorinated biphenyls) and an overview of organochlorines in public health. *Annu. Rev. Public Health*. **18**, 211–244 (1997).
53. X. Yu, B. Zhao, Y. Su, Y. Zhang, J. Chen, W. Wu, Q. Cheng, X. Guo, Z. Zhao, X. Ke, W. Danzeng, B. Zhao, Q. Ma, Association of prenatal organochlorine pesticide-dichlorodiphenyltrichloroethane exposure with fetal genome-wide DNA methylation. *Life Sci.* **200**, 81–86 (2018).
54. G. J. Kolaja, D. E. Hinton, Effects of DDT on eggshell quality and calcium adenosine triphosphatase. *J. Toxicol. Environ. Health*. **3**, 699–704 (1977).
55. A. M. Taiwo, A review of environmental and health effects of organochlorine pesticide residues in Africa. *Chemosphere*. **220**, 1126–1140 (2019).
56. Landrigan Philip J, Kimmel Carole A, Correa Adolfo, Eskenazi Brenda, Children's health and the environment: public health issues and challenges for risk assessment. *Environ. Health Perspectives*. **112**, 257–265 (2004).
57. M. Thiombane, A. Petrik, M. Di Bonito, S. Albanese, D. Zuzolo, D. Cicchella, A. Lima, C. Qu, S. Qi, B. De Vivo, Status, sources and contamination levels of organochlorine pesticide residues in urban and agricultural areas: a preliminary review in central–southern Italian soils. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **25**, 26361–26382 (2018).
58. Bundes-Bodenschutzgesetz (BBodSchG), Gesetz zum Schutz vor schädlichen Bodenveränderungen und zur Sanierung von Altlasten (1998), (available at <http://extwprlegs1.fao.org/docs/pdf/ger89203.pdf>).
59. S. Sudharshan, R. Naidu, M. Mallavarapu, N. Bolan, DDT remediation in contaminated soils: a review of recent studies. *Biodegradation*. **23**, 851–863 (2012).
60. A. Velasco, A. Aburto-Medina, E. Shahsavari, S. Revah, I. Ortiz, Degradation mechanisms of DDX induced by the addition of toluene and glycerol as cosubstrates in a zero-valent iron pretreated soil. *J. Hazard. Mater.* **321**, 681–689 (2017).

