

Altlasten-Monitoring

Biologischer Abbau von Schadstoffen besser im Blick

Um exakte Aussagen treffen zu können, ob und wie weit der biologische Abbau von Schadstoffen in situ, also in Boden und Grundwasser, vorangeschritten ist, nutzt TNO Built Environment and Geosciences, das zentrale geowissenschaftliche Informations- und Forschungszentrum der Niederlande, mit Erfolg die Gaschromatographie-Isotopen-Ratio-Massenspektrometrie (GC-IRMS). Die StirBarSorptiveExtraction (SBSE) erleichtert die Probenvorbereitung und macht die Analyse sensitiver.

Werden in Oberflächen- oder Grundwasser auffällig hohe Konzentrationen organischer, gegebenenfalls chlorierter Komponenten gefunden, liegt der Verdacht einer Kontamination mit Schadstoffen nahe. Damit Schadstoffeinträge in den Boden nicht in tiefere Erdschichten oder gar ins Grundwasser gelangen, trägt man das kontaminierte Erdreich ab; es wird deponiert, verbrannt oder aufwändig gereinigt. Sollte sich ein Aushub als unmöglich oder wenig sinnvoll erweisen, lassen sich kontaminierte Flächen auch versiegeln, um zu verhindern, dass etwa Regen die Schadstoffe

mobilisiert; man überlässt die Flächen der Zeit und Mutter Natur's Obhut. „Meist findet sich ein Mikroorganismus, dem selbst das stärkste Gift schmeckt“, sagt Kathrin Reimer vom Geolab der TNO Built Environment and Geosciences, des zentralen geowissenschaftlichen Informations- und Forschungszentrums der Niederlande.

Konventionelle Methoden liefern keine endgültigen Aussagen

Bakterien besorgen den biologischen Abbau organischer Kontaminationen in Boden und Grundwasser. Ein leider langwieriger Prozess, der sich jedoch durch die Optimie-

rung verschiedener Parameter beschleunigen lässt. Ob ein biologischer Abbau vonstattengeht und wie sich der Stoffumsatz gestaltet, ist in situ, also im Feld vor Ort, prüfbar, obgleich das mit herkömmlichen analytischen Mitteln und Methoden häufig problematisch ist.

„Art und Konzentration einer Substanz sowie deren Abbauprodukte lassen sich zwar in Boden- und Grundwasserproben sicher bestimmen, etwa durch eine GC/MS-Analyse“, sagt Kathrin Reimer. Allerdings seien die Resultate ungeeignet, um hinreichend zufriedenstellende Aussagen über den biologischen Abbau zu tref-

fen. „Ändert sich die Konzentration einer im Boden oder Grundwasser vorliegenden Substanz“, sagt Kathrin Reimer, „hat das nicht zwangsläufig mit einem biologischen Abbau zu tun. Es kann ebenso gut das Resultat physikalischer Prozesse sein, die im Boden oder im Grundwasser ablaufen, etwa Adsorption, Verdünnung oder Verflüchtigung.“

Wenig aussagekräftig sei es auch, die mikrobielle Aktivität oder die Zahl der Mikroorganismen pro Volumen- oder Gewichtseinheit zu bestimmen. Zudem sei es unmöglich, Informationen über die mikrobielle Gemeinschaft und deren Aktivität in einen Zusammenhang zu setzen mit einer zu erwartenden oder möglichen Abbaurate von Schadstoffen. Theoretische beziehungsweise Laborwerte lieferten nur ungenaue Informationen; einzig die kontinuierliche Überwachung der Kontamination in situ erbrächte die erforderlichen zuverlässigen Resultate. Das jedoch ist meist einfach zu teuer.

Metaboliten spiegeln den biologischen Abbau nicht wider

Aber warum es sich schwerer machen, als es unbedingt erforderlich ist? Wenn bekannt ist, welche Substanz Boden oder Grundwasser verunreinigt, liegt es da nicht auf der Hand, einfach die Metaboliten, die Abbauprodukte, zu bestimmen und darüber auf die biologische Abbaurate zu schließen? Kathrin Reimer: „Klingt einfach, ist es aber nicht.“ Es sei vielfach schlicht unmöglich, die Abbau- und Zwischenprodukte sicher zu bestimmen. Erstens sei zum Teil gar nicht bekannt, welche Zwischenprodukte beim biologischen Abbau organischer Verbindungen wie Benzol und Naphtalin entstehen können. Zweitens lägen Zwischenprodukte häufig nur in sehr geringen, kaum



Von TNO verwendetes SBSE-MPS-GC/IRMS-System.

