

MAGPlan

Sauberes Grundwasser für Stuttgart



Leitfaden
zur Ermittlung und Interpretation
isotopischer Fingerabdrücke

27. November 2015

Prof. Dr. Stefan Haderlein
Dr. Daniel Buchner

STUTTGART



LU:W



Zusammenfassung

Bei der Untersuchung kontaminierter Standorte ist die substanzspezifische Isotopenanalyse (CSIA) des Kohlenstoffs organischer Schadstoffe ein etabliertes und häufig angewandtes Verfahren. Sie wird eingesetzt um eine bestehende Kontamination an einem Standort möglichen Verursachern zuzuordnen oder um *in situ* Abbauprozesse der Schadstoffe nachzuweisen und gegebenenfalls zu quantifizieren. Bei schwer abbaubaren Schadstoffen wie leichtflüchtigen chlorierten Kohlenwasserstoffen (LCKW) müssen Isotopenanalysen ggf. auch über mehrere Jahre oder Jahrzehnte hinweg vergleichend beurteilt werden. Um Fehlinterpretationen von Messergebnissen langer Zeitreihen zu vermeiden sind besondere Anforderungen an die Qualität der Isotopenmessungen nötig, insbesondere im Hinblick auf deren Richtigkeit. Da die komponentenspezifische Kohlenstoff-Isotopenanalytik von Spurenstoffen eine relativ neue Technik ist, existieren bislang keine allgemein verbindlichen Leitlinien zur Qualitätssicherung und Qualitätskontrolle.

Ziel dieses Leitfadens ist es, Richtlinien für die Praxis zu erarbeiten um bei Beauftragung, Durchführung und Interpretation von komponentenspezifischen Kohlenstoff-Isotopenmessungen einen gleichbleibend hohen Qualitätsstandard zu sichern und eine effektive Qualitätskontrolle der Messergebnisse über lange Zeiträume und zwischen verschiedenen Laboren zu ermöglichen.

Hierzu wurde die wissenschaftliche Literatur zur komponentenspezifischen Kohlenstoff-Isotopenanalytik von LCKWs ausgewertet und die Entwicklung der Messmethoden über die Zeit berücksichtigt. Untersucht wurde der gesamte Analysenprozess von Probenahme, Konservierung, Aufarbeitung, Anreicherung, Eichung, Messung und Datenauswertung.

Als wesentliche und bislang wenig beachtete Möglichkeit der Qualitätskontrolle für den Auftraggeber im Hinblick auf die Richtigkeit der Messergebnisse wird empfohlen, neben den Messproben verdeckt auch Proben mit bekannter Isotopensignatur anzustellen (Ankerproben).

Einleitung und Problemstellung

Die substanzspezifische Isotopenanalyse (engl. compound-specific isotope analysis; CSIA) von Kohlenstoff ist inzwischen ein gut etabliertes und häufig angewandtes Analyseverfahren (Lichtfouse, 2000, Aelion et al, 2010). Für die Untersuchung von kontaminierten Standorten gibt es zwei Hauptanwendungen:

- (1) Durch den Nachweis einer Veränderung der Kohlenstoffisotopensignatur ($\delta^{13}\text{C}$ -Wert) über Raum und/oder Zeit kann eine qualitative und eventuell sogar eine quantitative Bewertung des am Standort vorhandenen Abbaupotentials erfolgen (Schmidt et al. 2004, Hunkeler et al., 2008, Blessing et al., 2009, Eisenmann & Fischer, 2010). Da physikalische Prozesse wie Verdünnung, Verflüchtigung, Dispersion oder Sorption meist zu vernachlässigende Effekt auf die $\delta^{13}\text{C}$ -Werte haben, wird deren Veränderung primär durch Abbauprozessen hervorgerufen.
- (2) Zudem kann die substanzspezifische Isotopenanalytik wichtige Hinweise geben, ob vorhandene Schadstoffherde als Schadstoffquellen fungieren. Chlorierte Ethene besitzen bei unterschiedlichen Herstellungsprozessen unterschiedliche isotopische Primärsignaturen (Herstellersignaturen). Bei bekannten Primärsignaturen können diese mit den gemessenen $\delta^{13}\text{C}$ -Werten der Schadstoffe am Standort verglichen werden. Unter bestimmten Voraussetzungen ist es dann möglich, Schadstoffquellen zuzuordnen oder auszuschließen (Blessing et al, 2009, Jochmann & Schmidt, 2013, Nijenhuis et al., 2013).

Bei schwer abbaubaren Schadstoffen wie leichtflüchtigen chlorierten Kohlenwasserstoffen (LCKW) müssen Isotopenanalysen ggf. auch über mehrere Jahre oder Jahrzehnte hinweg vergleichend beurteilt werden. Um Fehlinterpretationen von Messergebnissen langer Zeitreihen zu vermeiden, sind besondere Anforderungen an die Qualität der Isotopenmessungen nötig insbesondere im Hinblick auf deren Richtigkeit. Da die komponentenspezifische Kohlenstoffisotopenanalytik von Spurenstoffen eine relativ neue Technik ist, existieren bislang keine nationalen oder internationalen Normen (z.B. ISO) noch sind solche in absehbarer Zeit zu erwarten. Kommerzielle Anbieter der GC-IRMS orientieren sich zumeist an einer umfangreichen Leitlinie der US-EPA zur Qualitätssicherung und Qualitätskontrolle (Hunkeler et al, 2008). Diese ist aufgrund der unübersehbaren

Problematik einer systematischen Qualitätssicherung der komplexen Technik (Blessing et al., 2008, Elsner et al., 2012) als Konsenspapier aus Rundgesprächen und Workshops der wissenschaftlichen Gemeinschaft entstanden ist.

Ziel dieses Leitfadens ist es daher, eine aktuelle und kurz gefasste Richtlinie für die behördliche Praxis zu erarbeiten, um bei Beauftragung, Durchführung und Interpretation von komponentenspezifischen Kohlenstoff-Isotopenmessungen einen hohen Qualitätsstandard zu sichern und eine effektive Qualitätskontrolle der Messergebnisse zu ermöglichen.