-
61. W. K. Chu, M. H. Wong, J. Zhang, Accumulation, distribution and transformation of DDT and PCBs by *Phragmites australis* and *Oryza sativa* L.: II. Enzyme study. *Environ. Geochem. Health*. **28**, 169–181 (2006).
 62. P. H. Howard, W. M. Meylan, *Handbook of Physical Properties of Organic Chemicals* (CRC-Press, Boca Raton, Fla, 1 edition., 1997).
 63. W. R. Haag, C. C. D. Yao, Rate constants for reaction of hydroxyl radicals with several drinking water contaminants. *Environ. Sci. Technol.* **26**, 1005–1013 (1992).
 64. A. S. Purnomo, T. Mori, R. Kondo, Involvement of Fenton reaction in DDT degradation by brown-rot fungi. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* **64**, 560–565 (2010).
 65. B. L. Glass, Relation between the degradation of DDT and the iron redox system in soils. *J. Agric. Food Chem.* **20**, 324–327 (1972).
 66. A. S. Purnomo, I. Kamei, R. Kondo, Degradation of 1,1,1-trichloro-2,2-bis (4-chlorophenyl) ethane (DDT) by brown-rot fungi. *J. Biosci. Bioeng.* **105**, 614–621 (2008).
 67. W. Walther, B. Teichgräber, W. Schäfer, M. Dähne, Messungen ausgewählter organischer Spurenstoffe in der Bodenzone, eine Bestandsaufnahme an einem Ackerbaugebiet. *Z. dt. geol. Ges.* **41**, 613–625 (1985).
 68. Z. Prokop, A. Nečasová, J. Klánová, P. Čupr, Bioavailability and mobility of organic contaminants in soil: new three-step ecotoxicological evaluation. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* **23**, 4312–4319 (2016).
 69. W. A. Jury, D. D. Focht, W. J. Farmer, Evaluation of pesticide groundwater pollution potential from standard indices of soil-chemical adsorption and biodegradation. *J. Environ. Qua.* **16**, 422–428 (1987).
 70. J. L. Barber, G. O. Thomas, G. Kerstiens, K. C. Jones, Current issues and uncertainties in the measurement and modelling of air–vegetation exchange and within-plant processing of POPs. *Environ. Pollut.* **128**, 99–138 (2004).
 71. N. D. Jablonowski, S. Koeppchen, D. Hofmann, A. Schaeffer, P. Burauel, Spatial Distribution and characterization of long-term aged ¹⁴C-labeled Atrazine residues in soil. *J. Agric. Food Chem.* **56**, 9548–9554 (2008).
 72. N. D. Jablonowski, J. Modler, A. Schaeffer, P. Burauel, Bioaccessibility of environmentally aged ¹⁴C-Atrazine residues in an agriculturally used soil and its particle-size aggregates. *Environ. Sci. Technol.* **42**, 5904–5910 (2008).
 73. P. J. McCall, R. L. Swann, D. A. Laskowski, S. M. Unger, S. A. Vrona, H. J. Dishburger, Estimation of chemical mobility in soil from liquid chromatographic retention times. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **24**, 190–195 (1980).
 74. A. Martijn, H. Bakker, R. H. Schreuder, Soil persistence of DDT, dieldrin, and lindane over a long period. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **51**, 178–184 (1993).
 75. F. Chabauty, V. Pot, M. Bourdat-Deschamps, N. Bernet, C. Labat, P. Benoit, Transport of organic contaminants in subsoil horizons and effects of dissolved organic matter related to organic waste recycling practices. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **23**, 6907–6918 (2016).
 76. B. Gevaio, K. Semple, K. Jones, Bound pesticide residues in soils: a review. *Environ. Pollut.* (2000), doi:10.1016/S0269-7491(99)00197-9.
-