Isotope und ihre Analyse

Isotope sind Atome ein und desselben chemischen Elements; sie besitzen die gleiche Anzahl an Protonen im Kern, unterscheiden sich allerdings in der Zahl der vorhandenen Neutronen. Die Summe der Protonen und Neutronen, kurz: die Massenzahl, divergiert bei den verschiedenen Isotopen eines Elements. Bei Kohlenstoff beispielsweise kennen wir die natürlichen Isotope mit der Massenzahl 12 (^{12}C ; natürlicher Prozentanteil 98,89 %), Massenzahl 13 (^{13}C ; natürlicher Prozentanteil 1,11 %) und Massenzahl 14 (^{14}C). In diesem Falle sind die Isotopen ^{12}C und ^{13}C stabil und nicht radioaktiv, während ^{14}C radioaktiv, also nicht stabil ist.

Obschon sie vergleichbare chemische Eigenschaften besitzen, unterscheiden sich die Isotope eines Elements etwa in der Geschwindigkeit, mit der sie chemisch reagieren: Die Reaktionsgeschwindigkeit hängt auch ab von den beteiligten Isotopen, weshalb Verbindungen, die mehr leichtere ^{12}C -Isotope enthalten, eher umgesetzt werden als Verbindungen, in denen schwerfälligere ^{13}C -Isotope überwiegen.

Die stabile Isotopenzusammensetzung der Elemente wird als δ -Wert angegeben, und zwar in Relation zu einem internationalen Standard, dessen Isotopenverhältnis bekannt ist; der Wert wird in Promille (‰) ausgedrückt. Berechnet werden die δ -Werte wie folgt: $\delta = (R_x/R_s - 1)$. R_x entspricht der Stoffmenge des schweren im Verhältnis zum leichten Isotop; R_x bezieht sich auf die Probe und R_s auf den bekannten internationalen Standard. Ein Vergleich der δ -Werte ergibt einen Unterschied beim Isotopengehalt zwischen Probe und Referenzstandard. Ein positiver δ -Wert bedeutet: Das Isotopenverhältnis der Probe ist größer als das des Referenzstandards; die Probe enthält also mehr schwere Isotope bezogen auf die Anzahl der vorhandenen leichten Isotope als es bei dem Standard der Fall ist.

Um die in einer Probe enthaltenen organischen Verunreinigungen für die Isotopenanalyse zugänglich zu machen, erfolgt zunächst eine Trennung der Komponenten mittels GC. Die einzelnen Verbindungen werden, ist man an Kohlenstoffisotopen interessiert, kontinuierlich im so genannten „Continuous Flow Mode“ durch einen Verbrennungsofen geleitet und dort katalytisch zu CO_2 umgesetzt. Wasserstoffisotope lassen sich detektieren, nachdem bei 1440 °C in einem Temperaturkonversionsofen Wasserstoffgas, also H_2 , und so genanntes glassy carbon, welches jedoch im Ofen verbleibt, hergestellt wurden.

Mit anderen Worten: In die Ionenquelle des Massenspektrometers gelangen nur die Gase CO_2 und H_2 . Für $\delta^{13}\text{C}$ werden anschließend nur m/z 44, 45 und 46 und für δD nur m/z 2 und 3 gemessen. Aus den gemessenen Werten wird dann mithilfe verschiedener Korrekturfaktoren und unter Einbeziehung der Standardinformationen der δ -Wert berechnet.