Hierzu wurde die wissenschaftliche Literatur zur komponentenspezifischen Kohlenstoff-Isotopenanalytik von LCKWs ausgewertet und die Entwicklung der Messmethoden über die Zeit berücksichtigt. Untersucht wurde die gesamte Analysenkette von Probenahme, Konservierung, Aufarbeitung, Anreicherung, Eichung, Messung und Dokumentation.

Messtechnik der GC-IRMS

Messtechnik: Abbildung 1 zeigt schematisch die Abläufe der combustion-GC-IRMS. Die Proben liegen in wässriger Form vor. Für die weit verbreitete (jedoch wenig empfindliche) Headspace-Analysentechnik werden sie in geeignete, gasdichte Probengefäße mit geringem Volumen (z.B. 10 mL) und einem definierten Volumenverhältnis von Wasser- und Gasphase überführt. Da es sich um leichtflüchtige Substanzen handelt, stellt sich im Gasraum über der Probe eine Konzentration ein, die proportional zu der Konzentration der Analyten im Wasser ist. Aus der Gasphase wird nach Gleichgewichtseinstellung mit einer Spritze ein definiertes Gasvolumen entnommen und dann in den Gaschromatographen (GC) injiziert.

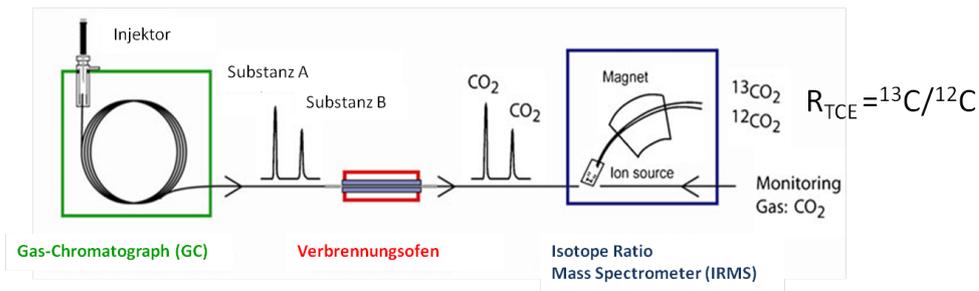


Abbildung 1: Funktionsweise eines GC-IRMS zur Durchführung von C-CSIA (modifiziert nach Elsner et al, 2012). Nach der Probenaufnahme (Injektor) und Auftrennung im Gaschromatographen werden die einzelnen Substanzen (möglichst quantitativ) zum eigentlichen Messgas CO₂ verbrannt. Im Massenspektrometer wird CO₂ ionisiert und die Konzentration des ¹²C- und ¹³C-Kohlenstoffs parallel detektiert.

Alternativ werden die Analyten mit Hilfe der Festphasenmikroextraktion (engl. solid phase microextraction, SPME) aus dem Gasraum angereichert oder in einer gesonderten Apparatur (purge & trap; P&T) mittels Inertgas aus dem Probenvolumen ausgetrieben und auf einem Adsorber konzentriert bevor die Injektion in den Gaschromatographen erfolgt. Mittels P&T-Aufkonzentrierung können Nachweisgrenzen für δ¹³C-CSIA bis in den unteren µg/L Bereich erreicht werden.

Tabelle 1: Isotopologe des CO₂, die nach Verbrennung der Analyten bei der C-CSIA vermessen werden

Masse [m/z]	Isotopolog
44	¹² C ¹⁶ O ₂
45	¹³ C ¹⁶ O ₂ , ¹² C ¹⁶ O ¹⁷ O
46	¹³ C ¹⁶ O ¹⁸ O, ¹³ C ¹⁶ O ¹⁷ O, ¹² C ¹⁷ O ₂

Nach der Auftrennung des Stoffgemischs wird im Verbrennungsofen der in den Zielsubstanzen enthaltene organische Kohlenstoff zu CO₂ oxidiert, die Analyten bleiben also nicht in ihrer ursprünglichen Form erhalten. Dabei muss eine vollständige Umwandlung der Analyten zu CO₂ gewährleistet sein. Zudem ist es von entscheidender Wichtigkeit, dass die Analyten vor der Umwandlung zu CO₂ vollständig getrennt vorliegen, da andernfalls das gebildete CO₂ nicht die isotopische Information der Einzelstoffe sondern eines Stoffgemischs enthält. Die gebildeten CO₂-Moleküle besitzen unterschiedliche isotopische Zusammensetzung (Isotopologe) (s. Tab. 1). Diese CO₂-Isotopologe werden anschließend in der Ionenquelle des Massenspektrometers ionisiert, in Abhängigkeit ihrer Massen im Magnetfeld getrennt und simultan in separaten Detektoren (Faraday-Cups) quantifiziert.

Nomenklatur und Kalibration: Mit dem Isotopenverhältnis R eines Elements E wird die relative Häufigkeit des schwereren (sE) zum leichteren Isotop (lE) eines Elements angegeben: $R = ^sE/^lE$ (z.B.: Kohlenstoff: $R = ^{13}C/^{12}C$, Chlor: $R = ^{37}Cl/^{35}Cl$). Messtechnisch bedingt werden Isotopenwerte immer relativ zu einem Standard (Referenzsubstanz) angegeben. Um die Vergleichbarkeit der Messwerte zu ermöglichen, werden die Isotopenverhältnisse auf international festgelegte Standards (R_{Std} ; z.B. R_{Std} (Kohlenstoff) = "Vienna Pee Dee Belemnite" (VPDB)) bezogen und der Unterschied des Isotopenverhältnisses der Probe zu diesem Standard in der δ -Notation angegeben: $\delta^sE = R/R_{Std} - 1$. Da die Unterschiede (δ^sE) zahlenmäßig relativ klein sind, werden sie meist in ‰ (d.h. Tausendstel) angegeben. In der üblichen δ -Notation ist die Abweichung des Isotopenwerts einer Probe von dem des Standards entweder positiv oder negativ. Ein negativer $\delta^{13}C$ -Wert bedeutet beispielsweise, dass das Isotopenverhältnis R einer Probe im Vergleich zum Standards kleiner ist, also weniger des schweren Isotops enthält.