-
77. S. Paul, A. Rutter, B. A. Zeeb, Phytoextraction of DDT-contaminated soil at Point Pelee National Park, Leamington, ON, using Cucurbita pepo Cultivar Howden and native grass species. *J. Environ. Qual.* **44**, 1201–1209 (2015).
78. Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL), Formulierungstypen von Pflanzenschutzmitteln, (available at https://www.bvl.bund.de/DE/Arbeitsbereiche/04_Pflanzenschutzmittel/01_Aufgaben/08_Produktchemie/01_BeistoffeFormulierungschemie/01_Formulierungstypen/psm_BeistoffeFormulierungschemie_formulierungstypen_node.html).
79. Y. Huang, X. Zhao, Luan, Uptake and biodegradation of DDT by 4 ectomycorrhizal fungi. *Sci. Total. Environ.* **385**, 235–241 (2007).
80. Y. Zhao, X. Yi, Effects of soil Oxygen conditions and soil pH on remediation of DDT-contaminated soil by Laccase from White Rot Fungi. *IJERPH*. **7**, 1612–1621 (2010).
81. A. Sariwati, A. S. Purnomo, I. Kamei, Abilities of co-cultures of Brown-Rot Fungus Fomitopsis pinicola and Bacillus subtilis on biodegradation of DDT. *Curr. Microbiol.* **74**, 1068–1075 (2017).
82. B. Betancur-Corredor, N. J. Pino, S. Cardona, G. A. Peñuela, Evaluation of biostimulation and Tween 80 addition for the bioremediation of long-term DDT-contaminated soil. *J. Environ. Sci.* **28**, 101–109 (2015).
83. C. N. Mulligan, R. N. Yong, B. F. Gibbs, Surfactant-enhanced remediation of contaminated soil: a review. *Eng. Geol.* **60**, 371–380 (2001).
84. P. Guo, W. Chen, Y. Li, T. Chen, L. Li, G. Wang, Selection of surfactant in remediation of DDT-contaminated soil by comparison of surfactant effectiveness. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **21**, 1370–1379 (2014).
85. B. Schäfer, *Naturstoffe der chemischen Industrie* (Springer Spektrum, 2006; <https://www.lehmanns.de/shop/naturwissenschaften/51714285-9783662610169-naturstoffe-der-chemischen-industrie>).
86. Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL), “Berichte über Inlandsabsatz und Export von Pflanzenschutzmitteln” (2020), (available at https://www.bvl.bund.de/DE/Arbeitsbereiche/04_Pflanzenschutzmittel/01_Aufgaben/02_ZulassungPSM/03_PSMInlandsabsatzAusfuhr/psm_PSMInlandsabsatzAusfuhr_node.html).
87. Bayer CropScience Deutschland, Sencor® Liquid - Sicherheitsdatenblatt (2021), (available at <https://agrar.bayer.de/Produkte/Pflanzenschutzmittel/Sencor%20Liquid>).
88. BASF, Fungizid/Polyram® WG - Agricultural Solutions - Sicherheitsdatenblatt (2015), (available at <https://www.agrar.basf.de/de/Produkte/Produktdetails/Fungizid/Polyram-WG.html>).
89. Corteva Agriscience, Pixxaro™ EC - Herbizid | Pflanzenschutz | - Sicherheitsdatenblatt (2020), (available at <https://www.corteva.de/produkte-und-dienstleistungen/pflanzenschutz/pixxaro-ec.html>).
90. U. Schaller, M. Balmer, “Beistoffe in Pflanzenschutzmitteln : Vorstudie zur Risikobewertung von Beistoffen in Pflanzenschutzmitteln.” (Agroscope, Wädenswil, 2019), (available at <https://ira.agroscope.ch/it-CH/publication/41447>).
-

91. Patrian, T. Poiger, M. Müller, Qualitätsbeurteilung von Pflanzenschutzmitteln. *Agrarforschung*. **12**, 16–21 (2005).
92. WHO, Guidelines/Standards pest and pesticide management food and agriculture organization of the United Nations IPM and Pesticide Risk Reduction Food and Agriculture Organization of the United Nations, (available at <https://www.fao.org/pest-and-pesticide-management/guidelines-standards/en/>).
93. Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Spécifications des pesticides Lutte contre les organismes nuisibles et gestion des pesticides PM and Pesticide Risk Reduction, (available at <https://www.fao.org/pest-and-pesticide-management/guidelines-standards/faowho-joint-meeting-on-pesticide-specifications-jmps/pesticide-specifications/fr/>).
94. Catalogue of pesticide formulation types and international coding system [terminology in English, French, German, Spanish, Italian, Dutch, Norwegian, Finnish, Swedish] [1989], Groupement International des Associations Nationales de Fabricants de Produits Agrochimiques, Catalogue of pesticide formulation types and international coding system. *Technical Monograph GIFAP (Belgium)* (1989) (available at <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=BE8900891>).
95. G. Petrelli, G. Siepi, L. Miligi, P. Vineis, Solvents in pesticides. *Scand. J. Work, Environ. Health*. **19**, 63–65 (1993).
96. R. T. Meister, C. Sine, *Crop protection handbook* (Meister Media Worldwide, Willoughby, Ohio, 2014).
97. H. Mollet, A. Grubenmann, Formulierungstechnik: Emulsionen, Suspensionen, feste Formen (John Wiley & Sons, 1999).
98. A. Glynn-Jones, Pyrethrum. *Pestic. Outlook*. **12**, 195–198 (2001).
99. S. Sun, V. Sidhu, Y. Rong, Y. Zheng, Pesticide pollution in agricultural soils and sustainable remediation methods: a review. *Curr. Pollut. Rep.* **4**, 240–250 (2018).
100. European Commission, EU Pesticides database (2020), (available at <https://ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=activesubstance.selection&language=DE>).
101. PharmaWiki - Polysorbat 80, (available at <https://www.pharmawiki.ch/wiki/index.php?wiki=Polysorbat%2080>).
102. PharmaWiki - Emulgatoren, (available at <https://www.pharmawiki.ch/wiki/index.php?wiki=Emulgatoren>).
103. Syngenta, Applikationstechnik Grundlagen und Applikationstechniken im Ackerbau. *Syngenta*, (available at <https://www.syngenta.de/taxonomy/term/16041>).
104. H. Schiweck, A. Bär, R. Vogel, E. Schwarz, M. Kunz, C. Dusautois, A. Clement, C. Lefranc, B. Lüssem, M. Moser, S. Peters, "Sugar Alcohols" in *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry* (John Wiley & Sons, Ltd, 2012; https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/14356007.a25_413.pub3).
105. J. Hoffmann, H. Viedt, *Biologische Bodenreinigung: Ein Leitfaden für die Praxis* (Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 1998; <https://www.springer.com/de/book/9783540623960>).