Kathrin Reimer vom TNO in den Niederlanden im Gespräch mit GERSTEL-Mitarbeiter Jan Pieter Stoutjesdijk

messbaren Konzentrationen vor. Drittens ließen sich Metaboliten unter Umständen mehreren Verbindungen zuordnen: „Benzozat entsteht beim aeroben und beim anaeroben Abbau sowohl von Toluol als auch von Xylol“, weiß Kathrin Reimer. Und viertens entstünden unter Umständen auch natürliche, völlig unauffällige Reaktionsprodukte wie Fettsäuren oder Kohlendioxid, wenn Mineralöl oder Aromaten biologisch abgebaut werden.

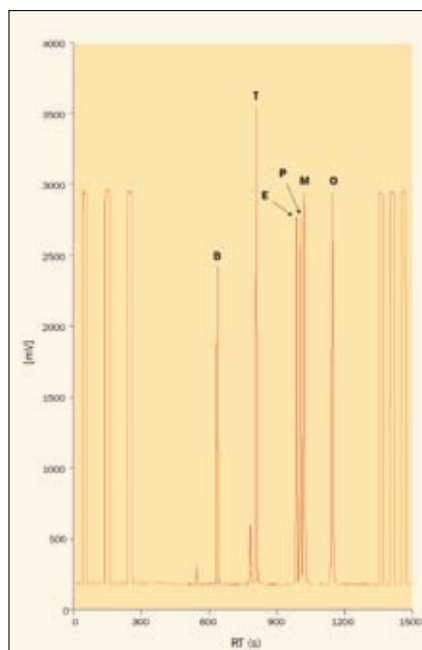
Isotopenverhältnis-Bestimmung bietet entscheidende Vorteile

Wo liegt die Lösung? „Wir wissen“, erklärt Kathrin Reimer, „dass Mikroorganismen bevorzugt Bindungen zwischen leichten Kohlenstoff- beziehungsweise Wasserstoff-Isotopen abbauen. Das liegt an dem so genannten kinetischen Isotopen-Effekt.“ Auf diese Erkenntnis stützt sich die Gaschromatographie-Isotopen-Ratio-Massenspektrometrie (GC-IRMS), ein Verfahren, das Ende der 1980er-Jahre zum Einsatz kam und sich seitdem in der Umweltanalytik bewährt hat, um Abbau oder Herkunft einzelner Komponenten zu bestimmen.

Die Veränderung des Verhältnisses der Isotope eines Elements, hervorgerufen durch physikalische, chemische oder biochemische Prozesse, bezeichnet man als Isotopenfraktionierung. Mit der GC-IRMS lässt sich das resultierende Isotopenverhältnis exakt bestimmen; die verwendeten Massenspektrometer messen selektiv die interessanten Isotope und arbeiten daher sehr sensitiv. Kathrin Reimer: „Bei Verunreinigungen des Bodens oder des Grundwassers legt man den Fokus auf die stabilen Isotope des Kohlenstoffs ^{12}C und ^{13}C sowie auf die des Wasserstoffs ^1H und ^2H beziehungsweise D.“

Bislang wird vor allem das Verhältnis der stabilen Kohlenstoffisotope gemessen, also $\delta^{13}\text{C}$; in jüngster Zeit rückt auch der δD -Wert zunehmend in den Fokus des Interesses. Ein Beispiel ist die Überwachung des biologischen Abbaus von BTEX-Aromaten. Es sei bekannt, erklärt die Expertin, dass beim anaeroben Abbau von BTEX nur eine geringe Fraktionierung des Kohlenstoffisotops, etwa zwei bis sechs Promille, auftritt; Grund ist der verhältnismäßig geringe Molmassenunterschied. Betrachte man allerdings δD , ließe sich eine Fraktionierung von 60 ‰ (Toluol) bis 120 ‰ (Benzol) feststellen. Mit anderen Worten eignet sich die komponentenspezifische Analyse stabiler Isotopen, um den biologischen Abbau von Benzol nachzuweisen. „Wir können von einem signifikanten Abbau sprechen“, sagt Kathrin Reimer, „wenn für Kohlenstoffisotope eine Fraktionierung von mindestens 0,5 Promille stattgefunden hat, für Wasserstoffisotope gelten zwei Promille.“

Auf den Punkt gebracht: Die komponentenspezifische Analyse stabiler Isotopen ermöglicht es, den Grad des Abbaus von Verbindungen in Feldproben direkt nachzuweisen. Da die Fraktionierung einzelner Verbindungen ermittelt wird, ist es mög-