Die Kalibration des IRMS erfolgt routinemäßig mit Hilfe eines CO_2 -Monitoring-Gases, dessen isotopische Zusammensetzung relativ zum VPDB mit einem Elementar-Analysator-IRMS (EA-IRMS) genau bestimmt wurde. Da dieses Monitoring-Gas im GC-IRMS jedoch nicht den gleichen Prozessen unterliegt wie die organischen Zielsubstanzen (Auftrennung im GC, sowie der Oxidation), soll die Kalibration substanzspezifisch erfolgen mit isotopisch vermessenen Sekundärstandards der Analyten (Werner & Brandt, 2001; Jochmann & Schmidt, 2011; Kapitel 5).

Fehlerquellen bei der CSIA und Empfehlungen zur Fehlervermeidung

Bei der GC-CSIA handelt es sich um eine komplexe Analysetechnik, bei der mehrere in sich störanfällige Analysensysteme sequentiell gekoppelt sind (Hayes et al., 1990, Brenna et al., 1997). So sind alle Fehlerquellen von Probenahme, Anreicherung und Gaschromatographie von LCKWs und zusätzlich noch die spezifischen Fehlerquellen der Konversion der Analyten zu CO_2 sowie dessen Vermessung im IRMS zu berücksichtigen (Blessing et al., 2008). Bei der nachfolgenden Evaluation von Fehlerquellen werden schwerpunktmäßig die Spezifika der Kopplung und IRMS Technik beleuchtet. Hierzu wurde die wissenschaftliche Literatur zur

komponentenspezifischen Kohlenstoff-Isotopenanalytik von LCKWs ausgewertet. Untersucht wurde der gesamte Analysenprozess von Probenahme, Konservierung, Aufarbeitung, Anreicherung, Kalibrierung, Messung und Dokumentation.

Probenahme, Lagerung , Probenkonservierung, Probenhandling

Primäre bestehen bei Probenahme die aus der organischen Umweltanalytik unpolarer Verbindungen bekannten Probleme, wie Verluste durch Sorption an unsachgemäße Probegefäße (ISO 5667-3:2012) oder Verschleppung durch Memory-Effekte in Schläuchen (Piepenbrock et al., (2005); Reynolds et al., (1990)). Zusätzlich kann eine unsachgemäße Lagerung oder Konservierung (ISO 5667-3:2012) der Proben zu schleichenden Abbauprozessen und diese wiederum zu einer Veränderung der Isotopenwerte der Analyten führen (Elsner et al, 2006). Konzentrationsverluste durch Verflüchtigung sind hingegen weniger gravierend, da diese meist keine relevanten Fraktionierungseffekte bewirken (Poulson & Drever, 1999, Jochmann & Schmidt, 2012). Jedoch sollten die Isotopenwerte bei einem erkannten Konzentrationsverlust genau geprüft werden, da dieser neben Verflüchtigung auch aus einem fraktionierenden Abbau in der Probenflasche resultieren kann.

Anreicherungs- und Injektionstechniken

Die GC-IRMS-Technik ist im Vergleich zu anderen Analysenverfahren der organischen Umweltanalytik (z.B. GC-MS) deutlich weniger empfindlich, so dass für Umweltproben oft eine Anreicherung der Analyten vor der Injektion in den GC erforderlich ist. Zwank et al. (2003) hat in einer wegweisenden Arbeit die heute gängigen Verfahren im Detail auf mögliche Isotopenfraktionierung untersucht und gezeigt, dass bei sorgfältiger Methodenevaluation nur geringe Unterschiede im Messergebnis (< 0,5 %) aufgrund unterschiedlicher Anreicherungsstechniken (Headspace, Flüssigphasenextraktion, Festphasenextraktion (SPME), purge&trap) zu erwarten sind. Die Evaluation des verwendeten Probenanreicherungsverfahrens bzgl. Isotopenfraktionierung muss jedoch dokumentiert werden. Zudem empfehlen wir substanzspezifische Sekundärstandards mit der gleichen Anreicherungsstechnik zu vermessen.

Chromatographische Trennung

Durch die Umwandlung der Analyten zum Messgas CO₂ vor der massenspektrometrischen Analyse müssen die Analyten vor der Verbrennung chromatographisch vollständig getrennt sein. Co-Elution von Begleitstoffen, selbst in geringer Konzentration (z.B. Co-Kontaminanten oder auch natürlicherweise vorhandene GC-gängige organische Verbindungen) kann zu markanten Verfälschungen der Isotopenwerte führen. Daher ist ein Nachweis (Dokumentation) einer vollständigen Basislinientrennung essentiell. In Zweifelsfällen wird hierzu eine separate Analyse mit einem spezifischem Detektionsverfahren (q-MS) benötigt..

Kalibrierung des Massenspektrometers und Quantifizierung

Die übliche Kalibrierung des IRMS (s. auch Jochmann & Schmidt, 2011; Kapitel 5) erfolgt über ein relativ zum VPDB-Standard isotopisch vermessenes Monitoringgas (CO₂). Bei der Entnahme des Referenzgases aus der Vorratsflasche entsteht merkliche Isotopenfraktionierung, wenn der CO₂ Vorrat in der Flasche zur Neige geht. Daher muss der Füllstand regelmäßig kontrolliert und ggf. eine Charge vermessen werden. Das IR-Massenspektrometer besitzen einen eingeschränkten linearen Bereich (geräteabhängig) in dem die Proben mit definierter Präzision und Richtigkeit vermessen werden können. Die Quantifizierung von Proben außerhalb dieses Bereichs (z.B. bei sehr tiefen Konzentrationen) ist mit Qualitätseinbußen verbunden. Daher muss die Proben durch Verdünnung oder Anreicherung in diesen Messkorridor gebracht werden. Im Gegensatz zum Analyt wird das Monitoringgas direkt in die Ionenquelle injiziert, und erlauben daher keine Aussagen bezüglich der chromatographische Trennung sowie der Oxidation des Analyts zu CO₂.