106. G. Zheng, A. Selvam, J. W. C. Wong, Enhanced solubilization and desorption of organochlorine pesticides (OCPs) from soil by oil-swollen micelles formed with a nonionic surfactant. *Environ. Sci. Technol.* **46**, 12062–12068 (2012).
107. C. T. Chiou, R. L. Malcolm, T. I. Brinton, D. E. Kile, Water solubility enhancement of some organic pollutants and pesticides by dissolved humic and fulvic acids. *Environ. Sci. Technol.* **20**, 502–508 (1986).
108. G. Zheng, Z. Zhao, J. W. C. Wong, Role of non-ionic surfactants and plant oils on the solubilization of organochlorine pesticides by oil-in-water microemulsions. *Environ. Technol.* **32**, 269–279 (2011).
109. S. Wang, C. N. Mulligan, Enhanced mobilization of arsenic and heavy metals from mine tailings by humic acid. *Chemosphere*. **74**, 274–279 (2009).
110. Y. Zhang, J. W. C. Wong, Z. Zhao, A. Selvam, Microemulsion-enhanced remediation of soils contaminated with organochlorine pesticides. *Environ. Technol.* **32**, 1915–1922 (2011).
111. S. Kaub, *Umwelt-Ratgeber BAU: Praxishandbuch für Bau- und Immobilienfachleute* (Springer Vieweg, ed. 2, 2015; <https://www.springer.com/de/book/9783658094423>).
112. C. S. Wortmann, J. A. Quincke, R. A. Drijber, M. Mamo, T. Franti, Soil microbial community change and recovery after one-time tillage of continuous no-till. *J. Agron.* **100**, 1681–1686 (2008).
113. S. Parmar, V. Singh, Phytoremediation Approaches for heavy metal pollution: a review. *J. Plant Sci. Res.* **2**, 139 (2015).
114. D. E. Salt, R. D. Smith, I. Raskin, Phytoremediation. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **49**, 643–668 (1998).
115. M. L. Whitfield Åslund, B. A. Zeeb, A. Rutter, K. J. Reimer, In situ phytoextraction of polychlorinated biphenyl — (PCB)contaminated soil. *Sci. Total Environ.* **374**, 1–12 (2007).
116. P. V. Minorsky, The Hot and the Classic. *Plant Physiol.* **133**, 14 (2003).
117. F. N. Moreno, C. W. N. Anderson, R. B. Stewart, B. H. Robinson, Phytofiltration of mercury-contaminated water: Volatilisation and plant-accumulation aspects. *Environ. Exp. Bot.* **62**, 78–85 (2008).
118. L. Passatore, S. Rossetti, A. A. Juwarkar, A. Massacci, Phytoremediation and bioremediation of polychlorinated biphenyls (PCBs): state of knowledge and research perspectives. *J. Hazard. Mater.* **278**, 189–202 (2014).
119. J. C. White, Plant-facilitated mobilization and translocation of weathered 2,2-bis(p-chlorophenyl)-1,1-dichloroethylene (p,p'-DDE) from an agricultural soil. *Environ. Toxicol. Chem.* **20**, 2047–2052 (2001).
120. Z. Zhu, X. Yang, K. Wang, H. Huang, X. Zhang, H. Fang, T. Li, A. K. Alva, Z. He, Bioremediation of Cd-DDT co-contaminated soil using the Cd-hyperaccumulator *Sedum alfredii* and DDT-degrading microbes. *J. Hazard. Mater.* **235–236**, 144–151 (2012).
121. P. M. White, D. C. Wolf, G. J. Thoma, C. M. Reynolds, Influence of organic and inorganic soil amendments on plant growth in crude oil-contaminated soil. *Int. J. Phytoremediation.* **5**, 381–397 (2003).