Chromatogramm der BTEX-Trennung:
Die Basislinientrennung ist oft schwierig

lich, die unterschiedliche biologische Umwandlung verschiedener Verbindungen, etwa einzelner chlorierter und nicht chlorierter Verunreinigungen, zu unterscheiden. „Die Analyse von $\delta^{13}\text{C}$ oder $\delta^2\text{H}$ gibt Auskunft, ob man noch vom Ausgangsprodukt einer Verunreinigung sprechen kann oder ob der biologische Abbau der jeweiligen Verbindung bereits begonnen hat“, sagt Kathrin Reimer.

Um den biologischen Abbau mit Hilfe stabiler Isotopen quantifizieren und verifizieren zu können, müssen die Proben an Stellen entnommen werden, die das kontaminierte Gebiet repräsentativ abbilden, um den möglichen biologischen Abbau zu beschreiben und nachvollziehbar zu machen. Idealerweise wird eine Probe mit maximaler Konzentration der Verunreinigung untersucht; sie wird als Ausgangspunkt definiert. Anschließend folgen Proben mit abnehmenden Konzentrationen.

Der δ -Wert des Ausgangspunktes ist stets der kleinste gemessene δ -Wert. „Mithilfe der δ -Werte in Verbindung mit der Konzentration lässt sich der Fraktionierungsfaktor berechnen und damit auch die Abbaurate bestimmen. Der Fraktionierungsfaktor der zu untersuchenden Verbindung sollte signifikant sein und die vorliegenden Konzentrationen sollten oberhalb der Nachweisgrenze des GC-IRMS liegen.“

Stärken und Schwächen der Isotopenanalyse

Die komponentenspezifische stabile Isotopenanalyse hat laut Kathrin Reimer gegenüber herkömmlichen Methoden zwei erhebliche Vorteile: „Sie ermöglicht Aussagen über das Verhalten einer spezifischen Komponente in einer Mischung mit anderen Verbindungen, und mit ihr gelingt es, die Komponenten dem Verursacher beziehungsweise der Quelle, aus der die Verunreinigung stammt, eindeutig zuzuordnen – unter Umständen selbst dann, wenn mehrere Quellen ursächlich sind für die Verunreinigung.“

Ein wichtiger Punkt, der für die Anwendung der komponentenspezifischen Isotopenanalyse spricht, ist, dass nur eine einzige Messung genügt, um Aussagen über die biologische Aktivität machen zu können. Bis dato waren laut Reimer immer mehrere Monitorings erforderlich, um eine Abnahme der Konzentration zu belegen. „Ein Beleg für mikrobiologische Aktivität war das aber nicht“, sagt die Ingenieurin. Problematisch könne jedoch sein, dass die Fraktionierung der Kohlenstoffisotope erst sichtbar wird, wenn der biologische Abbau weit fortgeschritten ist (größer 60 Prozent). Demgegenüber ist die Fraktio-

nierung der Wasserstoffisotope bereits bei einem Abbau von 30 Prozent und damit deutlich eher nachweisbar“, sagt Kathrin Reimer. Von Nachteil sei bislang auch gewesen, dass die Nachweisgrenze der Analyse relativ hoch war, wodurch sich die Methode nur anwenden ließ, wenn die Proben eine ausreichend hohe Konzentration der Verbindung enthielten.

Um auch geringe Konzentrationen, wie sie sich in Proben befinden, die ein fortgeschrittenes Abbaustadium widerspiegeln, zuverlässig messen zu können, setzt TNO auf die StirBarSorbptiveExtraction (SBSE) mit der Twister-Technologie. Beim Twister handelt es sich, vereinfacht gesagt, um ein Rührstäbchen für Magnetrührer, das mit Polydimethylsiloxan (PDMS) als Sorptionsschicht ummantelt ist. Der Twister extrahiert die organischen Zielkomponenten unmittelbar, nachdem er in die Probe gegeben wurde. Die Desorption geschieht in der dafür speziell entwickelten GERSTEL-ThermalDesorptionUnit TDU. Die im PDMS des Twisters sorbierten Komponenten werden in der TDU temperaturprogrammiert desorbiert, im GERSTEL-KaltAufgabeSystem KAS cryofokussiert

und von dort ebenfalls wieder temperaturprogrammiert auf die Säule des Gaschromatographen überführt.