Das verwendete Kalibrationsverfahren sowie die Identität der Eichsubstanz(en), welche als Sekundärstandard(s) benutzt wurden, muss angegeben werden. Die Kalibration mit diesen muss täglich und mindestens unmittelbar vor und unmittelbar nach den Messproben erfolgen. Es wird empfohlen, die Kalibration mit Sekundärstandards der Zielanalyten durchzuführen, welche als Reinsubstanzen mittels einer unabhängigen Technik (EA-IRMS) vermessen wurden. Die Isotopenwerte und die Messwertstatistik dieser Sekundärstandards sind anzugeben. Bei längeren Probesequenzen empfehlen wir die Vermessung von Sekundärstandards nach je 10 Messproben zur Erkennung von eventuellen Gerätedrifts.

Umwandlung der Analyten zu CO₂

Das Monitoringgas CO₂ unterliegt – Anders als die Analyten - nicht dem Prozess der Verbrennung welcher vollständig und reproduzierbar ablaufen muss, um eine unerwünschte Isotopenfraktionierung der C-Atome der Analyten bei der Umwandlung zu CO₂ zu vermeiden. Daher muss die Hochtemperatur-Verbrennungseinheit regelmäßig gewartet (regeneriert) und deren Funktion durch Vermessung von Sekundärstandards der Analyten innerhalb der Probensequenz validiert werden. Die Wartungsfrequenz richtet sich nach dem Kohlenstoffgehalt der Messproben und liegt erfahrungsgemäß bei 30-50 Messproben. Nach jeder Regeneration muss eine neue Kalibration durchgeführt werden.

Qualitätskontrolle und Qualitätssicherung

Alle Geräte- und Analysenbedingungen incl. Probenvorbereitung und Probenhandling müssen nachvollziehbar sein und entsprechend dokumentiert werden (Sherwood-Lollar et al., 2007). Da die GC-IRMS Technik jedoch eine Kopplung mehrerer in sich störanfälliger Analysensysteme darstellt, kann selbst ein versierter Bediener nicht immer alle Fehlerquellen zeitnah und sicher erkennen und ausschließen. Für den Auftraggeber der Analysen ist dies meist aufgrund fehlender Spezialkenntnisse selbst mit einer vollständigen Dokumentation des Analysevorgangs nicht möglich. Um dennoch eine sichere und leicht handhabbare Qualitätssicherung für den Auftraggeber zu erreichen, können sog. Ankerproben eingesetzt werden. Der Auftraggeber stellt neben den Messproben synthetische Proben mit einer ihm bekannten Isotopensignatur zur Analyse an. Sofern die Messergebnisse dieser Ankerproben mit den Sollwerten übereinstimmen, ist die Richtigkeit der Messergebnisse für alle praktischen Zwecke ausreichend und sicher validiert.

Handlungsanweisung für die Beauftragung, Durchführung und Auswertung von C-CSIA Analysen

Basierend auf der oben dargelegten Analyse der kritischen Punkte in der Analysenkette wird neben den allgemein anerkannten Standards der Qualitätssicherung in der analytischen Chemie (Funk et al., 2005) folgendes Vorgehen empfohlen um die Richtigkeit der Analyseergebnisse sicherzustellen und eine vom beauftragten Labor unabhängige Qualitätskontrolle durch den Auftraggeber zu ermöglichen.

1. Probenahme, Lagerung und Probenkonservierung

Die Reihenfolge, äußere Bedingungen und die verwendeten Gerätschaften bei der Probenahme sind zu Dokumentieren. Zwischen jeder Probenahme müssen die mit der Probe in Kontakt stehenden Geräte (Schläuche, Pumpen etc.) gründlich mit Trinkwasser oder mit der zu ziehenden Probe gespült werden (mindestens 10-faches Totvolumen, Piepenbrink et al, 2005). Die Probengefäße müssen gasdicht verschlossen und von unten her blasenfrei und vollständig befüllt werden. Vor dem Verschließen ist das Gefäß mindestens mit dem dreifachen Volumen vorzuspülen. Die Proben sollen kühl ($< 10^{\circ}\text{C}$) transportiert und müssen kalt ($< 5^{\circ}\text{C}$) gelagert und gehandhabt werden (z.B. Umfüllen). Die CSIA-Analyse soll zeitnah durchgeführt werden. Generell wird eine Probenkonservierung (ISO 567-3) bereits bei der Probenahme im Feld empfohlen, vorzugsweise durch Ansäuern mittels Zugabe einer nicht korrosiv wirkenden Säure (H_3PO_4 ; HNO_3) auf $\text{pH} \leq 2$.

2. Ankerprobe

Der Auftraggeber stellt neben den Messproben mindestens eine synthetische Probe mit einer ihm bekannten $\delta^{13}\text{C}$ -Signatur zur Analyse an. Diese Probe wird den gleichen Transport- und Behandlungsschritten unterzogen wie die Messproben und enthält die Zielanalyten in einer für die Messproben typischen Konzentration sowie einen Isotopenwert im zu erwartenden Bereich der Messproben. Die Ankerproben werden durch Verdünnung aus Reinstoffen oder Stoffgemischen bekannter Isotopensignatur unmittelbar vor der geplanten Probenahme hergestellt (s. Anhang 1). Die Isotopensignatur dieser Reinstoffe wird von einem unabhängigen Referenzlabor ermittelt und bleibt den Auftragsnehmern unbekannt.

3. C-CSIA Analytik

1. Kalibration

Das verwendete Kalibrationsverfahren ist anzugeben inkl. der mittels EA-IRMS ermittelten Isotopenwerte und Messwertstatistik der Kalibriersubstanz(en). Die Kalibration muss täglich und mindestens unmittelbar vor und unmittelbar nach den Messproben erfolgen, bei längeren Probensequenzen zusätzlich im Abstand von 4 Stunden. Es wird empfohlen, die Kalibration mit Sekundärstandards der Zielanalyten durchzuführen. Ferner ist die Anzahl der Wiederholungsmessungen pro Probe anzugeben sowie deren Messwertstatistik.