122. J. C. White, Z. D. Parrish, M. P. N. Gent, W. Iannucci-Berger, B. D. Eitzer, M. Isleyen, M. I. Mattina, Soil amendments, plant age, and intercropping impact p,p'-DDE bioavailability to *Cucurbita pepo*. *J. Environ. Qual.* **35**, 992–1000 (2006).
123. M. L. Whitfield Åslund, A. I. Lunney, A. Rutter, B. A. Zeeb, Effects of amendments on the uptake and distribution of DDT in *Cucurbita pepo* ssp *pepo* plants. *Environ. Pollut.* **158**, 508–513 (2010).
124. A. I. Lunney, A. Rutter, B. A. Zeeb, Effect of organic matter additions on uptake of weathered DDT by *Cucurbita pepo* ssp. *pepo* cv. Howden. *Int. J. Phytoremediation.* **12**, 404–417 (2010).
125. X. Wang, J. C. White, M. P. N. Gent, W. Iannucci-Berger, B. D. Eitzer, M. I. Mattina, Phytoextraction of Weathered p,p'-DDE by Zucchini (*Cucurbita pepo*) and Cucumber (*Cucumis sativus*) Under Different Cultivation Conditions. *Int. J. Phytoremediation.* **6**, 363–385 (2004).
126. Q. Ye, R. K. Puri, S. Kapila, A. F. Yanders, Studies on the transport and transformation of PCBs in plants. *Chemosphere.* **25**, 1475–1479 (1992).
127. Anke. Huelster, J. F. Mueller, Horst. Marschner, Soil-Plant transfer of Polychlorinated Dibenzo-p-dioxins and Dibenzofurans to vegetables of the Cucumber family (*Cucurbitaceae*). *Environ. Sci. Technol.* **28**, 1110–1115 (1994).
128. Y.-B. Kim, K. Y. Park, Y. Chung, K.-C. Oh, B. B. Buchanan, Phytoremediation of anthracene contaminated soils by different plant species. *J. Plant Biol.* **47**, 174–178 (2004).
129. M. Balseiro-Romero, P. S. Kidd, C. Monterroso, Influence of plant root exudates on the mobility of fuel volatile compounds in contaminated soils. *Int. J. Phytoremediation.* **16**, 824–839 (2014).
130. V. Römheld, F. Awad, Significance of root exudates in acquisition of heavy metals from a contaminated calcareous soil by graminaceous species. *J. Plant Nutr.* **23**, 1857–1866 (2000).
131. R. Clemente, M. P. Bernal, Fractionation of heavy metals and distribution of organic carbon in two contaminated soils amended with humic acids. *Chemosphere.* **64**, 1264–1273 (2006).
132. S. C. Mo, D. S. Choi, J. W. Robinson, Uptake of mercury from aqueous solution by duckweed: The effects of pH, copper and humic acid. *J. Environ. Sci. Health . Part A: Environ. Sci. Eng.* **24**, 135–146 (1989).
133. A. Bittsánszky, G. Gullner, G. Gyulai, T. Komives, "A case study: uptake and accumulation of persistent organic pollutants in *Cucurbitaceae* species" in *Organic Xenobiotics and Plants: From Mode of Action to Ecophysiology*, P. Schröder, C. D. Collins, Eds. (Springer Netherlands, Dordrecht, 2011; https://doi.org/10.1007/978-90-481-9852-8_4), *Plant Ecophysiology*, pp. 77–85.
134. I. Hilber, P. Mäder, R. Schulín, G. S. Wyss, Survey of organochlorine pesticides in horticultural soils and there grown *Cucurbitaceae*. *Chemosphere.* **73**, 954–961 (2008).
135. C. K. Ahn, Y. M. Kim, S. H. Woo, J. M. Park, Soil washing using various nonionic surfactants and their recovery by selective adsorption with activated carbon. *J. Hazard. Mater.* **154**, 153–160 (2008).