Kathrin Reimer: „Unabhängig davon, dass der Twister sehr viel empfindlicher extrahiert als die SolidPhaseMicro-Extraction (SPME), lässt sich die SBSE einfach handhaben. Der Twister ist ideal für den Einsatz im Feld, etwa um zu verhindern, dass extrem flüchtige Verbindungen wie Vinylchlorid schon bei der Entnahme von Grundwasserproben verdampfen.“ Die Analyse der Komponenten erfolge zudem ohne umfangreiche Vorbehandlung der Proben und voll automatisiert, sagt die Expertin.

Besonders gute Erfahrung mit dem Twister hat sie beim Nachweis und zur Überwachung von BTEX-Komponenten gemacht; analysiert wurden Kohlenstoff- und Wasserstoffisotope. Die Nachweisgrenze stabiler Kohlenstoffisotope etwa von Benzol liegt bei etwa 1 ppb. Mit der Twister-GC-IRMS-Technik hat die Ingenieurin allerdings nicht nur BTEX-Komponenten analysiert, sondern inzwischen auch Methoden für die Analyse chlorierter Kohlenwasserstoffe und spezi-

fischer Mineralölkomponenten wie MTBE und TBA entwickelt. „Der Einsatz der komponentenspezifischen stabilen Isotopenanalyse in der Kombination mit dem Twister ist für den Nachweis eines natürlichen und/oder stimulierten Abbaus von Verunreinigungen einsetzbar. Für uns ist es die Methode der Wahl“, sagt Kathrin Reimer.

Methode und Geräteparameter

Zum Einsatz kamen: GERSTEL-ThermalDesorptionUnit TDU, GERSTEL-KaltAufgabeSystem KAS, Agilent GC 6890, direkt gekoppelt an einen Thermo GC-C/TC III und Delta XP Advantage IRMS. Abhängig vom gemessenen Isotopenverhältnis wurde der GC-C/TC III mit einem Verbrennungsofen (960 °C) und ein Reduktionsofen (640 °C, ¹³C) oder einem Thermokonversionsofen (1440 °C, ^δ2H) ausgerüstet.

BTEX in Wasser

Die BTEX werden für die Dauer von einer Stunde mit dem GERSTEL-Twister extrahiert; die Desorption erfolgt in der TDU bei 225 °C für die Dauer von 4 Minuten, die Cryofokussierung der freigesetzten Komponenten auf Tenax-Röhrchen im KaltAufgabeSystem KAS bei minus 150 °C. Verwendete GC-Säule: AT-Wax, 30 m x 0.32 mm x 1.0 µm, 50 °C (3 min) – 5 °C/min – 100 °C (7 min) – 25 °C/min – 225 °C (3 min); Flussrate: 1,1 mL.

PCE, TCE, cis-DCE, trans-DCE und VC in Wasser

Der GERSTEL-Twister wurde noch im Feld der Probe zugesetzt, um extreme leichtflüchtige Verbindungen wie Vinylchlorid (VC) frühzeitig zu sorbieren. Dauer der SBSE: 1 Stunde. Der Twister wurde anschließend in der TDU automatisiert desorbiert: bei 260 °C für die Dauer von 4 Minuten. Die Cryofokussierung erfolgte auf Tenax-Röhrchen im KAS bei minus 150 °C. Verwendete GC-Säule: GS Gaspro, 30 m x 0.32 mm. GC-Ofen, Temperaturprogramm: 50 °C (1 min) – 25 °C/min – 220 °C (3 min) – 25 °C/min – 250 °C (5 min). Nachweisgrenze: <1 µg/L; Flussrate: 1,5 mL.



Kathrin Reimer: „Der Twister ist ideal für den Einsatz im Feld, etwa um zu verhindern, dass extrem flüchtige Verbindungen wie Vinylchlorid schon bei der Entnahme von Grundwasserproben verdampfen.“