2. Eine Basislinientrennung der Zielanalyten ist zwingend erforderlich.

Bei schwierigen Probenmatrices ist hierzu eine Kontrollanalyse mit einem empfindlichen und selektiven Detektor wie (üblicherweise Quadrupol-MS) bei identischen chromatographischen Bedingungen erforderlich. Sollen nicht vollständig getrennte Analyten quantifiziert werden, ist dies deutlich kenntlich zu machen.

3. Angabe von Linearer Bereich (mV) und Quantifizierungsgrenze (mV)

4. Wiederholungsmessungen (Replikate)

Jede Probe muss mindestens 2 Mal vermessen werden, bei Abweichungen über 0,3% ist die Messung in Duplikaten zu wiederholen.

4. Dokumentation

1. Beschreibung des Probenhandlings (Konservierung, Lagerung (Bedingungen, Dauer), Umfüllen, Verdünnung etc.) und der Anreicherungs-/Injektionstechnik (z.B. Headspace, SPME, Purge & Trap etc.)

2. Gerätekonfiguration (Spezifizierung der Geräte und Messanordnung)

3. Bestätigung der Basislinientrennung aller quantifizierten Analyten. Falls keine Basislinientrennung möglich, spezielle Kennzeichnung und Dokumentation (inkl. Chromatogramm; Sicherheitsaufschlag bei der Präzision).

4. Beschreibung des Kalibrationsverfahrens (s. 3.1)

5. Messergebnisse (Mittelwert, Anzahl Replikate, Standardabweichung gem. anerkannten Standards der Chemometrie (Fehlerfortpflanzung))

Empfehlungen zu Interpretation von C-CSIA Analyseergebnissen

Sofern alle hier diskutierten Empfehlungen erfüllt werden, können gemessene und korrekt dokumentierte Unterschiede der Isotopenwerte größer 0,5 ‰ als signifikant (im Sinne des Analysenprozesses) angesehen und interpretiert werden. Dies gilt insbesondere beim Vergleich von Messwerten aus engen Zeitreihen und Proben aus gut durchmischten Systemen (z.B. Laborexperimente zum Bioabbau über Zeiträume von Tagen). Wenn jedoch längere Probensequenzen *ohne Stützproben* vermessen werden, leidet die analytische Richtigkeit und die Werte können stärker (bis zu 1,5%) streuen (Beer, 2011).

Seit Einführung und Marktdurchdringung der kommerziellen GC-IRMS Technik in der Umweltanalytik vor ca. 15 Jahren ist die Messtechnik im Prinzip unverändert und ausgereift. Daher sind gerätebedingte systematische Abweichungen der Messwerte aufgrund von unterschiedlichen Geräteherstellern oder auch unterschiedlichen Gerätemodellen desselben Herstellers grundsätzlich nicht zu erwarten. Einschränkungen gelten evtl. bei der Spurenanalytik im untersten µg/L Bereich aufgrund möglicher Isotopenfraktionierung bei der Anreicherung mittels Purge&Trap –Technik (Zwank et al, 2002).

Allerdings wurden die Kriterien für die gute Laborpraxis (GLP) bei der GC-IRMS erst im Laufe der Jahre entwickelt, vor allem bezüglich Kalibration und Anreicherungsverfahren. Ist die Einhaltung der GLP-Kriterien nicht eindeutig nachweisbar, sollte eine *analytische* Sicherheitsmarge von 0,5 ‰ zugeschlagen werden und gemessene Unterschiede von Isotopenwerten kleiner 1 ‰ nicht interpretiert werden (Slater et al., 2003, Hunkeler et al., 2008).

Bei der Interpretation von Messwerten, die aus Probenahmen von Feldstandorten stammen, ist ggf. eine weitere Sicherheitsmarge zu berücksichtigen, die u.a. aus der Heterogenität der Standorte und der dort vorherrschenden Transport- und Mischungsprozessen herrührt (Hunkeler et al., 2005, Blessing et al., 2009). So können beispielsweise bei Stichtagsmessungen von Grundwasserproben aus der selben Messstelle und mit identischen Probenahmeverfahren unterschiedliche Isotopenwerte alleine durch veränderte Strömungsverhältnisse verursacht werden, sofern die Kontaminationsfahne isotopisch heterogen ist. Isotopische Heterogenität von Schadstofffahnen kann z.B. durch mehrere

Kontaminationsquellen unterschiedlicher Primärsignatur verursacht werden oder auch – im Abstrom einer einzigen Kontaminationsquelle - durch ein unterschiedliches Ausmaß des Bioabbaus im Zentrum und an den Fahnenrändern. Der Einfluss solcher systembedingter Heterogenitäten auf die Variabilität von Messwerten kann nur mit hinreichender Kenntnis der vorherrschenden Prozesse von Fachleuten – zum Beispiel Hydrogeologen – eingegrenzt und beurteilt werden. Pauschale Aussagen zu systembedingten Sicherheitsmargen bei der Beurteilung von Isotopenwerten sind nicht sinnvoll. Wichtig ist jedoch festzuhalten, dass solche systembedingten Schwankungen Konzentrationsmessungen mindestens ebenso stark beeinflussen wie Isotopenmessungen. Aus der oftmals dichteren Datenlage von Konzentrationsmessungen können also Hinweise auf die zu erwartende Variabilität durch Mischungs- und Strömungsprozesse gewonnen und für die Interpretation von Isotopendaten herangezogen werden. Ergänzend können geochemische Daten Aussagen hinsichtlich des Vorhandenseins eines geeigneten Milieus für mikrobiologischen Abbau liefern, sowie mittels molekularbiologischer Untersuchungsmethoden potenzielle LCKW-abbauende Mikroorganismen nachgewiesen werden.

Ausblick

Durch komponentenspezifische Isotopenanalytik weiterer Elemente (z.B., $\delta^2\text{H}$ -CSIA, $\delta^{15}\text{N}$ -CSIA; $\delta^{37}\text{Cl}$ -CSIA) kann die Aussagekraft der Methoden beträchtlich erhöht werden (duale CSIA; Elsner et al, 2012; Jochmann & Schmidt, 2012). Die hier erarbeiteten Empfehlungen und Handlungsanweisungen sind auf diese weiteren elementspezifischen CSIA-Techniken jedoch nur bedingt übertragbar, da diese zum Teil andersartige Analyseverfahren beinhalten (Bernstein et al., 2011, Jin et al. 2011, Wiegert et al., 2012).