-
136. G. W. Walters, M. D. Aitken, Surfactant-enhanced solubilization and anaerobic biodegradation of 1,1,1-trichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)-ethane (DDT) in contaminated soil. *Water Environ. Res.* **73**, 15–23 (2001).
 137. E. Evdokimov, R. von Wandruszka, Decontamination of DDT-polluted soil by soil washing/cloud point extraction. *Anal. Lett.* **31**, 2289–2298 (1998).
 138. D. Lienert, I. Gebefügi, G. Lörinci, T. Kowalczyk, K. Kreß, Einflüsse der Formulierungshilfsstoffe von Pflanzenbehandlungsmitteln auf Böden. *Umweltbundesamt.* **29** (1994).
 139. C. r. Maxin, I. Kögel-Knabner, Partitioning of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) to water-soluble soil organic matter. *Eur. J. Soil Sci.* **46**, 193–204 (1995).
 140. M. S. Sharom, J. R. W. Miles, C. R. Harris, F. L. McEwen, Behaviour of 12 insecticides in soil and aqueous suspensions of soil and sediment. *Water Res.* **14**, 1095–1100 (1980).
 141. A. Verma, M. K. K. Pillai, Bioavailability of soil-bound residues of DDT and HCH to certain plants. *Soil Bio. Biochem.* **23**, 347–351 (1991).
 142. B. W. Bogan, V. Trbovic, J. R. Paterek, Inclusion of vegetable oils in Fenton's chemistry for remediation of PAH-contaminated soils. *Chemosphere.* **50**, 15–21 (2003).
 143. Z. Gong, K. Alef, B.-M. Wilke, M. Mai, P. Li, Assessment of microbial respiratory activity of a manufactured gas plant soil after remediation using sunflower oil. *J. Hazard. Mater.* **124**, 217–223 (2005).
 144. H. Krug, *Gemüseproduktion : ein Lehr- und Nachschlagewerk für Studium und Praxis* (Berlin ; Hamburg : Parey, 1986;
<http://archive.org/details/gemuseproduktion0000krug>).
 145. Zentralverband Garten e.V. (ZVG), *Umweltbetriebsführung im Gartenbau bei Kulturen im offenen Boden (Freiland)* (Umweltbundesamt, 2005;
<https://www.umweltbundesamt.de/publikationen/umweltbetriebsfuehrung-im-gartenbau-bei-kulturen-im>).
 146. T. Geissler, *Pflanzenproduktion: Gemüseproduktion unter Glas und Platten. Produktionsverfahren* (Deutscher Landwirtschaftsverlag, Berlin, 1985;
<https://www.zvab.com/Pflanzenproduktion-Gem%C3%BCseproduktion-Glas-Platten-Produktionsverfahren-Geissler/30250839868/bd>).

Eigene Publikationen

J. Neitsch, W. Schwack, P. Weller, How Do Modern Pesticide Treatments Influence the Mobility of Old Incurred DDT Contaminations in Agricultural Soils? *J.Agr. Food Chem.* 2016, 64 (40).

J. Neitsch, W. Schwack, P. Weller, Modern Agrochemicals Influence Bioaccumulation of Incurred DDT Soil Residues in Pumpkins - Residue Risk or a Chance for Phytoremediation? *Int. J. Res. Environ. Sci.* 2018, 4 (3), 13-23.

Eidesstattliche Versicherung

über die eigenständig erbrachte Leistung gemäß § 18 Absatz 3 Satz 5 der Promotionsordnung der Universität Hohenheim für die Fakultäten Agrar-, Natur- sowie Wirtschafts- und Sozialwissenschaften:

1. Bei der eingereichten Dissertation zum Thema

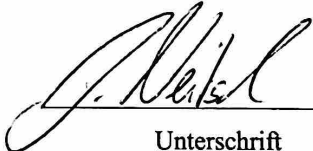
**Einfluss moderner Pflanzenschutzmittel auf die Mobilität von POP-belasteten
Agrarflächen am Beispiel von DDT – ein Feldversuch**

handelt es sich um meine eigenständig erbrachte Leistung.

2. Ich habe nur die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt und mich keiner unzulässigen Hilfe Dritter bedient. Insbesondere habe ich wörtlich oder sinngemäß aus anderen Werken übernommene Inhalte als solche kenntlich gemacht.
3. Ich habe nicht die Hilfe einer kommerziellen Promotionsvermittlung oder -beratung in Anspruch genommen.
4. Die Bedeutung der eidesstattlichen Versicherung und der strafrechtlichen Folgen einer unrichtigen oder unvollständigen eidesstattlichen Versicherung sind mir bekannt.

Die Richtigkeit der vorstehenden Erklärung bestätige ich. Ich versichere an Eides Statt, dass ich nach bestem Wissen die reine Wahrheit erklärt und nichts verschwiegen habe.

Hohenheim, 20.04.2023
Ort, Datum


Unterschrift

Tabellarischer Lebenslauf

Persönliche Daten

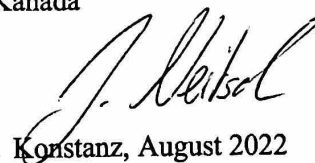
Name Julia Simone Neitsch
Anschrift Zeppelinstraße 14
D - 78464 Konstanz
Familienstand: verheiratet, zwei Kinder
Geburtsdatum, -ort 30. Mai 1985 in Konstanz

Studium und beruflicher Werdegang

seit 01.2020 **Regulatory Affairs Manager**
A.Vogel, Roggwil, Schweiz
05.2018 – 12.2019 **Prüfleiterin Environmental Fate**
ibacon GmbH, Roßdorf
05.2014 – 12.2017 **Wissenschaftliche Mitarbeiterin / Doktorandin**
Hochschule Mannheim in Kooperation mit der Universität
Hohenheim
seit 03.2015 **Postgradualstudium zur Fachökotoxikologin**
SETAC-GLB/GDCh
09.2010 – 01.2013 **Master of Science – Toxikologie**
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
08.2008 – 11.2010 **Bachelor of Science – Oecotrophologie**
Hochschule Niederrhein
09.2004 – 07.2007 **Bachelor of Science – Chemistry with Marketing**
Hochschule Reutlingen

Berufs- und Schulausbildung

09.2002 – 06.2004 Ausbildung zur staatlich geprüften chemisch-technischen
Assistentin
Hohentwiel-Gewerbeschule Singen
09.2002 – 06.2004 Fachhochschulreife
Hohentwiel-Gewerbeschule Singen
09.2001 – 07.2002 Highschool Jahr
Garibaldi Secondary School, Vancouver, Kanada


Konstanz, August 2022