Literatur

- Aelion, C. M., Hohener, P., Hunkeler, D. and Aravena, R., 2010. Environmental isotopes in bioremediation and biodegradation, Taylor & Francis.
- Beer, M. 2011. Qualitätssicherung von komponentenspezifischen Isotopenuntersuchungen an leichtflüchtigen chlorierten Kohlenwasserstoffen in der Altlastensanierung ($^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$; $^{37}\text{Cl}/^{35}\text{Cl}$). MSc-Arbeit, Department für Geo- und Umweltwissenschaften an der Ludwig Maximilian Universität und der Technischen Universität München.
- Bernstein, A.; Shouakar-Stash, O.; Ebert, K.; Laskov, C.; Hunkeler, D.; Jeannotat, S.; Sakaguchi-Soeder, K.; Laaks, J.; Jochmann, M. A.; Cretnik, S.; Jager, J.; Haderlein, S. B.; Schmidt, T. C.; Aravena, R.; Elsner, M., 2011. Compound-Specific Chlorine Isotope Analysis: A Comparison of Gas Chromatography/Isotope Ratio Mass Spectrometry and Gas Chromatography/Quadrupole Mass Spectrometry Methods in an Interlaboratory Study. *Analytical Chemistry*, 83, 7624-7634.
- Blessing, M., Jochmann, M. A., Schmidt, T. C. (2008) Pitfalls in compound-specific isotope analysis of environmental samples. *Anal Bioanal Chem* 390, 591-603.
- Blessing, M., Schmidt, T.C., Dinkel, R., Haderlein, S.B., 2009. Delineation of Multiple Chlorinated Ethene Sources in an Industrialized Area - A Forensic Field Study Using Compound-Specific Isotope Analysis. *Environ. Sci. Technol.* 43, 2701-2707.
- Brenna, J.T., Corso, T.N., Tobias, H.J., and Caimi, R.J. (1997) High-precision continuous-flow isotope ratio mass spectrometry. *Mass Spectrometry Reviews* 16, 227-258.
- Eisenmann, H. und A. Fischer, 2010. Isotopenuntersuchungen in der Altlastenbewertung. *Handbuch der Altlastensanierung und Flächenmanagement*, 60 Auflage, Hüthig Jehle Rehm
- Elsner, M., Jochmann, M., Hofstetter, T., Hunkeler, D., Bernstein, A., Schmidt, T.C. and Schimmelmann, A., 2012. Current challenges in compound-specific stable isotope analysis of environmental organic contaminants. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 403, 2471-2491.
- Elsner, M.; Couloume, G. L.; Lollar, B. S., 2006 Freezing to preserve groundwater samples and improve headspace quantification limits of water-soluble organic contaminants for carbon isotope analysis. *Analytical Chemistry*, 78 (21), 7528-7534.
- Elsner, M., Zwank, L., Hunkeler, D. and Schwarzenbach, R.P., 2005. A new concept linking observable stable isotope fractionation to transformation pathways of organic pollutants. *Environ. Sci. Technol.* 39, 6896-6916.
- Fischer A, Stelzer N, Eisenmann H, & Richnow H.H., 2006. Nachweis des mikrobiellen Schadstoffabbaus in Grundwasserleitern. *Innovative Isotopenverfahren erfassen Abbauprozesse direkt im kontaminierten Grundwasser.* *TerraTech* 15, 14-17.
- Funk, W., Dammann, V., Donnevert, G. (2005) *Qualitätssicherung in der analytischen Chemie: Anwendungen in der Umwelt.* Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KG.
- Hayes, J.M., Freeman, K.H., Po, B.N., Hoham, C.H. (1990) Compound-specific isotope analysis. A novel tool for reconstruction of ancient biogeochemical processes. In *Advances in Organic Geochemistry*, Durand, B., Behar, F. (ed): 1115–1128.
- Hofstetter, T. and Berg, M., 2011. Assessing transformation processes of organic compounds by compound specific stable isotope analysis. *Trends in Analytical Chemistry* 30, 618-626.

- Hunkeler, D., Aravena, R., Berry-Spark, K., and Cox, E. (2005) Assessment of degradation pathways in an aquifer with mixed chlorinated hydrocarbon contamination using stable isotope analysis. *Environ. Sci. Technol.* 39, 5975-5981.
- Hunkeler, D., Meckenstock, R. U., Sherwood Lollar, B., Schmidt, T. C. and Wilson, J. T. , 2008. A guide for assessing biodegradation and source identification of organic ground water contaminants using compound specific isotope analysis (CSIA), United States Environmental Protection Agency (EPA), Oklahoma: Office of Research and Development, National Risk Management Research Laboratory.
- ISO 10301. Wasserbeschaffenheit - Bestimmung leichtflüchtiger halogener Kohlenwasserstoffe - Gaschromatographische Verfahren (ISO 10301:1997); Deutsche Fassung EN ISO 10301:1997
- ISO 5667-3:2012. Wasserbeschaffenheit - Probenahme - Teil 3: Konservierung und Handhabung von Wasserproben; Deutsche Fassung EN ISO 5667-3:2012
- ISO 5667-11:2009. Water quality -- Sampling -- Part 11: Guidance on sampling of groundwaters.
- Jin, B. A.; Laskov, C.; Rolle, M.; Haderlein, S. B., 2011. Chlorine Isotope Analysis of Organic Contaminants Using GC-qMS: Method Optimization and Comparison of Different Evaluation Schemes. *Environ. Sci. Technol.* 45, 5279-5286.
- Jochmann, M.A., Blessing, M., Haderlein, S.B., Schmidt, T.C., 2006. A new approach to determine method detection limits for compound-specific isotope analysis of volatile organic compounds. *Rapid Communications in Mass Spectrometry* 20, 3639-3648
- Jochmann, M.A., Schmidt, T.C., 2012. Compound-specific stable isotope analysis. RSC Publishing.
- Lichtfouse, E. (2000) Compound-specific isotope analysis. Application to archaeology, biomedical sciences, biosynthesis, environment, extraterrestrial chemistry, food science, forensic science, humic substances, microbiology, organic geochemistry, soil science and sport. *Rapid Commun Mass Spectrom* 14, 1337-1344.
- Lojkasek-Lima, P., Aravena, R., Parker, B. L. and Cherry, J. A., 2012. Fingerprinting TCE in a bedrock aquifer using compound-specific isotope analysis. *Ground Water* 50, 754-764.
- Morasch, B. and D. Hunkeler, 2005. Isotopenfraktionierung zur Bestimmung des natürlichen Abbaus von chlorierten und nicht chlorierten Kohlenwasserstoffen. DECHEMA, Tagungshandbuch, Perspektiven molekularer und isotopischer Methoden zum Nachweis des natürlichen Schadstoffabbaus in Böden, 29, 30.
- Nijenhuis, I., Schmidt, M., Pellegatti, E., Paramatti, E., Richnow, H. H. and Gargini, A., 2013. A stable isotope approach for source apportionment of chlorinated ethene plumes at a complex multi-contamination events urban site. *Journal of Contaminant Hydrology* 153, 92-105.
- Piepenbrink, M., Ptak, T., Grathwohl, P. (2005): "Monitored natural attenuation: Sampling bias by monitoring equipment", in: *Contaminated Soil 2005*, 1223, Forschungszentrum Karlsruhe, ISBN 3-923704-50-X.
- Poulson, S.R., Drever, J.I. (1999) Stable isotope (C, Cl, and H) fractionation during vaporization of trichloroethylene. *Environ. Sci. Technol.* 33, 3689-3694.
- Reynolds, G. W., Hoff, J. T., Gillham, R., W. 1990: Sampling bias caused by materials to monitor halocarbons in groundwater. *Environ. Sci. Technol.* 24, 135-142
- Schmidt, T.C., Zwank, L., Elsner, M., Berg, M., Meckenstock, R.U., Haderlein, S.B., 2004. Compound-specific stable isotope analysis of organic contaminants in natural environments: a critical

review of the state of the art, prospects, and future challenges. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 378, 283-300.

Sherwood Lollar, B., Hirschorn, Sarah K., Chartrand, Michelle M. G., Lacrampe-Couloume, Georges (2007) An Approach for Assessing Total Instrumental Uncertainty in Compound-Specific Carbon Isotope Analysis: Implications for Environmental Remediation Studies. *Analytical Chemistry* 79, 3469-3475.

Slater, G.F., Sherwood Lollar, B., Lesage, S., and Brown, S. (2003) Carbon isotope fractionation of PCE and TCE during dechlorination by vitamin B12. *Ground Water Monitoring and Remediation* 23, 59-67.

Werner, R.A., Brand, W.A., 2001. Referencing strategies and techniques in stable isotope ratio analysis. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 15, 501-519.

Wiegert, C., Aeppli, C., Knowles, T., Holmstrand, H., Evershed, R., Pancost, R. D., Macháčkova, J. and Gustafsson, Ö., 2012. Dual carbon–chlorine stable isotope investigation of sources and fate of chlorinated ethenes in contaminated groundwater. *Environ. Sci. Technol* 46, 10918-10925.

Zwank, L., Berg, M., Schmidt, T.C., Haderlein, S.B., 2003. Compound-specific carbon isotope analysis of volatile organic compounds in the low-microgram per liter range. *Analytical Chemistry* 75, 5575-5583.

Anhang 1

Anleitung zur Herstellung von Ankerproben von PCE und TCE für die $\delta^{13}\text{C}$ -CSIA

Konfektionierte Sets zur einfachen Herstellung von Ankerproben:

Inhalt:

- Isotopisch vermessene Reinsubstanzen TCE und PCE in verschweißten Glasampullen
- Glasampullen mit Wasser gefüllt
- Schraubdeckelgäser mit gasdichten Verschlüssen.

Bezugsquelle:

Universität Tübingen

Zentrum für Angewandte Geowissenschaften

Umweltchemie & Umweltmineralogie

Hölderlinstr. 12, 72070 Tübingen

e-mail: haderlein@uni-tuebingen.de; Tel. 07071-2973148

Die Herstellung von Ankerproben erfordert die Einhaltung der Regeln zu guten Laborpraxis, insbesondere die Beachtung der einschlägigen Sicherheitsvorschriften für den Umgang mit Gefahrenstoffen und darf nur durch qualifiziertes Personal erfolgen.

- Aufbrechen der verschweißten Reinsubstanzen (Lagerung 4°C)
 - Die Glasampullen besitzen eine Sollbruchstelle. Es liegen mit Wasser gefüllte, besonders gekennzeichnete Ampullen bei, um das Aufbrechen zu üben.
- Umfüllen der Reinsubstanzen in Schraubdeckelgäser (Lagerung 4°C)
 - Glasampulle aufbrechen und die Reinsubstanz mittels gasdichter Glasspritze in ein Schraubdeckelglas (liegt bei) umfüllen.
 - Verlustarme Lagerung (einige Monate) nur bei geeignetem Schraubdeckel (liegt bei).
- Herstellung einer wässrigen Zwischenverdünnung (sofort zu verbrauchen)

Hinweis: Herstellung von wässrigen Ankerproben aus Zwischenverdünnungen in organischen Lösemitteln (z.B. Methanol) wird nicht empfohlen. Dies könnte die Ankerprobe bei der Analyse als solche zu erkennen geben und evtl. zu Problemen bei der nachfolgenden Isotopenanalytik führen.

Für die Herstellung der Zwischenverdünnung sowie der Ankerproben muss Wasser verwendet werden, das keine nachweisbaren Spuren von TCE oder PCE enthält. Das kann Leitungswasser, Mineralwasser oder auch sauberes Grundwasser sein.

- Eine Glasflasche (1 l) mit Schliffverschluss fast vollständig mit Wasser füllen, so dass der Luftraum nach dem Verschließen nur ca. 1 ml beträgt.
- Mit einer gasdichten Mikroliterspritze das gewünschte Volumen (z.B. 10 µl) von reinem TCE oder PCE aus dem Schraubdeckelglas entnehmen und in die Glasflasche injizieren. Die Flasche sofort nach Zugabe verschließen, vorsichtig schwenken.
- Die zugegebene Substanzmenge kann gravimetrisch durch Wägen der Spritze vor und nach Zugabe der Substanz überprüft werden.
- Beispielhafte Konzentrationsberechnungen:
Zwischenverdünnung enthält je 10 µl in 1 l von:
PCE (Dichte = 1,62 mg/µl) und TCE (Dichte = 1,46 mg/µl).
Massenbezogene Konzentrationen: PCE 16,2 mg/l ; TCE 14,6 mg/l.
Hinweis: Wasserlöslichkeit nach DIN EN ISO 10301 (bei 20°C):
PCE (Tetrachlorethen): 100 mg/l ; TCE (Trichlorethen): 1100 mg/l.
- Mikroliterspritze mit einem organischen Lösemittel reinigen und trocknen.
Ggf. Zugabe einer weiteren Substanz wie oben beschrieben.
- Der Lösungsvorgang, insbesondere von PCE ist sehr langsam, kann aber durch vorsichtiges Schwenken oder im Ultraschallbad beschleunigt werden. Nach 1-2 Tagen kann vollständige Lösung der zugegebenen Reinstoffe erfolgt sein und sollte durch visuelle Kontrolle verifiziert werden.
- Wässrige Zwischenverdünnungen sind nur wenige Tage haltbar und sollten vor jeder Probenkampagne frisch angesetzt werden.

- Herstellung der Ankerproben

- Zugabe definierter Volumina aus der/den wässrigen Zwischenverdünnung(en) mit Glaspipetten in geeignete Probenahmegefäße (z.B. 120 ml Headspace Flaschen), in welche bereits ca. 100 ml Wasser vorgelegt wurde.
- Beispiel für Konzentrationsberechnung:
Zugabe von 1 ml aus Zwischenverdünnung (s. oben) in 120 ml Wasser gibt:
Trichlorethen (TCE): 122 µg/l; Tetrachlorethen (PCE): 135 µg/l.
- Probenahmegefäße randvoll mit Wasser auffüllen und verschließen.
- Probenahmegefäße und Probenbezeichnung der Ankerproben analog zu „echten“ Proben.

Anhang 2 Checkliste $\delta^{13}\text{C}$ -Isotopenanalytik

Datum Probeneingang: _____

Probenvorbereitung: Konservierung: _____

- Lagerung: (Bedingungen; Dauer, Gefäß): _____
- Auffälligkeiten bei den zu vermessenden Proben (z.B. Biofilm in der Probenflasche, Geruch, Probenflasche nicht richtig verschlossen, Probenfalsche unvollständig befüllt, ...):
nein ja → Vermerk bei einzelnen Messungen
- Ggf. Handhabung der Proben (Umfüllen; etc): _____

Messtechnik & Probensequenz:

- Aufkonzentrierungs/Injektionstechnik: (z.B. Headspace, SPME, Purge & Trap): _____
- Gerätekonfiguration (Spezifizierung der Geräte): _____
- Messsequenz: (z.B.: Blank, 3x Std, Probe A1, Probe A2, Std, Std,):

Kalibration:

- Kalibrationsverfahren: _____
- Kalibriersubstanzen: _____
- Linear Bereich: von _____ (mV) bis _____ (mV)
- Quantifizierungsgrenze: _____ (mV)

	Kalibriersubstanzen	$\delta^{13}\text{C}_{\text{EA-Sollwert}} [\text{‰}]$	Replikate	$\delta^{13}\text{C}_{\text{Mittelwert} \pm \text{SD}^{1)} [\text{‰}]$
(1)	PCE			
(2)	TCE			
(3)	cisDCE			
(4)				

¹⁾Standardabweichung

Messergebnisse:

Analysedatum: _____

Analyt: _____

Basislinientrennung des Analyten für alle Proben? ja nein → Vermerk bei einzelnen Messungen

Probenbezeichnung	Replikate	$\delta^{13}\text{C}_{\text{mittelwert}} [\text{‰}] \pm \text{SD}^1$	Amplitude [mV] $\pm \text{SD}^1$	Verdünnung	Anmerkung ²⁾

¹⁾Standardabweichung

²⁾Auffälligkeiten (z.B. Biofilm /Flasche nicht richtig verschlossen/keine Basislinientrennung/Probenmatrix)

/.

Analyt: _____

Basislinientrennung des Analyten für alle Proben? ja nein → Vermerk bei einzelnen Messungen

Proben- bezeichnung	Repli- kate	$\delta^{13}\text{C}_{\text{mittelwert}}$ [‰] \pm SD ¹	Amplitude [mV] \pm SD ¹	Verdünnung	Anmerkung ²⁾

¹)Standardabweichung

²)Auffälligkeiten (z.B. Biofilm /Flasche nicht richtig verschlossen/keine Basislinientrennung/Probenmatrix)

Analyt: _____

Basislinientrennung des Analyten für alle Proben? ja nein → Vermerk bei einzelnen Messungen

Proben- bezeichnung	Repli- kate	$\delta^{13}\text{C}_{\text{mittelwert}}$ [‰] \pm SD ¹	Amplitude [mV] \pm SD ¹	Verdünnung	Anmerkung ²⁾

¹)Standardabweichung

²)Auffälligkeiten (z.B. Biofilm /Flasche nicht richtig verschlossen/keine Basislinientrennung/Probenmatrix)

Analyt: _____

Basislinientrennung des Analyten für alle Proben? ja nein → Vermerk bei einzelnen Messungen

Proben- bezeichnung	Repli- kate	$\delta^{13}\text{C}_{\text{mittelwert}}$ [‰] \pm SD ¹	Amplitude [mV] \pm SD ¹	Verdünnung	Anmerkung ²⁾

¹)Standardabweichung

²)Auffälligkeiten (z.B. Biofilm /Flasche nicht richtig verschlossen/keine Basislinientrennung/Probenmatrix)